

刘长霞,刘树恒,范小振. 固体壳聚糖盐制备方法及其应用研究进展[J]. 江苏农业科学,2016,44(11):19-22.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.005

固体壳聚糖盐制备方法及其应用研究进展

刘长霞,刘树恒,范小振

(沧州师范学院化学与化工学院,河北沧州 061001)

摘要:壳聚糖盐是通过简单质子化改性得到的壳聚糖衍生物,保持了壳聚糖聚阳离子特点。水溶性固体壳聚糖盐能直接溶解于水中,稳定性好,而且具有许多独特的生理活性和功能性质,在食品保鲜、保健品、医药等方面得到广泛应用。疏水性固体壳聚糖盐具有极好的油脂吸附性能和药物缓释作用。综述了国内外固体壳聚糖盐的制备方法和应用研究进展,并展望了固体壳聚糖盐的潜在应用。

关键词:壳聚糖盐;固体;制备;应用

中图分类号: TS201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)11-0019-03

甲壳素是天然高分子聚合物,化学名称为(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖,广泛存在于虾、蟹、昆虫的外壳中^[1]。壳聚糖是甲壳素脱乙酰化产物,是自然界中存在的唯一碱性多糖。由于壳聚糖及其衍生物具有无毒、生物相容性好、抑菌、吸附等功能,使其在食品、日化、医药、环境等领域得到广泛应用^[2]。然而壳聚糖只能溶解在酸性介质中,限制了其应用范围。可通过化学改性如季铵化、羟乙基化、羧基化等途径,制备水溶性良好、功能性质各异的衍生物,拓宽其应用范围^[3]。有些改性工艺繁琐,而且改变了壳聚糖聚阳离子的特性。壳聚糖盐通常可分为2种:一种是壳聚糖的酸溶液,即壳聚糖直接溶解在酸性水溶液中发生质子化反应。壳聚糖酸溶液贮存过程中容易发生降解,质量难以保证,而且使用不方便,极大限制了其应用范围^[4]。另一种是固体壳聚糖盐(solid chitosan salts),以固体粉末形式存在。根据固体壳聚糖盐的溶解性能,可将其分为水溶性固体壳聚糖盐和疏水性固体壳聚糖盐。水溶性固体壳聚糖盐能直接溶解在酸性、中性、弱碱性水溶液中,溶解性能大大改善,在食品保鲜、医药、日用化工等领域广泛应用^[5-6]。疏水性固体壳聚糖盐表现出极好的油脂吸附性能和药物缓释作用,日益受到关注^[7]。固体壳聚糖盐能长时间稳定存在,使用方便、安全,生物相容性好,制备工艺相对简单,是非常重要的壳聚糖应用型态。本研究对近年来固体壳聚糖盐的制备方法和应用进展进行评述。

1 固体壳聚糖盐制备方法

固体壳聚糖盐制备方法可分为2类:一种是干法制备,即有机酸或无机酸直接与壳聚糖定量混合,机械剪切研磨得到固体壳聚糖盐产品,此方法属于简单的物理混合,壳聚糖氨基

没有质子化,化学成分均匀性不好,导致样品溶解性不一致;另一种是湿法制备,酸溶液使壳聚糖氨基发生质子化反应,然后脱水干燥制备固体壳聚糖盐,样品均匀、稳定、溶解性好。固体壳聚糖盐的湿法和干法制备方法分别综述如下。

1.1 湿法制备固体壳聚糖盐

目前研究较多的固体壳聚糖盐制备方法是湿法制备,按照反应介质和产品分离方法可分为以下几种。

1.1.1 水溶剂法 首先配制适量的相应酸水溶液,然后将壳聚糖溶解于酸水溶液中,搅拌,进行质子化反应,制备出固体壳聚糖盐。此方法虽然操作方法简单,但产品不易分离、干燥。壳聚糖在酸性水溶液中溶解成黏稠溶液,若用普通烘箱干燥,样品不能被粉碎。因此,按照产品的分离纯化方法又可分为喷雾干燥法、有机溶剂沉淀法、冷冻干燥法。

