

化腐朽為神奇—源自蝦蟹殼之幾丁質類物質的功能與應用

蔡國珍

國立臺灣海洋大學食品科學系教授

一、前言

幾丁質俗稱甲殼素，為自然界含量僅次於纖維素之物質，分佈甚廣，昆蟲與蝦蟹殼、魷魚鮑及真菌(黴菌及各種菇類)細胞壁中均含有幾丁質。幾丁質之分子量約為100~200萬，視其來源及製造條件而定。若將幾丁質分子上之乙醯基部分或全部去除，即得到幾丁聚醣(又稱殼聚醣)，幾丁聚醣之溶解性比幾丁質好，可溶於稀鹽酸及醋酸，而且因含有胺基，在酸性條件下帶正電荷，使其具有降血脂及抗菌等活性。由於幾丁質與幾丁聚醣均不溶於水，人們乃利用化學方法或酵素方法分解大分子，得到水溶性且有活性的寡醣。本篇報告主要介紹此等幾丁質類物質(幾丁質、幾丁聚醣與幾丁寡醣)在降血脂、增強免疫活性、抗腫瘤及抗菌等方面之功能，其次介紹其應用情形。

二、幾丁質與幾丁聚醣對脂肪代謝之影響

(1)對動物體重及脂質消化率之影響

基本上，幾丁質不影響動物對脂肪的代謝，因此，不影響動物體重。幾丁聚醣對動物體重之影響，與幾丁聚醣去乙醯度、幾丁聚醣攝取量、動物油脂攝取量有關。由大白鼠之試驗顯示當飼料中幾丁聚醣添加量低於5%時，並不影響大白鼠體重(1)。飼料中添加5%幾丁聚醣，對攝食正常油脂含量(5%)飼料之大白鼠之體重仍無影響(2)，但可降低高油脂(20%)飼料老鼠之體重(3)。另外由雞所得的數據顯示去乙醯度75%、82%及94%之幾丁聚醣均可降低雞的體重，同時造成雞對油脂消化率下降26%(4)。幾丁聚醣所以造成對油脂消化率下降，乃由於幾丁聚醣經口攝入進入胃之酸性環境，造成其溶解，其所帶正電荷可與陰電性之油脂混合產生複合物，此複合物進入小腸鹼性環境後，形成不溶之膠體，油脂被包覆其中，阻礙酵素對脂肪的作用(5)。另外，幾丁聚醣可與膽汁酸結合，減少油脂的乳化作用，亦可降低脂質消化率(6)。

(2)對血膽固醇的影響

數篇以高膽固醇飼料餵食動物之研究報告顯示，幾丁聚醣可降低血漿總膽固醇濃度，但高密度-膽固醇含量不受影響(4)或者增高(7,8)。Sugano 等人(9)以去乙醯度79~81%之不同分子量幾丁聚醣(黏度17~1620 cps)及幾丁寡醣餵食大白鼠(飼料含0.5%膽固醇)，結果四種不同分子量之幾丁聚醣均可降低血膽固醇含量，而含有3~4個聚合度之幾丁寡醣則無此功能。

Ormrod 等人(10)以容易產生動脈硬化之小鼠餵食幾丁聚醣20週後，血膽固醇量為控制組之64%，可抑制動脈粥瘤產生(atherogenesis)，顯示幾丁聚醣可應用於高血膽固醇患者，預防動脈硬化產生。Lehoux and Grondin(2)發現餵食高膽固醇飼料大白鼠其肝膽固醇含量明顯比正常飼料者高，但若在高膽固醇飼料中添加幾丁醣，可降低大白鼠肝膽固醇含量，且以分子量較小之幾丁聚醣(70 kD vs. 750 kD)效果較好。但其膽固醇合成酵素3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG CoA) reductase活性與僅含高膽固醇飼料控制組無明顯差異。若在正常飼料中添加幾丁聚醣餵食，不影響肝臟中膽固醇含量，但肝臟中HMG-CoA reductase活性稍增。此顯示在正常飼料中，幾丁聚醣可減少外源性膽固醇的吸收，使體內自行合成足夠量膽固醇；但在高膽固醇飲食下，幾丁聚醣可有效降低外源性膽固醇的吸收。

(3)對維生素的影響

數篇研究顯示幾丁聚醣會降低動物對礦物質得吸收(11,12)。大白鼠餵食含5%幾丁聚醣之飼料2週，顯示其對鈣、鎂、鐵的吸收下降，但若飼料中補充維生素C，則可彌補之。此外，幾丁聚醣亦影響動物對維生素A與E的攝取，即使提高飼料中維生素C、A、E的含量，仍無法彌補之(12)。

