

壳寡糖的制备及应用研究

郭蔓, 赵华, 张朝正*

(天津科技大学 生物工程学院 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津市工业微生物重点实验室,
天津市微生物代谢与发酵过程控制技术工程中心, 天津 300457)

摘要: 壳寡糖是壳聚糖通过物理、化学或酶水解法脱乙酰解聚而得到的降解产物。与壳聚糖和甲壳素相比, 壳寡糖具有较低的分子量、较高的脱乙酰度、黏度低、溶解性高、胃肠道易吸收、可生物降解性、生物相容性等优点。文章对壳寡糖的不同制备方法进行了比较, 阐述了壳寡糖在食品、农业、畜牧业以及人类健康、日化品等各个领域的研究与应用, 并对壳寡糖的未来应用和研究方向进行了展望。

关键词: 壳寡糖; 制备; 应用

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-2513 (2022) 10-0267-05

doi: 10.19804/j.issn1006-2513.2022.10.033

Preparation and application of chitosan oligosaccharides

GUO Man, ZHAO Hua, ZHANG Chaozheng*

(Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education,
School of Bioengineering, Tianjin University of Science and Technology,
Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, Tianjin Microbial Metabolism and
Fermentation Process Control Technology Engineering Center, Tianjin 300457)

Abstract: Chitosan oligosaccharide is a degradation product of chitosan by physical, chemical or enzymatic hydrolysis deacetylation and depolymerization. Compared with chitosan and chitin, chitosan oligosaccharide has the advantages of low molecular weight, high degree of deacetylation, low viscosity, high solubility, easy absorption in gastrointestinal tract, biodegradability and biocompatibility. This paper compared different preparation methods of chitosan oligosaccharides, and expounded the research and application of chitosan oligosaccharides in food, agriculture, animal husbandry, human health, daily chemicals and other fields. The future application and research direction of chitosan oligosaccharides were prospected.

Key words: chitosan oligosaccharide; preparation; application

近年来, 由于壳寡糖具有各种各样的生物活性, 引起了人们的广泛关注。壳寡糖是壳聚糖的

水解产物, 壳聚糖是甲壳素通过脱乙酰得到的产物。甲壳素是除纤维素外最丰富的天然资源, 是

收稿日期: 2021-12-16

基金项目: 国家自然科学基金 (32072203)

作者简介: 郭蔓 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物与医药。

*通信作者: 张朝正 (1977-), 男, 高级实验员, 博士, 研究方向: 生物与医药。

蟹、虾、小龙虾等甲壳类动物壳的主要成分^[1]。如图1壳寡糖的结构所示,壳寡糖的聚合度通常为2~20,与壳聚糖相比,壳寡糖具有低黏度、高水溶性、生物相容性和可生物降解性等理化特性^[2]。在日常生产和应用中,壳聚糖可用于食品、制药、纺织、废水处理等行业,但由于其水溶性较差,从而限制了其在食品和生物医学领域的应用^[3]。壳寡糖作为壳聚糖的脱乙酰产物,具有良好的水溶性,从而能够弥补壳聚糖应用上的不足,能够在食品生物医药领域得到很好的应用。一般情况下壳寡糖的制备主要通过物理方法、化学方法、酶方法进行制备。化学降解法主要有酸水解以及氧化降解等化学方法。特别是酸水解法,因操作方便、生产成本低,从而能够广泛应用于壳寡糖的大规模生产。酶方法由于产率高、环境污染小、反应条件温和、安全、易于控制等优点,从而得到了近年来的广泛关注和应用。壳寡糖由于其具有各种各样的生物活性,从而在食品、农业、畜牧业、人体健康以及日用品中具有重要的研究意义和研究价值。本文主要对壳寡糖的制备过程,以及壳寡糖的广泛应用进行了论述。

