

王一迪, 古渊, 谢嫚, 等. 壳聚糖脱乙酰度的测定及其应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(5): 408–415. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030016

WANG Yidi, GU Yuan, XIE Man, et al. Research Progress on the Determination of the Degree of Deacetylation of Chitosan and Its Application[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(5): 408–415. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030016

· 专题综述 ·

壳聚糖脱乙酰度的测定及其应用研究进展

王一迪, 古渊, 谢嫚, 游清徽*
(江西师范大学生命科学学院, 江西南昌 330022)

摘要: 壳聚糖是自然界中存量巨大的多糖类物质, 在食品、医药、农业、环保等领域发挥着许多重要的作用。其脱乙酰度是评判其性能的重要指标之一, 这使得在实际应用中对脱乙酰度检测方法的便利性和准确性提出较高的要求。本文综述了化学分析方法、光谱学分析方法、破坏性分析方法和电特性分析方法, 探讨各种分析方法及其改进方案的优缺点, 发现化学分析法和光谱分析法不仅检测效果好, 应用范围也更广, 电特性分析方法则具有广阔的发展前景。高脱乙酰度的壳聚糖的抗菌保鲜能力受到重视, 中低脱乙酰度的壳聚糖则在医学和环保领域发挥重要作用, 通过对不同脱乙酰度的壳聚糖在食品工业中抗菌、保鲜和包装等方面的应用以及环保和组织工程等领域的功能展开讨论, 为壳聚糖脱乙酰度的测定及其多方面的应用提供参考依据。

关键词: 壳聚糖, 脱乙酰度, 测定方法, 应用

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)05-0408-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030016

本文网刊:



Research Progress on the Determination of the Degree of Deacetylation of Chitosan and Its Application

WANG Yidi, GU Yuan, XIE Man, YOU Qinghui*

(College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China)

Abstract: Chitosan are abundant polysaccharides in nature, which play many important roles in food, medicine, agriculture, environmental protection and other fields. The deacetylation degree of chitosan is also one of the most important indexes to evaluate their performance. Therefore, the convenience and accuracy of deacetylation degree detection method are highly required in application. In this paper, the chemical analysis methods, spectral analysis methods, destructive analysis methods and electrical characteristics analysis methods are summarized, and the advantages and disadvantages of various methods and their improvement schemes are discussed. It is found that chemical analysis and spectroscopy have not only good detection results, but also a wider range of applications, while electrical characteristics analysis methods have broad prospects for development. The antibacterial and fresh-keeping ability of chitosan with a high degree of deacetylation is valued, while chitosan with a low degree of deacetylation plays an important role in medicine and environmental protection. The functions of chitosan of antibacterial, preservation and packaging in the food industry and application in environmental protection and tissue engineering were introduced to provide reference for the determination of the deacetylation degree of chitosan.

Key words: chitosan; degree of deacetylation; determination method; application

壳聚糖广泛存在于各类动物、植物和真菌中, 被认为是自然界中存量仅次于纤维素的天然多糖类物质^[1]。壳聚糖主要来源于甲壳素, 是甲壳素脱 N-乙

酰基的产物, 其氨基具有很强的亲核性, 能够发生 N-烷基化等一系列反应。通常来讲, 甲壳素中的 N-乙酰基脱去 55% 以上后就可被称为壳聚糖。脱乙酰的

收稿日期: 2021-03-02

基金项目: 国家科技重大专项子课题 (2018ZX09721002-008); 国家自然科学基金项目 (41967055); 江西省教育厅科学研究项目 (GJJ170199)。

作者简介: 王一迪 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 壳聚糖药用辅料的制备及应用研究, E-mail: 1638665163@qq.com。

* 通信作者: 游清徽 (1978-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 壳聚糖药用辅料的制备及应用研究, E-mail: qinghuiyou@jxnu.edu.cn。

程度决定了氨基在多糖分子链上的含量,脱乙酰程度越高,壳聚糖在稀酸溶液中由于氨基质子化而产生的带电基团就越多,导致其结构上的变化与性质上的差异。因此,脱乙酰度(degree of deacetylation, DD)是壳聚糖生产中一个重要的质量和工艺指标^[2]。同时,壳聚糖具有安全无毒、环境友好、可自然降解等特性,被广泛应用于医药^[3]、食品^[4]、农业^[5]、环保^[6]、纺织^[7]、美妆^[8]、生物工程^[9]等领域。本文综述了壳聚糖脱乙酰度的各类测定方法并进行比较,讨论了其优点和局限性,并围绕不同脱乙酰度的壳聚糖在多个领域中的应用展开讨论,为壳聚糖产品的质量控制和应用提供参考依据。

1 壳聚糖脱乙酰度的测定

壳聚糖脱乙酰度的检测方法大致可分为三类^[10]。第一类是化学分析方法,包括碱量法^[11]、胶体滴定法^[12]、电导滴定法^[13]、电位滴定法^[14]和线性滴定法^[15]等;第二类是光谱学方法,有红外吸收光谱法^[16]、紫外吸收光谱法^[17]、核磁共振波谱法^[18]等;第三类是破坏性方法,包括差示扫描量热法^[19]、元素分析法^[20]、解离法^[21]和 X 射线衍射法^[22]等。同时,近年来也有相关学者开发出了新型的电特性测定法。本文综述了目前所有报道的几种壳聚糖脱乙酰度测定方法及其改进方案,同时比较各种检测方法的优势和不足,总结见表 1。

1.1 化学分析法

1.1.1 酸碱滴定法 酸碱滴定法的依据,是壳聚糖脱乙酰基后产生的自由氨基呈碱性,能够与酸定量发生中和反应,然后通过滴定测量体系中多余的氢离子,即可推算出与氨基结合的氢离子含量,进而推算出壳聚糖的氨基含量和脱乙酰度。通过酸碱滴定法测定氨基含量时使用的指示剂通常为甲基橙^[11],但在滴定终点时溶液由橙色变为黄色,显色不够明显。印琦等^[23]采用甲基橙-亚甲基蓝作为指示剂对酸碱滴定法加以改良,在滴定终点时溶液由紫色转变为浅绿色,测定结果准确度达到 97.01%,相较于单独使用甲基橙作为指示剂时更好判断,提高了实验的准确性和可重复性。此类方法需要将壳聚糖配制成溶液后进行测定,这就对壳聚糖样品的分子量和脱乙酰度范围有一定的要求,也可能受到溶液中其他杂质的干扰而影响其测定精度。

