

中国科学院科学出版基金资助出版

21 世纪科学版化学专著系列

# 甲壳素化学

王爱勤 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

甲壳素是从虾、蟹壳中提取的一种天然高分子。壳聚糖是甲壳素脱乙酰基的产物。本书在系统介绍甲壳素和壳聚糖的基本理化性能的基础上,详尽地总结了各种衍生物的类型,着重介绍了主链降解、羧化、酰化、羟基化、烷基化、酯化、季铵盐和接枝共聚以及有机-无机复合等方面的研究进展。

本书可供从事功能高分子材料、生物材料、日用化工、环境保护和生物技术等领域的科技人员阅读,也可作为高分子化学、生物化学、医药卫生、环保、食品和农业等专业的大专院校师生的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

---

甲壳素化学/王爱勤主编. —北京:科学出版社, 2008

(21世纪科学版化学专著系列)

ISBN 978-7-03-020596-4

I. 甲… II. 王… III. 甲壳质-应用化学 IV. 069 Q539

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 198870 号

---

责任编辑:杨震袁琦/责任校对:张琪

责任印制:钱玉芬/封面设计:王浩

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2008年1月第一版 开本: B5(720×1000)

2008年1月第一次印刷 印张: 38 1/2

印数: 1—2 500 字数: 752 000

定价: 98.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

# 序

甲壳素是自然界广泛存在的一种可再生资源，每年生物合成量多达 100 亿吨，目前容易直接获取的资源量中最多的海洋节肢动物的虾蟹外壳，每年的收集量在几十万吨。甲壳素和脱乙酰基后的壳聚糖均属带有氨基的线形生物大分子多糖，具有独特的理化特性和生物学功能，有别于作为能量来源的淀粉和植物结构支持物的纤维素。甲壳素/壳聚糖及其衍生化的研究和应用已经成为当今世界多糖研究领域的一个热点。

20 世纪 50 年代我国一些大专院校和企业的科研人员就曾开展过海洋虾蟹壳生产壳聚糖的工艺和应用方法的研究，并取得了一定成绩。90 年代以来，随着我国的改革开放、国家对科技的大力支持、国内外学术的交流促进，我国的甲壳素/壳聚糖的研究和生产蓬勃发展，生产企业达到百余家，壳聚糖总产量每年超过 3000 吨，产品质量不断提高。同时，以甲壳素为原料生产氨基葡萄糖单糖的总产量超过 10 000 吨。酶法新技术生产壳寡糖的年生产能力可达上千吨。我国已成为甲壳素、壳聚糖、壳寡糖和氨基葡萄糖的生产和出口大国。基于壳聚糖优良的理化特性和多功能性，通过不同的化学基团接枝改性研究可开发新产品，拓宽其应用领域。近十年我国在海洋多糖药物、海洋生物医用材料、功能性食品、精细化工等领域的研究和应用开发方面取得了创新性的发展，部分研究成果已经达到国际领先水平。我国从事甲壳素研究人员涉及众多高等院校、科研机构和企业，科技队伍不断扩大，正在成为国际甲壳素化学研究的主力军，受到世界上相关科学家和企业家的高度关注。

王爱勤研究员多年从事甲壳素和壳聚糖衍生物及配合物的研究工作，是国内较早开展甲壳素/壳聚糖研究工作的研究者之一。在繁忙的工作之余，综合国内外甲壳素/壳聚糖方面的研究进展，结合自己的研究工作成果，与其他科研人员共同编写了《甲壳素化学》这本著作。该书除对甲壳素/壳聚糖及其降解产物制备技术和应用进行了较详细的介绍外，还着重介绍了甲壳素/壳聚糖衍生物的反应类型及其研究进展，并列举了各种反应类型实例，内容系统丰富，可作为高分子化学和生物材料专业学生的参考书，对从事甲壳素化学相关领域的研究和开发人员也具有参考价值。该书的出版将为我国甲壳素/壳聚糖的基础研究和应用开发起到积极的推动作用。为此，我乐以为序。

中国工程院院士



2007 年 9 月

# 前 言

自 1811 年从蘑菇中发现甲壳素以来，由于对甲壳素的化学结构和组成难以确定，研究发展速度相对缓慢，直到 1977 年 Muzzarelli 的第一本专著问世和在美国召开的第一届甲壳素/壳聚糖国际会议，才推动了这一领域的迅速发展。尤其是近十年来，各学科的相互渗透和交叉，使该领域的研究和应用空前活跃，已形成了鲜明的学科特色。近年来，在全球形成了甲壳素和壳聚糖及其衍生物的开发热潮，各国都加大了对应用开发研究的力度。迄今为止，已召开了十次甲壳素/壳聚糖国际会议，甲壳素和壳聚糖及其衍生物已在废水处理、食品工业、纺织、化工、日用化学品、农业、组织工程和医药等方面得到了应用。

早在 20 世纪 50 年代，我国就开始了甲壳素的制备和应用工作，但直至 80 年代中期，甲壳素资源的开发利用才引起有关部门和科研人员的重视。进入 90 年代，众多的科研机构和大专院校投入到该领域的研究中来，虽然在该阶段取得了不少研究成果，但多是侧重于甲壳素和壳聚糖制备工艺的研究，与发达国家相比，我国在这一领域的研究和开发还有很大的差距。我国的甲壳素研究热潮是从 1996 年日本保健食品热销国内后悄然兴起的，“天价”保健食品的热销使更多的人认识了甲壳素，从而带动了甲壳素的研究和生产。尤其是 1996 年和 1997 年分别在大连和青岛召开的“第一届甲壳素化学学术讨论会”和“甲壳资源研究与开发学术讨论会”，直接推动了国内甲壳素和壳聚糖的研究进程。目前全国约有上千家的科研院所和大专院校从事与甲壳素和壳聚糖相关的研究与开发工作，近几年平均每年约有 800 篇甲壳素和壳聚糖研究论文发表，尤其是 SCI 论文呈现逐年增长的态势，表明我国在甲壳素和壳聚糖的研究方面已进入自主创新阶段。

甲壳素又名甲壳质、几丁质，其化学名称为(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧- $\beta$ -D-葡聚糖，它是通过  $\beta$ -(1,4)糖苷键相连的线形生物高分子，相对分子质量从几十万到几百万。它脱除乙酰基后的产物是壳聚糖，又名甲壳胺或可溶性甲壳质，其化学名称为(1,4)-2-氨基-2-脱氧- $\beta$ -D-葡聚糖。在实际应用中，要得到完全脱乙酰基的壳聚糖成本较高。通常把脱乙酰度大于 60%或能溶于稀酸溶液的甲壳素都俗称为壳聚糖。甲壳素分子中有较强的分子间和分子内氢键，不能溶于普通的溶剂。壳聚糖的分子结构中含有游离氨基，溶解性能有了一定改观，但也只能溶于某些稀酸溶液。因此，对甲壳素和壳聚糖进行化学改性，可拓宽甲壳

素和壳聚糖的应用领域。通过化学改性可在甲壳素和壳聚糖分子中的重复单元上引入不同基团，这些基团的引入，不仅可以改善其溶解性能，更重要的是不同取代基的引入可赋予甲壳素和壳聚糖更多的功能。在甲壳素和壳聚糖的研究工作中，对甲壳素和壳聚糖进行化学改性是甲壳素化学研究中最活跃的领域之一。

随着资源的有效利用和环境友好高分子材料的需求增长，甲壳素和壳聚糖已经引起了越来越多的国内外学者的关注，目前全球形成了甲壳素和壳聚糖及其衍生物的开发热潮。我国海岸线长，江河湖海纵横交错，具有丰富的甲壳素资源。因此，有效地利用这一资源，对促进国民经济的发展是很有意义的。

国内已陆续出版了几本有关甲壳素和壳聚糖的专著，但多偏重于甲壳素和壳聚糖的应用介绍。事实上，甲壳素和壳聚糖的应用更多地依赖于其构效关系的研究。为此，本书在介绍甲壳素和壳聚糖国内外发展动向的基础上，结合作者多年来在壳聚糖衍生物、壳聚糖金属配合物和壳聚糖有机-无机复合物等方面的研究积累，总结了有关甲壳素和壳聚糖衍生物的反应类型，着重介绍了主链降解、羧化、酰化、羟基化、烷基化、酯化、季铵盐和接枝共聚以及有机-无机复合等方面的研究进展。书中有丰富的制备类型举例，可作为高分子化学和材料等专业的学生的参考书，同时也期望本书对正在从事甲壳素化学相关领域研究和开发的人员具有参考价值，以期能为深化甲壳素和壳聚糖的基础研究和加快甲壳素和壳聚糖的应用开发发挥积极作用。

全书共分 11 章，分别为：第 1 章概论（王爱勤、徐君义）、第 2 章甲壳素/壳聚糖的化学与物理基础（董炎明）、第 3 章甲壳素/壳聚糖降解产物（王爱勤）、第 4 章甲壳素/壳聚糖羧化衍生物（王爱勤）、第 5 章甲壳素/壳聚糖酰化衍生物（王爱勤、孙胜玲）、第 6 章甲壳素/壳聚糖烷基化和季铵盐衍生物（王爱勤、孙胜玲）、第 7 章甲壳素/壳聚糖羟基化和糖类衍生物（王爱勤、王丽）、第 8 章甲壳素/壳聚糖的其他衍生物（王爱勤、王丽）、第 9 章甲壳素/壳聚糖的接枝反应（王爱勤、张俊平、刘黎）、第 10 章壳聚糖及其衍生物复合物（王爱勤、王丽、张俊平）和第 11 章壳聚糖及其衍生物与金属离子的作用（王爱勤、孙胜玲、王丽）。

