

综 述

甲壳质化学的研究与应用进展

ADVANCES IN THE RESEARCH AND APPLICATION OF CHITIN CHEMISTRY

张宗恩

ZHANG Zong-En

(上海水产大学食品院, 200090)

(College of food Science, SFU, 200090)

关键词 甲壳质化学, 基本框架, 壳聚糖, 甲壳寡糖, 甲壳单糖

KEYWORDS chitin chemistry, basic structure, chitosan, chitinous oligomers, chitinous monosaccharide

中图分类号 O636.1, S986

甲壳质(Chitin),又名甲壳素、几丁质、壳蛋白等,是由N-乙酰基-D-氨基葡萄糖通过 β -(1,4)糖苷键联结起来的直链多糖,大量存在于海洋无脊椎动物的外壳、昆虫、真菌和酵母中[Austin等1981]。由于其资源丰富、结构与性能独特,从而引起了各国科学工作者的极大兴趣和广泛关注,并已形成独立的分支学科——甲壳质化学。本文就甲壳质化学的基本框架体系以及甲壳质化学的研究与应用进展作一综述。

1 甲壳质化学的体系框架

作为一门独立的学科,甲壳质化学也有其内在的规律和完整的框架体系(图1)。

图中七种物质不但相互关联,而且可以相互转化,从而构成了甲壳质化学的基本框架。在此我们把这些物质称为关键物质。另外,六种物质经过一定的化学修饰又可以生成各种各样的衍生物,以满足人们的各种需要。甲壳质化学就是研究这些关键物质及其衍生物的制备、结构、理化性质、反应规律及其应用的科学。

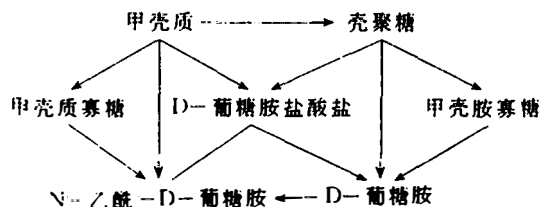


图1 甲壳质化学的基本框架

Fig. 1 The basic structure of chitin chemistry

2 关键物质的制备、性能及应用

2.1 甲壳质和壳聚糖(Chitosan)

2.1.1 制备

甲壳质主要从虾蟹壳中分离得到。虾蟹壳中除含有甲壳质外,其余主要是钙质(碳酸钙和磷酸钙)和蛋白质等,分离方法有物理法[江楠 1992]、酶法[Shimahara 等 1982, Gagne 和 Simpson 1993, Santoso 等 1993]、化学法[No 和 Meyers 1995]和电化学法[Maslova 等 1996]等,而以化学法居多。一般用稀盐酸在常温下分解碳酸钙和磷酸钙,用稀碱加热分解蛋白质,再经氧化脱色即得白色的甲壳质。产品的性能随甲壳种类及制备方法的不同而有所差异[Brine 和 Austin 1981]。

甲壳质经脱乙酰化反应便得壳聚糖。常见的有化学法和酶法。化学法又有非均相反应和均相反应之分,而以非均相反应研究的最多。一般地,在非均相条件下,甲壳质经40%~60%的浓碱于100℃~150℃下反应数小时脱去大部分或全部乙酰基。影响脱乙酰基反应程度的因素有原料种类(甲壳质的晶型)、甲壳质的制备方法、甲壳质颗粒的大小和密度、碱液的浓度、反应的气氛、温度和时间等[No 和 Meyers 1995]。衡量壳聚糖产品性能的主要指标是脱乙酰度和粘度(或分子量)等。一般地提高反应温度、碱液浓度和延长反应时间等均可提高脱乙酰度,但同时也会伴随甲壳质主链的降解,影响产品的粘度和分子量。为了减缓主链的降解以制得高粘度的产品,可以采用增加反应次数并间隙漂洗中间产物的方法[Mima 等 1983];也可在反应过程中通入氮气去除体系中游离的氧[Bough 等 1978]。为了使反应在较温和的条件下进行(如稀碱、低温、短时间反应等),严伯奋和童瑞璜[1997]通过微波辐射加热代替普通的加热,大大缩短了碱处理的时间;Batista 和 Roberts[1990]使用水溶性有机溶剂(如异丙醇、叔丁醇、丙酮等),可使碱液的浓度减少85%;Pelletier 等[1990]应用特殊方法用10%(W/V)的碱液在4℃反应24小时可制得几乎完全脱乙酰基的产品。Domard 和 Rinaudo[1983]使氢氧化钠在苯硫酚的作用下制得了100%脱乙酰度的产品。

