

# 电离辐射技术在甲壳素/壳聚糖改性中的应用

翟茂林, 林 琳, 李久强, 何 平, 魏根拴\*

(北京大学化学与分子工程学院应用化学系, 北京 100871)

**摘要:** 电离辐射技术作为一种材料改性的重要手段在天然高分子甲壳素/壳聚糖的开发研究方向有许多独特的优点, 本文从甲壳素/壳聚糖的辐射加工及辐射改性的甲壳素/壳聚糖的应用两方面综述了该领域的最新进展。

**关键词:** 电离辐射技术; 甲壳素; 壳聚糖

## 概述

甲壳素又名甲壳质、几丁质、聚乙酰氨基葡萄糖等。它是一种极其丰富的自然资源, 每年生物合成近十亿吨之多, 在蟹、虾、龙虾等水产品加工后的甲壳废弃物中甲壳素的含量达到 10%~30%, 是自然界中仅次于纤维素的第二大类天然高分子。壳聚糖又称脱乙酰几丁质、聚氨基葡萄糖、可溶性甲壳素等, 是由甲壳素经脱乙酰化反应转化成分子量为 12~59 万的生物大分子, 甲壳素及壳聚糖的结构如图 1 所示。甲壳素含有羟基, 壳聚糖同时含有氨基和羟基, 它们可通过酰化、羧基化、羟基化、氰化、醚化、酯化、叠氮化、成盐、螯合、水解、氧化、卤化、接枝与交联等反应, 制备衍生物。这样甲壳素/壳聚糖作为一种新的功能材料受到广泛的关注, 甲壳素化学成为当前天然高分子化学研究的热点之一<sup>[1]</sup>。

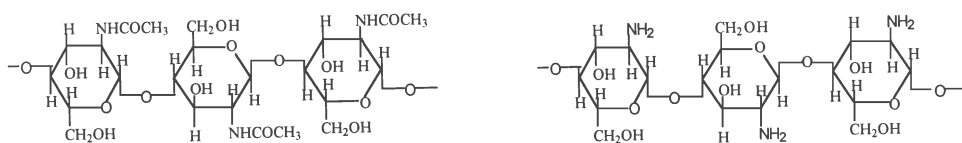


图 1 甲壳素和壳聚糖的结构

电离辐射技术( $\gamma$ -射线及电子束)是一种材料改性(接枝、交联、降解)的重要手段。由于天然高分子具有资源丰富、价格便宜、安全无毒, 可自然降解等诸多优点, 当前, 国外许多研究机构已经将材料辐射改性的重点由合成高分子转向天然高分子。在此背景下, 国际原子能机构(IAEA)也将“甲壳素/壳聚糖的辐射加工”这一项目列入亚太区域合作(RCA)协议之中。在 IAEA 的推动下, 日本、中国、印度、马来西亚、越南、韩国等亚太地区国家开展了对这一项目的研究, 且已经取得了一些有意义的成果, 综述如下。

## 1 电离辐射技术在甲壳素/壳聚糖加工中的应用

### 1.1 甲壳素/壳聚糖的辐射制备

通常, 甲壳素由虾、蟹等加工后的甲壳废弃物经强酸、强碱处理后制备而得。然而研究发现, 预

**作者简介:** 翟茂林 博士, 副教授, 主要从事高分子材料的辐射改性研究, 发表论文近 30 篇;

\* 通讯联系人。

先经过一定剂量辐照的甲壳废弃物,再经由上述方法制备甲壳素时,脱蛋白的时间由原来的 8h 缩短为 1h~2h,如图 2 所示。

在进行甲壳素的脱乙酰化反应制备壳聚糖时,同样发现,甲壳素经辐照后,脱乙酰化反应所需的时间及脱乙酰度相应提高,结果如表 1 所示。

表 1 预辐射对甲壳素脱乙酰化反应的影响

| 吸收剂量 | 不同反应时间下壳聚糖的脱乙酰度/% |    |    |
|------|-------------------|----|----|
| kGy  | 1h                | 2h | 3h |
| 0    | 50                | 60 | 73 |
| 50   | 73                | 87 | 97 |