喷雾干燥法^[8]:壳聚糖酸溶液在175~180℃进行喷雾干燥,得到干燥壳聚糖盐粉末,干燥设备昂贵,不适合小规模制备。**有机溶剂沉淀法^[9]:**向发生质子化壳聚糖酸溶液中加入有机溶剂,将壳聚糖盐沉淀析出,用大量有机溶剂洗涤,干燥、粉碎。此方法需要大量有机溶剂,生产成本低,环境污染重。壳聚糖酸溶液加入有机沉淀剂后往往会生成一种凝胶产物,难处理、难粉碎。**冷冻干燥法:**赵希荣等将壳聚糖溶解在乳酸溶液中,溶解、过滤、透析、冷冻干燥,得到固体壳聚糖乳酸盐^[4]。此方法制备过程简单,但需要特殊的冷冻干燥仪器,生产成本较高。

1.1.2 混合溶剂法 采用水/有机溶剂混合作为反应介质,一方面水能提高有机溶剂的介电常数,保证反应进行,否则质子化效率低;另一方面有机溶剂保证壳聚糖在酸性条件下不发生溶解,避免形成黏稠溶液从而不利于传质,产品难干燥、粉碎。Albisetti等将壳聚糖分散到介电常数为30~40之间的甲醇、乙醇、异丙醇/水混合溶剂中,然后加入相应量的脂肪酸、芳香酸、无机酸,加热搅拌,使壳聚糖在分散状态下进行异相质子化反应,结果表明,醇溶剂的种类、水的质量、固液比等均对反应产生影响,常温下反应时间从几小时到十几小时不等,回流温度下须反应若干小时^[10]。此方法缺点在于需要大量有机溶剂,反应时间长,属于异相反应,质子化效率较低。于乐军等将壳聚糖加入到65%乙醇/水混合溶剂中,密封溶

收稿日期:2016-01-25

基金项目:河北省科技计划自筹经费项目(编号:15273206);河北省高等学校科学技术研究项目(编号:ZD2016211);河北省沧州市沿海区域天然产物化学工程技术研究中心资助项目(编号:152002004D)。

作者简介:刘长霞(1974—),女,河北沧州人,博士,副教授,研究方向为天然产物化学与超分子自组装。E-mail:lcx822@sohu.com。

胀 12 h, 然后加入含醋酸的乙醇溶液, 搅拌均匀, 静置 12 h, 抽滤、烘干, 得到白色或淡黄色粉末状壳聚糖醋酸盐产品^[11]。

1.1.3 酸溶剂法 酸溶剂法可以分为 2 种: 一种是采用过量的酸直接作为反应介质, 如壳聚糖盐酸盐制备, 壳聚糖在浓盐酸中加热回流, 待壳聚糖溶解后, 冷却溶液, 壳聚糖盐酸盐析出^[12], 这种方法壳聚糖分子降解严重, 得到低分子量壳聚糖盐酸盐。另一种方法是采用稀醋酸或盐酸作为反应介质, 此方法通常用于疏水性壳聚糖盐即水不溶性壳聚糖盐的制备。Muzzarelli 等首先将壳聚糖粉末溶解在适量的 0.5% 醋酸溶液中, 将牛磺胆酸、甘氨酸胆酸溶解在水中, 将后者倒入壳聚糖溶液中, 产生白色沉淀, 透析 24 h, -92 °C 下冷冻干燥, 得到水不溶性壳聚糖牛磺胆酸盐和甘氨酸胆酸盐粉末^[13]。林少琴将壳聚糖溶解在 3% 盐酸溶液中, 加热至 80 °C, 滴入硬脂酸钠水溶液, 高速搅拌, 形成壳聚糖/硬脂酸离子复合物沉淀物, 过滤、洗涤, 真空干燥得到壳聚糖硬脂酸盐^[14]。

1.1.4 离子液绿色溶剂法 离子液是一种新型的绿色溶剂。研究表明, 一些离子液体或其水溶液能够溶解壳聚糖或甲壳素, 为壳聚糖的应用提供可能^[15]。Wang 等首先将壳聚糖溶解在绿色反应溶剂离子液中, 然后将溶解在蒸馏水中的富马酸单甲酯滴入上述溶液中, 25 °C 下反应 24 h, 得到壳聚糖单甲酯富马酸盐, 然后用蒸馏水透析纯化^[16]。由于离子液中含有大量离子, 导致产品纯化、干燥困难。