如果甲壳质的脱乙酰化反应在均相进行,则可得到脱乙酰度在50%左右而又能溶于水的产物[Sannan 等 1976],且溶解性与脱乙酰度有着很大的依赖关系,脱乙酰度超过60%和低于40%的样品均具有很低的水溶性甚至完全不溶。具有较高脱乙酰度的壳聚糖在适当条件下再进行乙酰化反应,控制脱乙酰度在50%左右,也可得到水溶性产物[陈鲁生 1998]。此外,值得一提的是,在非均相条件下制得的产物,不论其脱乙酰度如何,都不能溶于水[Kurita 等 1977]。这种差异是由于两种反应条件下制得的产物中乙酰氨基和氨基在分子链上的分布不同所造成的[Sannan 等 1977, 严俊 1984]。

由于化学法所采用的碱液浓度高、反应时间长,产品质量不稳定,且造成严重污染,因此人们寄希望于酶法或微生物法。酶法制备壳聚糖的关键是如何获取甲壳质脱乙酰酶。迄今人们已经发现许多微生物、真菌中均存在脱乙酰酶。Araki 等以蛋白胨(1%)、葡萄糖(2%)和酵母提取液(0.3%)为培养基培养 *Mucorrouxii*,并从中提取出脱乙酰酶(易瑞灶等 1998)。利用甲壳质脱乙酰酶的作用,可制备出具有高脱乙酰度且性能独特的壳聚糖。在日本,科学家已成功地

(1)易瑞灶,郑邦定,洪专等. 1998. 几丁聚糖(CHITOSAN)不同制备方法与应用现状探讨. 海洋天然产物与天然生化药物论文荟萃. 全国第二届海洋生命活性物质与天然生化药物学术讨论会论文集,上海:222~228.

从土壤中分离出具有高脱乙酰活性的细菌[Shimosaka 等 1995],它们不会把甲壳质的长链分解成小分子产物,但都能从甲壳质分子中脱除乙酰基。虾蟹壳如能用酶法脱蛋白,然后利用微生物脱乙酰基来制备壳聚糖则非常理想,但用微生物法尚难获得高脱乙酰度的产物,且反应时间长,用酶脱蛋白其最终产物的粘度偏小[Bough 等 1978]。

2.1.2 性能

(1)性状。白色或灰白色,半透明片状固体,无味[李兆龙和陶薇薇 1991]。

(2)溶解性。甲壳质不溶于水、稀酸及一般有机溶剂,可溶于强酸、六氟醇及某些亲水性盐溶液中(但易降解),易溶于甲磺酸、三氯乙酸—二氯乙烷、二甲基乙酰胺—氯化锂等一些特殊溶剂。壳聚糖也不溶于水和碱溶液,可溶于很多稀酸(最常用的是盐酸、醋酸和甲酸),尚可溶于0.5%的磷酸,在室温下不溶于任何浓度的硫酸。不溶于一般的有机溶剂,但可溶于酸化的多元醇[Knorr 1984]。

(3)粘度。壳聚糖在醋酸溶液中的粘度一般在60~5110cps之间,其大小随pH值的降低而增大,与甲壳的种类、制备的方法等有关[No和Meyers 1995]。

(4)分子量。甲壳质的平均分子量在 $0.4 \times 10^6 \sim 1.96 \times 10^6$,壳聚糖的平均分子量在 $0.12 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^6$ [No和Meyers 1995]。