基于酸碱滴定法的原理,何炜欣等^[24]采用光纤折射率传感器的检测方法,以光纤折射率传感器实时动态检测滴定过程中样品溶液的光折射率,能够非常便利、精确地判断滴定终点。当以双突跃法滴定结合光纤折射率传感器进行检测时,三种壳聚糖样品的脱乙酰度分别为(88.0%±1.1%)、(92.2%±0.9%)、(96.1%±0.8%),而根据¹H NMR 得出三者的脱乙酰度分别为 87.0%、91.0% 和 95.1%,二者相差不大。该结果表明,将光纤折射率传感器测试系统用于壳聚糖的脱乙酰度检测是可行的。这种方法的核心测量装置不需要额外的电子元件,能够避免电磁波干扰,具有易于搭建、操作简便、响应速度快等优点。但不可忽略的是,该方法同样会受到壳聚糖溶液粘稠、浑浊特征的影响,导致测试结果的可靠性下降。

1.1.2 库伦滴定法 库伦滴定法是通过在电极上发生电解反应,产生的氢氧根离子在壳聚糖溶液中与反应剩余的 HCl 发生反应,依据法拉第公式计算壳聚糖的脱乙酰度。WANG 等^[25]通过实验得出,当以 1 mol/L KCl 溶液作为电解质,15.00 mA 恒定电流强度,以复合玻璃电极作为指示电极,以双铂电极-铂丝辅助电极作为工作电极对,pH3.80 为滴定终点,测量四份样品得到的脱乙酰度均与核磁共振氢谱的检测结果相近,标准差小于 0.5%。随后,WANG 等^[26]又对库伦滴定法做出改进,采用双突跃库伦滴定法分析壳聚糖的脱乙酰度,通过两次突跃之间的电解时间差,即可得出壳聚糖的脱乙酰度,同时消除由壳聚糖溶液中残留的酸或碱所引起的测量误差,测试结果表明,四个样品的脱乙酰度与核磁共振测定的结果一致,标准偏差低于 0.60%。库伦滴定法直接通过电解来产生氢氧根,根据两次突跃之间的电解时间差能够直接计算壳聚糖中质子化的氨基含量,有效避免了溶液中残留酸或碱的干扰,精密度较好,操作简单,并且分析时间也较快,15 min 即可得出结果,但其对电解质的种类和浓度都有一定要求。双突跃库伦滴定法在检测过程中使用铂电极取代玻璃电极,提高了检测的灵敏度,克服了玻璃电极在粘稠、浑浊的壳聚糖溶液中的应用缺陷。但是,库伦滴定方法及改进的双突跃库伦滴定法都有一个共同的缺陷,就是只能检测溶解性较好的壳聚糖,对壳聚糖的相对分子量有一定要求,同时也容易受到内源性杂质的干扰,稳定性不佳。

表 1 常见的壳聚糖脱乙酰度测定方法及其优缺点

Table 1 Different methods of determination of the degree of deacetylation of chitosan and their advantages and disadvantages				
方法类型	常用方法	适用范围	方法优势	方法不足
化学分析方法	酸碱滴定法	有一定溶解度的壳聚糖样品	设备简单,操作简便	仅适用于可溶样品,易受内源性杂质干扰
	库伦滴定法			
光谱学方法	红外光谱法 拉曼光谱法 核磁共振波谱	DD: 0~100%	适用范围广,检测准确度高	需要专门的设备,检测时间较长。
破坏性方法	差示扫描量热法	DD: 0~100%	适用范围广且准确度高	需要专门的仪器,样品处理复杂
电特性测定法	毛细管电泳法 感电特性测定法	特定相对分子质量的可溶壳聚糖样品	不易受杂质影响,发展前景较好	检测耗时且适用范围窄

1.2 光谱学方法

1.2.1 红外光谱法 壳聚糖残留的酰胺基团具有独特的红外吸收峰,使得红外光谱法(IR)成为测定壳聚糖脱乙酰度光谱学方法中最常用的一种。壳聚糖的脱乙酰度不同,则分子中酰胺基团参与形成的链内、链间氢键的数目也不同,导致酰胺峰位发生变化。在样品的红外光谱图中,不同基团会呈现出不同的吸收区域,通过参照品中酰胺的特征吸收峰与其总吸收峰之间的比例,结合壳聚糖样品的总吸收峰,即可推算出壳聚糖的脱乙酰度。

选择合适的吸收峰、参照峰以及基线,对红外光谱测定壳聚糖的脱乙酰度非常重要^[27]。其特征吸收峰大多选择 1655、1550 和 1310 cm^{-1} 等,而参照峰常用 3450、2877 cm^{-1} 等。现有文献采用了多种不同的吸收带比,例如 $A_{1320}:A_{1420}$ ^[28]、 $A_{1655}:A_{3450}$ ^[29]、 $A_{1560}:A_{1030}$ ^[30] 等。林瑞洵等^[31]发现 1655 cm^{-1} 处的吸收峰受样品含水的影响较大,1550 cm^{-1} 处吸收峰受到的影响则较小。DONG 等^[32]分析后认为使用 $A_{1560}:A_{2880}$ 的吸收带比测定效果最好,并且在相邻两个波谷之间建立连接,对于测量 1560 cm^{-1} 和 1655 cm^{-1} 谱带的吸光度更好。测量范围几乎覆盖了脱乙酰度的整个范围(1%~100%),并且优化了 1655 cm^{-1} 峰受到样品中含水的干扰问题。同时,当壳聚糖的脱乙酰度过高(大于 90%)时,由于酰胺基团的吸收峰很弱,红外光谱检测中很容易受杂质干扰,影响测定结果的准确度。

