

低分子量壳聚糖制备与应用研究进展

朱孔营, 渠荣遴*, 李 方

(天津大学分析中心, 天津 300072)

摘要:低分子量壳聚糖因具有特殊的生物活性而日益受到人们的关注。本文概要介绍了近5年来国内外低分子量壳聚糖的研究进展, 包括低分子量壳聚糖的制备方法, 如酶降解法、酸水解法、氧化降解法、物理法等, 以及低分子量壳聚糖在农业、医药、抗菌、化妆品、食品等方面的应用。

关键词:低分子量壳聚糖; 制备; 应用

甲壳素是自然界中除纤维素外蕴藏量最大的天然高分子化合物之一, 广泛存在于海洋节肢动物, 如虾、蟹的甲壳之中, 也存在于菌类、昆虫类、藻类细胞膜和高等植物的细胞壁中, 分布极其广泛。通过将甲壳素脱乙酰化可制得壳聚糖, 壳聚糖是天然糖中唯一大量存在的碱性氨基多糖, 具有许多特殊的物理化学性质和生理功能, 在纺织、印染、造纸、食品、化工、环保、农业及医药等领域都有很高的实用价值。但由虾蟹壳制得的壳聚糖分子量很大, 不能直接溶于水, 其实际应用功能受到了很大的限制。近年来, 低分子量壳聚糖的制备得到了许多学者的重视, 对壳聚糖的降解方法进行了深入的研究。

1 低分子量壳聚糖的制备

目前, 通过降解反应制备低分子量壳聚糖的方法主要有酶降解法、酸水解法、氧化降解法、物理法等。

1.1 酶降解法

酶法降解壳聚糖, 就是用特定的酶对壳聚糖进行降解, 它可以选择性地切断壳聚糖分子中的 β -1, 4 糖苷键, 从而制得特定的低分子量壳聚糖, 克服了化学降解产品分子量分布宽、均一性差的缺点, 产品均一性好。与其它降解方法相比, 酶降解法不发生副反应, 反应条件温和, 工艺较易控制, 是一种较为理想的降解方法。

酶降解法可分为专一性酶降解法和非专一性酶降解法。

1.1.1 专一性酶降解法 专一性酶主要是指甲壳素酶和壳聚糖酶。甲壳素酶广泛分布于细菌、真菌、放线菌等多种微生物以及植物组织和动物的消化系统中^[1]。该酶系一般被诱导为多酶复合体: 即甲壳素外切酶、内切酶和 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶。甲壳素酶降解甲壳素的途径为: 先由降解酶系统水解甲壳素的糖苷键, 如外切酶从甲壳素分子链的非还原端开始, 以甲壳二糖为单位, 依次酶解; 内切酶则随机水解糖苷键; 由外切酶水解成的甲壳二糖, 被 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶水解成单糖, 有些 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶也有较弱的外切酶活性, 也是从甲壳素的非还原端开始直接水解成单糖。

壳聚糖酶主要存在于真菌细胞中, 根据作用模型可分为外切型和内切型两种, 内切型壳聚糖酶以释放二聚体、三聚体或低聚糖为主, 外切型则从壳聚糖的非还原末端产生单糖残基——氨基葡萄糖^[2]。曾嘉、郑连英^[3]的研究表明, 以几丁质为载体固定化壳聚糖酶可显著增长其活性时间, 将固定化酶与壳聚糖溶液在 60℃ 下连续反应 10 次, 每次反应时间为 6h, 固定化酶的活力基本保持稳定, 活力损失小于 10%。

1.1.2 非专一性酶降解法 非专一性酶主要有溶菌酶、脂肪酶、蛋白酶和纤维素酶等。溶菌酶主要存在于鸡蛋蛋白、人的血清及唾液中。溶菌酶的天然底物为某些真菌细胞壁中的粘肽、甲壳素以及部分 N-乙酰-化壳聚糖。脂肪酶是作用于水-有机界面上不溶性底物的酶。蛋白酶主要有木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、