首先感谢中国科学院科学出版基金的资助。在本书的编写过程中，得到了厦门大学、武汉大学、北京大学、中国科技大学、中国海洋大学、天津大学、华东理工大学、浙江大学、江南大学、兰州大学、上海师范大学、暨南大学、福建师范大学、合肥工业大学、深圳大学、中国科学院大连化学物理研究所、中国科学院海洋研究所和中国科学院过程工程研究所等单位专家学者的鼓励与支持。厦门大学董炎明教授，上海师范大学刘黎博士，浙江玉环县科技局徐君义同志和中国

科学院兰州化学物理研究所王丽博士、孙胜玲博士和张俊平博士参与了有关章节的编写工作。在此，向关心和参与本书编写和出版的同仁表示衷心感谢！此外，在编写过程中，作者参考了大量公开发表的文献资料，对所引用文献的作者表示诚挚的谢意。

由于甲壳素和壳聚糖涉及的学科领域较多，发展速度很快，加之作者的水平及能力有限，本书难免存在许多不足之处，敬请读者批评指正。

作 者

2007年6月

# 目 录

序	
前言	
第 1 章 概论	1
1.1 甲壳素研究发展概况	1
1.1.1 甲壳素研究的发展历史	1
1.1.2 国内甲壳素发展概况	2
1.2 甲壳素的分布与分离	9
1.2.1 甲壳素的分布	9
1.2.2 甲壳素的分离	10
1.2.3 甲壳素的清洁生产	12
1.3 壳聚糖的制备	14
1.3.1 壳聚糖的化学制备方法	14
1.3.2 壳聚糖的酶法制备方法	17
1.3.3 壳聚糖的清洁生产工艺	18
1.4 甲壳素和壳聚糖的应用	20
1.4.1 在医药中的应用	21
1.4.2 在纺织印染工业中的应用	28
1.4.3 在废水处理中的应用	29
1.4.4 在食品工业中的应用	34
1.4.5 在造纸工业中的应用	35
1.4.6 在农业中的应用	39
1.4.7 在其他方面的应用	41
1.5 甲壳素/壳聚糖研究发展趋势	42
1.5.1 清洁生产成为产业健康发展主题	43
1.5.2 产学研结合成为技术突破重要方式	45
1.5.3 基础研究成为研究重点	46
1.5.4 构效关系成为研究热点	47
1.5.5 生物功能材料成为应用亮点	48
参考文献	50

<b>第 2 章 甲壳素/壳聚糖的化学与物理基础</b> .....	59
2.1 引言.....	59
2.2 甲壳素/壳聚糖的近程结构 .....	59
2.2.1 甲壳素/壳聚糖的化学结构 .....	59
2.2.2 壳聚糖的脱乙酰度 .....	66
2.2.3 壳聚糖的结构单元序列分布 .....	74
2.3 甲壳素/壳聚糖的远程结构 .....	74
2.3.1 壳聚糖与壳寡糖的相对分子质量 .....	74
2.3.2 甲壳素/壳聚糖的构象 .....	77
2.4 甲壳素/壳聚糖的超分子结构 .....	81
2.4.1 甲壳素/壳聚糖的结晶结构 .....	81
2.4.2 甲壳素/壳聚糖及其衍生物的结晶形态 .....	96
2.4.3 壳聚糖及其衍生物的液晶态 .....	101
2.4.4 甲壳素与蛋白质的复合结构 .....	108
2.5 甲壳素/壳聚糖的重要物理性质和指标.....	108
2.5.1 壳聚糖的玻璃化转变 .....	108
2.5.2 甲壳素/壳聚糖的溶解性 .....	112
2.5.3 甲壳素/壳聚糖中不纯物的测定 .....	117
参考文献.....	119
<b>第 3 章 甲壳素/壳聚糖降解产物</b> .....	127
3.1 引言 .....	127
3.2 甲壳低聚糖的制备方法 .....	127
3.2.1 化学降解法 .....	128
3.2.2 生物降解法 .....	136
3.2.3 物理降解法 .....	142
3.3 分离纯化与表征方法 .....	146
3.3.1 分离纯化方法 .....	146
3.3.2 相对分子质量的测定 .....	146
3.3.3 结构鉴别 .....	147
3.4 甲壳低聚糖衍生物制备方法 .....	148
3.4.1 羧化甲壳低聚糖衍生物 .....	148
3.4.2 酰化甲壳低聚糖衍生物 .....	149
3.4.3 季铵化甲壳低聚糖衍生物 .....	150
3.4.4 席夫碱甲壳低聚糖衍生物 .....	151
3.4.5 甲壳低聚糖复合物 .....	151



3.4.6 其他甲壳低聚糖衍生物 .....	153
3.5 单糖及其衍生物制备方法 .....	154
3.5.1 氨基葡萄糖盐酸盐 .....	155
3.5.2 氨基葡萄糖硫酸盐 .....	156
3.5.3 其他氨基葡萄糖衍生物 .....	156
参考文献 .....	161
<b>第4章 甲壳素/壳聚糖羧化衍生物 .....</b>	<b>169</b>
4.1 引言 .....	169
4.2 羧甲基甲壳素 .....	169
4.3 羧甲基壳聚糖 .....	172
4.3.1 <i>O</i> -羧甲基壳聚糖的制备 .....	173
4.3.2 <i>N</i> -羧甲基壳聚糖的制备 .....	174
4.3.3 <i>N,O</i> -羧甲基壳聚糖的制备 .....	176
4.4 结构分析与性能测定 .....	179
4.4.1 羧甲基壳聚糖的红外光谱 .....	179
4.4.2 羧甲基壳聚糖的 X 射线衍射 .....	181
4.4.3 羧甲基壳聚糖的 NMR .....	181
4.4.4 羧甲基壳聚糖取代度的测定 .....	183
4.4.5 取代基团的分布与特性 .....	186
4.5 其他羧基化壳聚糖衍生物 .....	187
4.5.1 羧乙基壳聚糖 .....	187
4.5.2 羧丙基壳聚糖 .....	191
4.5.3 其他羧基壳聚糖衍生物 .....	192
4.6 双取代羧基化壳聚糖衍生物 .....	195
4.6.1 <i>O</i> -羧甲基- <i>N</i> -琥珀酰壳聚糖 .....	195
4.6.2 <i>O</i> -羧甲基- <i>N</i> -羟丙基三甲基氯化铵壳聚糖 .....	196
4.6.3 (2-羟基-3-丁氧基)丙基-羧甲基壳聚糖 .....	197
参考文献 .....	200
<b>第5章 甲壳素/壳聚糖酰化衍生物 .....</b>	<b>204</b>
5.1 引言 .....	204
5.2 甲壳素脱乙酰化 .....	204
5.2.1 $\alpha$ -甲壳素脱乙酰化 .....	204
5.2.2 $\beta$ -甲壳素脱乙酰化 .....	214
5.2.3 甲壳素脱乙酰化结构表征 .....	217
5.3 甲壳素酰化衍生物 .....	221

5.3.1	酸酐酰化甲壳素衍生物	221
5.3.2	酰氯酰化甲壳素衍生物	224
5.4	壳聚糖酰化衍生物	226
5.4.1	<i>N</i> -酰化壳聚糖衍生物	226
5.4.2	<i>O</i> -酰化壳聚糖衍生物	233
5.4.3	<i>N, O</i> -酰化壳聚糖衍生物	235
5.5	酰化产物的溶解性能	239
	参考文献	240
<b>第6章</b>	<b>甲壳素/壳聚糖烷基化和季铵盐衍生物</b>	<b>244</b>
6.1	引言	244
6.2	烷基化和季铵盐甲壳素衍生物	244
6.2.1	烷基化甲壳素衍生物	244
6.2.2	甲壳素季铵盐衍生物	246
6.3	烷基化壳聚糖衍生物	247
6.3.1	<i>O</i> -烷基化壳聚糖衍生物	247
6.3.2	<i>N</i> -烷基化壳聚糖衍生物	249
6.3.3	<i>N, O</i> -烷基化壳聚糖衍生物	255
6.4	壳聚糖季铵盐衍生物	256
6.4.1	卤代壳聚糖季铵盐衍生物	256
6.4.2	季铵盐壳聚糖季铵盐衍生物	257
	参考文献	264
<b>第7章</b>	<b>甲壳素/壳聚糖羟基化和糖类衍生物</b>	<b>267</b>
7.1	引言	267
7.2	羟基化甲壳素衍生物	267
7.2.1	羟基化甲壳素衍生物	267
7.2.2	甲壳素糖类衍生物	270
7.3	羟基化壳聚糖衍生物	274
7.3.1	羟乙基壳聚糖	274
7.3.2	羟丙基壳聚糖	275
7.3.3	其他羟基壳聚糖衍生物	278
7.4	壳聚糖糖类衍生物	281
7.4.1	单取代壳聚糖糖类衍生物	281
7.4.2	双取代壳聚糖糖类衍生物	287
	参考文献	292

第 8 章 甲壳素/壳聚糖的其他衍生物 .....	296
8.1 引言 .....	296
8.2 氧化反应 .....	296
8.2.1 甲壳素氧化反应 .....	296
8.2.2 壳聚糖氧化反应 .....	297
8.3 交联反应 .....	298
8.3.1 壳聚糖交联反应 .....	298
8.3.2 壳聚糖衍生物交联反应 .....	301
8.4 酯化衍生物 .....	307
8.4.1 硫酸酯化反应 .....	307
8.4.2 磷酸酯化衍生物 .....	316
8.5 其他类型甲壳素/壳聚糖衍生物 .....	319
8.5.1 甲壳素/壳聚糖硅烷化衍生物 .....	319
8.5.2 壳聚糖树形衍生物 .....	321
参考文献 .....	326
第 9 章 甲壳素/壳聚糖的接枝反应 .....	331
9.1 引言 .....	331
9.2 自由基接枝聚合反应机理 .....	332
9.2.1 $Ce^{4+}$ 引发接枝聚合 .....	332
9.2.2 过硫酸盐引发接枝聚合 .....	334
9.2.3 Fenton 试剂引发接枝聚合 .....	337
9.2.4 光引发接枝聚合 .....	338
9.2.5 其他自由基引发接枝聚合 .....	339
9.3 自由基接枝聚合 .....	342
9.3.1 丙烯腈 .....	343
9.3.2 甲基丙烯酸酯 .....	345
9.3.3 丙烯酸及甲基丙烯酸 .....	358
9.3.4 丙烯酰胺 .....	370
9.3.5 <i>N</i> -异丙基丙烯酰胺 .....	374
9.3.6 乙烯基吡咯烷酮 .....	378
9.3.7 黏土存在下的自由基接枝共聚 .....	380
9.3.8 其他单体 .....	386
9.4 偶合接枝共聚 .....	391
9.4.1 聚乙二醇 .....	392
9.4.2 聚乳酸 .....	398