此外,制备甲壳素的原材料为虾、蟹等加工后的废弃物,含有大量的致病细菌,而电离辐射是一种有效的杀菌方法,这样甲壳废弃物经辐射处理后,不仅可缩短制备甲壳素过程中脱蛋白的反应时间,提高壳聚糖的脱乙酰度,而且可杀灭致病菌,有利于环保。由此可见,电离辐射技术可明显地提高甲壳素加工业的经济效益及社会效益。RCA 的大多数成员国都进行了这一方面的研究工作<sup>[2]</sup>。

## 1.2 壳聚糖的辐射降解

在甲壳素分子中,因其内外氢键的相互作用,形成了有序的大分子结构,溶解性能很差,这极大地限制了它的应用。而甲壳素经脱乙酰化处理后得到的壳聚糖,由于其分子结构中存在大量的游离氨,所以溶解性能大大改观,特别是降解的低聚壳聚糖,不仅溶解性能提高,且具有抗菌活力,当分子量低于 1 万时,可得到水溶性的壳聚糖(或称之为寡糖)。低聚壳聚糖在食品、日化用品及医药领域具有广泛的用途,已被欧美各国誉为除蛋白质、脂肪、糖类、纤维素和矿物质之外人体所需的第六大生命要素<sup>[3,4]</sup>。目前,壳聚糖的降解方法主要有三大类,即酶降解法,氧化降解法及酸降解法,但大多数降解方法还只是处于实验室研究阶段,存在这样或那样的不足,要最终实现产业化大生产,还必须就其降解机理、降解效率、降解产物的分子量分布、降解产物的分离、纯化等方面进行更深入的研究,并探索新的经济可行的降解方法,开发新的生产工艺<sup>[5]</sup>。

近几年有关壳聚糖辐射降解的研究报道也不少,这些研究工作按照壳聚糖辐照时的状态分为固态辐射降解和溶液中辐射降解两个方面<sup>[6~11]</sup>。研究表明,壳聚糖是辐射降解型高分子,辐照后分子量明显降低。在水溶液中辐照由于水的存在,使降解加速,在较低剂量下即可得到低分子量的壳聚糖,但与前述化学降解法类似,由于壳聚糖在水溶液(常采用醋酸水溶液)中溶解度的限制,这种降解效率并不高。但在固态下辐照,需要非常高的剂量才能得到较低分子量的壳聚糖,如图 3 所示。壳聚糖辐照前后的结构分析表明,低剂量下(500kGy 以下)壳聚糖的辐射降解与纤维素相似,是由于 1、4- $\beta$ -甙键的断裂引起的,即主要为主链的裂解,壳聚糖的结构

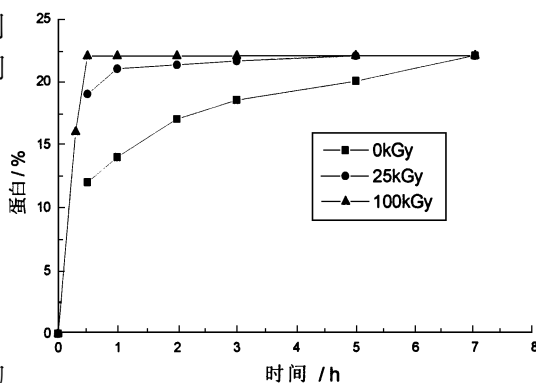


图 2 预辐射对蟹壳脱蛋白的影响

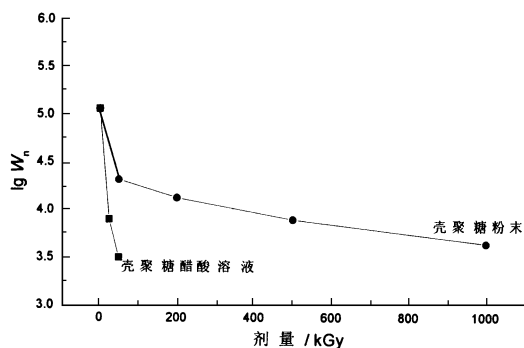


图 3 辐照对壳聚糖分子量的影响(脱乙酰度>99%)

基本上不会发生变化<sup>[6,7]</sup>。Zhao Wenwei 等<sup>[8]</sup>还报道了低剂量下壳聚糖的甬键比氨基对辐射更敏感,在高剂量下不仅使壳聚糖的甬键断裂,而且也引起氨基的裂解,从而使壳聚糖的结构发生变化。Kume 等<sup>[11]</sup>对 100kGy 下辐照的壳聚糖进行了分子量分级研究,结果如表 2 所示,由表 2 可以看出,固态下辐照后的壳聚糖具有较宽的分子量分布。