作者简介:朱孔营, 男, 山东省沂水县人, 硕士研究生, 主要从事于高分子材料改性与应用方面的研究。

* 通讯联系人, Email: qrl@eyou.com

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶和胰液素等。

周孙英等^[4]对 4 种不同类型酶降解壳聚糖的效果作了比较,分别在 4 种酶的最适宜条件下反应,胃蛋白酶对壳聚糖水解速度最快,纤维素酶的水解速度仅次于胃蛋白酶,其次是脂肪酶,溶菌酶的水解速度最慢。Zhang 等^[5]用由纤维素酶、淀粉酶、蛋白酶组成的复合酶降解壳聚糖,结果得到了聚合度为 3~10 的低分子量壳聚糖。Lin 等^[6]的研究发现木瓜蛋白酶主要作用于数均分子量为 5~20 万的脱乙酰度较低的壳聚糖。木瓜蛋白酶的特点是价格低廉,容易得到,用它降解壳聚糖,反应中酶活性不变,降低了生产成本,是一种有工业化潜力的酶降解方法。

1.2 酸水解法

酸水解法是降解甲壳质和壳聚糖的传统方法。壳聚糖在酸性溶液中是不稳定的,会发生糖苷键的断裂,即长链的部分水解,形成许多聚合度不等的片段。酸水解法的优点是价格低廉,操作简单,缺点是反应难以控制,得到的低分子量壳聚糖的分子量分布难以控制,并且对环境污染严重。目前,酸水解法主要有,盐酸水解法、磷酸水解法、乙酸水解法、过醋酸水解法、氢氟酸水解法、酸-亚硝酸盐水解法、浓硫酸水解法等。刘晓等^[7]以不同浓度(2、3、4、6M)盐酸对壳聚糖降解实验,在 6M 的盐酸水解处理中,壳聚糖降解在 12h 时达到最高值(76.4%)。曾坤伟等^[8]采用 HCl 和 H_3PO_4 的水/醇溶液为反应介质降解壳聚糖,并用无水乙醇沉淀和洗涤,制备出收率超过 95%的水溶性的微晶壳聚糖。

1.3 氧化降解法

氧化降解法是近年来国内外研究比较多的壳聚糖降解方法。尤其是关于 H_2O_2 氧化降解壳聚糖的研究,由于该方法具有反应速度快、产率高、反应物无毒等优点,是一种理想的化学降解方法,正受到越来越多的关注。

1.3.1 H_2O_2 氧化降解法 H_2O_2 氧化降解法是国内研究比较多的壳聚糖降解方法,可分为均相降解法和非均相降解法两种^[9]。均相降解法是将一定量的壳聚糖溶解在稀盐酸或稀醋酸溶液中,然后加入一定浓度的 H_2O_2 溶液进行降解反应,反应完成后加入 NaOH 溶液中和,然后加入无水乙醇沉淀分离得到低分子量壳聚糖。非均相降解法是指在水或稀碱性溶液中加入壳聚糖粉末或者小颗粒,壳聚糖不溶解,悬浮于水或碱性溶液中,然后加入 H_2O_2 溶液进行反应,得到低分子量壳聚糖。严淑兰等^[10]以乙酸为介质,以 H_2O_2 为氧化剂,进行了壳聚糖降解的正交实验,获得了最佳实验条件: H_2O_2 浓度 4%,反应温度 50℃,反应时间 2h,乙酸浓度 4.5%。覃彩芹等^[11]分别以 H_2O 、HCl、HAc、NaOH 为介质, H_2O_2 为氧化剂降解壳聚糖,讨论了反应介质和反应条件对壳聚糖分子量的影响。

1.3.2 其它氧化降解法 除了单纯用 H_2O_2 降解壳聚糖之外,还可以在 H_2O_2 中混入其它的化学物质以提高降解效率。NaClO 本身具有很强的氧化性,在水溶液中电离可以产生 ClO^- ,能选择性进攻 β -1,4 糖苷键,对壳聚糖进行氧化降解。罗平等^[12]用 NaClO/ H_2O_2 混合体系氧化降解壳聚糖,采用 H_2O_2 1~4%,NaClO 1%~3%,反应温度 40~90℃,反应时间 1~4h 比较适宜,这时产品收率和外观质量都比较好。

还有报道以过硼酸钠($NaBO_3$)为氧化剂氧化降解壳聚糖。林正欢等^[13]将壳聚糖与 $NaBO_3$ 在酸溶液中进行均相降解反应,结果表明降解产物氨基含量基本无变化,壳聚糖环结构保持完整,氧化断键发生在 1,4-糖苷键上。

