

壳聚糖抑菌活性的研究进展

苏庆席, * 苏忠亮

(青岛科技大学 化工学院, 山东 青岛 266042)

摘要: 壳聚糖广泛存在于甲壳类动物、昆虫类、软体动物的壳以及真菌的细胞壁中, 在地球上含量极为丰富, 是一种具有无毒性、生物可降解性、良好的生物相容性、伤口愈合性以及止血剂的天然聚合物。作为最有前景的可再生聚合物材料, 壳聚糖受到越来越多的关注。从壳聚糖的分子量、质量分数、脱乙酰度 (DD)、环境 pH 值、离子强度以及菌株本身, 对壳聚糖抑菌活性的影响进行综述, 并简要介绍壳聚糖的抑菌机理。

关键词: 壳聚糖; 抑菌活性; 影响因素; 机理

中图分类号: Q81 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/jissn.1671-9646(X).2015.01.022

Progress of Antibacterial Activity of Chitsan

SU Qingxi, *SU Zhongliang

(Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042, China)

Abstract: Chitosan widely exists in crustaceans, insects, mollusks shells and Fungal cell walls, its content is extremely rich on earth. It possesses nontoxic, biodegradable natural polymers, well biological compatibility, wound-healing and hemostatic agent. As the most promising renewable polymeric material, more and more researchers pay attention to it. This article reviews from the effects of molecular weight of chitsan, concentration, degree of deacetylation, the pH value of environment, ionic strength and the strain antibacterial activity of chitosan, preliminary introduced the antimicrobial mechanisms of chitosan.

Key words: Chitosan; antibacterial activity; influencing factors; mechanism

壳聚糖是由甲壳素脱乙酰化制备而成, 化学名称是 (1,4)-2-氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖, 由氨基葡萄糖和 N-乙酰氨基葡萄糖残基通过 1,4- β -糖苷键连接而成的高聚物。甲壳素是自然界第二多糖, 来源极其广泛, 其含量仅次于纤维素^[1]。壳聚糖是一种弱碱, 不溶于水, 但溶于弱酸, 同时存在游离的氨基和羟基, 在溶液中可以把 -NH_2 转化成可溶质子化 (NH_3^+) 的形式^[2]。壳聚糖由于具有阳离子聚电解质性质, 成为天然阳离子絮凝剂, 可以通过酰化、羟基化、醚化、接枝与交联反应等进行改性, 改性后的聚合物在医药、纺织和食品等领域有着广泛的实用价值^[3]。

壳聚糖与一般的抑制剂相比, 具有广谱、抗菌活性高、灭菌率高等特性, 影响其抑制作用的因素有很多, 如分子量、质量分数、脱乙酰度、受试细菌的种类、环境的 pH 值、离子强度等。最近, 许多研究者专注于研究壳聚糖对不同种类的微生物, 如细菌、真菌以及酵母菌的抑菌作用和抑菌机理, 但大多数只是推论, 并且不同的研究者得出的结论不

同^[4]。目前, 缺乏系统性研究不同理化性质的壳聚糖对细菌和真菌的抑制作用与抑菌机理, 所以研究清楚不同理化性质壳聚糖的抑菌机理, 对指导壳聚糖的应用及其定向合成有着十分重要的意义。

1 影响壳聚糖抑菌活性的因素

壳聚糖的抗菌活性是受内在和外在因素的影响。内在因素, 如壳聚糖的来源、分子量、脱乙酰度、浓度和溶剂的种类; 外在因素与环境的 pH 值、温度、离子强度、金属离子、有机物 EDTA 的存在和细菌的培养有关^[5]。

1.1 分子量对壳聚糖抑菌活性的影响

分子量对壳聚糖抑菌活性的影响较为复杂。邵荣等人^[6]研究表明, 分子量为 66 083 Da 的壳聚糖抑菌效果最好。因为分子量越大, 壳聚糖吸附在细胞膜表面时所形成的膜越致密, 干扰营养物质进入细胞内部, 从而阻止了营养物质的输送, 起到了抑菌作用。

郑连英等人^[7]认为壳聚糖分子质量在 30 万以下时, 对金黄色葡萄球菌的抑菌作用随分子质量的减

收稿日期: 2014-09-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30900126)。

作者简介: 苏庆席 (1990—), 女, 在读硕士, 研究方向为生物制药。

* 通讯作者: 苏忠亮 (1975—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为基因工程及生物化工。