9.4.3	其他	399
9.5	定位接枝聚合	405
9.5.1	邻苯二甲酰化保护氨基的定位接枝	405
9.5.2	席夫碱氨基保护定位接枝	413
9.6	缩合接枝聚合	416
9.6.1	溶液缩合法	416
9.6.2	开环缩合法	416
9.7	与特殊结构化合物的接枝反应	419
9.7.1	环糊精接枝产物	420
9.7.2	冠醚接枝产物	425
9.7.3	杯芳烃接枝产物	426
9.7.4	其他分子接枝产物	428
	参考文献	431
<b>第 10 章</b>	<b>壳聚糖及其衍生物复合物</b>	<b>443</b>
10.1	引言	443
10.2	壳聚糖/黏土复合物	444
10.2.1	壳聚糖/蒙脱土复合物	444
10.2.2	壳聚糖/累托石复合物	461
10.2.3	壳聚糖/锂皂石复合物	467
10.2.4	壳聚糖/海泡石复合物	468
10.2.5	壳聚糖/高岭土复合物	471
10.2.6	壳聚糖/其他黏土复合物	471
10.3	壳聚糖/无机复合物	472
10.3.1	壳聚糖/SiO <sub>2</sub> 复合物	473
10.3.2	壳聚糖/羟基磷灰石复合物	479
10.3.3	壳聚糖/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 复合物	494
10.3.4	壳聚糖/其他金属氧化物复合物	499
10.4	壳聚糖/有机高分子复合物	506
10.4.1	壳聚糖/天然高分子复合物	506
10.4.2	壳聚糖/合成高分子复合物	515
10.5	壳聚糖/碳纳米管复合材料	521
10.5.1	壳聚糖/碳纳米管复合材料的制备方法	522
10.5.2	壳聚糖/碳纳米管的复合机理	533
10.5.3	壳聚糖/碳纳米管的应用	534
10.5.4	壳聚糖/碳纳米管应用展望	540

---

10.6 壳聚糖/其他复合物 .....	541
10.6.1 壳聚糖/脂质体复合物 .....	541
10.6.2 壳聚糖/胰岛素复合物 .....	542
10.6.3 壳聚糖/DNA 复合物 .....	542
参考文献 .....	544
<b>第 11 章 壳聚糖及其衍生物与金属离子的作用 .....</b>	<b>554</b>
11.1 引言 .....	554
11.2 壳聚糖与金属离子的作用 .....	554
11.2.1 壳聚糖对金属离子的吸附 .....	554
11.2.2 交联壳聚糖对金属离子的吸附 .....	563
11.2.3 壳寡糖对金属离子的吸附 .....	566
11.2.4 氨基葡萄糖与金属离子的配位 .....	567
11.3 壳聚糖衍生物对金属离子吸附 .....	569
11.3.1 <i>N</i> -壳聚糖衍生物 .....	569
11.3.2 <i>O</i> -壳聚糖衍生物 .....	571
11.3.3 <i>N, O</i> -壳聚糖衍生物 .....	574
11.3.4 含杂原子壳聚糖衍生物 .....	575
11.4 特殊结构壳聚糖衍生物对金属离子的吸附 .....	580
11.4.1 冠醚壳聚糖衍生物 .....	580
11.4.2 环糊精壳聚糖衍生物 .....	583
11.4.3 杯芳烃壳聚糖衍生物 .....	583
11.4.4 其他壳聚糖衍生物 .....	584
11.5 壳聚糖及其衍生物吸附机理 .....	585
11.5.1 壳聚糖及其衍生物吸附机理 .....	585
11.5.2 壳聚糖及其衍生物配位结构 .....	586
参考文献 .....	589

# 第 1 章 概 论

## 1.1 甲壳素研究发展概况

### 1.1.1 甲壳素研究的发展历史

1811年,法国科学家 Braconnot 从蘑菇中首次分离出甲壳素(chitin)<sup>[1]</sup>。限于当时的测试手段和条件,人们对甲壳素的化学组成和结构难以确定,其研究发展速度相对缓慢。1859年,Rouget 将甲壳素置于氢氧化钾浓溶液中,首次制得了壳聚糖(chitosan)<sup>[2]</sup>。20世纪30年代,第一件甲壳素制备壳聚糖专利的问世,推动了甲壳素/壳聚糖的研究进程,但直到70年代,甲壳素/壳聚糖才真正引起人们的关注。1977年,Muzzarelli 第一本专著<sup>[3]</sup>的问世和第一届甲壳素/壳聚糖国际会议的召开<sup>[3]</sup>,使科学家对该资源的开发产生了浓厚的兴趣。1977年4月11~13日,在美国波士顿召开了第一届甲壳素/壳聚糖国际会议,参加会议的有美国、前苏联、日本、挪威、加拿大、南非、比利时、英国、尼日利亚、印度、意大利和智利等国家的科学工作者。会议上提交的47篇报告,主要侧重于甲壳素/壳聚糖在自然界中的分布、分离、性质及其在各方面的应用,尤其是在废水处理方面的应用比较突出。这次会议对甲壳素/壳聚糖的研究和应用发展具有里程碑意义。

此后,世界各国相继投入了一定的人力、物力和财力进行甲壳素/壳聚糖的研究及工业化应用工作。在这个时期,日本在该领域的研究与应用业绩突出,许多研究成果居领先地位。1982年,日本农林水产省制定了甲壳素/壳聚糖的十年研究开发计划(1982~1992年)。1985年,日本文部省拨出60亿日元,资助全国13所大学和研究机构从事甲壳素/壳聚糖在工农业等十多个领域的研究开发。同年,日本鸟取大学以动物实验确认了壳聚糖在癌细胞增殖中的抑制作用。1988年,日本通产省开始了无公害塑料计划,日本UNITIKA公司以甲壳素为成分开发了世界最早的人工皮肤(beschitin-W)。1992年,日本鸟取大学开发成功海绵状壳聚糖(sunfive),作为动物治疗用卫生材料,获得农林水产省正式许可。1993年,日本国立健康营养研究所确认了壳聚糖对人体具有降低胆固醇的作用。1994年,日本科学工作者使用甲壳素/壳聚糖粉末,解决了因俄罗斯核子船队在日本海中投入核能废料而污染日本海域的生态问题。在此阶段,日本在甲壳素/壳聚糖的衍生物研究方面也取得了长足的进展,合成了许多结构新颖的甲壳素/

壳聚糖衍生物<sup>[4]</sup>，推动了甲壳素/壳聚糖的基础研究和应用研究。此外，亚洲一些国家和地区如中国、韩国、新加坡、泰国和我国台湾地区也相继在甲壳素/壳聚糖研究方面取得阶段性成果。其中，中国已逐渐成为亚洲乃至世界在这方面研究的主要力量。

自 1977 年在美国波士顿召开了第一届甲壳素/壳聚糖国际会议以来，迄今为止已召开了十次甲壳素/壳聚糖国际会议。尤其是分别在日本、加拿大和法国召开的第八届到第十届甲壳素/壳聚糖国际会议，会议的规模越来越大，参加的人数越来越多，涉及的学科越来越广，充分说明甲壳素/壳聚糖资源的有效利用，受到了科学工作者的高度重视。国外也出版了多本有关甲壳素/壳聚糖的专著<sup>[5~7]</sup>。

1991 年，日本成立了甲壳素/壳聚糖协会，并召开了第一次学术研讨会，其后每年一次。1992 年，欧洲也成立了甲壳素/壳聚糖研究会。1999 年，在武汉召开的“第二届甲壳素化学与应用研讨会”上，我国也成立了中国化学会甲壳素专业委员会。

近 10 年来，由于环境友好功能材料的发展和各学科的相互交叉与渗透，甲壳素/壳聚糖的化学修饰方法不断拓展，这些修饰反应不仅有利于构效关系的研究，而且有助于开发特定的功能高分子材料。目前有关甲壳素/壳聚糖应用研究和产品开发空前活跃，在全球已形成了甲壳素/壳聚糖及其衍生物的开发热潮，各国都加

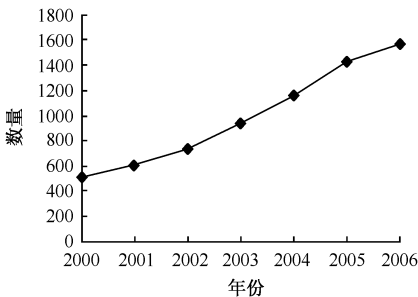


图 1-1 2000 年以来甲壳素/壳聚糖 SCI 论文增长趋势

大了对其产品的开发研究力度。2000 年以来，有关甲壳素/壳聚糖 SCI 研究论文几乎呈线性增长趋势。在网址 [www.scopus.com](http://www.scopus.com) 中输入关键词“chitosan”，检索到的 SCI 研究论文数如图 1-1 所示。在这些研究论文中，甲壳素和壳聚糖及其复合物在组织工程、基因载体和药物载体等方面的研究非常活跃，表明甲壳素/壳聚糖及其衍生物将在 21 世纪生物材料的研究和应用中扮演重要的角色。