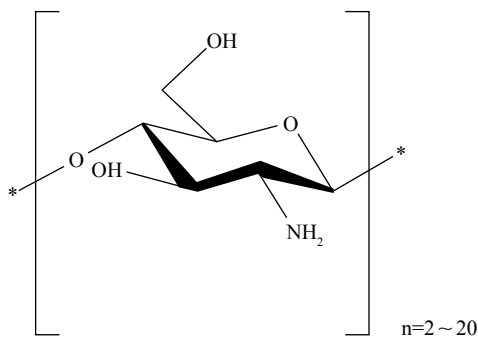


图1 壳寡糖的结构

Figure 1 Structure of chitosan oligosaccharide

1 壳寡糖的制备过程

一般情况下壳寡糖可以通过物理、化学或酶解工艺制备^[4],如表1所示。物理方法主要有超声波处理、微波降解、紫外线照射等方法。与化学降解相比,物理降解产物结构简单,环境友好。通过物理降解得到的壳寡糖产品纯度较高。

但由于该方法的收率较低,对壳寡糖的大规模生产有很大的限制。

表1 壳寡糖的制备方法比较

Table 1 Comparison of preparation methods of chitosan oligosaccharides

方法分类	优点	缺点
物理降解	高纯度	产量低
化学降解	操作方便,生产成本低	产品复杂,环境污染高
酶降解	产量高,特异性高	生产成本低

化学降解法主要有酸水解以及氧化降解等化学方法。特别是酸水解法,因操作方便、生产成本低,从而能够广泛应用于壳寡糖的大规模生产。用于壳聚糖降解的酸性试剂有盐酸、亚硝酸、氢氟酸和磷酸,其中盐酸是应用最广泛的。化学降解的一个关键缺陷是产品成分的复杂性,需要对其进行分离和纯化。此外,化学试剂的使用,特别是一些有毒化学品的使用,会造成环境污染,产生大量有害的副产物。

壳寡糖制备所用的酶通常分为特异性酶如:几丁质酶、壳聚糖酶和葡聚糖酶等,非特异性酶如:溶菌酶、脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶。壳聚糖酶可从细菌、真菌、植物等多种物质中提取,使用壳聚糖酶或纤维素酶的酶解方法生产壳寡糖比化学降解具有壳寡糖产率高、环境污染小等优点。酶法水解过程由于其温和的反应条件,比较安全和易于控制,从而促进获得产品的生物活性^[5]。与化学试剂催化法相比,酶法水解壳聚糖在可预测性和可控性方面具有优势。近年来,酶解降解因其对水解位点的高度识别而受到越来越多的关注。酶降解无毒可控,不需要除盐,且酶法对壳寡糖产物的化学结构和生物活性影响不大。但该方法还存在生产成本低、实用性差、反应条件苛刻等缺点,难以实现工业化。因此,筛选具有高催化活性的壳聚糖酶将是壳寡糖未来发展的研究重点。

2 壳寡糖的应用

2.1 壳寡糖在食品中的应用

壳寡糖因其具有高水溶性、抗氧化性、多种

生物活性、能够抑制细菌和真菌的生长等特点,从而可以作为理想的果蔬保鲜剂。壳寡糖具有提高免疫力、促进矿物质吸收、抑制癌细胞生长、增殖人体某些有益菌和预防三高等功效,是日本、美国、韩国等国家畅销的保健功能食品。作为一种低聚糖,壳寡糖还可以作为天然防腐剂代替苯甲酸钠等化学防腐剂添加到食品中^[6]。Lin Yue等^[7]人研究发现通过一步反应合成了肉桂基修饰的新型壳聚糖寡糖衍生物,与山梨酸钾、壳聚糖、苯甲酸钠相比,新型壳聚糖寡糖衍生物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的体外抑菌活性明显提高。这些新型衍生物有望成为食品工业中一种有潜力的食品添加剂。谷新晰等^[8]人研究发现壳寡糖壳寡糖能有效降低泡菜中亚硝酸盐含量,提高泡菜中总酸、氨基酸态氮含量,且随壳寡糖含量的增加呈现明显差异。添加壳寡糖有利于泡菜发酵过程中有益菌群的增长及泡菜品质的提升。Zhiwen Jiang等^[9]人研究发现通过将壳寡糖与Se进行共轭结合,能够结合这两种化合物的优点,在体外对小鼠脾细胞增殖具有直接的共丝分裂和有丝分裂作用,抑制人胃癌细胞的增殖和转移,在提高免疫功能和阻止胃癌生长方面发挥了重要作用。曹维强等^[10]人的研究发现,通过对酸奶发酵完成的后处理阶段加入壳寡糖,能够很好的控制酸奶的后酸化问题,同时还能够增加酸奶的营养和风味。