(5)吸附性能。甲壳质和壳聚糖(特别是壳聚糖)分子中羟基和氨基的存在,因此具有良好的吸附性能,对金属离子、染料分子和杀虫剂等有害物质有较强的去除力[Knorr 1991]。

(6)生物相容性。与生物组织亲和性好,可被人体内的酶分解而吸收,无毒,易生物降解[Muzzarelli 等 1986]。

(7)强吸湿性。因分子中含有羟基、氨基等极性基团,吸湿性很强,仅次于甘油,比聚乙醇、山梨醇高,可作保护性吸湿剂[Muzzarelli 1977]。

(8)稳定性。壳聚糖粉末在常温下储存于密闭、干燥容器中至少可稳定三年。但在水溶液或吸湿时易分解,并随温度升高而加快。暴露在光线下也会分解[Muzzarelli 1977]。

(9)纺丝性和成膜性。壳聚糖稀酸溶液喷丝于铜—氨溶液中凝固后,用EDTA洗脱干净即得强度较好的纤维。其物理性质较甲壳质制成的纤维为佳。壳聚糖的醋酸液涂布在玻璃板上干燥后可得透明膜,具有较大的透气性和透湿性,并有一定的防静电作用。其膜表面的阻抗较毛发相对湿度80%时小,兼有防尘附着作用,可用于护发、美发的化妆品等(陈瑞华 1998)。

一般商业用壳聚糖产品的性能指标为:水分<10%,灰分<0.2%,溶液无色,脱乙酰度>70%,分子量 $(0.1 \sim 1.2) \times 10^6$ [Van Ormum 1992, Li 等 1992]。

2.1.3 应用

甲壳质由于溶解性很差,一定程度上限制了它的广泛应用,因此,主要作为制备壳聚糖、寡糖和单糖的原料。壳聚糖的应用主要有以下几方面。

(1)在生物、医药方面的应用。可制成能被机体分解的外科手术缝合线,烧伤创伤生物敷料,抗肿瘤药物,药物缓释材料,炎症和溃疡的治疗药物,心血管的治疗药物,抗辐射的保护材料等[徐健和金鑫荣 1994,高怀生 1996]。

(2)在膜分离材料方面的应用。目前开发了超滤膜、渗析膜、反渗透膜、渗透气化膜、运载

(2)陈瑞华. 1998. 新兴医疗保健药物甲壳质的研究与应用. 海洋天然产物与天然生化药物论文荟萃. 全国第二届海洋生命活性物质与天然生化药物学术讨论会论文集. 上海: 271~275.

膜、催化功能膜和各种各样的能量转化膜,已在化工产品的分离、湿法冶金、生物产品分离、食品加工、石油加工、医药工业和环保等方面得到初步应用。世界各国对它的开发研究正处在方兴未艾的阶段[蒋挺大 1995]。

(3)在化工、轻工方面的应用。可作印染固色剂、胶卷增感剂、微量金属离子的提取剂、纸张和纺织的添加剂、涂料添加剂、固发剂、头发调理剂、洗发香波等[Muzzarelli 1977]。

(4)在食品工业方面的应用。可降低胆固醇,保护肝脏,提高机体免疫力,降低体内尿酸,抑制胃酸分泌,调节平衡人体能量元素水平,降低食物热能,抑菌防腐,具有乳化、保温、增稠、稳定和改善风味功能,可作新型食品添加剂,用于焙烤食品、肉类食品、保健食品、冷饮及饮料、食品防腐保鲜等[张延坤和刘国忠 1998]。

(5)在农业方面的应用。可作促进家禽生长的饲料添加剂,农用透气地膜,农药缓释包被材料,土壤改良剂和杀菌剂,农作物增产剂等[Muzzarelli 1977]。

(6)在环境保护方面的应用。可作吸附螯合剂,混凝剂,杀菌剂,缓蚀剂、膜制剂等[张宗恩 1996,钱倚剑和杨晓静 1996]。

2.2 甲壳寡糖(Chitinous oligomers)