DIMZON 等^[33]使用偏最小二乘(PLS)来对红外光谱测定结果进行分析,使得检测准确度得到了显著改善。该研究采用 1500 cm^{-1} 至 1800 cm^{-1} 的红外光谱区数据集,采用不同的 PLS 模型对该数据集进行处理、评估和比较。对 PLS 载荷图的分析表明,光谱区域中的重要变量来自 1660 cm^{-1} 和 1550 cm^{-1} 处的酰胺谱带和 1600 cm^{-1} 处的酰胺谱带相关的吸收最大值。与常规的红外吸收率法相比,IR-PLS 结果更加精确和可靠。FATIMA^[34]还采用了傅里叶变换红外光谱(FTIR)追踪从甲壳素提取壳聚糖过程中的脱乙酰度变化,从而跟踪了甲壳素到壳聚糖的转化过程。

红外光谱法的优势在于不用将壳聚糖样品配制成溶液,进而测定一些难溶的壳聚糖样品,操作中一般使用溴化钾压片法,即将干燥后的壳聚糖样品与溴化钾混合并研磨成粉末,压片后再进行分析。样品中的内源性杂质对测定的影响较小,但需要专业仪器才能完成测定,限制了该方法的应用场景。

1.2.2 拉曼光谱法 ZAJAC 等^[35]还开发出了一种使用拉曼光谱测定壳聚糖脱乙酰度的方法。拉曼光谱法与红外光谱法的原理相近,通过测定壳聚糖在拉曼光谱中的特征吸收峰来计算壳聚糖的脱乙酰度。检测中以 896 cm^{-1} 作为参照谱带,而非采用受壳聚糖样品中水分影响较大的 C-H 伸缩震动谱带作为参

照,提高了测定的准确性。拉曼光谱的优点是样品中的水分、无机盐和蛋白质等杂质均对检测结果无影响,从而保证了检测的准确度。

1.2.3 核磁共振波谱法 核磁共振波谱法(NMR)是一种应用广泛的化合物结构解析方法,常用的有 ^1H NMR^[36]、 ^{13}C NMR^[37]、 ^{15}N NMR^[38] 等。其中 ^1H NMR 被广泛认为是测定壳聚糖脱乙酰度最为准确的方法,常被用作其他测定方法的校准和对照^[39]。 ^1H NMR 是利用壳聚糖分子中不同氢质子具有不同的化学位移值,以核磁共振波谱图中氢质子的积分面积和对照氢质子的积分面积做比较,来计算出壳聚糖的脱乙酰度。 ^{13}C NMR 的原理与前者类似,检测的是羰基中的碳峰面积。TANG 等^[40]提出了一种根据交叉极化互易关系,使用 SSNMR ^{13}C 方法测定甲壳素含量和壳聚糖的脱乙酰度。这是基于交叉极化互易关系改进的固体核磁共振定量方法($\text{rQCP}_Z^{\text{RC}}$ SSNMR),将其用于壳聚糖脱乙酰度的测试。选择三个甲壳素或壳聚糖样品以评估 $\text{rQCP}_Z^{\text{RC}}$ 的性能,与定量测试法和最佳接触时间法相比, $\text{rQCP}_Z^{\text{RC}}$ 被证明是一种准确可靠的脱乙酰测试方法,相对误差小于 5%。此外,每个样品的 $\text{rQCP}_Z^{\text{RC}}$ 实验时间为 5.5 h,明显短于双脉冲定量分析法(DP)的 36~85 h。因此,使用 $\text{rQCP}_Z^{\text{RC}}$ 作为脱乙酰度的测试工具,能够精准和高效地测定壳聚糖的脱乙酰度。 ^{15}N NMR 的计算最为简单,通过核磁共振得到氨基信号峰和乙酰胺信号峰,通过峰强度的比值来得出壳聚糖的脱乙酰度。但 ^{13}C NMR 和 ^{15}N NMR 的检测准确性较低,且操作繁琐程度相当,故在应用上还是将 ^1H NMR 作为核磁共振波谱法中的最优选^[37]。核磁共振波谱法的局限性在于所需仪器昂贵,操作也非常复杂,需要专人经培训后才能操作,这使得这种方法很难被推广和应用。

1.3 破坏性方法

1.3.1 差示扫描量热法 差示扫描量热法(DSC)是一种常用的热分析方法,通过检测样品的物理性质随温度和时间的变化,来分析物质分子结构^[19]。利用甲壳素和壳聚糖在高温条件下能够解离成两种特定单体的性质,检测人员采用 DSC 来测定壳聚糖的脱乙酰度。GUINESI 等^[41]通过 DSC 测定壳聚糖脱乙酰度时在 296 和 404 $^{\circ}\text{C}$ 时出现了两个放热峰,峰高度与峰面积的比值与壳聚糖样品的脱乙酰度之间呈现良好的线性关系。纪建华^[42]将 DSC 测定与红外吸收光谱法进行比较研究,结果表明,壳聚糖 DSC 曲线中选用 295 $^{\circ}\text{C}$ 分解峰与红外光谱测定中选用 $A_{1320}:A_{1420}$ 得到的脱乙酰度结果相近,同时也接近于样品标称的脱乙酰度,仅稍微偏高约 1%。纪建华^[43]又将 DSC 测定与和电位滴定法加以比较,DSC 检测结果与作为参照的 ^1H NMR 测定结果最大相差不到 1%,且四组平行试验的标准偏差均小于 1.5%,表明 DSC 检测有较好的精密度;此外,通过对两种方法稳定性的考察,发现电位滴定法的测定值会随着样品溶

液放置时间的延长而逐渐增加,稳定性相对较差的最大相差为 3.92%,而 DSC 法没有明显变化,最大相差仅为 1%。由此可见,DSC 法和红外光谱法一样,都属于测定准确度较好的一类方法,检测速度快,并且同样拥有广泛的脱乙酰度测定范围。然而,该方法需要专门的检测设备,因此产生了一定的局限性。