2.2 壳寡糖在农业中的应用

壳寡糖能改变土壤菌群,促进有益微生物生长,诱导植物抗病,免疫和杀灭多种真菌、细菌和病毒,对小麦花叶病、棉花黄萎病、稻瘟病、番茄晚疫病等病害都有作用。还可开发成生物农药、生长调节剂和肥料。壳寡糖在植物栽培中具有多种活性,如诱导植物抗病、促进植物生长发育、提高植物产品品质和产量等。通过对瓯柑成熟期采用叶片喷雾施壳寡糖的处理方法,金益丰等^[11]人发现壳寡糖对提高瓯柑果实的品质有一定作用,可溶性固形物和可溶性总糖含量都在增加,总酸含量低于正常,而且壳寡糖对增强瓯柑树体的抗寒防冻能力有一定作用。不同聚合度壳寡糖拌种对种子发芽率、发病数、株高和根系的影响,孙雪花等^[12]人研究发现聚合度在2~7

的壳寡糖应用在淮麦35拌种中具有抗病、促生长的优点,且对镇麦10号也有较好的抗病作用,聚合度在13~18的壳寡糖在镇麦10号拌种试验中具有较好的促发芽、促生长作用。雷菲等^[13]人研究发现,浇灌不同浓度的壳寡糖能够增加辣椒的产量,经壳寡糖处理的辣椒果实氮积累量、磷积累量和钾积累量均显著高于其他处理。而且种植过后的土壤的品质对比无添加的也得到显著的提高。

2.3 壳寡糖在畜牧业中的应用

目前畜牧行业饲料中开始全面禁止使用抗生素,壳寡糖可以作为一种新型的、安全有效的绿色饲料添加剂替代抗生素产品应用于畜牧养殖。一定浓度的壳寡糖添加到动物的饲料中,能够有效地增强动物的免疫能力,并且具备一定的抗菌性。Qingqing Chang等^[14]人发现壳寡糖可作为维持热应激条件下黄羽肉鸡生长性能、肝功能、肉品质、肌肉糖酵解代谢和氧化状态的有效饲料添加剂。热应激条件下,肉鸡饲料中添加壳寡糖可能通过降低肌肉糖酵解代谢和改善肌肉氧化状态来改善肉品质。黄鑫玮等^[15]人发现壳寡糖可增强健鲤幼鱼的生长性能和非特异性免疫功能,调节脂肪代谢。回归曲线的x极值分析表明,饲料中壳寡糖含量在0.86%~0.9%之间时,健鲤幼鱼的非特异性免疫和肠道健康保护效果最好。龙次民等^[16]人研究发现妊娠后期母猪饲料中添加壳寡糖还能够缩短母猪产程,在一定的程度上能提高母猪及新生仔猪抗氧化能力。从而提高母猪生产的成活率。研究发现^[17],在橄榄绿副鱼和凡纳滨对虾基础饲料中优化间隔饲喂壳寡糖,可增强机体非特异性免疫反应,提高机体抗氧化活性,提高细菌感染后的存活率。

2.4 壳寡糖在人体健康中的应用

壳寡糖在抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗菌以及抗肥胖和高血糖等方面都有着显著的疗效,近年来对于壳寡糖抗衰老等方面的研究也有报道。以往研究表明^[18]壳寡糖具有显著的抗炎和抗氧化活性。在脂多糖注射建立的小鼠脓毒症活体模型中,壳寡糖的治疗不仅抑制了脏器功能障碍,而且提高了脂多糖注射小鼠的存活率。在结直肠癌小鼠模型中观察到口服壳寡糖(500mg/kg/day)

