

甲壳寡糖的研究与应用

STUDY AND APPLICATION OF CHITOLIGOSACCHARIDES

邢荣娥^{1,2} 刘 松^{1,2} 李鹏程^{1,*}

(¹ 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

(² 中国科学院研究生院 北京 100039)

甲壳质,又名甲壳素、几丁质,主要存在于虾、蟹、蛹及昆虫等动物外壳以及菌类、藻类植物的细胞壁中^[1]。甲壳质及其衍生物具有良好的吸湿性、成膜性、气透性、降解性、生物相容性、无毒副作用以及不污染环境的优良性质,广泛应用于环保、水处理、食品、化工、医药、纺织、造纸、烟草、农业、化妆品、印

染、生物医学、酶制剂、保健品、金属回收及提取等许多行业中。甲壳质作为一种纯天然可再生的自然资源,开发及应用具有极其深远的意义。但是,甲壳质的高度不溶性极大地限制了它的应用,必须对甲壳质进行化学深加工,进行结构修饰,或完全溶解或部分降解其分子链,从而得到一些具有特殊性

质,水溶性有所改善的衍生物产品。

甲壳寡糖是甲壳质或壳聚糖

第一作者:邢荣娥,出生于1975年,硕士。电话:0532-2898707

* 通讯联系人

收稿日期:2001-06-26;

修回日期:2001-11-20



部分降解的产物,是一类由 α -乙酰氨基葡萄糖或氨基葡萄糖通过 β -1,4 糖苷键连接起来的低聚合度水溶性的糖类。它具有独特的生理活性和功能性质,在食品、医药、农业、化妆品等领域显示了广阔的应用前景。

1 寡糖的应用及作用机理

以单糖作为一个单元,甲壳寡糖一般是指 2~10 个单元的低糖,可通过甲壳质或壳聚糖水解制得,它溶于水、弱酸等溶剂,有着广泛的应用前景。

1.1 医药品

甲壳寡糖具有多方面生理功能以及抗肿瘤效果,特别是甲壳六聚糖具有很强的生理活性。早在 1985 年, Suzuki 等就用甲壳六聚糖对小鼠进行抗肿瘤测试,得到了明显效果;1997 年,王中和等又用低分子壳多糖口服液对临床患者进行辅助治疗,发现白细胞、淋巴细胞的总数保持稳定, T 淋巴细胞的数量显著上升,也说明了低分子壳多糖的抗肿瘤辅助疗效。因此,它可作为早期肿瘤的治疗药物。

其作用机理为^[2]: α -乙酰-D 糖胺(GlcNAc) 或 D 糖胺(GlcN) 残基与巨噬细胞表面受体结合后,激活巨噬细胞释放 IL-1 , 同时引起 T 细胞表面 IL-2 受体表达,而这又加速了 T 细胞成熟而释放 IL-2 , IL-2 与受体结合后,进一步加速 T 细胞分化成熟为细胞毒性 T 细胞,从而产生抗肿瘤作用。

1.2 医疗诊断

溶菌酶作为消炎剂在医药上应用广泛,在食品中用作防腐剂,在动物的血和尿中也含有一定量的溶菌酶,所以溶菌酶可以作为检

验某种病患的一个指标。人体血液和尿中含溶菌酶,患者比正常人含该菌酶高。有人选取甲壳四聚糖并与对-硝基苯酚合成,产生发色基团,可作为临床诊断试剂,快速而简便,可在医学、畜牧中应用。Nanjo 等用甲壳五糖合成了衍生物 P-硝基酚五(α -乙酰基)- β -壳寡五糖,用作溶菌酶培养基,结果表明比四糖作为发色基团效果更好。