## 1.1.2 国内甲壳素发展概况

早在 2000 年前，我国医药宝库《山海经》、《神农本草经》即有蟹的药用记载，后有《食疗本草》和《本草纲目》等药学专著均有其清热解毒和破淤消积等多种功能的记载。但直至 20 世纪 50 年代，国内才有少数学者开始从事甲壳素方面的研究。1958 年出版的《甲壳质的利用》是我国第一本较全面系统介绍甲壳素的专著<sup>[8]</sup>。1958 年，浙江省玉环县化工厂利用蟹壳为原料制备的可溶性

甲壳素(壳聚糖)代替阿克拉明应用于印染工业,首次实现了壳聚糖的工业化生产。1975年,玉环县化工厂开始向国外出口甲壳素,但产量每年只有200多吨。而在同期日本月产量已达56 t,美国月产也有23 t。进入90年代中期,甲壳素/壳聚糖才引起了我国有关部门和科研人员的关注。纵观我国甲壳素/壳聚糖研究和应用的发展历程,大致可分为起步开发期、跟踪仿制期和自主创新期三个阶段。

起步开发期(1990年以前)。参与研究的科研人员不多,投入的研发经费也很少,主要是对甲壳素的提取和壳聚糖的制备工艺进行了研究,其他方面的应用研究很少。在此期间,在中国知网上作为主题词可检索到的论文只有27篇。1983年,玉环县科委谢雅明在《化学世界》第4期上发表论文“可溶性甲壳质的制造和用途”,这是早期比较全面介绍有关壳聚糖的工业化生产和应用的文章。1986年,青岛海洋大学研制成功了壳聚糖人工皮肤,在全国23家综合性医院开展了二期临床试验研究,有效率达90.5%,是国内最早在医药方面应用成功的范例<sup>[9]</sup>。北京化工大学开展了甲壳素季铵盐在电影胶片中的应用研究;遵义医学院开展了甲壳素亲和层析剂的研制工作;华东理工大学开展了甲壳素乙酰化反应研究,这些研究工作都取得了积极的结果。该阶段的亮点是1958年出版了专著《甲壳质的利用》和玉环县化工厂实现了甲壳素的工业化生产,其中工业化生产在亚洲尚属首次。

跟踪仿制期(1990~2000年)。众多的大专院校科研机构和企业投入到了甲壳素/壳聚糖的研究开发行列当中,取得了不少的研究成果和产业化业绩。甲壳素/壳聚糖开始被众多的人认识,全国悄然兴起了甲壳素开发热。

首先是甲壳素生产能力大规模提升。甲壳素生产企业从原来的近十家发展到三百多家,经过市场洗礼,涌现出十多个上规模企业。产业布局以沿海地区为主,主要分布在浙江、江苏、福建、山东和辽宁等省。其中,浙江和江苏为甲壳素生产集中区域,企业数量和产业规模均占较大比重,尤其是浙江省的海岛小县玉环县,在不足数平方公里的区域内分布了6家甲壳素生产企业,年氨基葡萄糖生产能力达到4000余吨,出现3家年销售超亿元的省级高新技术企业。2005年全国共出口氨基葡萄糖系列产品8000余吨,消费原材料甲壳素1.6万余吨,其中从国外进口甲壳素超过5000余吨,成为名副其实的氨基葡萄糖出口大国和甲壳素进口大国。

其次是研究开发成果突出。在该阶段一些研究单位系统开展了有关工作,为深化甲壳素/壳聚糖研究奠定了基础。南京总医院金陵药物研究所全面系统地开展了甲壳素提取、理化性质、药理和毒理方面的研究工作,得到了大量的基础数据,为甲壳素在医药方面的应用奠定了实验基础。同时他们还开展了甲壳素在药物缓释方面的研究工作<sup>[10~12]</sup>。



厦门大学合成了数十种甲壳素/壳聚糖衍生物,发现它们均具有溶致液晶性,这些衍生物的溶解性比壳聚糖好,能溶于许多有机溶剂,从而使其溶致液晶性表现得更加充分。后来进一步研究发现,甲壳素本身也有溶致液晶性,说明甲壳素是一类液晶性天然高分子,而且由于甲壳素的巨大蕴藏量和衍生途径的多样性,甲壳素类液晶的研究有着重要的科学价值<sup>[13~16]</sup>。

用低分子冠醚通过接枝反应制得的高分子冠醚,由于高分子效应产生的协同作用,其络合性能和选择性比相应的低分子冠醚有所增强。武汉大学系统合成了含氮、硫和磷原子的新型冠醚壳聚糖衍生物,开展了对金属离子吸附行为和性能的研究,为此类衍生物在金属分离、环境分析及废水处理等方面的应用做了大量的基础研究工作<sup>[17~20]</sup>。

中国科学院兰州化学物理研究所是国内较早系统开展羧甲基、羟乙基、羟丙基和烷基化甲壳素/壳聚糖衍生物研究工作的单位之一<sup>[21~24]</sup>。1998年,该所申请了壳聚糖衍生物国家发明专利,是我国第一件被授权的有关甲壳素/壳聚糖衍生物的发明专利<sup>[25]</sup>。其中一部分产品已产业化,对推动我国甲壳素资源的高值化利用起到了积极作用。同时还开展了壳聚糖/金属配合物的研究工作,在均相条件下,制备壳聚糖与金属离子配合物,首次得到了壳聚糖与锌离子有确定组成的配合物,这为壳聚糖金属配合物的构效关系的定量研究奠定了基础<sup>[26,27]</sup>。

氨基葡萄糖盐酸盐在医药上有广泛的用途,它具有促进抗生素注射效能的作用,可供糖尿病患者作营养补助剂,不但对治疗风湿性关节炎和乙型肝炎等有一定疗效,而且还是合成新型抗癌药物的主要原料。此外,它还可以用于化妆品、饲料添加剂和食品添加剂。由于国外市场对氨基葡萄糖盐酸盐的需求较大,在这个时期,有许多单位开展了工艺研究,主要目的是提高产品的收率。中国科学院大连化学物理研究所1996年承担了科技部“九五”科技攻关项目——“甲壳素生物降解制备低聚氨基葡萄糖的生产工艺”,2000年8月完成了科技成果鉴定,2001年获辽宁省科学技术二等奖。中国科学院海洋研究所也系统地开展了单糖和寡糖的研究工作<sup>[28]</sup>,这些工作推动了单糖和寡糖在医药和农业等方面的应用。

其三是学术活动频繁。1996年10月,中国化学会在大连召开了国内第一届甲壳素化学与应用研讨会,拉开了国内甲壳素/壳聚糖学术交流的序幕。其后,1997年11月在青岛召开了甲壳资源研究与开发学术研讨会。1998年7月,中国甲壳素化学与应用研讨会在玉环县召开,全国各地四十多名从事甲壳素/壳聚糖研究工作的专家参加了会议。1999年10月,中国化学会在武汉又召开了国内第二届甲壳素化学与应用研讨会,来自65个大学与科研部门和22家企业的140多位学者和企业家出席了研讨会。此次研讨会共征集到学术论文84篇,内容分为

综述、结构表征、功能材料、甲壳素衍生物、生理药理和其他应用五个部分。研讨会通过大会交流、分组报告、专题讨论等形式，充分而广泛地探讨了我国甲壳素基础研究与应用情况，并展望了甲壳素在新世纪的研究与应用开发前景。此次会议期间，正式成立了中国化学会甲壳素研究会。

1991年，国内出版了《甲壳和贝壳的综合利用》<sup>[29]</sup>一书。该书介绍了甲壳和贝壳的综合利用方法，详述了甲壳质及其衍生物的生产工艺以及在食品加工、化工、医学、纤维、薄膜材料、农业和其他方面的应用。为了让甲壳素这一宝贵资源在我国能得到充分利用，帮助更多的人以甲壳素为原料开发出更多的新产品，1996年，由蒋挺大编写的《甲壳素》一书正式出版。该书详尽地总结了甲壳素和壳聚糖研究的理论成果，详细介绍了甲壳素/壳聚糖的制备和生产技术、产品技术指标以及化验分析方法，全面地介绍了甲壳素及其各种衍生物作为混凝剂、化妆品、膜材料、纤维材料、催化剂、酶和细胞的固定化载体、药物载体和吸附剂在食品工业、环境保护、医药保健、日用化工、农业及轻纺工业中的应用<sup>[30]</sup>。该书对我国甲壳素/壳聚糖的研究开发起到了积极的推动作用。2003年，该书经作者修订后再版，内容更丰富，对全面了解甲壳素/壳聚糖的应用，具有指导作用。1999年，《第六生命要素：几丁质 几丁聚糖 甲壳质 壳糖胺》也出版发行<sup>[31]</sup>。在该阶段，我国发表的有关甲壳素/壳聚糖的研究论文逐年增加，有些地方还自发成立了民间研究会，这对学术和信息交流起到了很好的推动作用。

其四是产业化技术稳步提高。在该阶段，一是初步解决了甲壳素/壳聚糖的质量稳定性问题，通过工艺控制可生产出不同黏度和不同脱乙酰度的壳聚糖产品。1996年，玉环县海洋生物化学有限公司在有关科技人员的帮助下，完成对原有甲壳素生产工艺的技术创新，将甲壳素生产时间由原来的数十小时缩短为数小时，并且大幅度降低了劳动强度和物耗。1998年，玉环县海洋生物化学有限公司建成国内第一条以虾壳为原料生产高纯壳聚糖的工业化生产流水线，月产高纯壳聚糖20 t。在20世纪90年代末，玉环县甲壳素生产企业由原来的数家猛增至三十余家，年产甲壳素1500 t，全国有30余家企业来玉环采购甲壳素，许多研究单位所用甲壳素/壳聚糖也大多来自玉环县。二是通过工艺持续改进，提高了单糖的收率，降低了产品成本。90年代后期，玉环县企业利用甲壳素生产的氨基葡萄糖盐酸盐的收率可高达50%以上。三是一些科研新成果投入了生产，开发应用领域有较大的拓展，市场上出现了一些利用甲壳素/壳聚糖为原料生产的具有较高附加值的产品，其中保健食品达到了二十几个。此外，在人工皮肤、手术缝合线和纤维制品等方面也得到了长足的发展<sup>[32]</sup>。