可使肿瘤大小减少约 60%。壳寡糖的抗肿瘤机制可能还与其对细胞代谢、炎症反应、细胞分裂和蛋白质翻译的干预有关。Mattaveewong 等人^[19]的研究发现,壳寡糖处理增加了大肠癌小鼠结肠组织中 AMPK 的活性,抑制了 NF- κ B 介导的炎症,并伴有细胞周期蛋白 D1、核糖体蛋白 S6 和 MMP-9 的表达减少。张晓霞等^[20]人研究表明,与 H₂O₂ 组相比,壳寡糖预处理可有效提高 H₂O₂ 诱导的人神经母细胞瘤 sk-n-sh 细胞的存活率,有效抑制细胞内 LDH 的释放,显著恢复线粒体膜电位,提高细胞内 ATP 水平,促进 Bcl-2、Nrf2 的表达和 HO-1 蛋白,并抑制 Bax 蛋白的表达。壳寡糖可以保护 sk-n-sh 细胞免受 H₂O₂ 诱导的氧化损伤,抑制细胞凋亡,促进抗氧化蛋白的表达。王晗等^[21]人通过以秀丽隐杆线虫为模式生物,将秀丽隐杆线虫的寿命作为参考指标,测定秀丽隐杆线虫的寿命、繁殖能力、运动速度和吞咽频率等,以寻找具有延缓衰老作用的生物活性物质。实验结果表明,与对照组相比较,壳寡糖质量浓度达到 200 mg/L 以上时可使线虫的寿命延长 ($P < 0.05$),不同质量浓度的壳寡糖对线虫平均寿命和最大寿命都具有延长作用。

2.5 壳寡糖在日化品中的应用

壳寡糖具有明显的保湿、活化人体细胞、防止皮肤粗糙和老化、抑制皮肤表面有害细菌滋生、抑菌、抗皮肤病、吸收紫外线等功能。可用于保湿、抗皱、防晒等护肤品中。壳寡糖还具有保持头发表面的成膜通透性,滋润易梳理,防静电、防尘、止痒、去头屑等优点,可以添加到护发产品中。林婕等^[22]人测试了不同分子量和浓度的壳寡糖对化妆品中水溶性 Vc (AA2G) 和熊果苷的渗透促进作用。确定壳寡糖的最佳分子量为 3000,最佳质量浓度为 3mg/mL。发现其渗透促进作用与化妆品中常见的渗透促进剂 Azone 相似。郭芳宁等^[23]人以氯化铁和壳寡糖为原料合成壳寡糖铁配合物,采用连苯三酚自氧化法和 DPPH 法测定壳寡糖铁复合物的抗氧化能力。结果表明,在实验设定的浓度范围内,壳寡糖铁复合物的抗氧化能力随着浓度的增加而增加,2.0mg/mL 壳寡糖铁络合物对超氧阴离子自由基清除率为 59.84%,DPPH 自由基清除率为 65.76%。

常志英等^[24]人以透明质酸 (HA) 和甘油为参照,通过皮肤测试仪测量皮肤水合率,考察壳寡糖在不同时间段使用后的保湿性能及不同浓度下的保湿效果。结果表明,甘油的保湿性能受环境湿度影响较大,而壳寡糖和透明质酸的影响较小,所以壳寡糖更具有优势。壳寡糖与常规化妆品相容性好,可很好地应用于化妆品中。

3 展望

到目前为止,壳寡糖在食品、人类健康、畜牧业和农业等研究领域得到了广泛的研究。特别是通过修饰接枝得到的壳寡糖衍生物,由于其高效的传递效率,在药物开发领域具有巨大的潜力。另一方面,壳寡糖的应用还存在一些瓶颈,需要在未来进一步克服。由于缺乏标准化的制备方法。到目前为止,壳寡糖混合物仍然是市场上的商业化产品,而不是单体。未来应大规模生产各种纯度高、成本低的壳寡糖单体,并深入研究其活性,以开发高附加值的壳寡糖产品。综上所述,壳寡糖优异的理化和生物学特性使其在生命健康和农业生产领域具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 梁慧培,覃小丽,钟金锋.壳寡糖制备和生理活性的研究进展[J].食品工业科技,2016,37(03):384-388.
- [2] Yuan X B, Zheng J P, Jiao S M, et al. A review on the preparation of chitosan oligosaccharides and application to human health, animal husbandry and agricultural production[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 220: 60-70.
- [3] Affes S, Aranaz I, Hamdi M, et al. Preparation of a crude chitinase from blue crab viscera as well as its application in the production of biologically active chito-oligosaccharides from shrimp shells chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 558-569.
- [4] 王西,吴修利,赵珺.壳聚糖微球制备方法及其在医药应用的研究进展[J].长春大学学报,2015,25(10):64-68.
- [5] 鲁晶娣,韦盘秋,张兴猛,等.壳聚糖酶的研究进展[J].中国调味品,2018,43(12):168-173.
- [6] 朱燕莉,王正莉,王卫,等.天然食品防腐剂的抑菌机理研究进展[J].中国调味品,2021,46(9):176-180.
- [7] Yue L, Wang M, Khan I M, et al. Preparation and characterization of chitosan oligosaccharide derivatives containing cinnamyl moieties with enhanced antibacterial activities[J]. LWT, 2021, 147: 111663.
- [8] 谷新晰,王晨笑,于宏伟,等.壳寡糖对泡菜品质、微生物多样及演替规律的影响[J].中国食品学报,2021,21(10):125-132.