小而逐渐减弱,而对大肠杆菌抑菌作用相反,随壳聚糖分子质量的减小,抑菌效果逐渐增强。Uneo K等人^[8]研究表明,平均分子量为5 000 Da的壳聚糖不仅没有抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长,反而起到促进细菌生长的效果,而分子量约为9 300 Da的壳聚糖几乎可以完全抑制细菌的生长。冯小强等人^[9]用不同质量分数、不同分子量的壳聚糖对5种细菌进行抑菌试验测试,结果表明低分子量的壳聚糖对受试细菌的抑制作用比高分子量的壳聚糖效果好,尤其对革兰氏阴性菌抑制效果最为明显,而对革兰氏阳性菌大分子量的壳聚糖也表现出良好的抑菌活性。

1.2 质量分数对壳聚糖抑菌活性的影响

目前,大多数的研究者都认为壳聚糖的抑菌能力随其质量分数的增加而增强。郑连英等人^[7]报道了在分子量为 30.5×10^4 Da以下,随壳聚糖质量分数的增加,抑菌作用逐渐增强,当壳聚糖的质量分数为1.0%时,可以完全抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长;发现分子量为 4.85×10^4 Da,质量分数为0.5%的壳聚糖可以显著抑制金黄色葡萄球菌的生长,而低质量分数的壳聚糖对大肠杆菌抑制作用较弱。冯小强等人^[9]用从不同质量分数的壳聚糖处理受试细菌,根据抑菌圈直径的大小,确定抑菌效果,结果表明随着壳聚糖质量分数的不断增加,其抑菌圈直径逐渐增大,从而抑菌效果逐渐增强,原因可能是随着质量分数的增加,溶液中 $-NH_2$ 的质量分数增加,增强了其抑制作用。No H K等人^[10]针对4个革兰氏阴性菌和6个革兰氏阳性菌进行试验,研究表明0.1%的壳聚糖对革兰氏阳性菌的抑制作用比对革兰氏阴性菌抑制作用好。

1.3 脱乙酰度(DD)对壳聚糖抑菌活性的影响

脱乙酰度是这些因素中影响较大的,脱乙酰度高的壳聚糖,由于存在较高的质子化氨基基团百分比,在抑制细菌生长时比脱乙酰度低的壳聚糖更有效^[11]。在酸性条件下,溶液中游离的 $-NH_2$ 容易和 H^+ 质子化形成 NH_3^+ ,随着DD的增大, H_3^+ 逐渐增加,增强了与细菌(带负电荷)之间的静电引力,更多的细菌被絮凝、沉淀,因此抑制了细菌的生长和繁殖^[12]。Park等人^[13]研究结果表面酸溶性壳聚糖的抑菌活性并不是和DD的值成正比,因为75% DD的壳聚糖对大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、绿脓假单胞菌的抑菌效果比DD为90%和50%的壳聚糖抑菌活性高;提出DD为80%(壳聚糖醋酸)的水溶性壳聚糖与DD为60%的低聚物壳聚糖相比,有较高的抑菌活性。

1.4 pH值对抑菌性能的影响

pH值对壳聚糖抑菌作用的影响很大。据报道,酸溶液的壳聚糖在低pH值时的抑菌活性较高^[14]。这

可能是由于壳聚糖在pH值为5比pH值为7时形成更多的 NH_3^+ ,此外酸溶性壳聚糖在pH值为中性时的溶解性差,与液体培养基中混合时出现沉淀^[15]。Jackson Champer等人^[16]在不同pH值下壳聚糖对痤疮丙酸杆菌和金黄色葡萄球菌进行抑菌试验,发现壳聚糖在低pH值下的抑菌活性更好。壳聚糖溶液的pKa大约为6.3,在此pH值范围内溶解性迅速下降。当氨基基团带有最小正电荷时,壳聚糖溶液在pH值为7时部分沉淀,在pH值7.5时完全沉淀,对于金黄色葡萄球菌,在pH值较低时壳聚糖的抑菌效果随其pH值的降低而下降。Kong等人^[17]研究认为壳聚糖在较低的pH值时表现出很强的抑菌效果,并且随着pH值的增加抑菌效果减弱。Yun^[18]指出壳聚糖在pH值为3.6~3.8时的最低抑菌浓度比pH值5.9~6.0的低1.4~1.7倍。严钦等人^[19]发现壳聚糖在微酸条件下,抑菌效果比较明显;但是当pH值为7时,壳聚糖不仅没有抑菌作用,反而作为一种糖可以促使细菌生长。