1.4 电特性测定法

1.4.1 毛细管区带电泳法 WU 等^[44]开发了一种毛细管区带电泳(CZE)的方法来测定壳聚糖的脱乙酰度。壳聚糖是一种阳离子多糖,其脱乙酰度可以通过电泳迁移率的分布来表征,因此毛细管区带电泳是一种合适的检测方法,通过测定壳聚糖电泳迁移的速率与¹H NMR 测定的脱乙酰度,在二者之间建立线性校准方程式,实现了 55.3%~96.2% 脱乙酰度壳聚糖样品的测定。值得强调的是,该方法不仅可以获得壳聚糖样品的平均脱乙酰度,而且还可以从电泳色谱图中获得不同批次壳聚糖的脱乙酰度分布信息。THEVARAJAH 等^[45]使用游离溶液毛细管电泳(CE)度来分离不同脱乙酰度的壳聚糖,根据壳聚糖样品电泳迁移率分布的分散性可以表征壳聚糖的脱乙酰度,并与¹H NMR 检测得到的脱乙酰度数建立了对应关系,同样取得了较好的结果。但是,毛细管区带电泳法不可避免地要依据¹H NMR 检测的结果作为参照,这就使得测试的前期准备工作变得复杂且耗时,从而限制了该方法的推广应用。

1.4.2 感电特性测定法 利用感电特性来评估壳聚糖的脱乙酰度是由 LI 等^[46]提出的一种新型检测方法。该研究旨在通过基于感应方法的模拟电分析系统确定固定相对分子质量壳聚糖的脱乙酰度。相关研究表明,导电性液体食品的物理化学性质能够通过其感电特性加以表征^[47]。将其应用于壳聚糖,原理大致为:在硅钢芯的一侧用铜丝缠绕作为初级线圈(N_p),将导电性溶液(壳聚糖乙酸溶液)填充在硅钢芯的另一侧的玻璃螺旋管(或聚四氟乙烯管)中,使之成为次级线圈(N_s)。在初级线圈上施加的初级电压(U_p)会在钢芯中产生交变磁通,从而导致壳聚糖线圈中产生感应电压(U_s)。根据变压器原理^[48] $U_p/U_s = N_p/N_s$,其中 U_p 和 N_p/N_s 都是固定的,所以 U_s 为一常数。壳聚糖中氨基含量的差别会导致其感电特性的差异^[49],而阻抗的变化会导致壳聚糖线圈中的 U_s 变化,所以通过测量壳聚糖的感应电参数,即可对应表征壳聚糖的脱乙酰度值。但是,该方法目前只能检测固定相对分子质量的壳聚糖溶液,这是由于壳聚糖的聚合度也会影响其氨基含量^[50],因此该方法更加适用于同批次固定相对分子质量壳聚糖样品的检测,而非壳聚糖混合物的质量控制。

2 不同脱乙酰度壳聚糖的应用

2.1 高脱乙酰度壳聚糖的应用

脱乙酰度达到 85%(甚至 90%)以上的壳聚糖就

可以称之为高脱乙酰度壳聚糖^[51]。高脱乙酰度壳聚糖由于游离氨基含量高,在抗菌、保鲜、防腐和抗氧化等方面都表现出良好的作用,故而在食品工业中得到了广泛的应用。

2.1.1 抗菌 壳聚糖抗菌机理主要包括两个方面:一是当壳聚糖分子中带正电荷的氨基吸附于细菌细胞表面时,会形成一层阻碍物质运输的高分子膜,影响细胞正常的新陈代谢,从而起到抑菌作用^[52];二是这些游离氨基能够和细菌细胞壁中带负电的磷壁酸结合影响其生理功能,破坏细胞壁合成,进而改变了细胞膜的屏障性能,引起菌体形变,导致质壁分离^[53]。赵维等^[54]比较了不同脱乙酰度蚕蛹壳聚糖的抑菌性能,结果显示,随着样品脱乙酰度的增加,抑菌活性也逐渐增大,对白色念珠球菌、大肠杆菌、蜡状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌等都表现出了明显的抑制作用。贾秀春等^[55]用壳聚糖对猪肉进行抗菌处理也得到了类似的结果。各种海产废料,如虾壳、蟹壳等都是重要的壳聚糖产品来源,VALE 等^[56]从蟹壳中提取了脱乙酰度为 92% 的高脱乙酰度壳聚糖,分别以浓度为 1.5% 和 0.6% 的甘油配制成壳聚糖甘油膜溶液,同样表现出良好的抗菌活性。由此可见,壳聚糖分子中游离氨基的含量是使其发挥抑菌作用的关键,高脱乙酰度的壳聚糖其抗菌效果会更好。

壳聚糖与金属离子结合制备复合材料,可以加强其抗菌活性^[57],例如银离子会与带负电的大分子相互作用,引起蛋白质变性、细胞壁变形,最终导致细胞死亡^[58-59],因此,壳聚糖与金属离子的复合材料预期效果更好。

2.1.2 保鲜 壳聚糖作为一种天然防腐剂能够有效保鲜,抑制食品氧化、褐变和产生异味^[60]。研究表明,高脱乙酰度的壳聚糖能够有效抑制肉类中的脂质水解,其机理在于壳聚糖作为一种碱性多糖,具有大量的游离氨基,能够和游离脂肪酸充分结合,发挥良好的抗氧化活性^[61]。欧春艳等^[62]研究了不同脱乙酰度的壳聚糖对黄瓜的保鲜效果,采用脱乙酰度 70%~90% 的各种壳聚糖作为保鲜剂,结果显示高脱乙酰度的壳聚糖更能减少黄瓜中的水分、叶绿素和维生素 C 的流失,降低黄瓜的腐烂率。因此,壳聚糖的脱乙酰度越高,保鲜效果越好。

将壳聚糖的成膜性应用于食品包装也是近年来的研究热点。将壳聚糖与天然大分子有机物如蛋白质、多糖及不同抗菌物质如抗生素、有机酸、植物提取物等结合制备涂层用于食品包装,能够有效提升食品的抗菌能力,延长其保存时间。