- [9] Jiang Z W, Chi J H, Li H, et al. Effect of chitosan oligosaccharide-conjugated selenium on improving immune function and blocking gastric cancer growth [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2021, 891: 173673.
- [10] 曹维强, 王静, 张英春, 王学东. 壳寡糖对酸乳后酸化抑制效果的研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2005 (8): 115-118.
- [11] 金益丰, 郭秀珠, 徐建国. 壳寡糖对瓯柑留树保鲜提质的影响 [J]. *浙江农业科学*, 2021, 62 (8): 1608-1609.
- [12] 孙学花, 韩汝青, 熊海宇, 等. 不同聚合度壳寡糖拌种对小麦发芽的影响 [J]. *现代农业科技*, 2021 (12): 1-3, 8.
- [13] 雷菲, 张冬明, 符传良, 等. 壳寡糖对辣椒产量、养分吸收和土壤理化性质的影响 [J]. *湖南农业科学*, 2021 (5): 23-26.
- [14] Chang Q Q, Lu Y Q, Lan R X. Chitosan oligosaccharide as an effective feed additive to maintain growth performance, meat quality, muscle glycolytic metabolism, and oxidative status in yellow-feather broilers under heat stress [J]. *Poultry Science*, 2020, 99 (10): 4824-4831.
- [15] 黄鑫玮, 杨莎莎, 刘毅, 等. 壳寡糖对幼建鲤生长性能、脂肪代谢、非特异性免疫功能和肠道健康的影响 [J]. *动物营养学报*, 2015, 27 (7): 2106-2114.
- [16] 龙次民, 谢春艳, 吴信, 等. 妊娠后期母猪饲料中添加壳寡糖对新生仔猪抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2015, 27 (4): 1207-1213.
- [17] Rahimnejad S, Yuan X L, Wang L, et al. Chitooligosaccharide supplementation in low-fish meal diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Effects on growth, innate immunity, gut histology, and immune-related genes expression [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 80: 405-415.
- [18] Qiao Y, Bai X F, Du Y G. Chitosan oligosaccharides protect mice from LPS challenge by attenuation of inflammation and oxidative stress [J]. *International Immunopharmacology*, 2011, 11 (1): 121-127.
- [19] Mattaveewong T, Wongkrasant P, Chanchai S, et al. Chitosan oligosaccharide suppresses tumor progression in a mouse model of colitis-associated colorectal cancer through AMPK activation and suppression of NF- κ B and mTOR signaling [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 145: 30-36.
- [20] 张晓霞, 李筱筱, 孙雅焯, 等. 壳寡糖减轻过氧化氢诱导的SK-N-SH细胞氧化损伤机制研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47 (14): 57-62.
- [21] 王晗, 米生权, 孙雅焯, 等. 壳寡糖对秀丽隐杆线虫寿命的影响 [J]. *食品科学*, 2015, 36 (1): 229-233.
- [22] 林婕, 何聪芬, 董银卯. 壳寡糖对化妆品美白活性成分的促透功效 [C]//第十二届国际日用化工学术研讨会. 北京日化协会, 2009.
- [23] 郭芳宁, 李春超, 金黎明, 等. 壳寡糖铁配合物的合成及抗氧化作用 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34 (20): 119-121.
- [24] 常志英, 肖立芳. 低聚壳聚糖的保湿特性及其在化妆品中的应用 [J]. *香料香精化妆品*, 2011 (6): 13-16.

行业组织 品牌展览

第二十六届中国国际食品添加剂和配料展览会
暨第三十二届全国食品添加剂生产应用技术展示会

Food Ingredients China 2023

展出时间: 2023年3月15~17日

展出地点: 国家会展中心(上海)

详情请登录: www.cfaa.cn