Kume 等<sup>[6]</sup>也研究了在固态下辐照的壳聚糖的表面电荷及在碱性溶液中的溶解度的变化(图 4),可以看出,在低剂量下辐照后壳聚糖表面电荷的变化很小,而在 pH=10 的碱性溶液中的溶解度却明显增加了,这将扩展其作为一种絮凝剂在碱性溶液中的应用。

1.3 甲壳素/壳聚糖的辐射接枝

甲壳素/壳聚糖是非常重要的天然高分子,具有易降解、生物相容性等诸多优点,但它也一样具有其它天然高分子的弊端,结晶度高、难于加工、难溶于水等,极大地限制了它的应用,这样甲壳素/壳聚糖的接枝改性也成为重要的研究课题。通过接枝改性在壳聚糖分子中引入易于加工的、强度高的、亲水性的或具有某种特殊官能团的合成高分子,可有效地改善甲壳素/壳聚糖的性能。化学法对甲壳素/壳聚糖接枝改性的报道很多<sup>[12]</sup>,相对于化学法而言,辐射接枝改性的研究报道较少。Shigeno<sup>[13]</sup>、刘鹏飞<sup>[14]</sup>等研究了苯乙烯在甲壳素/壳聚糖上的辐射接枝,得到了刚性的壳聚糖-苯乙烯接枝聚合物,他们都研究了辐照条件对接枝率的影响。后者并重点分析讨论了接枝率的测定方法及接枝侧链聚苯乙烯分子量随接枝条件的变化。Singh<sup>[15~17]</sup>等也在壳聚糖膜上进行了甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA),甲基丙烯酸甲酯(MMA)及甲基丙烯酸二甲基氨基乙基酯(DMAEMA)等的接枝改性研究,得到了不同性能的接枝膜。该研究者主要研究了辐照接枝条件,比如辐照剂量、剂量率,溶剂组成等对接枝率的影响,并就接枝机理进行了讨论,认为壳聚糖在 C-2 和 C-6 位含有两个反应性基团,辐照后易产生活性点,从而引发单体的接枝共聚反应。

当前,大多数 RCA 的成员开展了这一方面的研究工作<sup>[2]</sup>。

1.4 辐射制备壳聚糖基的水凝胶

水凝胶是一种在水中能够溶胀并保持大量水分而又不能溶解的交联聚合物。水凝胶由于具有良好的生物相容性,在生物医用材料领域具有十分广泛的用途<sup>[18]</sup>。壳聚糖是一种聚电解质,含有一NH<sub>2</sub>基,这样含有壳聚糖的水凝胶具有 pH 敏感性等一些特异性质,为智能性水凝胶<sup>[19]</sup>。化学法研究制备壳聚糖基水凝胶的研究报道很多,电离辐射技术在该领域的应用尚处于起步阶段。

甲壳素/壳聚糖是辐射降解型高分子,难溶于水,所以难以得到纯甲壳素/壳聚糖的交联聚合物。刘鹏飞<sup>[14]</sup>通过将甲壳素羧甲基化得到了水溶性的羧甲基甲壳素,并进行了辐射交联的尝试,得到了一些交联产物,但还没有得到理想的水凝胶,有待于进一步深入研究。在 RCA 成员国内,韩国、越南分别报道了采用电离辐射技术制备壳聚糖-聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、壳聚糖-聚乙烯醇(PVA)共混水凝胶,并应用于动物及人体二度及三度烧伤伤口的临床试验<sup>[2,20]</sup>。Dzung<sup>[21]</sup>也报道了壳聚糖-甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)共混水凝胶的辐射制备,并应用于胰蛋白酶的固定化研究。

表 2 辐照 100kGy 后壳聚糖分子量的分布情况

| 分子量/ $\times 10^4$ | >30 | 10~30 | 3~10 | 1~3 | <1 |
|--------------------|-----|-------|------|-----|----|
| 比率/%               | 46  | 8     | 8    | 9   | 29 |