2.2.1 制备

甲壳质寡糖(Chitin oligomers)和甲壳胺寡糖(Chitosan oligomers)都可采用水解其相应的多糖制得[曾宪放等 1995],水解方法有辐射法、高硼酸氧化法和酸溶液回流法等[夏文水和陈洁 1994]。水解物经活性炭-硅藻土或凝胶过滤或离子交换树脂分离而得,如采用 HPLC 则快速、灵敏,可得到高纯度的产品[赏衍等 1986,曾宪放等 1995]。采用超声波法降解壳聚糖,速度快、成本低,方法简单且 $-NH_2$ 含量不变[王伟和秦汶 1989]。将甲壳胺分散于含 0.8%~10%过氧化氢的水溶液中,在 $40^{\circ}C \sim 100^{\circ}C$ 下反应至甲壳胺全部溶解也可得产品。采用酸-亚硝酸盐水解制备甲壳聚糖,反应在室温下进行,产率可达90%以上[王爱勤等 1996]。甲壳寡糖还可以在甲壳质/壳聚糖水解酶的作用下制得。这些酶包括甲壳质酶、壳聚糖酶、溶菌酶及一些非专一性水解酶(糖酶、蛋白酶、脂肪酶等)[夏文水和吴焱楠 1997]。采用酶的糖转移法可制得高级寡聚糖。

随着人们对甲壳寡糖生理活性和功能性质的了解加深,研究甲壳寡糖的生产方法已成为热点。由于酸水解法难以控制和产物转化率低,而专一性水解酶又因价格昂贵难以商业化。因此采用非专一性水解酶来生产甲壳寡糖将是一条极具潜力的途径。

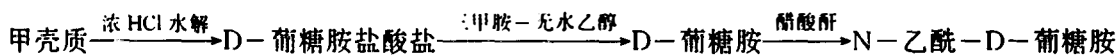
2.2.2 应用

各种低分子量的甲壳质和壳聚糖降解物具有很多功能。甲壳质和壳聚糖低聚物具有抗癌作用,可抑制癌细胞转移;对中枢神经有镇静作用;能活化、增殖人体肠道内的双歧杆菌;降低血压、吸附胆固醇;在微酸性环境中具有较强的抑菌抗菌作用;能促进植物生长;也可用于化妆品中,显示出良好的保水、保湿性,稳定性好。若用于烫发水中,可防止烫发时头发损伤。另外,分子量1500左右的壳聚糖对治疗骨病很有效;聚合度为3~6的甲壳质对受伤的小麦叶子有诱导木质化作用[夏文水和陈洁 1994,夏文水和吴焱楠 1996]。

2.3 甲壳单糖(Chitinous monosaccharide)

2.3.1 制备

几种甲壳单糖的制备工艺[李南和李继衍 1997,Purchase 和 Charles 1946,谭佩幸等 1991]如下所示:



2.3.2 应用

葡萄糖胺盐酸盐(D-glucosamine hydrochloride)在医药行业可用于抗细菌感染及免疫佐剂,对人体恶性肿瘤有抑制特性,而对正常细胞仅有轻微影响;它还是人体抗流感的活化剂;以及有效治疗风湿性关节炎、肠炎的助剂。在食品工业中可作为添加剂促进人体肠道内双歧杆菌的生长,防止胆固醇的蓄积,从而达到保健、抗衰老的目的。N-乙酰基葡萄糖胺(N-acetyl-D-glucosamine)临床上主要用于增强人体免疫系统的功能,抑制肿瘤细胞和纤维细胞的过度生长,对癌症和恶性肿瘤能起到抑制和治疗作用;对各种炎症能起到有效的治疗;并且对于关节炎等疼痛也有治疗作用。D-葡萄糖胺(D-glucosamine)可以抑制病毒细胞膜的葡萄糖化,降低 Rous 内癌病毒在体内诱导产生肿瘤的速度,对某些恶性细胞和体内肿瘤有疗效,而对正常细胞无副作用[Muzzarelli 1983, 刘红和高孔荣 1993]。