自主创新期（2000年以后）。在这个时期，国家加大了对甲壳素/壳聚糖的基础与应用研究开发的投入。国家自然科学基金委员会资助了许多具有原创性的

有关甲壳素/壳聚糖研究项目；科技部对甲壳素/壳聚糖在生物材料等方面的应用研究给予了专项支持；浙江省设立了“科技兴海”专项。与此同时，许多企业主动与研究单位和大学联合，科研和开发投入呈现多元化的局面。多年从事甲壳素/壳聚糖研究的武汉大学、厦门大学、天津大学、江南大学、中国科技大学、浙江大学、中国海洋大学、中国科学院兰州化学物理研究所、中国科学院大连化学物理研究所和中国科学院青岛海洋研究所等单位，培养了大批具有引领和骨干作用的从事该资源开发的人才。在中国知网中输入关键词“壳聚糖”，可以看出自2000年以来，在国内公开出版物发表论文和硕、博士论文的数量如图1-2所示。由图可见，2004年后硕博学位论文数量趋于稳定；2000~2005年，论文数量呈线性增长态势；2006年，中文论文数量减少，但在国外期刊上发表论文的数量明显增多。这表明我国自主创新能力显著增强，并逐步成为国际甲壳素/壳聚糖研究的主力军。目前粗略统计，国内至少有1000家以上的单位从事甲壳素/壳聚糖的相关研究工作。

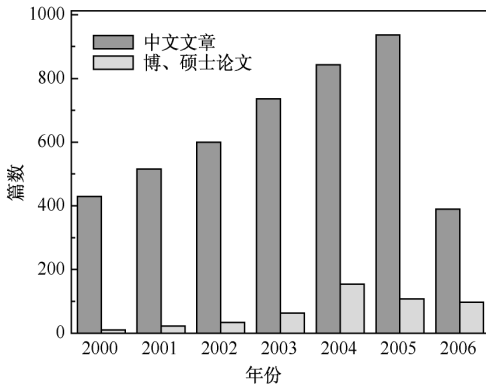


图1-2 2000年以来国内发表中文文章和硕博学位论文的数量

20世纪末、21世纪初，国内多年从事甲壳素/壳聚糖研究的学者撰写的综述文章对引领甲壳素/壳聚糖的研究方向起到了重要作用。2000年，武汉大学杜予民教授综述了甲壳素化学与应用的研究概貌和发展趋势<sup>[33]</sup>，着重围绕甲壳素化学结构与物化性质以及壳聚糖、甲壳低聚糖、氨基葡萄糖及其衍生物应用进行了评论，同时也介绍了国内外甲壳素化学的一些主要活动。厦门大学董炎明教授综述了甲壳素及其衍生物纤维的制备和性能<sup>[34]</sup>，介绍了制备甲壳素纤维的磺化法、含卤溶剂法和酰胺-氯化锂法，总结了壳聚糖纤维制备的一般方法和性能，简要介绍了甲壳素/壳聚糖酯类和醚类衍生物的纤维，讨论了甲壳素类纤维的应用。壳聚糖经酶法水解生成具有重要生理活性和功能性质的甲壳低聚糖，已成为近年

来甲壳素领域中的一个研究热点。江南大学夏文水教授介绍了水解壳聚糖的几种酶和方法<sup>[35]</sup>，讨论了这些酶水解产物的生理活性与其结构之间的关系，指出如何提高壳聚糖酶或甲壳素酶的活性、降低酶法生产的成本，从而开发出商业酶制剂，是酶法生产甲壳低聚糖需要解决的关键问题。组织工程是指应用生命科学与工程的原理及方法构建一个生物装置来维护和增进人体细胞和组织的生长，以恢复、维持或提高受损组织或器官的功能。天津大学姚康德教授结合自己多年在生物材料方面的研究积累<sup>[36]</sup>，指出壳聚糖在组织工程材料研究中，可发挥重要作用。但是目前对用于组织工程的壳聚糖支架材料的研究仍不够全面。支架材料仍然存在许多缺点，如力学强度有限、降解速率与新生组织的生成速率不匹配、材料与宿主的整合性差、材料缺乏表面特异性等。青岛海洋大学刘万顺教授介绍了甲壳素/壳聚糖及其衍生物在医药等方面的应用现状<sup>[37]</sup>，展望了未来的应用前景。此外，国内还有众多从事甲壳素/壳聚糖相关研究的工作者，也发表了多篇综述文章<sup>[38~41]</sup>，对不同专业人员的相互交叉学习，起到了积极的促进作用。

在此期间，2001年出版了《壳聚糖》一书，2007年再版<sup>[42]</sup>。2002年出版了《甲壳素·纺织品——抗病·健身·绿色材料》，书中简要介绍了甲壳素的来源、性能、用途及其独特的保健功能<sup>[43]</sup>。该书的作者结合参与甲壳素课题研究、甲壳素保健纺织品研制与开发工作实践，重点阐述了甲壳素纤维的制造方法和纺纱工艺方案以及开发各种甲壳素纺织品的途径和方法。

2001年在浙江省玉环县召开的第三届甲壳素化学与应用研讨会，应该说对我国甲壳素/壳聚糖的研究具有里程碑意义，接着2004年在广西北海召开了“第四届甲壳素化学与应用研讨会”，而2006年在南京召开的第五届甲壳素化学学术讨论会更具有深远影响。为了顺应交叉学科发展和推动应用研究的需要，会议名称更名为中国化学会第五届甲壳素化学生物学与应用技术研讨会。会议主要内容有：甲壳素/壳聚糖物理化学性质与结构基础、甲壳素/壳聚糖分子表征与分析、甲壳素/壳聚糖溶解性能与相对分子质量和相对分子质量分布、甲壳素/壳聚糖化学改性和相关技术、甲壳素/壳聚糖降解及分离纯化、甲壳素/壳聚糖资源与清洁生产、甲壳素/壳聚糖应用开发与深加工利用、甲壳素/壳聚糖的生物学与生态学、甲壳素/壳聚糖生理活性与药理作用、甲壳素/壳聚糖其他相关内容。从会议提交论文的内容来看，基础研究明显加强，创新性成果明显增加，年轻科学工作者明显增多，表明我国甲壳素/壳聚糖的研究进入蓬勃发展时期。

2006年6月1~3日，由中国化学会甲壳素专业委员会、中国生物工程学会糖生物工程专业委员会和中国海洋学会海洋生物工程专业委员会联合主办的“中国甲壳素及其衍生物学术研讨会”在青岛召开，来自国内不同专业领衔甲壳素/

壳聚糖研究的三十多位专家学者做了大会报告。这是我国近年来学科专业最齐全、大会交流时间最长和成果最丰富的一次学术交流会。从报告内容看,在医药、生物材料和功能材料等方面的研究成为热点,预示着甲壳素/壳聚糖在纳米生物材料、生物活性材料和环境友好功能材料方面有广阔的应用前景。

“十一五”期间,依据《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006~2020年)》、《国家“十一五”科学技术发展规划》和《“863”计划“十一五”发展纲要》,“863”计划生物和医药技术领域将围绕医药卫生、工业发酵、生物资源开发和生物安全等领域中的重大技术需求,着力自主创新,加强关键技术的研发和突破,提升生物和医药技术的整体竞争能力,力争实现跨越式发展。为此,2007年3月29日,科学技术部生物和医药技术领域办公室发布了“高靶向缓释纳米医药制剂研发”、“纳米生物材料研发”和“纳米生物器件研发”重点项目申请指南。针对重大疾病诊断和(或)治疗,研制新型纳米制剂,达到特异性靶向输送的目的。通过创新设计和优化获得缓释性强、生物相容性好、无毒副作用、包封率及载药量高的可应用于临床的纳米药物制剂;在不改变药性的前提下,建立纳米载体规模化制备工艺,实现绿色无公害低成本生产,解决产业化开发各种纳米制剂的关键技术,开发具有自主知识产权的新型功能性纳米生物材料,甲壳素/壳聚糖在这方面的应用将受到高度关注。

“新型海洋生物制品研究开发”是“十一五”国家“863”计划海洋技术领域重点项目之一。2007年5月14日,科学技术部“863”计划海洋技术领域办公室发布了“新型海洋生物制品研究开发”重点项目申请指南。其主要研究内容是以海洋生物大分子甲壳素/壳聚糖等为基本原料,进行分子修饰和分离纯化工艺研究;建立海洋生物医用材料三类医疗器械产品用壳聚糖基原料的质量标准体系和生产工艺;进行功能性医用材料和组织工程支架等产品的研制;进行生物安全性、功效评价和临床等研究;确立药用辅料或其他生物材料产业化生产工艺。研究目标是建立海洋生物医用材料规模化生产技术体系,研制出2~3种新型海洋生物医用材料的三类医疗器械产品和1~2种药用辅料或其他生物材料,建立我国海洋生物医用材料研发基地。同时还发布了“海洋生物农药及植物促生长剂产业化关键技术研究”,以海洋多糖为原料,研究酶催化可控降解技术及分离纯化技术;研究规模化生产工艺及放大等过程工程技术;开发新型生物农药、植物促生长剂及饲料添加剂,进行生物安全性、稳定性、药效评价和应用技术等研究。其研究目标是突破海洋寡糖生物农药及饲料添加剂规模化生产关键技术,建立产品质量标准体系;实现2~3种海洋生物农药、植物促生长剂及饲料添加剂规模化生产及其产品的推广应用;建立我国海洋寡糖生物制品研发基地。由此可见,未来甲壳素/壳聚糖将在提高人们生活质量等方面发挥重要作用。