1.3 食品领域

几丁寡糖具有柔和甜味,可作为素材加以利用。甲壳寡糖也具有增强人体免疫力的作用,有希望在改善食品结构,提高食品保水性能方面有重要作用。另外,甲壳低聚糖在食品中还有一定的抗菌作用^[3], 研究结果表明相对分子质量为 1500 的甲壳寡糖,质量浓度 1 g/L pH 6.0 时,其抑菌效果很好,但 pH > 6.0 时,其抑菌率开始减小并有所下降。而相对分子质量为 440 000 的壳聚糖,质量浓度为 2.5 g/L 时,在 pH 5.2 以下,抑菌作用基本上与 1 g/L 的甲壳低聚糖相当。它的作用机理有报道说,低分子量壳聚糖能使 DNA 转录受阻,从而显示出抗菌性影响细菌繁殖。

1.4 在农业上的作用

农业上作为植物生长调节剂和新型生物农药。甲壳四、五、六聚糖含量大于 80%, 对多品种水果、蔬菜、粮食等的抗病虫害和促进生长方面有显著作用。用甲壳寡糖溶液对小麦拌种,可以防止地下霉菌对种子的危害,提高抗病能力,抗倒伏能力等。例如,李鹏程等人研制的“农乐一号”,可诱导植物体内酶,促进植物细胞代谢,增加抗病蛋白质合成,提高植物免疫能力,可增产 10% 以上。

1.5 在化妆品方面

甲壳低聚糖作为化妆品材料^[4], 效果很好,首先甲壳质的超微粉末可加速其渗透作用;其次,壳寡糖盐的水溶液可改善皮肤和毛发的保湿功能且具有很强的抑菌性,邵健、杨宇民在低聚氨基葡萄糖的吸湿、保湿和抑菌性质一文中对此作了很好的说明;再次,水溶性甲壳质衍生物可开发出皮肤护理剂、毛发加工保护剂和防晒剂。

1.6 在生物生理方面

寡聚糖(6~9) 对植物病原菌有抗菌活性,并能诱导豌豆产生抗菌物质豌豆素,在瓜苗中,壳聚糖引发甲壳质酶的活性, Dominique Roby 等人在甲壳寡糖诱导瓜苗中壳多糖酶活性一文中对此作了详尽报道。它对老鼠有显著的免疫机能亢进效果和抗癌活性,还可提高血浆溶菌酶活性。

2 寡糖的制备

因不同聚合度的甲壳寡糖在功能技术方面有很多差异,因此各国学者在寡糖的制备研究上应用了很多方法,大致可分为 4 大类: (1) 酸降解; (2) 生物酶法; (3) 氧化降解; (4) 超声波降解。氧化降解及超声波降解在近几年研究较多,均在壳寡糖的发展上起到积极的作用。而酸使用上的简便及它的稳定性、酶的特异性、有选择性,都使国内外学者产生了很大的兴趣,在酸法、酶法降解上报道很多。

2.1 酸降解

酸降解是对甲壳质降解的一种很基本简便的方法,应用不同的酸所得结果也不尽相同。但均未得到系列聚合度的寡糖 2~7。

Tanida 等 1989 年将几丁聚糖溶解于 0.2 mol/L 的盐酸中配置成



2%的溶液,在高压蒸锅中反应,然后用 NaOH 中和,获得分子量为 1 000 ~ 5 000 的低聚糖。坂井等对高效生产一系列聚合度的几丁聚糖的方法进行了探讨。又有 Kooryama 等 1994 年用乙酸制备了水溶性的几丁聚糖,在 180 ml 水中加入 20 g 几丁聚糖,13.7 g 35% 的双氧水和 4g 乙酸,于 50 °C 降解 18 h,然后缓慢加入 NaOH,调节 pH 值到 10。在 5 °C 静置 18 h,离心去除水不溶物,上清液经透析、浓缩、丙酮沉淀,得到水溶性几丁聚糖。但此降解所需时间较长,处理过程困难,不宜于大规模生产。还有 Hasegawa 和 Isogai 1993 年用 85% 的磷酸,在室温下均相水解几丁聚糖,反应一段时间后,加入过量甲醇,在溶液中得到水溶性和水不溶性两种寡糖,其聚合度分别为 16.8 和 7.3,产率分别为 43% 和 12.5%。