3 化学改性及其应用

图1中各种关键物质的分子结构中都含有一OH基和-NH₂基,比较活泼,因此,对其进行化学改性可制成各种各样富有魅力的衍生物[Muzzarelli 1983]。

3.1 甲壳质和壳聚糖的化学改性及其应用

3.1.1 羧基化

甲壳质或壳聚糖在一定条件下与氯代酸或乙醛酸反应,可在6-羟基或氨基上引入羧基,研究最多的是羧甲基化反应,其相应产物为羧甲基甲壳质、O-羧甲基壳聚糖、N-羧甲基壳聚糖和N,O-羧甲基壳聚糖[Muzzarelli 1988]。将甲壳质在冷冻下用十二烷基硫酸钠(SDS)碱化后,悬浮于异丙醇中,室温下与氯乙酸反应得到羧甲基甲壳质;若在30℃左右进行碱化反应,则可得O-羧甲基壳聚糖。将壳聚糖与乙醛酸反应形成可溶性酰亚胺,再用NaBH₃CN还原可得N-羧甲基壳聚糖。若将壳聚糖悬浮于异丙醇中加NaOH,搅拌使其膨胀,再与氯乙酸加热反应即得N,O-羧甲基壳聚糖。这四类化合物具有许多特性,如羧甲基甲壳质在医药上可作为免疫辅助剂,也可作为有效的药物载体;在化妆品中,能使化妆品具有润滑和保湿作用。O-羧甲基壳聚糖在农业上可抑制甲壳质酶和壳聚糖酶的活性,促进植物生长。N-羧甲基壳聚糖有极强的螯合过渡金属离子的能力;部分降解的N-羧甲基壳聚糖的磺化产物具有抗凝血作用;用于化妆品中,抗皮肤过敏。N,O-羧甲基壳聚糖用于纯化水;作食品保鲜膜,其与双醛试剂交联生成的凝胶热稳定性好,不利于细菌生长,可作创口贴、止血剂等[夏文水和陈洁 1994]。

3.1.2 羟基化

甲壳质或壳聚糖在乙醇、异丙醇溶剂中与环氧乙烷或2-氯乙醇等试剂反应,制得溶于水的羟基化的甲壳质或壳聚糖[Yamade和Imoto 1981]。羟基化衍生物可作前体药物;用作化妆品中固定胶、润肤霜等;利用其很强的吸水特性,作一次性尿布的材料;羟基化产物还用作药物的缓释剂等。

3.1.3 酰基化

甲壳质和壳聚糖与酰氯或酸酐反应,可导入不同分子量的脂肪族或芳香族酰基。酰化反应可在羟基(O-酰化)或氨基(N-酰化)上进行[严俊 1984]。酰化后不但溶解性增加,而且相

应有很多新用途。脂肪族酰化甲壳质可作为生物相溶性材料,形成膜时,其表面润湿性及凝血性比硅玻璃要好。3、4、5-三甲氧基苯甲酰甲壳质能吸收紫外线,可作为防晒护肤品的添加剂。N-甲酰化壳聚糖用于人造纤维,提高纤维物对酸性染料的亲和力。用甲壳质与壳聚糖甲酰化和乙酰化物的混和物制成纤维后,可作为外科手术缝合线[夏文水和陈洁 1994]。

3.1.4 醚化

与羧甲基化反应类似,甲壳质和壳聚糖与氯代醇反应,在6-羟基上形成相应的醚类化合物,具有许多功能特性。如甲壳质与聚氧乙烯反应生成的醚化产物具有良好的保水性能,几乎和透明质酸相当,使化妆品不发粘,保湿性好,用于护发品中,使头发具有自然光泽。甲壳质在碱性条件下与N,N-二氨基氯乙烷反应,制得的6-O-二乙氨基化甲壳质(DEAE-Chitin)具有高度的阳电荷,可作为吸附剂、螯合剂、水溶性阳离子高聚物及活性生物支持剂等[Kurita等 1989]。