## 1.2 甲壳素的分布与分离

### 1.2.1 甲壳素的分布

甲壳素广泛存在于自然界的昆虫类、甲壳类（如虾、蟹等）和软体类动物的骨骼及某些藻类的骨骼和某些菌类的细胞壁中，是地球上蕴藏量最丰富的有机物之一，在虾、蟹壳中的含量高达15%~30%。每年生物合成甲壳素达100亿t之多，其年产量仅次于纤维素，是地球上一种取之不尽、用之不竭的可再生天然资源。

据报道，蛹皮中含有30%~35%的甲壳素；虾壳等软壳中含有15%~30%的甲壳素；蟹壳等硬壳中含有15%~20%的甲壳素；而干虾蛄中含有15%的甲壳素；蛆壳是纯度极好的甲壳素，含量达95%以上。甲壳素的分布在有关专著和文献中已进行了全面总结<sup>[44,45]</sup>。甲壳素在自然界并非单独存在，而是往往和其他物质一起构成复杂的化合物。在昆虫外壳和软体动物的外壳骨架中，甲壳素和蛋白质结合在一起，这样可以通过和多羟基酚交联而增加昆虫角质层的硬度；而在真菌中甲壳素与其他多糖如纤维素结合<sup>[46]</sup>。直到现在，纯净的甲壳素仅仅被证实存在于硅藻的胞外突起中<sup>[47]</sup>，而 $\beta$ -(1,4)-N-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖只在实验室通过严格的纯化分离过程并除去其他物质才可以获得。Richards<sup>[48]</sup>认为甲壳素严格说来并不是真正的天然有机化合物，而是经过复杂反应得到的产物。Hachman<sup>[49]</sup>也认为“天然甲壳素”应区别于从复杂化合物中分离出来的甲壳素，但 Hunt<sup>[50]</sup>认为“天然甲壳素”只表示聚合物结构和大分子组成的不同，而不是和其他分子联系在一起，他认为“天然甲壳素”应为“甲壳素-蛋白质复合物”。甲壳素作为自然界除蛋白质外数量最大的含氮天然有机高分子，在地球生物圈中众多的甲壳素酶、溶菌酶和壳聚糖酶等的生物降解下，参与生态体系的碳和氮循环，对地球环境和生态系统保护起着重要的调控协同作用。

甲壳素分为 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 三种构型。 $\alpha$ -构型最稳定，故其含量最高；而 $\beta$ -、 $\gamma$ -构型可以在适当条件下转化为 $\alpha$ -构型。 $\beta$ -甲壳素在甲酸中沉淀或与6 mol/L酸作用可得到 $\alpha$ -甲壳素<sup>[51]</sup>，这两种构型之间转换的难易程度与 $\beta$ -甲壳素的来源有关。如从动物的刺中提取的 $\beta$ -甲壳素容易发生构型转换，而从硅藻的胞外突起和食道上皮中得到的 $\beta$ -甲壳素难以发生构型转变<sup>[51]</sup>。在饱和的LiSCN水溶液中 $\gamma$ -构型将全部转换为 $\alpha$ -构型<sup>[51]</sup>，但在沸腾的1.25 mol/L NaOH中和1.57 mol/L HCl中， $\beta$ -、 $\gamma$ -构型均能稳定存在<sup>[52]</sup>，所以从生物中提取甲壳素时不会改变其构型。

不同构型的甲壳素有不同的功能。 $\alpha$ -甲壳素存在于高硬度的部位如节肢动物

的角质层，并常与壳蛋白或无机物结合； $\beta$ -和 $\gamma$ -构型的甲壳素多存在于柔软和结实的部位。乌贼体内同时存在这三种构型的甲壳素： $\alpha$ -甲壳素在胃内可形成薄的食道上皮， $\beta$ -甲壳素可形成一种骨架， $\gamma$ -甲壳素在胃中形成一种厚的上皮组织<sup>[51]</sup>。

甲壳素又名甲壳质、几丁质等，其化学名称为(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧- $\beta$ -D-葡萄糖，是通过 $\beta$ -1,4糖苷键相连的线形生物高分子。甲壳素与植物中的纤维素有相似的结构(图1-3)，当纤维素C<sub>2</sub>位上的羟基(—OH)被乙酰氨基(—NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)取代后，就变为甲壳素，故有人也将甲壳素称为动物纤维素。然而，它们的理化性质却有很大差别。甲壳素除溶于二甲基乙酰胺/氯化锂、六氟丙酮和二氯乙烷与三氯乙酸的混合溶剂外，几乎不溶于其他的有机溶剂和稀酸、稀碱中<sup>[53]</sup>。有关甲壳素的构型将在第2章中详细介绍。

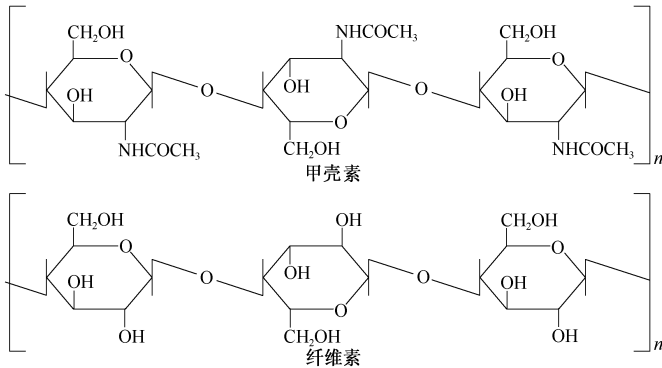


图 1-3 甲壳素和纤维素的结构式

## 1.2.2 甲壳素的分离

人们对甲壳素的分离与结构确认经历了一个漫长的过程。1811年，Braconnot用强碱从高级真菌中分离出一种物质，称其为真菌纤维素<sup>[1]</sup>。由于在制备过程中得到了乙酸，证实真菌纤维素是新的化合物。1823年，Otier从小金甲虫的翅鞘中，经过热浓KOH溶液处理，分离出一种不溶残渣，把它命名为甲壳素<sup>[54]</sup>。1824年，Children出版了Otier的论文英译本，并增加了自己关于甲壳素的研究成果。在翅鞘燃烧试验中，发现有N<sub>2</sub>生成，这说明甲壳素中含有氮元素。然而，Otier燃烧实验样品不是用热NaOH溶液处理得到的，这将使样品中含有大量的蛋白质，该样品燃烧就会放出N<sub>2</sub>。因此，用热浓KOH溶液水解处理得到的产物，很可能是壳聚糖而不是甲壳素。在1859年，Rouget用浓NaOH溶液加热回流处理甲壳素，得到了被称为“修饰甲壳素”的物质<sup>[2]</sup>，它可溶于有

机稀酸，用碘处理显示出与甲壳素不同的颜色。1894年，Hoppe-Seyler用180℃的KOH溶液处理甲壳素，得到一种易溶于稀乙酸和稀盐酸的产品。在得到的酸液中加入碱会生成沉淀<sup>[55]</sup>。Hoppe-Seyler没有采用“真菌纤维素”的名称<sup>[2]</sup>，而是称其为壳聚糖。

在19世纪对纤维素、甲壳素和壳聚糖的认识存在许多困惑。人们把在真菌中发现的这几种物质，统称纤维素。1891年，Schulze建议把不溶于稀酸和稀碱的细胞壁组成部分叫纤维素<sup>[56]</sup>，但用纤维素指代“真菌纤维素”还是延续了多年。1894年，Winterstein在180℃用熔融的碱处理“真菌纤维素”，得到一种含氮化合物，虽然它水解得到的单糖与处理甲壳素的结果相同，但Winterstein认为“真菌纤维素”和甲壳素不完全相同，其获得的产物是壳聚糖而不是甲壳素<sup>[57]</sup>。此后，Winterstein用稀H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>或稀NaOH溶液加热回流从真菌中得到的物质，其水解产物与用稀盐酸水解所得产物相同。尽管如此，Winterstein仍用“真菌纤维素”来表示这种物质。

元素分析发现，由真菌制备的甲壳素与动物甲壳素完全相同，认为甲壳素在蘑菇中所起的作用与在显花植物和许多隐花植物中的纤维素是一样的。甲壳素可能和与显花植物中的纤维素相似的或相同的其他碳水化合物有联系。从黑曲霉中分离出的“真菌纤维素”，虽然与其他由真菌所得结果一样，但只有从黑曲霉中所得产物与蟹壳中的甲壳素相同。在后来的30年中，发现在蜗牛的萃取物中包含了壳糖酶，与动物甲壳素<sup>[58]</sup>和真菌甲壳素<sup>[59]</sup>中发现的两种酶作用相似。在X射线衍射图中发现，甲壳类动物、真菌和昆虫体中的甲壳素结构很相似<sup>[60]</sup>，而且真菌和昆虫中甲壳素的红外光谱是完全相同的。现在我们已经知道从甲壳类动物和真菌中获得的甲壳素都是 $\beta$ -(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧-D-吡喃葡聚糖，但不同来源所含的甲壳素的量不同，分布方式也不同。

现阶段工业化生产制备甲壳素主要以水产加工厂废弃的虾壳和蟹壳为原料，采用酸碱浸泡的化学法分别去除碳酸钙和蛋白质而制得。但该工艺存在许多固有的缺点：①虾、蟹等原料多产于沿海地带因而受到地域的限制；②虾、蟹繁衍的季节导致原料供应的季节性波动；③原料难以收集、保鲜和运输；④原料来源具有多样性、差异性，产品品质难以控制；⑤虾、蟹甲壳中含有大量的碳酸钙，这给甲壳素的提取带来了困难，在增加成本的同时还产生大量废水<sup>[61]</sup>。因此，人们将开发新的甲壳素资源的注意力集中在资源量大、种类多的昆虫等生物上。

近年来，松毛虫作为一类潜在的甲壳素资源受到了人们的重视<sup>[62~65]</sup>。研究发现，松毛虫中除含有丰富的蛋白质外，甲壳素的含量也较高，如云南松毛虫成虫中的甲壳素含量为17.83%，德昌松毛虫蛹中的甲壳素含量为9.99%<sup>[64]</sup>。