另外,还有亚硝酸降解,产率可达 90% 以上;HF 降解,对解离的寡糖几乎不损伤,能定量回收所得的几丁聚糖。

2.2 酶法

酶具有可选择性,它可将几丁聚糖从特定的位置断开而得到特异的寡糖,无副反应,条件温和,环境污染少。但致命弱点为酶易失活,而且酶降解时间长,也不易于工业化。到目前为止还尚未发现专一生成三、四、五等寡糖的甲壳质酶^[5]。而且它还受几丁质脱乙酰度的影响。目前,几丁聚糖水解酶主要有几丁聚糖酶、溶菌酶、N-乙酰葡萄糖胺酶以及非专一性水解酶

等^[6]。溶菌酶具有水解 β -1,4 糖苷键的作用,可使高聚物水解为低聚物;也具有较强的糖转移能力,可使低聚糖的几丁寡聚糖生成高聚合度的几丁寡糖^[7]。另外还有报道发现,溶菌酶与几丁寡糖的反应动力学与脱乙酰度有关,随着 N-乙酰化度的增加,其反应初速度增加。几丁聚糖酶作用的最适 pH 值为 4.0 ~ 6.8,经 Mizzarelli 等研究,几丁聚糖水解速度,在均相反应中,随着 N-乙酰度的提高, K_m (速率常数) 增大, V_{max} (酶的水解速率) 降低;在非均相反应中,脱乙酰度小于 36% 的不易被水解。非专一性水解酶,存在于微生物、动物和植物中,包括糖酶、蛋白酶、脂肪酶等。它们的水解最适 pH 值为 3 ~ 5,以溶液黏度的下降表示水解效果,各类水解酶在水解初期,溶液黏度迅速下降,说明酶主要以内切方式作用,反应不遵循 Michaelis-Menten 动力学,提高底物浓度或提高酶浓度均可提高反应速度,最终寡糖产物分子量为 10 kD 左右。

3 发展前景

当今社会,由于人们的劳动强度加大,竞争意识增强,环境污染加重,使人们出现体内平衡失调、血管内积瘀,血液循环不良,机体老化,新陈代谢能力降低,人体对药物、营养物质吸收能力下降等现象。而低分子或单分子氨基葡萄糖具有很强的渗透力和亲和力,容易透过人体的细胞膜,流通人体血管内的积瘀,使毛细血管正常工作,改善微循环,发挥其防病和辅助治

病的保健功效。因此低分子和单分子氨基葡萄糖具有巨大的发展潜力。

另外,对甲壳低聚糖的化学研究包括分离、检出、结构鉴定、顺序测定以至合成,目前尚缺乏有效手段,远不如蛋白质、核酸所达到的研究水平。加强对不同分子量甲壳低聚糖与生物活性的构效关系的研究,了解其生物功能所对应的最佳分子量范围,建立新的分离技术,采用有效的新方法,这些方面的研制与开发都应提到十分重要的位置上来。

参考文献

- 1 章朝晖、黄平。甲壳素衍生物的制备工艺,广西化工,2000,29(3): 20 ~ 24
- 2 竺国芳、赵鲁杭。几丁寡糖和可寡糖的研究进展,中国海洋药物,2000,19(1): 43 ~ 46
- 3 夏文水、张帆、何新益。甲壳低聚糖抗菌作用及其在食品保藏中的应用,无锡轻工大学学报,1998,17(4): 10 ~ 14
- 4 杜予民。甲壳素化学与应用的新进展,武汉大学学报(自然科学版),2000,46(2): 181 ~ 186
- 5 黄丽萍、刘宗明。几丁寡糖、壳聚糖的应用与开发,中国微生物杂志,1998,10(3): 180 ~ 183
- 6 郑立、陈西广、刘晨光等。几丁聚糖降解技术的研究进展,海洋科学,2000,24(10): 18 ~ 20
- 7 张立彦、曾庆孝。酶法在低壳聚糖制备上的研究及展望,湛江海洋大学学报,2000,20(4): 72 ~ 78

(本文编辑:张培新)