3.1.5 酯化

用含氧无机酸作酯化试剂,可使甲壳质和壳聚糖中的羟基形成有机酯类化合物,常见的反应有硫酸酯化和磷酸酯化。硫酸酯化衍生物在结构上与肝素相似,具有抗凝血作用,有的硫酸酯还显示了一定的抗癌作用。

3.1.6 其它

以壳聚糖与醛、酮进行薛夫氏反应,生成相应的醛亚胺和酮亚胺类多糖。利用这个反应,一方面可保护-NH₂基,在羟基上引入其它基团;另一方面,再还原可得到相应的N-取代多糖,有两性聚电解质的性质。

N-烷基化反应。壳聚糖分子中的-NH₂有很强的亲核性,易在N上引入烷基。如壳聚糖与碘代甲烷在三乙胺中反应得到N-甲基化壳聚糖碘化物,对革兰氏阳性菌有很强的抵抗力。

重氮化反应。甲壳质和壳聚糖与亚硝酸反应,得到末端带有醛基的低聚葡胺糖,可利用改性反应对壳聚糖进行降解,这种降解比酸的随机降解更有选择性。

氧化反应。甲壳质和壳聚糖分子中的羟甲基(-CH₂OH)可被氧化为羧基,该产物再进行硫酸酯化反应,可得到结构上与肝素更接近的衍生物。

接枝共聚。甲壳质和壳聚糖在紫外光或引发剂作用下与乙烯基单体接枝聚合,可得到新型的半合成多糖聚合物。接枝共聚物在生物医学上具有很大的应用价值。

3.2 甲壳单糖及其主要的单糖衍生物

D-葡糖胺和N-乙酰-D-葡糖胺可与硫酸、磷酸、醋酸等反应制得其相应的酸酯(或盐)。这类化合物主要被用作镇痛药物,具有独特的功效,常见的主要衍生物列于表1中。

由于甲壳质和壳聚糖特殊的生理机能不断被发现,引起全球科技界和产业界的重视。全球已先后召开过七届国际甲壳质学术会议。每年有关甲壳质及其衍生物的研究论文上万篇并呈增长趋势;还有许多专著、专利相继问世。而全世界从事甲壳质产业开发的企业已达数千家,其年销售额超过20亿美元。甲壳质的研究开发已成为世人瞩目的高新科技和获利颇丰的新兴产业。

一些发达国家争相投入大量资金对甲壳质进行研究开发。如日本政府拨款60亿日元启动经费委托全国13所大学对甲壳质进行系统研究开发,至今在基础研究及应用开发方面取得巨大成就。目前甲壳质是日本政府唯一准许宣传疗效的机能性食品。1993年日本厚本省受理了甲壳质作为癌细胞转移抑制剂静脉注射药品的申请。1996年甲壳质又通过了美国药品食品管理

局(FDA)及欧共体(EC)的鉴定,被批准在美国、欧洲销售。

表1 几种甲壳单糖的衍生物

Tab. 1 The derivatives of some chitinous monosaccharide

单糖	硫酸酯(盐)	磷酸酯(盐)
D-葡萄糖胺	D-葡萄糖胺-2-硫酸盐	D-葡萄糖胺-6-磷酸盐
	D-葡萄糖胺-3-硫酸盐	
	D-葡萄糖胺-6-硫酸盐	
	D-葡萄糖胺-2,6-二硫酸盐	
	D-葡萄糖胺-3,6-二硫酸盐	
	D-葡萄糖胺-2,3,6-三硫酸盐	
	D-葡萄糖胺-3,4,6-三硫酸盐	
N-乙酰-D-葡萄糖胺	N-乙酰-D-葡萄糖胺-3-硫酸盐	N-乙酰-D-葡萄糖胺-1-磷酸盐
	N-乙酰-D-葡萄糖胺-6-硫酸盐	N-乙酰-D-葡萄糖胺-6-磷酸盐
	N-乙酰-D-葡萄糖胺-3,6-二硫酸盐	