1.2 干法制备固体壳聚糖盐

1.2.1 干法制备 Rogovina 等在高温下将壳聚糖和固体酸或酸酐如硬脂酸、琥珀酸以及马来酸酐等在机械压力和剪切力作用下发生质子化反应^[17], 此方法优点是不须使用溶剂、产品纯净、无污染, 缺点是反应转化率较低并需要特殊设备。

1.2.2 半干研磨法 刘长霞等将与壳聚糖氨基等当量的酸溶解在少量水中, 一边慢慢滴加酸的水溶液, 一边在研钵中充分研磨, 得到蓬松、絮状产品, 用普通干燥箱干燥得到水溶性、易于粉碎的固体壳聚糖盐^[5]。此方法优点是操作简单、成本低、无污染。

2 固体壳聚糖盐的应用

水溶性固体壳聚糖盐溶解性能大大改善并保持壳聚糖聚阳离子特点, 具有良好的成膜性、抑菌性, 使用贮存方便, 在食品保鲜、亲水性药物吸收促进剂、医用载体、食品保健等方面得到广泛应用。疏水性固体壳聚糖盐表现出极好的油脂吸附性能及控制药物运输、释放作用, 日益受到人们关注。

2.1 在农产品方面的应用

壳聚糖及其衍生物具有良好的抑菌性、成膜性、无毒、生物降解等优良性质, 被广泛应用于果蔬、食品保鲜等方面^[18]。壳聚糖稀醋酸溶液涂膜被广泛应用于果蔬保鲜, 但是由于酸具有刺激性, 如果涂覆不均匀造成局部酸浓度过大, 容易加速果蔬褐变、腐烂。水溶性固体壳聚糖盐制备工艺简单, 不仅能改善壳聚糖溶解性能、保持壳聚糖聚阳离子特性, 而且由于携带的阴离子不同从而展现许多独特的性能。水杨酸在水果贮藏过程中能抑制其呼吸强度并增强保护酶活性, 是一种常用的食品添加剂。黄广君等采用研磨法制备壳聚糖水杨酸盐, 改善壳聚糖的溶解性, 将壳聚糖水杨酸盐直接溶解于水中制备保鲜涂膜剂, 对荔枝进行采后涂膜处理、贮存, 结果表明, 壳

聚糖水杨酸盐水溶液性质温和, 在果皮表层形成保护膜, 能有效抑制荔枝的失重、褐变, 壳聚糖水杨酸盐水溶液延缓水果褐变效果显著优于壳聚糖醋酸溶液^[19]。研究表明, 采用壳聚糖水杨酸复合涂膜芒果, 在延长其后熟过程和贮存效果方面都优于单一壳聚糖涂膜, 这一方面可能是由于水杨酸参与调节植物的生理过程; 另一方面是由于壳聚糖成膜和抑菌性能^[20]。抗坏血酸是一种常用的防褐变剂, 是人体必需的水溶性维生素。胡位荣等分别用壳聚糖和壳聚糖-抗坏血酸结合涂膜处理鲜切香芋, 结果表明壳聚糖-抗坏血酸结合比单独壳聚糖处理能更好地减缓鲜切香芋的褐变程度^[21], 这可能是由于抗坏血酸的抗褐变作用与壳聚糖的成膜、抑菌作用的协同效果。刘静娜等研究表明, 壳聚糖抗坏血酸复合盐不仅能改善壳聚糖的溶解性能, 而且壳聚糖的大分子结构能保护抗坏血酸, 延缓其被空气中的氧气氧化速度, 为其在食品、医药等领域的应用奠定基础^[22]。杨凌霄等采用半干研磨法制备的壳聚糖醋酸盐、盐酸盐、乳酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐等均展现出良好的水溶性、成膜性及强抑菌性。采用固体壳聚糖水溶液涂膜保鲜鸡蛋, 效果良好而且其抑菌性能与青霉素相比无显著差异^[23]。水溶性固体壳聚糖盐制备工艺简单、使用方便, 有望作为一种广谱食品保鲜剂被广泛推广使用。