蝇蛆也是一种很有潜力的甲壳素资源。蝇和蛆壳的甲壳素得率分别为10%~13%和15%~20%，蝇和蛆壳的壳聚糖得率分别为8%~10%和13%~16%<sup>[65]</sup>。



利用盐场废弃物卤蝇蛆壳提取甲壳素和壳聚糖, 蝇蛆甲壳素在质量分数 45% NaOH 和 100℃ 反应 1 h 即可得到自洁度好、黏度大、相对分子质量大的蝇蛆壳聚糖<sup>[66,67]</sup>。蝇蛆壳聚糖具有免疫增强功能、调节血脂作用和抗突变作用<sup>[68,69]</sup>。此外, 蝇蛆壳聚糖对受试的 16 种真菌都有一定的抑制作用, 抑制率最高时的蝇蛆壳聚糖溶液浓度为 300 mg/mL, 抑制效果最显著的真菌是丝核菌 (*rhizoctoniaspp*)<sup>[70]</sup>。

蚕蛹也富含甲壳素。在桑蚕蛹<sup>[71]</sup>、家蚕蛹皮<sup>[72]</sup>和柞蚕蛹<sup>[73]</sup>中都含有丰富的甲壳素。从蚕蛹中制备壳聚糖可作为相应酶的固定化载体<sup>[74]</sup>。从蚕蛹壳中可获得  $\alpha$ -甲壳素<sup>[75]</sup>。研究发现, 当用 6 mol/L HCl 和几丁质酶进行水解时, 昆虫甲壳素比虾甲壳素更易水解, 昆虫甲壳素比虾甲壳素也更易脱去乙酰基。对黄粉虫进行蛋白质和脂类等有效物质的综合提取后的虫渣及虫蜕, 可制备甲壳素和壳聚糖<sup>[76]</sup>。经酸碱法制得虫渣中壳聚糖提取率为 4.2%~4.4%, 虫蜕中的得率为 11.0%; 在相同制备条件下, 虫渣中壳聚糖的脱乙酰度为 66.5%~70.8%, 虫蜕中的壳聚糖脱乙酰度为 61.0%<sup>[77]</sup>。

利用蝉蜕可制取甲壳素和壳聚糖<sup>[77]</sup>, 所得壳聚糖产物为白色片状, 脱乙酰度大于 90%<sup>[78]</sup>; 在一定条件下经 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化降解, 可制得相对分子质量较小的壳聚糖, 为蝉壳的综合开发利用找到了一条新的开发途径<sup>[79]</sup>。掸子虫又名宽跗陇马陆, 也是潜在的甲壳素资源。对掸子虫中的甲壳素和壳聚糖与蟹壳中的甲壳素和壳聚糖的性能比较研究表明<sup>[80]</sup>, 在相同反应条件下, 由于掸子虫甲壳素分子间的作用力较弱, 因而掸子虫甲壳素比蟹壳甲壳素具有较高的脱乙酰度。同时掸子虫甲壳素和壳聚糖的亲水性和保湿性都比蟹壳甲壳素和壳聚糖的高, 因而更适宜用作医用缓释辅料。利用微波法制备蜚蠊甲壳素/壳聚糖产品, 可提高蜚蠊的利用率<sup>[81]</sup>; 以蟋蟀和金龟子为材料也可获得甲壳素/壳聚糖<sup>[82,83]</sup>。此外, 软体动物鱿鱼<sup>[84]</sup>和蘑菇副产品中也含有甲壳素<sup>[85]</sup>。在子囊菌纲、担子菌纲、藻类纲及半知菌纲等真菌细胞壁中的甲壳素含量也十分可观<sup>[86]</sup>。

我国陆地昆虫资源丰富, 但目前我国昆虫类甲壳素资源的开发研究尚处在起步阶段, 除了个别昆虫外, 许多昆虫的甲壳素含量及特性尚不了解。一些已被研究的昆虫, 除继续优化壳聚糖的分离和纯化工艺外, 其壳聚糖的结构特性和功能也有待进一步深化研究。

### 1.2.3 甲壳素的清洁生产

甲壳素的制备一般采用酸 (HCl) 脱钙和碱 (NaOH) 脱蛋白, 两种化学品对甲壳素的分子链都有一定的破坏, 而且能耗高, 废弃物对环境污染较严重。目前, 我国为制备 1 t 甲壳素需消耗 28~35 t 动物甲壳废弃物、0.5 t 片碱、8.5 t

30%的盐酸、200~250 t 淡水和 1.5 t 煤炭等原料和能源，末端废水处理成本达 5 元/t 以上，巨大的物质和能源消耗及环保治理成本是西方发达国家不愿生产甲壳素的主要原因。

清洁生产是指不断采取改进设计、使用清洁能源、采用先进的工艺技术与设备、改善管理和综合利用等措施，从源头削减污染，提高资源利用效率，减少或者避免生产、服务和产品使用过程中污染物的产生和排放，以减轻或消除对人类健康和环境的危害。甲壳素清洁生产就是引入清洁生产理念，通过对传统甲壳素生产工艺的分析和工艺创新，提高原料中蛋白质、CaCl<sub>2</sub>、HCl 等副产品的回收利用和能源的利用率，降低甲壳素生产过程中的废物排放，实现甲壳素的清洁化生产。其实现的途径主要有两条：一是改革传统的酸碱法生产工艺；二是开发不产生二次污染的新生产工艺，使用环境友好的试剂，如用酶或微生物替代碱和酸分别脱去蛋白质、矿物质等。

有关甲壳素清洁生产研究，中国专利申请（03115713.0）涉及一种甲壳素清洁生产工艺，以虾蟹壳为原料，先采用较低浓度 HCl 喷洒虾蟹壳，使虾蟹壳软化，然后用 AS 1.398 中性蛋白酶水解软化虾蟹壳中的蛋白质，滤出蛋白水解液后的固形物，用 3~5 mol/L HCl 溶液于 40~50℃ 浸泡 1~2 h，彻底脱除钙等矿物质，经自来水清洗、晒干获得甲壳素产品，而滤出蛋白水解液经调 pH、沉淀、离心、干燥和粉碎等工艺过程，获得红色虾蟹蛋白水解精粉产品。另一个中国专利申请（2005100233515）也涉及一种甲壳素清洁生产工艺。先是通过原料的预处理，大幅度削减蛋白质、水等物质进入碱煮这一后续工段；其次是回收碱煮废水中富含的虾蟹蛋白质及其降解产物、虾青素、油脂等，从根本上削减有机物的排放、变废为宝，降低末端综合废水处理难度；然后回收酸浸废水中的 CaCl<sub>2</sub> 和 HCl；最后将汇集的综合废水通过絮凝沉淀及 UASB（upflow anaerobic sludge bed）——好氧处理达标排放。该清洁生产工艺变末端治理为产品源头全方位、全生产过程的控制，变单一的物化处理为生化法、物化法和废水回用及资源回收为一体的综合治理，变污染物的多元交叉为单一分隔，避免污染物的多元交叉混合，为资源回收和后续废水的生化处理创造了条件，从而突破甲壳素生产废水因高 COD 值和高氯根含量，导致不能采用生化法等常规办法治理的瓶颈制约，使长期困扰甲壳素产业的废水治理这一世界性难题得到解决，同时可回收大量的动物蛋白质和其他资源，经济和社会效益显著。一个年产 100 t 的甲壳素生产企业，实行清洁生产后，由于大量削减废物和能源，不仅废水处理成本由原来的 5 元/t 降至 1.0~1.5 元/t，而且可回收蛋白质固形物达 150~200 t，节约 30%的盐酸达 100~200 t，节约用水 15 000 t 等，产生的经济效益远大于废水处理成本，这对提高我国甲壳素产业竞争力意义重大。在这方面，浙江省玉环县的企业已经开展了部分工作，取得了较好的结果。

在研究中发现,传统甲壳素生产中  $\text{Cl}^-$  本身对 COD 测定值的贡献偏大,即使将废水中的虾蟹壳蛋白及其降解产物、虾青素、油脂等有机物除尽,若废水处理中没有废酸和  $\text{CaCl}_2$  的回收这一步,则出水 COD 是不可能达标排放标准的。 $\text{Cl}^-$  对 COD 测定值的贡献值计算如下:以生产 1 t 甲壳素计,需 30% 工业盐酸 8~8.5 t。则引入的  $\text{Cl}^-$  的量为

$$(8 \sim 8.5) \times 30\% \times 35.45/36.45 = 2.334 \sim 2.480(\text{t}) \quad (1-1)$$

理论上,1 mg  $\text{Cl}^-$  完全氧化后,需氧 0.226 mg,则折合 COD 绝对值为 0.5266~0.5763 t。若以综合废水的体积 300 t 计,则引入 COD 的相对值为 1742~1921 mg/L。因此,建议有关部门对甲壳素行业的废水处理环保指标达标考核应该充分考虑这一特殊性。

以虾壳为原料,采用乳酸发酵法来制备甲壳素,试验结果表明:葡萄糖是发酵的限制性底物,当新鲜湿虾壳与水的比例为 1:3、葡萄糖浓度为 15% (相对于原料壳)、发酵温度为  $(42 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、发酵时间为 3~7 d 时,所得甲壳素产品灰分小于 8%,固液分离后的发酵废液经浓缩回收可作为饲料添加剂或液体肥料,整个生产过程不使用强酸强碱,对环境友好。此外,用 EDTA 替代盐酸制备甲壳素,同等条件下所制得的甲壳素相对分子质量要高得多<sup>[87]</sup>,其他各项综合性指标均优,EDTA 可回收,从而减少环境污染。相信通过不断努力,环境友好生产甲壳素的新工艺会被不断推出。