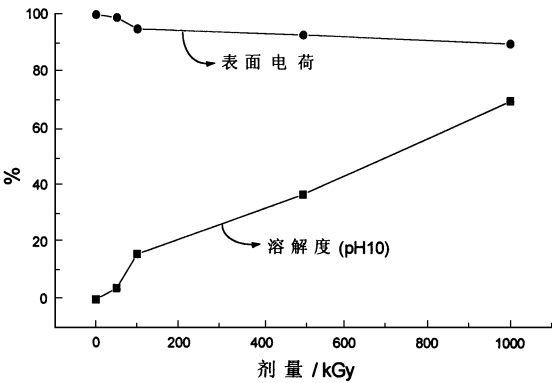


图 4 辐射对壳聚糖性质的影响

这一领域有待于更深入的研究,比如辐射合成条件对水凝胶结构及性质的影响等,以利于制备理想的、高性能的及特殊用途的水凝胶。

2 辐射改性的甲壳素/壳聚糖的应用研究<sup>[2]</sup>

2.1 农业方面

辐射降解的甲壳素/壳聚糖能够诱导不同种类的生物活性,促进植物的生长、抑制重金属对植物的影响及抗微生物活性等。辐射降解的寡糖可用于以下几个方面。

2.1.1 诱导植保菌素 日本率先进行了辐照降解的壳聚糖、果胶等诱导豌豆中植保菌素的研究,如图 5 所示。结果表明,1000kGy 下辐照的壳聚糖具有很高的诱导植保菌素的能力。植保菌素即植物杀菌剂,植保菌素的诱导有利于植物的健康生长。

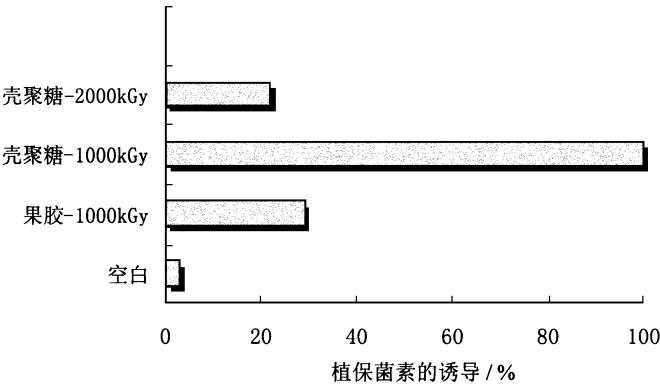


图 5 辐照降解的壳聚糖果胶对豌豆中植保菌素的诱导

2.1.2 促进植物生长、抗恶劣环境 日本、越南、菲律宾等国将一定剂量下辐射降解的聚多糖比如甲壳素/壳聚糖、卡拉胶、海藻酸盐用作植物生长的促进剂。以水稻为例,当辐照壳聚糖的剂量低于 50kGy 时,诱导枯黄病,但当剂量大于 70kGy 以后,对水稻的生长有明显的促进作用。在研究中发现,当培养液中  $VCl_3$  的浓度达到 5ppm 时,对大豆、水稻、小麦、大麦的根有明显的损伤,从而抑制幼芽的生长,当  $VCl_3$  的浓度达到 50ppm 时,导致水稻幼芽的死亡,然而当在培养液中加入辐射降解的壳聚糖时这些损伤能够被减少,结果见表 3。由表中可以看出,在一定剂量下,辐照的壳聚糖能够消除作物生长时有害金属引起的损伤,这表明辐照的壳聚糖通过引发植物的自我保护机制能够在植物体内诱导生物活性使它们能抑制由于土壤中的有害金属及昆虫引起的恶劣环境对植物的损伤。

表 3 钒及辐照的壳聚糖对植物生长的影响

| 含量    |         | 秧苗的干重(mg/10 株) |     |        |     |
|-------|---------|----------------|-----|--------|-----|
|       |         | 小麦             |     | 水稻     |     |
|       |         | 生物量            | %   | 生物量    | %   |
| 钒/ppm | 壳聚糖/ppm |                |     |        |     |
| 0     | 0       | 385±42         | 100 | 190±17 | 100 |
| 0     | 100     | 544±47         | 141 | 206±16 | 108 |
| 0     | 200     | 540±39         | 140 | 236±30 | 124 |
| 10    | 0       | 229±37         | 59  | 143±12 | 75  |
| 10    | 100     | 350±35         | 91  | 214±18 | 113 |
| 10    | 200     | 392±39         | 102 | 210±18 | 111 |