2.2 水产品方面应用

壳聚糖具有净化水质、抗菌、提高机体免疫力等优良特性^[24], 但关于其在水产品病虫害方面应用研究较少。壳聚糖盐酸盐改善了壳聚糖的溶解性能而且保持了其聚阳离子特点。孙玉英等研究表明, 壳聚糖盐酸盐对副溶血弧菌、哈维氏弧菌、鳃弧菌等水产致病菌均有抑菌效果而且对副溶血弧菌的最小抑菌浓度为 2.5 mg/mL^[25]。黄盛东等研究了不同分子量壳聚糖对罗非鱼片的保鲜作用, 结果表明, 分子量小的壳聚糖保鲜效果更好^[26]。壳聚糖的保鲜机理通常被认为是壳聚糖高分子的成膜性和阳离子的抑菌性。鲜鱼片 pH 值为 6.4, 壳聚糖在此弱酸性环境下不能溶解, 成膜性差。分子量小的壳聚糖保鲜效果好于高分子量的壳聚糖可能是由于壳聚糖具有溶解性。水溶性固体壳聚糖盐溶解性能大大改善, 有望取代壳聚糖作为水产品的保鲜剂。

2.3 降脂保健品方面应用

研究表明, 普通的壳聚糖能够吸附本身质量几倍的油脂, 可作为一种减肥降脂膳食纤维。壳聚糖吸附油脂的机理通常被认为是聚阳离子吸附带负电的脂肪酸和高分子黏稠溶液的包封作用^[27]。壳聚糖作为聚阳离子化合物, 与脂肪不能互溶, 对中性油脂吸附能力不强。由于壳聚糖在肠道 pH 值环境下为不溶解状态, 降低了对脂肪酸的吸附效率, 因此靠普通壳聚糖进行降脂效果可能不佳。壳聚糖通过共价键改性提高溶解性能、阳离子化程度以及疏水基团数目的工艺繁琐, 成本较高。疏水性壳聚糖盐是壳聚糖氨基与脂肪酸通过盐键结合形成的复合物, 在保持了壳聚糖聚阳离子特性的同时提高壳聚糖长链上疏水基团数目, 较共价键改性简单方便。Furda 将壳聚糖与定量的油酸合成复合盐, 由于疏水基团的引入提高了对甘油三酸酯、胆固醇和其他固醇的吸附效能^[28]。Muzzarelli 等通过体外试验研究了疏水性壳聚糖牛磺胆酸盐和壳聚糖甘氨酸胆酸盐对脂肪的吸附性能, 研究表明, 其比普通壳聚糖能更有效吸收脂肪^[13]。目前研究较多的是壳聚糖与

可食用的硬脂酸通过盐键结合形成壳聚糖硬脂酸盐^[29]。壳聚糖硬脂酸盐对中性油脂具有良好的吸附性能而且油溶性壳聚糖对油脂的吸附效能受 pH 值影响较小。

2.4 医药方面应用

壳聚糖盐一方面可用来促进药物溶解和吸收,另一方面可作为药物缓释载体,控制药物释放。Tengammua 等研究了壳聚糖和 2 种水溶性固体壳聚糖盐对鼻器官多肽药物的吸收影响,结果表明,各种壳聚糖都能增强多肽药物的吸收性能^[30]。壳聚糖作为吸收增强剂,对多肽药物的吸收增强性能随着溶液 pH 值从 4 增加到 6 而逐渐减弱,然而水溶性固体壳聚糖盐对多肽药物的吸收增强性能不受 pH 值的影响。Maestrelli 等研究了壳聚糖、壳聚糖谷氨酸盐和盐酸盐对萘普生镇痛药的溶解和吸收性能影响,结果表明,壳聚糖谷氨酸盐能改善药物对细胞渗透性能从而促进萘普生的吸收^[31]。高世博等分别以水溶性壳聚糖盐酸盐和普通酸溶性壳聚糖为原料,以戊二醛为交联制备微球,结果表明,壳聚糖盐酸盐更易成球,球形圆整光滑^[32]。于飞等首先制备了水溶性固体壳聚糖乳酸盐,溶解于适量水中,然后加入冰晶生长剂叔丁醇制备得到具有垂直均匀孔道的海绵状壳聚糖乳酸盐,以红霉素为模型药物,研究该材料的药物缓释性能,结果表明,壳聚糖与脂肪酸通过盐键结合制备的疏水性壳聚糖盐在胃酸环境下不溶解而发生溶胀胶凝^[33],从而解决壳聚糖作为药物载体在胃酸环境下溶解快、不能控制药物释放的缺点。Bani - Jaber 等以胃溃疡药雷尼替丁作为模型药物,分别研究壳聚糖、壳聚糖脂肪酸盐(月桂酸盐和棕榈酸盐)制备药物片剂后,药物在胃酸 pH 值环境下的释放速率,结果表明,壳聚糖压片 1 h 药物释放 84%,壳聚糖脂肪酸盐压片药物释放速率相当慢,8 h 释放 70%~80%^[7]。壳聚糖脂肪酸盐制备较共价键交联简单容易而且安全无毒,有望作为化学药物有效缓释剂。