### 1.3 壳聚糖的制备

甲壳素脱去乙酰基可得到壳聚糖,但要得到完全脱乙酰基的产物很困难。通常把脱乙酰度大于 60% 或能溶于稀酸的脱乙酰基产物统称为壳聚糖。其制备方法可以分为化学制备法和酶法制备法。目前市场上所售壳聚糖一般是由甲壳素经强碱水解法除去分子中乙酰基而得到的,反应方程式如图 1-4 所示。

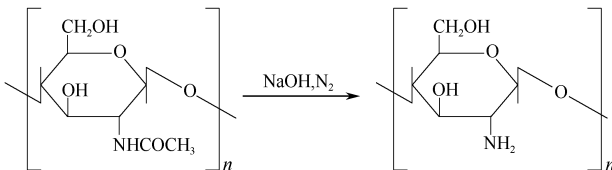


图 1-4 碱法水解甲壳素制备壳聚糖的反应式

#### 1.3.1 壳聚糖的化学制备方法

壳聚糖化学制备法主要有碱熔法、浓碱液法、碱液催化法和水合肼法等。衡

量壳聚糖产品性能的主要指标是脱乙酰化度和相对分子量（或黏度）。迄今为止，已有不少研究者进行过制备壳聚糖的研究<sup>[88,89]</sup>，获得了有意义的结果。纵观研究结果，从虾、蟹壳中提取壳聚糖一般都遵循图 1-5 所示的工艺流程。

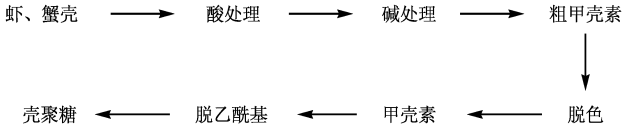


图 1-5 壳聚糖制备工艺

### 1.3.1.1 碱熔法

这是早期生产壳聚糖的一种方法，它是将甲壳素直接与固体氢氧化钾在镍坩锅中熔融。在  $N_2$  保护下于  $180^\circ C$  熔融 30 min，然后转入乙醇溶剂中。生成的胶状沉淀用水洗至中性，即得粗品壳聚糖。将粗壳聚糖溶于 5% 的甲酸溶液中，用稀 NaOH 溶液中和使之沉淀，过滤，洗涤至中性，重复以上操作即可得到精品壳聚糖。但该法得到的产物，主链降解严重，相对分子量较小，同时操作复杂，目前已不用此法制备壳聚糖。

### 1.3.1.2 浓碱液法

这是目前最常用的制备壳聚糖的方法，一般用 40%~50% 的氢氧化钠溶液在  $100\sim 130^\circ C$  反应 0.5~6 h，就可得到不同脱乙酰度的壳聚糖。其中碱的浓度、反应温度、反应时间和甲壳素的固体形状与壳聚糖的脱乙酰度密切相关。

以碱液浓度、碱处理温度和时间三个因素为影响壳聚糖性能（黏度和脱乙酰度）的主要因素，按正交实验法进行实验<sup>[90]</sup>。结果表明：NaOH 浓度、碱处理温度及处理时间对壳聚糖性能都有着不同程度的影响，而 NaOH 浓度的影响是最主要的。以黏度和脱乙酰度作为壳聚糖的主要质量标准，制备壳聚糖的工艺条件为：磨碎的甲壳素（40 目）以 1:10 (W/V) 与 45%~50%（最好是 47%）的 NaOH 溶液混合，然后在  $90^\circ C$  左右的温度下反应 8~10 h。整个反应过程中应仔细控制好温度，并不断搅拌混合液。反应之后将产物用水洗至中性，干燥即得纯白色的壳聚糖粉末。为了加快脱乙酰反应，也可进行间断性水洗。

在均相条件下，当甲壳素脱乙酰度为 50% 左右时，产物具有良好的水溶性；但如果反应在非均相的条件下进行，即使脱乙酰度达到 50%，产物也不溶于水<sup>[91]</sup>。化学结构分析结果表明：脱乙酰度为 50% 左右的水溶性壳聚糖分子链中，

乙酰氨基和氨基呈无规分布,破坏了分子的有序性,从而使产物具有水溶性。水溶性壳聚糖不但提高了壳聚糖的溶解性能,而且能溶于碱性溶液,使得改性反应可在碱性条件下进行<sup>[92]</sup>,从而进一步扩大了壳聚糖研究与应用的范围。虽然均相脱乙酰可制备水溶性壳聚糖,但反应需在浓碱中进行,后期脱盐时需大量的溶剂,难以进行工业化生产。

### 1.3.1.3 溶剂碱液法

在浓碱液法中,NaOH的用量大大过量,造成了不必要的浪费。有机溶剂(如异丙醇、丙酮、乙醇等)对甲壳素有强的渗透作用,可作为稀释介质使NaOH易于进入甲壳素分子内部,因而不仅可减少碱的用量,还可获得高脱乙酰度的壳聚糖。而采用间歇法制备工艺可获得高脱乙酰度、高品质的壳聚糖。在不同反应溶剂介质中,在反应温度60℃时,丙酮比乙醇有较高的脱乙酰度和相对分子质量,但是用丙酮作反应介质时,产物不易洗涤,且色泽发黄。在反应温度80℃时,用水作反应介质,与乙醇相比不但脱乙酰度低,产品色泽也不好,而且产物洗涤非常困难。因此,乙醇是较为适宜脱乙酰化的反应介质。乙醇有一定的极性和渗透性,它可有效地扩散渗入壳聚糖分子内部,因而提高了反应的效率。以乙醇为反应介质,在反应温度80℃,反应时间3h,壳聚糖与氢氧化钠和乙醇的质量比为1:3:16的条件下,可获得脱乙酰度达90%的壳聚糖,而传统方法只有80%<sup>[93]</sup>。

### 1.3.1.4 碱液微波法

在壳聚糖的制备中,利用微波辐射加热新技术替代传统加热可以大幅度地缩短碱处理时间,且使壳聚糖具有较高的脱乙酰度和良好的溶解性。1979年,Peniston首次应用微波处理甲壳素来制备壳聚糖<sup>[94]</sup>。近十几年来,国内利用微波技术来制备壳聚糖的报道层出不穷<sup>[95~97]</sup>。采用常规的碱液法,在温度100℃、50% NaOH溶液体系中反应10h可获得脱乙酰度85%的壳聚糖。而改用碱液微波协同处理技术后,在80℃下处理18min,即可得到脱乙酰度达80%以上的壳聚糖。采用半干法微波处理也可制备壳聚糖。将预先粉碎到一定粒度的甲壳素(蟹壳)与一定量的浓碱溶液混合均匀,成糊状物。置于微波炉中,进行脱乙酰基反应,反应结束后,用热水洗涤至中性,再用甲醇浸泡洗涤后,真空干燥得白色或微黄色粒状产品<sup>[98]</sup>。

微波辐射技术极大地缩短了甲壳素脱乙酰化的反应时间,节约了能耗。但是,该法由于微波辐射造成了甲壳素分子链的严重断裂,其产品的相对分子质量

较低,故该法特别适用于制备高脱乙酰度、低相对分子质量的壳聚糖。采用微波处理可以提高甲壳素的反应活性,显著提高脱乙酰基反应的速率,大大缩短了反应时间和大幅度减少碱用量。在节约原料及降低能耗方面有明显作用,对降低壳聚糖的生产成本有积极意义,若能设计出较适用的工业微波反应器用于生产,将产生显著的经济效益。

### 1.3.1.5 碱液催化法

该法适用于制备高脱乙酰度和高相对分子质量的壳聚糖。在该工艺中除使用 NaOH 外,还加入了苯硫酚及二甲亚砜等溶剂。苯硫酚在 NaOH 强碱溶液中形成了具有脱氧与催化作用的苯硫酚钠。因而,一方面加速了反应的进程,另一方面又防止了主链的断裂。以 NaOH 醇水溶液为反应介质,实验采用价廉、无毒,且与人体相容性好的聚乙二醇(PEG600)为相转移催化剂(反应后无需分离除去),在反应条件比较温和的情况下制备壳聚糖,在 NaOH 质量分数为 35%,反应温度 90℃,反应时间 3 h,相转移催化剂质量分数为 5%时,有较高的脱乙酰度。该方法在碱液浓度不高的情况下达到除去蛋白的目的,降低了甲壳素的降解,减少了酸碱的用量,缩短了生产周期<sup>[99]</sup>。但是该方法目前仅限于实验室少量样品的制备。有关甲壳素脱乙酰化制备壳聚糖的内容还将在第 5 章中做详细介绍。

## 1.3.2 壳聚糖的酶法制备方法

甲壳素脱乙酰酶可以水解脱掉甲壳素上的乙酰基。因此,可以利用它代替现有的浓碱热解法生产高质量的壳聚糖。1974 年,最初从接合菌纲(*Zygomycetes*)的 *Mucor rouxii* 中发现甲壳素脱乙酰酶<sup>[100]</sup>,1982 年,又从半知菌纲(*Deuteromycetes*)的 *Colletotrichum lindemuthianum* 中发现该酶的存在<sup>[101]</sup>。在甲壳素脱乙酰酶的纯化和特性方面,对几种真菌研究得较深入,如:*Mucor rouxii*、*Absidia coerulea*、*Aspergillus nidulans* 及 *Colletotrichum lindemuthianum* 菌种。采用免疫亲和层析法对 *Mucor rouxii* 的甲壳素脱乙酰酶进行纯化,只需一步即可达到电泳纯,得率为 29.1%,比活力为 13.33 U/mg<sup>[102]</sup>;不同来源的甲壳素脱乙酰酶其相对分子质量、等电点、最适 pH、抑制剂、酶分布的位置等又不完全一样,这些差异导致不同来源的甲壳素脱乙酰酶的生理功能不同。在酶对底物的要求方面,从 *Mucor rouxii*、*Colletotrichum lindemuthianum*、*Absidia coerulea* 中得到的甲壳素脱乙酰酶对底物的要求较严格,只能以甲壳素、壳聚糖及其衍生物为底物,而 *Aspergillus nidulans* 的甲壳素脱乙酰酶对底物的