吕勇等^[63]考察了不同脱乙酰度涂布包装纸的力学性能和抗油脂性能,结果表明,随着涂布的壳聚糖脱乙酰度的提高,包装纸力学性能得到提升。其原因可能是壳聚糖分子与纸张纤维素之间的氢键作用力与脱乙酰度呈正相关。

将高脱乙酰度的壳聚糖和茶多酚复配制成复合

保鲜膜,不仅提高了保鲜膜中的总酚含量,还提高了其对2,2-二苯基-1-苦基肼自由基的清除活性,大幅增强了壳聚糖保鲜膜的抗氧化性能,同时膜的机械强度和水蒸气阻隔性能也得到了提升^[64-65],在水果^[66-68]、蔬菜^[69-70]、水产品^[71-72]和肉类^[73-74]等的保鲜领域都呈现出巨大的发展潜力。

2.2 中低脱乙酰度壳聚糖的应用

一般称脱乙酰度在55%~85%的壳聚糖为中低脱乙酰度壳聚糖^[51],此类壳聚糖在组织工程和环保等领域具有独特的应用。

2.2.1 组织工程 壳聚糖作为一类碱性阳离子聚合物,不溶于水,同时具有良好的可塑性和可加工性,将其加工或改性制成薄膜、微球或者多孔的组织工程材料,能够为细胞生长提供良好的支撑和贴附作用^[75]。用于人体的组织工程材料的一个重要特性是具有合适的体内降解性,壳聚糖可以被溶菌酶缓慢水解,因此具有合适的降解性,如今已成为生物和医疗材料领域的研究热点^[76]。壳聚糖的降解速度与其脱乙酰度密切相关,将其应用于软骨损伤修复时,使用脱乙酰度为80%左右的壳聚糖作为支架原料,可以让壳聚糖支架的降解速度与人体软骨正常修复的时间相吻合,从而发挥最佳的治疗效果^[77]。此外,壳聚糖还对人体原代成骨细胞的生长和分化有一定的影响,研究表明低脱乙酰度的壳聚糖海绵能够促进破骨细胞生成因子的分泌^[78]。为了有效调控并引导骨再生的速度和质量,可以通过使用不同脱乙酰度的壳聚糖原料加以实现。

2.2.2 环保 壳聚糖作为一种高分子凝絮剂和吸附剂,在水处理以及保水材料等领域发挥着重要的作用。通过将中脱乙酰度的壳聚糖与丙烯酰胺和阳离子单体进行三元共聚合,一方面能够增强改性壳聚糖的溶解性,另一方面还保持了聚合物足够的相对分子质量与电荷密度,使其更容易对杂质颗粒进行架桥吸附和电中和^[79]。同时,不同的脱乙酰度也使得壳聚糖对不同的重金属元素有着不同的去除效率。例如,中低脱乙酰度的壳聚糖薄片和珠粒则对铅的去除效果更好^[80]。中低脱乙酰度壳聚糖还能够作为保水材料,将壳聚糖丙烯酸酯类的高吸收性聚合物(SAP)作为保水材料,对保护植被、涵养水源都有着很好的效果。相关研究表明,当使用低相对分子质量和低脱乙酰度的壳聚糖时,SAP的吸水性更强^[81]。

3 总结和展望

壳聚糖在传统食品工业和医疗保健行业中的应用极为广泛,在抗菌、保鲜和包装材料方面具有巨大的应用潜力。然而,对于壳聚糖的研究开发仍处于逐渐深入的过程,暂时难以完全替代相关的食品添加剂和防腐剂,正因如此,还需要研究者对壳聚糖进行全面且深入的检测、复配和改性研究。绝大多数情况下,壳聚糖必须标注其脱乙酰度。为了保证壳聚糖脱乙酰度测定的效率、准确性与可推广性,有必要继续

探索更加简便、快速、准确的测定方法。现有的脱乙酰度测定方法中,化学分析法和光谱分析法由于其简便快捷的特性,被广泛应用于食品、医药等诸多领域。不同脱乙酰度的壳聚糖也发挥出了不同的功能特性,高脱乙酰度壳聚糖的抗菌保鲜能力受到重视,中低脱乙酰度的壳聚糖则在医学和环保领域发挥重要作用,通过进一步探索壳聚糖脱乙酰度的测定方法,相信能够为扩展其更加广泛的应用提供助力和参考。

参考文献

- [1] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001. [JIANG T D. Chitosan[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001.]
- [2] FOSTER L J R, HO S, HOOK J, et al. Chitosan as a biomaterial: influence of degree of deacetylation on its physiochemical, material and biological properties[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e135153.
- [3] ZHANG S, LI J, LI J, et al. Application status and technical analysis of chitosan-based medical dressings: A review[J]. *RSC Advances*, 2020, 10(56): 34308-34322.
- [4] KRITCHENKOV A S, EGOV A R, KURASOVA M N, et al. Novel non-toxic high efficient antibacterial azido chitosan derivatives with potential application in food coatings[J]. *Food Chemistry*, 2019, 301: 125247.
- [5] MERINO D, GUTIÉRREZ T J, ALVAREZ V A. Potential agricultural mulch films based on native and phosphorylated corn starch with and without surface functionalization with chitosan[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2019, 27(1): 97-105.
- [6] BAKSHI P S, SELVAKUMAR D, KADIRVELU K, et al. Chitosan as an environment friendly biomaterial-a review on recent modifications and applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 150: 1072-1083.
- [7] SHAHID-UL-ISLAM, BUTOLA B S. Recent advances in chitosan polysaccharide and its derivatives in antimicrobial modification of textile materials[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 905-912.
- [8] ARANAZ I, ACOSTA N, CIVERA C, et al. Cosmetics and cosmeceutical applications of chitin, chitosan and their derivatives[J]. *Polymers*, 2018, 10(2): 213.
- [9] AHSAN S M, THOMAS M, REDDY K K, et al. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 110: 97-109.
- [10] KASAAI M R. Various methods for determination of the degree of N-acetylation of chitin and chitosan: A review[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(5): 1667-1676.
- [11] 郭思辉, 余晓红, 张宏亮, 等. 碱量法测定壳聚糖脱乙酰度通用指示剂的研究[J]. *食品科技*, 2009, 34(4): 262-265, 275.
- [12] WU S H, YU X H, ZHANG H L, et al. Research of common indicator of degree of deacetylation of chitosan by alkalimetry[J]. *Food Science and Technology*, 2009, 34(4): 262-265, 275.]
- [12] 杨文智, 祝小静, 李海鹰, 等. 胶体滴定法测定壳聚糖脱乙酰度[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2010, 30(3): 285-288.
- [12] YANG W Z, ZHU X J, LI H Y, et al. Determination of the degree of deacetylation of chitosan by colloid titration[J]. *Journal of Hebei University (Natural Science Edition)*, 2010, 30(3): 285-288.]