表中数据为植物秧苗在钒或 100kGy 辐照后的壳聚糖影响下生长 9 天后测定的结果

2.1.3 辐射降解的壳聚糖的抗菌活力 日本、越南等国进行了辐射降解的壳聚糖对大肠杆菌(*E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、绿脓杆菌(*P. aeruginosa*)等细菌抗菌活力的研究。以大肠杆菌为例,100kGy 固态下辐照的壳聚糖能有效地提高壳聚糖的抗菌活力,大肠杆菌的生长被完全抑制,如图6所示。随着辐照剂量的增大,抗菌活力下降,直至消失。研究还发现抑制不同菌种所需辐射降解的壳聚糖的量不同,脱乙酰度高(99%)的壳聚糖在低剂量(75kGy)下有明显的抗菌活力,而脱乙酰度低(80%)的壳聚糖在高剂量(500kGy)下才表现出明显的抗菌活力。所有这些研究结果表明,辐射降解的壳聚糖能诱导抗菌活力,抑制细菌、真菌的生长,因而在农业及医用领域具有广阔的应用前景。

2.1.4 水果保鲜 由于壳聚糖易于成膜,膜在水果表面的覆盖能够改变水果组织的微环境,抑制水果的呼吸,同时,辐射降解的壳聚糖有明显的抗菌活力,所以辐照的壳聚糖可用做水果等食品的保鲜剂。日本及越南已经报道了辐照降解的壳聚糖用作芒果的保鲜剂。被1.5%的辐射降解的壳聚糖浸泡过的芒果的保鲜期由7天延长到15天,在第15天后,被辐照的壳聚糖涂层保护的芒果仍保持原有的颜色,没有变质腐烂,失重约10%。未辐照的壳聚糖涂层对芒果也有一定的保鲜作用,而没有被辐照的壳聚糖涂层保护的芒果已完全变质腐烂,这表明辐照的壳聚糖可抑制水果的成熟及腐烂,使水果的贮存期延长。

2.1.5 种子包衣 辐照的壳聚糖与抗菌剂一起用做种子包衣材料可以抵抗病虫害,韩国已经开展了这方面的研究。

## 2.2 生物医用

甲壳素/壳聚糖由于具有良好的生物相容性、降解性及杀菌性而广泛地用于生物、医药领域。目前辐射技术在该领域的应用研究集中在以下方面。

2.2.1 烧伤敷料(wound dressing)<sup>[2,20]</sup> 由于烧伤伤口主要被金黄色葡萄球菌(约占85%),绿脓杆菌(约占7.1%)感染,而辐射降解的壳聚糖具有明显的抗上述细菌的活力,这样壳聚糖基的水凝胶敷料也应具有抗菌活力。采用电离辐射技术制备的壳聚糖-聚乙烯醇(PVA)共混水凝胶敷料已经在越南国家烧伤研究所被开发成功并用于临床试验。采用电离辐射技术可制备透明且高强度的水凝胶膜,该敷膜用于人体烧伤伤口及缝合线伤口的治愈研究表明,该敷膜可很好地敷在伤口部位,减少伤口部位水的损失,减轻病人的伤痛,防止致病菌的感染,刺激正常的成纤维细胞及毛细血管的生长。采用常规方法对二度及三度烧伤的一般治愈时间分别为8~13天、18~30天,采用辐射制备的壳聚糖-聚乙烯醇水凝胶敷膜以后,治愈时间分别缩短为7天、17天。由此可见,辐射制备的壳聚糖-聚乙烯醇水凝胶敷膜具有抗菌性,可防止伤口的感染、促进伤口的愈合。目前,韩国、中国也在开展这方面的研究工作。

2.2.2 药物固定化<sup>[21]</sup> 甲壳素可用作固定化酶及其它生物活性物质的载体,然而由于甲壳素具有疏水性及比表面积低的特点,在甲壳素上固定的酶活力低且不稳定,所以常常先将甲壳素改性,比如先在甲壳素上接枝亲水的单体以改变甲壳素的性质,然后再用作酶等生物活性物质固定化的载体。Dzung<sup>[2]</sup>采用共辐射接枝的方法在甲壳素膜上接枝了丙烯酸,从而改善了甲壳素膜的亲水性,然后该研究者在甲壳素-丙烯酸接枝膜上固定了胰蛋白酶,固定化酶活力的保持随接枝率的增大而明显提高。Dzung<sup>[2]</sup>等也采用电离辐射技术制备了壳聚糖-甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)共混水凝胶,并用于胰蛋白酶的固定化,在壳聚糖中引入 HEMA 后水凝胶的强度明显提高,固定化酶的活力的稳定性也相应提高。