1.5 离子强度对抑菌性能的影响

叶磊^[20]向壳聚糖溶液中加入不同质量分数的 Na^+ , Mg^{2+} ,然后分别作用于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌,1 h后测试其抑菌活性。结果表明,随着钠离子、镁离子质量分数的增加,壳聚糖的抑菌活性呈现降低的趋势,这可能是因为壳聚糖对不同金属离子螯合能力的不同。Chung^[21]研究了向壳聚糖溶液中分别加入 Zn^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} ,试验结果表明加入 Zn^{2+} 时,抑菌作用最强,其次是 Ca^{2+} 和 Ba^{2+} ,而加入 Mg^{2+} 时抑菌效果最低。陈威等人^[22]向分子量为50 kDa,质量分数为0.5%的壳聚糖溶液加入 K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} ,作用于金黄色葡萄球菌和白色念珠菌。研究发现,当金属离子质量分数达到一定程度时,壳聚糖溶液完全失去抑菌活性。同时,发现二价金属离子比一价的金属离子更能抑制壳聚糖的抗菌活性。此外,还发现经过大分子量壳聚糖处理过的金黄色葡萄球菌和白色念珠菌会发生钾离子和ATP的渗漏,这可能是其抑制细菌生长的重要因素。

1.6 菌株的影响

经过不同研究者的探究发现,关于壳聚糖抑菌活性的影响因素很可能还与试验材料和条件、所用的壳聚糖性质、受试菌种以及介质环境等有关。Eun J J等人^[23]用壳聚糖作用于8个革兰氏阴性菌和6个革兰氏阳性菌,发现壳聚糖对革兰氏阳性菌的抑菌作用比对革兰氏阴性细菌的抑菌作用更大。这种差异很可能是由于细胞壁结构的不同,革兰氏阳性菌的细胞壁主要是由肽聚糖组成,壳聚糖很容易的穿透肽聚糖的网络结构,直接作用于细胞膜。然而,革兰氏阴性菌细胞壁的内膜是由肽聚糖组成,外膜是由脂多糖、脂蛋白、磷脂^[24]组成。革兰氏阴性菌外

膜针对大分子可以作为一个有效的外渗透屏障,可以防止壳聚糖到达细胞质膜^[25]。吴小勇^[26]对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、假单胞菌进行抑菌试验测试,结果证明壳聚糖对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好(抑菌率接近100%),对于另外3种细菌,抑制率分别为大肠杆菌61.5%,枯草芽孢杆菌68.5%,假单胞菌77.1%。

2 结语

目前,对壳聚糖抑菌的机理研究还没有明确的阐明和验证,但是已经提出了几个假设。第1个假设是壳聚糖通过改变细胞膜的渗透性来达到抑菌的作用。在酸性条件下,壳聚糖分子中的 $-NH_2$ 容易质子化为 $-NH_3^+$,因为带正电荷的壳聚糖分子极易与细菌细胞膜上的负电荷相互作用,使细胞内的蛋白酶和其他成分泄漏,从而达到抗菌、杀菌作用^[27]。第2个假设是壳聚糖通过渗透进入到微生物的细胞核中,可以与细菌的DNA结合,阻碍mRNA和蛋白质的合成,从而抑制细菌的生长繁殖^[28]。

参考文献:

- [1] Hengameh Honarkar, Mehdi Barikani. Applications of biopolymers I: chitosan [J]. *Monatsh Chem*, 2009, 140: 1 403-1 420.
- [2] Shepherd R, Reader S, Falshaw A. Chitosan functional properties [J]. *Glycoconjugate Journal*, 1997, 14: 535-542.
- [3] 王香爱,陈养民.壳聚糖的研究进展及应用[J].*应用化工*, 2007, 36 (11): 1 134-1 137.
- [4] Tsai G J, Zhang S L, Shieh P L. Antimicrobial activity of a low-molecular-weight chitosan obtained from cellulase digestion of chitosan [J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67 (2): 367-396.
- [5] Jumaa M, Furkert F H. A new lipid emulsion formulation with high antimicrobial efficacy using chitosan [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2002, 53 (1): 23-115.
- [6] 邵荣,许琦.壳聚糖抗菌性能的研究[J].*食品科学*, 2007, 28 (9): 121-124.
- [7] 郑连英,朱江峰.壳聚糖的抗菌性能研究[J].*材料工程与科学*, 2000, 18 (2): 22-24.
- [8] UENO K. Applications of chitin and chitosan [J]. *Adv in Chitin Sci*, 1997, 2: 102-108.
- [9] 冯小强,杨声.不同分子量壳聚糖对五种常见菌的抑制作用研究[J].*天然产物研究与开发*, 2008, 20: 335-338.
- [10] No H K, Park N Y, Lee S H. Antibacterial activities of six chitosans and six chitosan oligomers with different molecular weights [J]. *Int J Food Microbiol*, 2002, 74 (1): 65-72.
- [11] Liu W G, De Yao K. Chitosan and its derivatives—a promising non-viral vector for gene transfection [J]. *Journal of Controlled Release*, 2002, 83: 1-11.
- [12] 万荣欣,顾汉卿.壳聚糖及其衍生物抗菌性能的研究进展[J].*透析与人工器官*, 2010, 21 (2): 36-40.
- [13] Park P J, Je J Y, Byun H G, et al. Antimicrobial activity of hetero-chitosans and their oligosaccharides with different molecular weights [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2004, 14: 317-323.
- [14] Fujimoto T, Tsuchiya Y, Terao M. Antibacterial effects of chitosan solution against *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* [J]. *Int. J. Food Microbiol*, 2006, 112: 96-101.
- [15] Vishu Kumar A B, Varadaraj M C, Gowda L R. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosan analysis with the aid of papain and Pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* [J]. *Biochem. J*, 2005, 391: 167-175.
- [16] Jackson Champer, Julie Patel. Chitosan against cutaneous pathogens [J]. *AMB Express*, 2013, 3 (1): 37-44.
- [17] Kong M, Chen X G. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli* [J]. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 2008, 65: 197-202.
- [18] Yun Y S, Kim K S. Antibacterial and antifungal effect of chitosan [J]. *Chitin Chitosan*, 1999 (4): 8-14.
- [19] 严钦.壳寡糖的制备及其抑菌性能研究[J].*食品研究与开发*, 2003, 24 (2): 26-29.
- [20] 叶磊,何立千.壳聚糖的抑菌作用及其稳定性的研究[J].*北京联合大学学报*, 2004, 18 (1): 79-82.
- [21] Chung Y C, Wang H L. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens [J]. *Bioresource Technology*, 2003, 88: 179-184.
- [22] 陈威,吴清平.壳聚糖抑菌机制的初步研究[J].*微生物学通报*, 2008, 48 (2): 164-168.
- [23] Eun Ju Jung, Dal Kyoung Youn. Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, 45: 676-682.
- [24] Jing Y J, Hao Y J. Studies on the antibacterial activities and mechanisms of chitosan obtained from cuticles of housefly larvae [J]. *Acta Biologica Hungarica*, 2007, 58: 75-86.
- [25] Coma V, Deschamps A. Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer—antimicrobial activity assessment on dairy-related contaminants [J]. *Journal of Food Science*, 2003, 68: 2 788-2 792.
- [26] 吴小勇,曾庆孝.几种壳聚糖的抑菌性能[J].*食品与发酵工业*, 2005, 31 (2): 18-21.
- [27] Liu H, Du Y, Wang X, et al. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 95: 147-155.
- [28] Sebtı I, Martial-Gros A. Chitosan polymer as bioactive coating and film against *aspergillus niger* contamination [J]. *Journal of Food Science*, 2005, 70: 100-104. ◇

壳聚糖抑菌活性的研究进展

作者: [苏庆席](#), [苏忠亮](#)
作者单位: [青岛科技大学化工学院, 山东青岛, 266042](#)
刊名: [农产品加工 \(上半月\)](#)
英文刊名: [Academic Periodical of Farm Products Processing](#)
年, 卷(期): 2015(1)

引用本文格式: [苏庆席](#). [苏忠亮](#) [壳聚糖抑菌活性的研究进展](#)[期刊论文]-[农产品加工 \(上半月\)](#) 2015(1)