3 小结与展望

综上所述,壳聚糖质子化改性工艺简单,成本低廉,改性后的水溶性固体壳聚糖盐能够直接溶解在酸性、中性或弱碱性水溶液中,溶解范围大大扩大,而且表现出许多独特的生理活性和功能性质,为其应用奠定了良好的基础。水溶性壳聚糖盐不仅溶解性能得到改善而且水溶液黏度明显高于相应壳聚糖酸溶液黏度,有望作为增稠剂、药物增溶剂或油脂吸附剂。疏水性壳聚糖盐由于具有安全、无毒等特性,可作为化学药物的有效缓释剂和新型吸油材料进行推广。固体壳聚糖盐携带的反离子不同直接影响其溶解性能和功能性质。目前,市场上常见的只有为数不多的几种壳聚糖盐,如盐酸盐、乳酸盐、醋酸盐、谷氨酸盐等。开发新功能性固体壳聚糖盐并改进壳聚糖盐制备、纯化工艺是未来重要的发展方向之一。

参考文献:

[1] Ngo D H, Vo T S, Ngo D N, et al. Biological effects of chitosan and its derivatives[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 51: 200 - 216.
[2] Busilacchi A, Gigante A, Mattioli - Belmonte M, et al. Chitosan stabilizes platelet growth factors and modulates stem cell differentiation toward tissue regeneration[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 98(1): 665 - 676.