### 3 甲壳素/壳聚糖的辐射加工展望

高分子的辐射加工是辐射技术应用领域最有前景的产业之一。一些合成高分子的辐射加工已经完成了研究、开发及产业化的过程,而天然高分子的辐射加工还几乎是一片空白。甲壳素/壳聚糖的辐射加工的初步研究已表明,辐射改性的甲壳素/壳聚糖同样具有广阔的应用前景,需要大力加强,这已引起 IAEA 及各国学者的广泛重视。相信不久的将来,天然高分子的辐射加工也将会产业化。

#### 参考文献:

- [1] Ravikumar M N V. *Bulletin of Materials Science*, 1999, 22(5): 905~915.
- [2] Kume T, Zhai Maolin, Yoshii F, Majali A, Sabharwal S, Lee Young-keun, Bahari K, Chvajarnepun J, Canh Tich Tran. Report of the Project Co-ordinations' Meeting on Radiation Processing of Chitin/chitosan, (RAS/8/087), Dec. 1999, Mumbai, India.
- [3] 王小红, 马建标, 何炳林. 功能高分子学报, 1999, 12(2): 197~202.
- [4] Hirano S. *Polymer International*, 1999, 48(8): 732~734.
- [5] 柴平海, 张文清, 金鑫荣. 化学通报, 1999, 7: 8~12.
- [6] Kume T, Takehisa M. Second International Conference on Chitin and Chitosan. Sapporo, Japan, 1982, 66~70.
- [7] Ulanski P, Rosiak J. *Radiat Phys Chem*, 1992, 39: 53~57.
- [8] Zhao Wenwei, Zhong Xiaoguang, Yu Li, Zhang Yuefang, Song Jiazhen. *Polym Degrad Stability*, 1993, 41: 83~84.
- [9] Lim L Y, Khor E, Kool O. *J of Biomedical Materials Research*, 1998, 43(3): 282~290.
- [10] Borynies S, Strobin G, et al. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 1997, 3(4): 359~368.
- [11] Matsuhashi S, Kume T. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 1997, 73(2): 237~241.
- [12] Blair H S, Guthrie J, Law T, Turkington P. *J Appl Polym Sci*, 1987, 33: 641.
- [13] Shigeno Y, Kondo K, Takemoto K. *J Macromol Sci-Chem*, 1982, A17(4): 571~583.
- [14] 刘鹏飞. 羧甲基纤维素水凝胶的辐射合成及甲壳素的辐射改性. 北京: 北京大学, 1994.
- [15] Singh D K, Ray A R. *Carbohydrate Polymers*, 1998, 36(2~3): 251~255.
- [16] Singh D K, Ray A R. *Journal of Membrane Science*, 1999, 155(1): 107~112.
- [17] Singh D K, Ray A R. *Journal of Applied Polymer Science*, 1997, 66: 869~877.
- [18] 翟茂林. 水凝胶的辐射合成、性质及应用. 北京: 北京大学, 1999.
- [19] Lee J W, Kim S Y, Kim S S, Lee Y M, Lee K H, Kim S J. *J Appl Polym Sci*, 1999, 73(1): 113~120.
- [20] Canh Tran Tich. IAEA/RCA Regional Training Course on Radiation Processing of Natural Polysaccharides, Ho Chi Minh City, Viet Nam, 3-7 July, 2000.
- [21] Dzong N A. IAEA/RCA Regional Training Course on Radiation Processing of Natural Polysaccharides, Ho Chi Minh City, Viet Nam, 3-7 July, 2000.

## Application of Ionizing Radiation in Modification of Chitin/chitosan

ZHAI Mao-lin, LIN Lin, LI Jiu-qiang, HE Ping, WEI Gen-shuan

(College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

**Abstract:** Ionizing radiation is one of important methods used in the modification of natural polymer chitin/chitosan. The latest progress including radiation processing of chitin/chitosan and application of radiation modified chitin/chitosan in this area is reviewed in this paper.

**Key words:** Ionizing radiation technology, Chitin, Chitosan