注: D-葡萄糖胺与醋酸反应制得 D-葡萄糖胺-1,3,4,6-四醋酸盐

目前我国的甲壳质热也悄然兴起,已有上千家厂商从事甲壳质研究开发,1997年全国甲壳质产量突破2500吨大关(徐君义 1998),发表的论文数百篇。但是,甲壳质研究重复,开发力分散,产品档次低,产业化水平不高。这都有待于制定与确立我国甲壳质产业化发展的总体目标及最佳途径。

参 考 文 献

- 王 伟,秦 汶. 1989. 脱乙酰甲壳素的超声波降解. 化学通报,(9):44.
- 王爱勤,贾宝全,谭干祖等. 1996. 水溶性甲壳质、甲壳胺及其衍生物的制备与应用. 中国海洋药物,(3):31~36.
- 严 俊. 1984. 甲壳素的化学及其应用. 化学通报,(11):26~31.
- 严伯奋,童瑞璜. 1997. 微波辐射能对壳聚糖制备和性能的影响. 食品与发酵工业,23(2):39~41.
- 江 楠. 1992. 甲壳质与壳聚糖的生产方法与应用. 水产科技,(1):28~30.
- 刘 红,高孔荣. 1993. 甲壳素/壳聚糖及其衍生物的应用. 广州食品工业科技,(3):6~9.
- 李兆龙,陶薇薇. 1991. 甲壳和贝壳的综合利用. 北京:海洋出版社. 9~17.
- 李 南,李继衍. 1997. D-氨基葡萄糖盐酸盐的制备研究. 中国药科大学学报,28(1):56~58.
- 徐 健,金鑫荣. 1994. 天然高分子甲壳素/壳聚糖在生物和医药方面的应用. 大学化学,9(3):22~25.
- 陈鲁生. 1998. 完全水溶性壳聚糖制备条件的研究. 化学通报,(8):48~50.
- 钱剑剑,杨晓静. 1996. 甲壳胺-HEDP 复合缓蚀剂的协同效应研究. 化工腐蚀与防护,24(3):21~24.
- 夏文水,陈 洁. 1994. 甲壳素和壳聚糖的化学改性及其应用. 无锡轻工业学院学报,13(2):162~171.
- 夏文水,吴焱楠. 1996. 甲壳低聚糖的功能性质. 无锡轻工业大学学报,15(4):297~302.
- 夏文水,吴焱楠. 1997. 甲壳素/壳聚糖水解酶的研究进展. 中国海洋药物,(2):31~35.
- 张宗恩. 1996. 甲壳素、壳聚糖及其衍生物在水处理中的应用. 环境保护,(18):13~14.
- 张延坤,刘国忠. 1998. 甲壳素与壳聚糖在食品中的应用. 食品工业,(3):9~10.
- 曾宪放,陈苏陵,李吉高. 1995. 甲壳质和甲壳胺寡糖的制备. 中国海洋药物,(3):46~51.

(3)徐君义. 1998. 方兴未艾的甲壳素产业. 海洋天然产物与天然生化药物论文荟萃. 全国第二届海洋生命活性物质与天然生化药物学术讨论会论文集. 上海:275~279.