[3] 刘长霞,陈国华,侯进,等. 一锅连续法制备羧甲基壳聚糖工艺研究[J]. *高分子材料科学与工程*, 2006, 22(6): 213 - 216.
[4] 赵希荣,夏文水. 食品级壳聚糖乳酸盐的制备、表征和抗菌活性[J]. *中国乳品工业*, 2005, 33(8): 24 - 26.
[5] 刘长霞,陈国华,孙明昆. 水溶性固体壳聚糖盐的制备及其性能研究[J]. *化学工程*, 2007, 35(6): 45 - 48.
[6] Lagarto A, Merino N, Valdes O, et al. Safety evaluation of chitosan and chitosan acid salts from *Panurilus argus* lobster[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 1343 - 1350.
[7] Bani - Jaber A, Hamdan I, Alkawreek M. The synthesis and characterization of fatty acid salts of chitosan as novel matrices for prolonged intragastric drug delivery [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2012, 35(7): 1159 - 1168.
[8] Orienti I, Cerchiara T, Luppi B, et al. Influence of different chitosan salts on the release of sodium diclofenac in colon - specific delivery [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 238(1/2): 51 - 59.
[9] 李美兰,任艳玲,王晓冬,等. 颗粒状壳聚糖乳酸盐的制备及其抑菌性能[J]. *中国消毒学杂志*, 2007, 24(2): 129 - 131.
[10] Albiseti C J, Castle J E, Delaware U O. Preparation of chitosan salts in aqueous alcoholic media; US, 5061792 [P]. 1991.
[11] 于乐军,刘成圣,王康,等. 一种壳聚糖醋酸盐的制备方法: CN, 201110257843 [P].
[12] Belamie E, Domard A, Giraud - Guille M M. Study of the solid - state hydrolysis of chitosan in presence of HCl [J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 1997, 35(15): 3181 - 3191.
[13] Muzzarelli R A, Orlandini F, Pacetti D, et al. Chitosan taurocholate capacity to bind lipids and to undergo enzymatic hydrolysis; an *in vitro* model [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2006, 66(3): 363 - 371.
[14] 林少琴. 壳聚糖 - 硬脂酸离子复合物吸油材料的制备和性能 [J]. *石油化工*, 2005, 34(12): 1183 - 1185.
[15] Barber P S, Griggs C S, Bonner J R. Electrospinning of chitin nanofibers directly from an ionic liquid extract of shrimp shells [J]. *Green Chemistry*, 2013, 15(3): 601 - 607.
[16] Wang Z D, Zheng L C, Li C C, et al. Modification of chitosan with monomethyl fumaric acid in an ionic liquid solution [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 117: 973 - 979.
[17] Rogovina S Z, Vioreva G A, Akopova T A, et al. Investigation of interaction of chitosan with solid organic acids and anhydrides under conditions of shear deformation [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2000, 76(5): 616 - 622.
[18] 王彩霞,杨卫军. 壳聚糖对大枣的冷藏保鲜效果 [J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(6): 239 - 241.
[19] 黄广君,张金磊,刘容,等. 壳聚糖水杨酸盐的制备及其对荔枝保鲜的应用 [J]. *食品科技*, 2015, 40(8): 282 - 287.
[20] 高兆银,余露,杨风珍,等. 水杨酸壳聚糖复合涂膜对芒果采后病害防治效果的研究 [J]. *广东农业科学*, 2009(3): 121 - 122, 126.
[21] 胡位荣,刘顺枝,黄惠娟,等. 抗坏血酸与壳聚糖处理对鲜切香芋贮藏效果的研究 [J]. *食品科学*, 2010, 31(24): 436 - 439.
[22] 刘静娜,庄远红,耿微微. 壳聚糖抗坏血酸盐的制备及其抗氧化性的研究 [J]. *食品工业科技*, 2011, 32(10): 139 - 142.
[23] 杨凌霄,李素芬,刘廷国,等. 水溶性壳聚糖的制备及其应用初探 [J]. *食品与发酵工业*, 2010, 36(10): 89 - 93.
[24] 任秀芳,柏爱旭,张萍,等. 壳聚糖对水质和克氏原螯虾仔虾非特异性免疫酶的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(9): 202 - 204.

乐易林,倪黎,郭星星,等.嗜热菌乙醇代谢途径研究进展[J].江苏农业科学,2016,44(11):22-25.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.006

嗜热菌乙醇代谢途径研究进展

乐易林,倪黎,郭星星,邵蔚蓝

(江苏大学环境与安全工程学院生物质能源研究所,江苏镇江 212013)

摘要:微生物利用木质纤维素发酵生产乙醇是可再生能源发展策略之一。人们对常温菌发酵生产乙醇的代谢途径和机理进行了广泛深入的研究。目前天然高效发酵产乙醇菌不能利用五碳糖,因为能利用五碳糖的常温菌乙醇产率低。随着产乙醇嗜热微生物的深入研究,嗜热菌发酵产乙醇的发展为研究带来了契机。文中综述了发酵产乙醇嗜热菌的种类、代谢途径及其关键酶功能特性的研究进展。

关键词:木质纤维素;乙醇;嗜热菌;代谢途径;五碳糖

中图分类号:S216.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)11-0022-04

我国农业每年产生大量秸秆,这些生物质如能得到开发利用,可以满足人类对能源的需求。木质纤维原料的开发利用是现代生物技术领域研究热点之一。木质纤维水解产生的五碳糖和六碳糖通过微生物发酵生产乙醇是可再生能源发展策略之一。以酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)为代表的乙醇代谢途径是通过丙酮酸脱羧酶(PDC)和乙醇脱氢酶(Adh)将丙酮酸转化成乙醇,即所谓的双酶法^[1]。酵母菌和运动发酵单胞菌能将六碳糖转化成乙醇和二氧化碳,酵母菌和运动发酵单胞菌发酵生产乙醇的缺点是都不能代谢五碳糖产乙醇。针对酵母菌和运动发酵单胞菌不能利用五碳糖发酵乙醇的问题,将酿酒酵母或运动发酵单胞菌来源的丙酮酸脱羧酶和乙醇脱氢酶基因在能够高效代谢五碳糖的微生物中共表达,代谢五碳糖的微生物经过代谢工程改造从而获得发酵乙醇能力;也可以将五碳糖代谢途径在酿酒酵母和运动发酵单胞菌中表达,使代谢途