- [13] 孔祥平, 张保华, 钟鑫, 等. 电导滴定法同时测定羧甲基壳聚糖的取代度、脱乙酰度和-COONa 分布系数[J]. 理化检验(化学分册), 2015, 51(5): 697-700. [KONG X P, ZHANG B H, ZHONG X, et al. Conductometric titration to simultaneously determine the degree of substitution, deacetylation and -COONa distribution coefficient of carboxymethyl chitosan[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2015, 51(5): 697-700.]
- [14] 贾之慎, 李奇彪. 双突跃电位滴定法测定壳聚糖脱乙酰度[J]. 化学世界, 2001(5): 240-241. [JIA Z S, LI Q B. Determination of the deacetylation degree of chitosan by two abrupt change potential titration method[J]. Huaxue Shijie (Chemical World), 2001(5): 240-241.]
- [15] JIANG X, CHEN L, ZHONG W. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 54(4): 457-463.
- [16] 孔祥平. 红外光谱法测定壳聚糖脱乙酰度[J]. 应用化工, 2012, 41(8): 1458-1461. [KONG X P. Determination of degree of deacetylation in chitosan by FTIR spectroscopy[J]. Applied Chemical Industry, 2012, 41(8): 1458-1461.]
- [17] 刘长霞, 陈国华, 孙明昆, 等. 多波长线性回归——紫外分光光度法测定壳聚糖的脱乙酰度[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2003(1): 148-154. [LIU C X, CHEN G H, SUN M K, et al. Determination of the degree of deacetylation of chitosan by multi-wavelength linear regression UV spectrophotometry[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2003(1): 148-154.]
- [18] 杨建红, 杜予民, 覃彩芹. 红外光谱与核磁共振波谱在甲壳素结构研究中的应用[J]. 分析科学学报, 2003(3): 282-287. [YANG J H, DU Y M, QIN C Q. Applications of infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy in the studies of the structure of chitin and chitosan[J]. Journal of Analytical Science, 2003(3): 282-287.]
- [19] CHAIYA P, PHAECHAMUD T. Differential scanning calorimetric analysis for incompatibility: Sodium stearate/magnesium stearate and acidic compounds[J]. Key Engineering Materials, 2020, 859: 307-312.
- [20] KIM S S, KIM S H, LEE Y M. Preparation, characterization and properties of β -chitin and N-acetylated β -chitin[J]. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 1996, 34(14): 2367-2374.
- [21] NIOLA F, BASORA N, CHORNET E, et al. A rapid method for the determination of the degree of N-acetylation of chitin-chitosan samples by acid hydrolysis and HPLC[J]. Carbohydrate Research, 1993, 238: 1-9.
- [22] ZHANG Y, XUE C, XUE Y, et al. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction[J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(11): 1914-1917.
- [23] 印琦, 杨丽群, 兰文字, 等. 不同壳聚糖脱乙酰度测定方法的适宜性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(23): 276-281. [YIN Q, YANG L Q, LAN W Y, et al. Suitability for determination of deacetylation degree of chitosan[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(23): 276-281.]
- [24] 何炜欣, 谭春华, 黄旭光. 光纤折射率传感用于壳聚糖脱乙酰度测定[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(2): 474-478. [HE W X, TAN C H, HUANG X G. Determination of the deacetylation degree of chitosans by fiber-optic refractive index sensing technique[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2013, 34(2): 474-478.]
- [25] WANG C, YUAN F, PAN J, et al. A novel method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan by coulometric titration[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 70: 306-311.
- [26] WANG C, YUAN F, JIN L, et al. Evaluation of the deacetylation degree of chitosan with two-abrupt-change coulometric titration[J]. Electroanalysis, 2016, 28(2): 401-406.
- [27] DUARTE M L, FERREIRA M C, MARVÃO M R, et al. An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2002, 31(1): 1-8.
- [28] BRUGNEROTTO J, LIZARDI J, GOYCOOLEA F M, et al. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization[J]. Polymer, 2001, 42(8): 3569-3580.
- [29] KHAN T A, PEH K K, CH NG H S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: The influence of analytical methods[J]. J Pharm Pharmaceut Sci, 2002, 5(3): 205-212.
- [30] SHIGEMASA Y, MATSUURA H, SASHIWA H, et al. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1996, 18(3): 237-242.
- [31] 林瑞洵, 蒋苏洪, 张慕珊. 脱乙酰甲壳质脱乙酰度测定方法[J]. 广州化学, 1992(4): 52-59. [LIN R X, JIANG S H, ZHANG M S. Determination method of deacetylation degree of chitin[J]. Guangzhou Chemistry, 1992(4): 52-59.]
- [32] DONG Y, XU C, WANG J, et al. Determination of degree of substitution for N-acetylated chitosan using IR spectra[J]. Science in China Series B: Chemistry, 2001, 44(2): 216-224.
- [33] DIMZON I K D, KNEPPER T P. Degree of deacetylation of chitosan by infrared spectroscopy and partial least squares[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 939-945.
- [34] FATIMA B. Quantitative analysis by IR: Determination of chitin/chitosan DD[M]//Khan M, Nascimento G M D, El-Azazy M. Modern Spectroscopic Techniques and Applications. Rijeka: Intech Open, 2020.
- [35] ZAJĄC A, HANUZA J, WANDAS M, et al. Determination of N-acetylation degree in chitosan using Raman spectroscopy[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015, 134: 114-120.
- [36] LAVERTU M, XIA Z, SERREQUI A N, et al. A validated ^1H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 32(6): 1149-1158.
- [37] HEUX L, BRUGNEROTTO J, DESBRIÈRES J, et al. Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan[J]. Biomacromolecules, 2000, 1(4): 746-751.
- [38] YU G, MORIN F G, NOBES G A R, et al. Degree of acetylation of chitin and extent of grafting PHB on chitosan determined by solid state ^{15}N NMR[J]. Macromolecules, 1999, 32(2): 518-520.