1.4 物理法

对壳聚糖的降解,除了上述的酶降解法、酸水解法和氧化降解法,其它还有一些用物理的方法,如微波法、辐射法和超声波法等。一种是在上述方法的基础上辅助加以微波法、辐射法和超声波法,Choi 等^[14]以 2-200kGy 的辐射量辐射溶解在 2%乙酸溶液中的壳聚糖,随辐射量的增加,壳聚糖溶液的粘度下降,在辐射量增至 10kGy 前,溶液粘度下降迅速,之后溶液粘度变化幅度减缓,而且随着辐射量的增加,产物的颜色逐渐加深。周孙英等^[15]研究了在超声波的辐射下,壳聚糖在稀醋酸溶液中的降解,壳聚糖浓度为 1%左右,醋酸浓度为 5%~10%,降解速度最快,辐射 7h 后粘度下降了 73%。随着超声波作用时间的延长,低聚糖的含量逐渐增大,分子量也随之降低。另一种是直接用微波或超声波辐射壳聚糖固体,在固态下将壳聚糖降解为低分子量的壳聚糖。Hai 等^[16]将脱乙酰度为 90%和 99%的壳聚糖粉末装入聚乙烯

袋中,以放射源为 Co^{60} 的 γ 射线辐射,结果发现开始辐射后,壳聚糖的分子量下降很快,辐射量超过 200kGy 后分子量下降不明显,并且脱乙酰度高的壳聚糖分子量要下降得快一些。李治等^[17]以 γ 射线照射玻璃瓶中的固体片状壳聚糖,相同的辐射量时,真空下的壳聚糖要比常压下的壳聚糖的分子量要低,辐射降解不但没有破坏壳聚糖分子链上的 $-\text{NH}_2$,反而使其数量略有增加。壳聚糖的辐射降解一般服从无规降解动力学,分子链上任何一处的同类化学键都有均等的断裂机会,对壳聚糖的降解过程是通过辐射使糖苷键随机性切断的过程,降解产物分子量随着辐照强度及辐照时间的增加而减小,并且降解产物分子量的均一程度随着辐照剂量的提高而提高。

2 低分子量壳聚糖的应用

2.1 低分子量壳聚糖在农业方面的应用

低分子量壳聚糖在农业上可以用于植物生长调节、饲料添加剂、种子处理、农产品保鲜、抗病虫害等诸多方面,并且因其无毒、无害、无污染可安全降解等特点而具有广阔的应用前景。相比未处理过的种子,低分子量壳聚糖处理过的种子具有较高的发芽率和发芽指数,王延峰等的研究表明^[18],适宜浓度的低分子量壳聚糖处理能提高种子淀粉酶的活性,淀粉酶将种子中的淀粉转化为简单的有机化合物供种子萌发时对营养的需要。

目前,低分子量壳聚糖对植物病害的诱抗机理尚不清楚。研究表明,低分子量壳聚糖可诱导植物的活性氧迸发,使过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、几丁质酶、过氧化物酶等防御酶的活性发生变化^[19~23]。同时,低分子量壳聚糖的诱抗活性与其溶液浓度、分子量和脱乙酰度有着密切的联系,分子量在 500~2000 之间,高脱乙酰度的低分子量壳聚糖具有好的抑菌效果,对应不同的病原菌所需的有效壳聚糖浓度不同^[24,25]。

2.2 低分子量壳聚糖在医学方面的应用

低分子量壳聚糖对人体细胞有良好的生物相容性与亲和性,其单体与人体中透明质酸的单体一致,与人体细胞不会产生排斥反应,无抗原性。这一独特的性质使得它在医药品中有许多重要的应用。低分子量壳聚糖在生物医学方面的重要功能之一就是其对肿瘤的抑制作用,其抑瘤机理尚不清楚,报道的结果相互矛盾的很多,一种认为是活化了巨噬细胞、NK 细胞、T 和 B 细胞,从而激活了机体免疫系统,从而消灭肿瘤细胞^[26~28]。另一种说法是低分子量壳聚糖具有直接抑制肿瘤细胞繁殖的作用^[29,30]。

壳聚糖分子中的氨基和羟基能与金属离子发生螯合作用,利用这一性质可将低分子量壳聚糖制成去除人体内过量的重金属的药物。苏庆等的研究表明^[31],低分子量壳聚糖螯合 Pb^{2+} 的过程是一种离子取代,反应平衡时间较快,其半交换时间是 22s。所以它能够快速、有效地降低血铅浓度,并且不会造成 EDTA 等药物治疗引起的人体必需微量元素平衡的破坏,避免产生副作用。