径改造后的酿酒酵母和运动发酵单胞菌能够利用五碳糖发酵产乙醇^[2-3]。

微生物中另外一条乙醇代谢途径是通过丙酮酸铁氧还原蛋白氧化还原酶(POR)或丙酮酸甲酸裂解酶(PFL),将丙酮酸转化为乙酰辅酶A,再通过辅酶A-依赖型的乙醛脱氢酶(AdhE)转化为乙醛,最后在乙醇脱氢酶作用下生成乙醇,即所谓的三酶法。大肠杆菌虽然有完整的己糖和戊糖代谢途径,但用葡萄糖或木糖等进行发酵时,产物中乙醇只占很小的一部分,大部分为乳酸、甲酸、琥珀酸和醋酸等^[4]。对产乙醇重组大肠杆菌的研究和探索进行了大量工作,将大肠杆菌代谢途径中的一些基因敲除,通过代谢工程改造获得具有乙醇生产能力较强的工程菌株^[4]。

自20世纪80年代初,国外开始提出利用嗜热菌发酵生产乙醇^[5]。嗜热菌利用底物范围比较广,即能够利用纤维素、半纤维素和淀粉,也可以利用木糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、半乳糖等发酵生产生物能源^[6-9]。嗜热菌发酵生产乙醇的优势是能够同步进行原料的生物降解、乙醇发酵和产物分离。本文主要总结了嗜热菌乙醇代谢途径及其关键酶。

1 分离鉴定的产乙醇嗜热菌

至今人们已经从多种环境中分离到产乙醇嗜热菌,主要有来源于梭菌属的热解糖梭菌(*Clostridium thermosaccharolyticum*)、热纤梭菌(*C. thermocellum*)、热厌氧杆菌属的解糖嗜热

收稿日期:2016-02-24

基金项目:国家自然科学基金(编号:31300088);江苏高校优势学科建设工程项目;江苏大学高级专业人才培养启动基金(编号:10JJDG117)。

作者简介:乐易林(1978—),男,江西宜春人,博士,助理研究员,主要从事酶工程研究。E-mail:leyilin@163.com。

通信作者:邵蔚蓝,教授,主要从事酶工程研究。E-mail:weilanshao@foxmail.com。

[25]孙玉英,张继泉.壳聚糖盐酸盐对几种水产致病菌的抑菌性研究[J].中国酿造,2015,34(1):47-49.

[26]黄盛东,陈松,潘江球,等.不同分子量壳聚糖对罗非鱼片冷藏保鲜作用的研究[J].食品工业科技,2015,36(9):318-321.

[27]Santas J, Espadaler J, Mancebo R, et al. Selective *in vivo* effect of chitosan on fatty acid, neutral sterol and bile acid excretion; a longitudinal study[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2):940-947.

[28]Furda I, Wayzata M N. Nonabsorbable lipid binder: US, 4223023 [P]. 1980.

[29]许益雨.壳聚糖硬脂酸盐的制备及降脂活性研究[D].无锡:江南大学,2013.

[30]Tengamnuay P, Sahamethapat A, Sailasuta A, et al. Chitosans as na-

sal absorption enhancers of peptides: comparison between free amine chitosans and soluble salts[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2000, 197(1/2):53-67.

[31]Maestrelli F, Zerrouk N, Chemtobb C, et al. Influence of chitosan and its glutamate and hydrochloride salts on naproxen dissolution rate and permeation across Caco-2 cells[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 271(1/2):257-267.

[32]高世博,左奕,邹琴,等.新型水溶性壳聚糖盐酸盐微球的制备与表征[J].功能材料,2011,42(10):1786-1789.

[33]于飞,奚廷斐,张珠江,等.具有垂直孔道的壳聚糖乳酸盐海绵的制备及体外释药模型的拟合分析[J].高等学校化学学报,2012,33(4):843-849.