- 高怀生. 1996. 壳聚糖及其在药物制剂和生物技术中的应用. 国外医学:药学分册, 23(5):279~283.
- 蒋挺大. 1995. 甲壳素和壳聚糖膜材料的研究进展. 膜科学与技术, 15(3):21~25.
- 赏 衍, 唐家骏, 黄克武. 1986. N-乙酰氨基葡萄糖寡糖的制备. 生物化学与生物物理学报, 18(5):453~454.
- 谭佩幸, 陶宗晋, 祁国荣等(编). 1991. 现代化学试剂手册(第三分册)——生化试剂(二). 北京: 化学工业出版社. 104.
- Austin P R, Brine C J, Castl J E, et al. 1981. Chitin; new facets of research. *Science*, 212(4496):749~753.
- Batista I, Roberts G A F. 1990. A novel facile technique for deacetylating Chitin. *Macromol Chem*, 191:429.
- Bough W A, Salter W L, Wu A C M, et al. 1978. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan Products. 1. Chemical composition, viscosity and molecular weight distribution of chitosan products. *Biotechnol Bioeng*, 20:1931.
- Brine C J, Austin P R. 1981. Chitin variability with species and method of preparation. *Comp Biochem Physiol*, 69B:283.
- Domard A, Rinaudo M. 1983. Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *Int J Biol Macromol*, 5:49.
- Gagne N, Simpson B K. 1993. Use of proteolytic enzymes to facilitate the recovery of chitin from shrimp wastes. *Food Biotechnology*, 7(2):253~263.
- Knorr D. 1984. Use of chitinous polymers in food. *Food Technology*, 38(1):85~97.
- Knorr D. 1991. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technology*, 45(1):114~122.
- Kurita K, Inoue S, Koyama Y. 1989. Studies on chitin. *Polmer Bulletin*, 21:13~17.
- Kurita K, Sannan T, Iwakura Y. 1977. Studies on chitin 6. *Makromol Chem*, 178:3197~3202.
- Li Q, Dunn E T, Grandmaison E W, et al. 1992. Application and properties of chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 7:370.
- Mima S, Miya M, Iwamoto R, et al. 1983. Highly deacetylated chitosan and properties. *J Appl Polym Sci*. 28:1909~1917.
- Maslova G V, Kuprina E E, Shchedrina N A, et al. 1996. The new technology to obtain chitin-chitosan biosorbents. *Rybnoe Khozyaistvo*, (4):60~61.
- Muzzarelli R A A. 1977. Chitin. Pergaman Oxford Press, 1~80.
- Muzzarelli R A A. 1983. Chitin and its derivatives; new trends of applied research. *Carbohydrate Polymers*, 3:53~57.
- Muzzarelli R A A. 1988. Carboxymethylated chitins and chitosans. *Carbohy Res*, 8:1~21.
- Muzzarelli R, Jeniaux C, Gooday G W. 1986. Chitin in nature and technology. New York: Plenum Press. 547~550.
- No H K, Meyers S P. 1995. Preparation and characterization of chitin and chitosan-A Review. *J Aquat Food Pro Techn*. 4(2):27~53.
- Pelletier A, Lemire I, Syusch J, et al. 1990. Chitin/chitosan transformation by thermo-mechano-chemical treatment including characterization by enzymatic depolymerization. *Biotchnol Bioeng*, 36:310.
- Purchase E R, Charles E B. 1946. D-Glucosamine hydrochloride. *Organic Synthesis*, 26:36~37.
- Sannan T, Kurita K, Iwakura Y. 1976. Studies on chitin 4. *Makromol Chem*, 177:3589~3600.
- Sannan T, Kurita K, Iwakura Y. 1977. Kinetics of deacetylation reaction. *Polym J*, 9(6):649~651.
- Santoso U, Wade M, Koguchi T, et al. 1993. Isolation and purification of chitin from Indorsian shrimp shells using actinase E. *Journal of Agricultural Science*, 38(1):27~34.
- Shimahara K, Ohkouchi K, Ikeda M. 1982. A new isolation method of crustacean chitin using a proteolytic bacterium, *Pseudomonas maltophilia*. In: Proceedings of the Second International Conference on Chitin and Chitosan. S. Tokura Ed. The Japan Society of Chitin and Chitosan, Sapporo, Japan. 10.
- Shimosaka M, Nogawa M, Wang X Y, et al. 1995. Production of two chitosanases from a chitosan-assimilating bacterium, *Acinetobacter* sp. strain CHB101. *Applied Environmental Microbiology*, 61(2): 438~442.
- Van Ormum J V. 1992. Shrimp waste-must it be wasted? *INFOFISH International*, 6:48~52.
- Yamada H, Imoto T. 1981. A convenient synthesis of glycochitin, substract of lyozye. *Cobohydr Res*, 92:160.