- [39] KASAAI M R. Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 79(4): 801–810.
- [40] TANG D, QIAN J, WANG N, et al. Determining the degree of acetylation of chitin/chitosan using a SSNMR ^{13}C method on the basis of cross polarization reciprocity relation[J]. *Carbohydrate Research*, 2020, 498: 108168.
- [41] GUINESI L S, CAVALHEIRO É T G. The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples[J]. *Thermochimica Acta*, 2006, 444(2): 128–133.
- [42] 纪建华. 不同方法测定壳聚糖脱乙酰度的比较[J]. 化学工程师, 2016, 30(11): 23–25, 11. [JI J H. Determination of the degree of deacetylation of chitosan by different methods[J]. *Chemical Engineer*, 2016, 30(11): 23–25, 11.]
- [43] 纪建华. 直接测定壳聚糖脱乙酰度分析方法的比较[J]. 当代化工, 2016, 45(12): 2727–2429. [JI J H. Comparison of two analytical methods for direct determination of deacetylation degree of chitosan[J]. *Contemporary Chemical Industry*, 2016, 45(12): 2727–2429.]
- [44] WU C, KAO C Y, TSENG S, et al. Determination of the degree of deacetylation of chitosan by capillary zone electrophoresis[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111: 236–244.
- [45] THEVARAJAH J J, VAN LEEUWEN M P, COTTET H, et al. Determination of the distributions of degrees of acetylation of chitosan[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 95: 40–48.
- [46] LI D, GUO L, YANG N, et al. Evaluation of the degree of chitosan deacetylation via induced-electrical properties[J]. *RSC advances*, 2017, 7(42): 26211–26219.
- [47] YANG N, JIN Y, WANG H, et al. Evaluation of conductivity and moisture content of eggs during storage by using transformer method[J]. *Journal of Food Engineering*, 2015, 155: 45–52.
- [48] 陈家斌主编. 变压器[M]. 北京: 中国电力出版社, 2003. [CHEN J B. Transformer[M]. Beijing: China Electric Power Press, 2003.]
- [49] DOS SANTOS Z M, CARONI A L P F, PEREIRA M R, et al. Determination of deacetylation degree of chitosan: A comparison between conductometric titration and CHN elemental analysis[J]. *Carbohydrate Research*, 2009, 344(18): 2591–2595.
- [50] 马海宾, 翟婵婵, 王胜坤, 等. 不同分子量壳聚糖抑菌作用的研究[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(31): 267–271. [MA H B, ZHAI C C, WANG S K, et al. The antibacterial effect of different molecular weight of chitosan on four bacteria[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(31): 267–271.]
- [51] 段久芳. 天然高分子材料[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2016. [DUAN J F. Natural polymer materials[M]. Wuhan: Huazhong University of Science & Technology Press, 2016.]
- [52] KLINKESORN U. The role of chitosan in emulsion formation and stabilization[J]. *Food Reviews International*, 2013, 29(4): 371–393.
- [53] HOSSEINNEJAD M, JAFARI S M. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 85: 467–475.
- [54] 赵维, 李建科, 胡沁沁. 不同脱乙酰度蚕蛹壳聚糖抑菌性能的比较[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 82–86. [ZHAO W, LI J K, HU Q Q. Comparative study on antimicrobial activities of different deacetylated degree chitosan from silkworm chrysalis[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2011, 37(4): 82–86.]
- [55] 贾秀春, 张伟娜, 李迎秋. 壳聚糖对冷却猪肉微生物的抑制效果[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2012, 27(1): 16–19. [JIA X C, ZHANG W N, LI Y C. Effect of chitosan on inhibitory of microorganisms in chilled pork[J]. *Journal of Zhengzhou University of Light Industry (Natural Science)*, 2012, 27(1): 16–19.]
- [56] VALE D A, VIEIRA C B, VIDAL M F, et al. Chitosan-based edible films produced from Crab-Uçá (*Ucides cordatus*) waste: Physicochemical, mechanical and antimicrobial properties[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2021, 29(3): 694–706.
- [57] MATHARU R K, CIRIC L, EDIRISINGHE M. Nanocomposites: Suitable alternatives as antimicrobial agents[J]. *Nanotechnology*, 2018, 29(28): 282001.
- [58] KUMAR S, BHATTACHARYA W, SINGH M, et al. Plant latex capped colloidal silver nanoparticles: A potent anti-biofilm and fungicidal formulation[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2017, 230: 705–713.
- [59] SALARI M, SOWTI KHIABANI M, REZAEI MOKARRAM R, et al. Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 84: 414–423.
- [60] ROMANAZZI G, FELIZIANI E, BAÑOS S B, et al. Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(3): 579–601.
- [61] 陈佳新, 陈倩, 孔保华. 壳聚糖的保鲜机制及其在肉与肉类制品保鲜中应用的研究进展[J]. 肉类研究, 2016, 30(10): 35–39. [CHEN J X, CHEN Q, KONG B H. Preservative mechanism of chitosan and its application in meat products[J]. *Meat Research*, 2016, 30(10): 35–39.]
- [62] 欧春艳, 李思东, 杨磊, 等. 不同脱乙酰度的壳聚糖对黄瓜的保鲜研究[J]. 广州化工, 2008(1): 31–33. [OU C Y, LI S D, YANG L, et al. The effect of different deacetylation of chitosan on cucumbers preservation[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2008(1): 31–33.]
- [63] 吕勇, 宋词, 龙柱, 等. 不同脱乙酰度壳聚糖制备及涂布纸包装性能研究[J]. 包装工程, 2013, 34(11): 1–4. [LV Y, SONG C, LONG Z, et al. Preparation of chitosan with different degree of deacetylation value and packaging performance of its coated paper[J]. *Packaging Engineering*, 2013, 34(11): 1–4.]
- [64] SIRIPATRAWAN U, HARTE B R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract[J]. *Food Hydrocolloids*, 2010, 24(8): 770–775.
- [65] WANG L, DONG Y, MEN H, et al. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 32(1): 35–41.
- [66] 陶永元, 舒康云, 张春梅, 等. 茶多酚与壳聚糖复配溶液对樱桃的保鲜效果研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(8): 115–119. [TAO Y Y, SHU K Y, ZHANG C M, et al. Using the tea po-