低分子量壳聚糖的分子结构中具有质子化铵,质子化铵能与细菌带负电荷的细胞膜作用,干扰细菌细胞膜功能造成细菌体内细胞质流失。同时,低分子量的壳聚糖由于分子量小,能进一步进入菌体内部,扰乱细胞的正常生理代谢^[32]。

覃彩芹等^[33]用微热量法测量低分子量壳聚糖对金黄色葡萄球菌的抑菌作用,同时用平板法测水溶性壳聚糖抑制多种细菌的活性,结果表明 2% 浓度低分子量壳聚糖可以完全抑制这些细菌的生长。郑连英等^[34]的研究表明:壳聚糖对不同细菌的抑制效果随着分子量的变化而变化,壳聚糖对金黄色葡萄球菌的抗菌作用随分子量减小而逐渐减弱,对大肠杆菌分子量越小,抗菌作用越明显。目前,以壳聚糖为基础原料的壳聚糖无纺布、壳聚糖流延膜、壳聚糖涂层纱布等多种医用敷料已经用于临床。含有低分子量壳聚糖的医用纱布具有止血、促进伤口愈合的功效。

2.3 低分子量壳聚糖在化妆品方面的应用

低分子量壳聚糖在化妆品方面的应用主要是利用其优良的保湿增湿性能。低分子量壳聚糖本身具有成膜功能,又具有良好的透气性能,是一种强的吸湿剂与保湿剂,与传统的保湿增湿剂相比,低分子量壳聚糖的保湿增湿效果更佳,在洗面奶及各类膏、霜中使用更显其优越性,低分子量壳聚糖可在皮肤表面

形成一层膜,可阻断或减弱紫外线对皮肤的伤害,而且,低分子量壳聚糖良好的透气性又不影响皮肤排泄废物和毒素,本身所具有的抑菌作用还会抑制或杀死皮肤表面的有害微生物,不会形成粉刺^[35]。因为低聚壳聚糖分子量较小,较之大分子壳聚糖更易于被皮肤所吸收、促进血液循环,以此制成的膏、霜类化妆品可通过毛孔等直接渗入皮肤内部甚至于细胞内部,起到调理、保护、滋润皮肤的功能^[36]。

2.4 低分子量壳聚糖在食品方面的应用

低分子量壳聚糖作为一种生物活性的天然高分子化合物,具有低甜度、低热值、降血脂、降血糖等功效,而且无毒、无副作用。以低分子量壳聚糖为主要原料生产的生物保健品,不仅有利于人体肠内双歧杆菌的增殖,同时可抑制肠内有毒菌和腐败物质的生成,增加人体内纤维素的质和量、提高机体的免疫力^[37]。低分子量壳聚糖具有非常爽口的甜味,且不易被体内消化液降解,故几乎不产生热量,是糖尿病人、肥胖病人理想的功能性甜味剂^[38]。另外,低分子量壳聚糖在水溶液中容易形成牢固膜,此膜对气体有选择渗透性,非常适合做食品保鲜剂^[39]。

3 结束语

低分子量壳聚糖因其独特的性能,而在农业、医药、抗菌、化妆品、食品等方面取得了广泛的应用。我国有漫长的海岸线,盛产虾蟹,甲壳素和壳聚糖蕴藏量十分丰富。虽然目前低分子量壳聚糖的制备方法 & 理论还不够完善,但低分子量壳聚糖诱人的应用前景必将激励广大科研工作者在该领域中的不断探索。

参考文献:

- [1] 王霞,黎碧娜,吴勇.香料香精化妆品,2002,72(3):28.
- [2] 刁建忠,蒋世琼.四川食品与发酵,2003,39(116):30.
- [3] 曾嘉,郑连英.食品科学,2001,22(10):21.
- [4] 周孙英,余萍,陈盛,等.海峡药学,2003,15(1):58.
- [5] Zhang H, Du Y G, Yu X J, et al. Carbohydr Res, 1999, 320, 257.
- [6] Lin H, Wang H Y, Xue C H, et al. Enzyme Microb Tech, 2002, 31, 588.
- [7] 刘晓,石瑛,白雪芳,等.中国水产科学,2003,10(1):69.
- [8] 曾坤伟,李夜平,方月娥.应用化学,2002,19(3):216.
- [9] 赵海峰,张敏卿,曾爱武.化工进展,2003,2:160.
- [10] 严淑兰,陆大年.化工新型材料,2001,29(12):21.
- [11] 覃彩芹,肖玲,杜予民,等.武汉大学学报(自然科学版),2000,46(2):195.
- [12] 罗平,何波兵,蔺显俊.化学研究与应用,2000,12(6):677.
- [13] 林正欢,夏峥嵘,李绵贵.精细石油化工进展,2002,3(10):14.
- [14] Choi W S, Ahn K J, Lee D W, et al. Polym Degrad Stab, 2002, 78, 533.
- [15] 周孙英,陈盛,唐威.海峡药学,2002,14(3):5.
- [16] Hai L, Bang D T, Nagasawa N, et al. Nucl Instr and Meth in Phys Res B, 2003, 208, 466.
- [17] 李治,刘晓非,徐怀玉,等.应用化学,2001,18(2):104.
- [18] 王延峰,宋爱玲,郭力民,等.青海师范大学学报(自然科学版),2002,1:63.
- [19] 郭红莲,杜昱光,白雪芳,等.中国海洋药物,2003,1:11.
- [20] 郭红莲,白雪芳,李曙光,等.园艺学报,2003,30(5):577.
- [21] 胡健,陈云,陈宗祥.江苏农业研究,2000,21(4):37.
- [22] 杜昱光,白雪芳,赵小明,等.中国生物防治,2002,18(2):83.
- [23] Vasyukova N I, Zinov 'eva S V, Il 'inskaya L I, et al. Appl Biochem Microbiol, 2001, 37(1):103.
- [24] 李曙光,白雪芳,杜昱光.中国海洋药物,2002,6:1.
- [25] 胡健,姜涌明,殷士学.扬州大学学报(自然科学版),2000,3(2):42.
- [26] 文镜,吕菁菁,戎卫华,等.食品科学,2002,23(8):249.
- [27] 刘莹,柳红.徐州医学院学报,2002,22(2):148.
- [28] 王芳宇,何淑雅,李邦良,等.中国生化药物杂志,2001,22(1):21.
- [29] 杜昱光,白雪芳,金宗廉,等.中国海洋药物,2002,2:18.

[30] 杜昱光, 张铭俊, 张虎, 等. 中国微生态学杂志, 2001, 13(1); 5.
[31] 苏庆, 田长青, 孟雨吟, 等. 山东医药工业, 2002, 21(6); 45.
[32] 严钦, 沈月新. 食品研究与开发, 2003, 24(2); 26.
[33] 覃彩芹, 杜予民, 刘义, 等. 孝感学院学报, 2001, 21(6); 9.
[34] 郑连英, 朱江峰, 孙昆山. 材料科学与工程, 2000, 18(2); 22.
[35] 谭天伟. 精细与专用化学品, 1999, 8; 14.
[36] 张文清, 柴平海, 金鑫荣, 等. 高分子通报, 1999, 2; 73.
[37] 柴平海, 张文清, 金鑫荣. 大学化学, 1999, 14(2); 36.
[38] 康卓, 董哲. 辽宁化工, 2001, 5; 208.
[39] 董佳. 粮油加工与食品机械, 2001, 8; 40.

Research Progress in Preparation and Application of Low Molecular Weight Chitosan

ZHU Kong-ying, QU Rong-lin, LI Fang
(Analysis Center, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract:People are paying more and more attention to low molecular weight chitosan because of its special biologic activity. This article introduces the research progress of low molecular weight chitosan in the recent five years, including preparation method such as enzymatic depolymerization method, acid hydrolysis method, oxide depolymerization, physical method and so on, and its application in agriculture, pharmaceutical, antibacterial, cosmetics and food.

Key words:Low molecular weight chitosan; Preparation; Application

(上接第 23 页)

Preparation and Applications of Polymer-metal Nanocomposites

CHEN Ping¹, ZUO Fang¹, DONG Xing-long², ZHONG Wu-bo²
(1. College of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China;
2. College of Material Science and Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116023, China)

Abstract:In this paper, preparations and applications of polymer-metal nanocomposites are summarized. The preparations include in-situ, ion implantation, radiation chemistry, photochemistry, direct dispersion, ball milling. Potential prospect s of these materials are also expected.

Key words:Nanocomposites; Metal nanoparticles; Polymer; Preparations; Applications