- lyphenol and chitosan to preserve cherry and the study on their preservation effect[J]. *Food Research and Development*, 2014, 35(8): 115–119.]
- [67] 刘开华, 张宇航, 邢淑婕. 含茶多酚的壳聚糖涂膜对圣女果保鲜效果的影响[J]. *食品研究与开发*, 2014, 35(2): 109–112. [LIU K H, ZHANG Y H, XING S J. Study on the effect of tea polyphenol-incorporated chitosan antibacterial films on fresh preservation of cherry tomatoes[J]. *Food Research and Development*, 2014, 35(2): 109–112.]
- [68] SABAGHI M, MAGHSOUDLOU Y, KHOMEIRI M, et al. Active edible coating from chitosan incorporating green tea extract as an antioxidant and antifungal on fresh walnut kernel[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2015, 110: 224–228.]
- [69] 刁春英, 高秀瑞. 茶多酚与壳聚糖复配溶液对香椿芽保鲜效果的研究[J]. *广西植物*, 2016, 36(4): 492–496. [DIAO C Y, GAO X R. Fresh-keeping of *Toona sinensis* sprouts with tea polyphenol combined with chitosan solution[J]. *Guihaia*, 2016, 36(4): 492–496.]
- [70] 刘军, 龚丽, 姜艳, 等. 壳聚糖茶多酚复合涂膜对菜心低温贮藏保鲜影响的研究[J]. *现代农业装备*, 2017(2): 21–25. [LIU J, GONG L, JIANG Y, et al. Effect of chitosan-polyphenols composite coating on preservation storage of chinese cabbage under low temperature[J]. *Modern Agricultural Equipment*, 2017(2): 21–25.]
- [71] 倪佳丹, 潘诗哲, 但凡, 等. 茶多酚-壳聚糖复合液对鲢鱼在贮藏中品质指标变化的影响[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2018, 44(5): 594–600. [NI J D, PAN S Z, DAN F, et al. Effects of tea polyphenols-chitosan complex solution on changes of quality indicators under storage in *Mitichthys miiuy*[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2018, 44(5): 594–600.]
- [72] 徐楚, 王锡昌, 马壮, 等. 茶多酚、壳聚糖、溶菌酶复合保鲜剂对高白鲑鱼片保鲜效果的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(8): 261–266. [XU C, WANG X C, MA Z, et al. Effects of tea polyphenols, chitosan and lysozyme compound preservative for the preservation of *Coregonus peled* fillets[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(8): 261–266.]
- [73] HE L, ZOU L, YANG Q, et al. Antimicrobial Activities of nisin, tea polyphenols, and chitosan and their combinations in chilled mutton[J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(6): M1466–M1471.]
- [74] 侯晓卫, 唐善虎, 李思宁, 等. 复合保鲜涂膜液对冷鲜牦牛肉保鲜及抗氧化效果的影响[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(7): 269–274. [HOU X W, TANG S H, LI S N, et al. Effect of combined preservative coating solutions on yak meat quality and antioxidant activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(7): 269–274.]
- [75] CAI D, ZENG C, QUAN D, et al. Biodegradable chitosan scaffolds containing microspheres as carriers for controlled transforming growth factor- β 1 delivery for cartilage tissue engineering[J]. *Chinese Medical Journal*, 2007, 120(3): 197–293.]
- [76] KIM S, NISHIMOTO S K, BUMGARDNER J D, et al. A chitosan/ β -glycerophosphate thermo-sensitive gel for the delivery of ellagic acid for the treatment of brain cancer[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(14): 4157–4166.]
- [77] 熊敏剑, 李晓峰, 闵燕, 等. 不同脱乙酰度壳聚糖支架制备及降解性能评价[J]. *生物医学工程学杂志*, 2012, 29(1): 107–111. [XIONG M J, LI X F, MIN Y, et al. Preparation of chitosan scaffold with different deacetylated degrees and evaluation of the degradation characteristics[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 2012, 29(1): 107–111.]
- [78] SUKUL M, SAHARIAH P, LAUZON H L, et al. *In vitro* biological response of human osteoblasts in 3D chitosan sponges with controlled degree of deacetylation and molecular weight[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 254: 117434.]
- [79] 程建华, 胡勇有, 李泗清. 不同脱乙酰度壳聚糖接枝丙烯酸胺 DMC 絮凝剂的合成与表征[J]. *高分子材料科学与工程*, 2005(6): 266–269. [CHENG J H, HU Y Y, LI S Q. Synthesis and characterization of graft acrylamide and DMC onto different D. D. value of chitosan[J]. *Polymeric Materials Science & Engineering*, 2005(6): 266–269.]
- [80] LALY S J, PRIYA E R, BINSI P K, et al. Cadmium and lead removal efficiency of chitosan with different degree of deacetylation in flake and bead form[J]. *Journal of Polymer Materials*, 2017, 34(1): 275–286.]
- [81] LIU T G, WANG Y T, LI B, et al. Urea free synthesis of chitin-based acrylate superabsorbent polymers under homogeneous conditions: Effects of the degree of deacetylation and the molecular weight[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 174: 464–473.]