三、幾丁質與幾丁聚醣之免疫及抗腫瘤活性

幾丁質與幾丁聚醣可提昇動物之免疫活性，進而增強對病菌之抵抗力，以及預防腫瘤產生。注射去乙醯度30%及70%(DD30, DD70)之幾丁質/幾丁聚醣於小白鼠體內，顯示其可活化小白鼠體內巨噬細胞，抑制Meth-A腫瘤細胞，以及增強小白鼠抗大腸桿菌之感染(13)。此外，DD30和

DD70亦可促進小鼠抗體產生，以及分泌間白素-1(Interleukin-1)(14)。Tanigawa等人以含幾丁質之培養基培養人體單核球細胞，發現幾丁質可刺激單核細胞分泌間白素-1 β (IL-1 β)，且其效果與LPS相似(15)。Minami等人將DD9及DD82幾丁質/幾丁聚醣以皮下注射於狗、小白鼠及大白鼠體內，顯示幾丁質及幾丁聚醣可活化補體系統，促使C3及C5補體蛋白增加，其效果與zymosan相近。另外，DD9 幾丁質及DD85幾丁聚醣可誘發大白鼠纖維芽體 (fibroblast) 分泌間白素-8 (IL-8)，其效果與腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 相近，甚至優於TNF- α (16)。由於IL-8之分泌可趨使PMN往傷口或其他內皮細胞移動，因此，幾丁質及幾丁聚醣有利傷口之癒合。

Mori 等人也證實幾丁質與幾丁聚醣可促使大白鼠纖維芽體分泌IL-8，因此，促進嗜中性白血球移動及血管生成(17)。Jabbal-Gill 等人將幾丁聚醣與百日咳之血球凝集素(FHA)或毒素(rPT)以鼻腔注射或腹腔注射方式於小白鼠，顯示注射幾丁聚醣可使血清內抗FHA或抗rPT抗體含量增加5倍，且黏膜分泌抗FHA-IgA含量增加15倍(18)。

另外，Peluso 等人發現幾丁聚醣與N-乙醯葡萄糖胺 (NAGA) 均可促使巨噬細胞分泌nitric oxide (NO)，因此其等認為幾丁聚醣具有此等活性主要由於其內含乙醯基之單體所致(19)。此等NO之產生，一方面可增強巨噬細胞毒殺菌體或腫瘤細胞之能力，故可增加抵抗病菌及防癌之能力，但另一方面，也可能導致發炎反應。Shibata 等人注射不同粒徑大小之幾丁質及幾丁聚醣於小白鼠內，顯示小粒徑 (1-10 μm) 之幾丁質可明顯刺激殺手T細胞分泌 γ -干擾素來提昇巨噬細胞活性，其增加效應達50倍之多，大粒徑 (50-100 μm) 幾丁質及幾丁聚醣則不具有此活性。此外，幾丁質亦可刺激巨噬細胞分泌超過氧離子 (O_2^-) (20)。

整體而言，雖然幾丁質與幾丁聚醣之免疫活性機制目前仍不明瞭，但由學者們研究顯示其可增進非專一性的免疫反應，包括促進巨噬細胞增生及分泌活性氧或氮化合物，增加殺滅病菌及腫瘤細胞能力。幾丁質與幾丁聚醣亦可增進專一性免疫反應，增進抗體的生成及T細胞活性。

四、幾丁質與幾丁聚醣之抗菌活性

(1)幾丁質、幾丁聚醣與植物間之作用

早期學者由植物病蟲害的研究中發現幾丁質可誘發植物對病原菌的抵抗系統。由豌豆 (pea) 及其病原菌 *Fusarium solani* 之研究，發現一旦植物受其病原菌之感染，存在植物體內之幾丁聚醣酶、 β -聚葡萄糖酶會分解真菌細胞壁而釋放出幾丁聚醣，其可激發豌豆 phytoalexin 之合成或小麥葉片木質化之產生 (21,22)，而 phytoalexin 及 lignin 可抑制真菌之生長 (22) 及刺激植物產生更多的 β -聚葡萄糖及幾丁聚醣酶以分解真菌細胞壁 (23)。將成長中的黃瓜樹噴灑 100 及 400 ppm 幾丁聚醣，可使植物根部形成障蔽，防止病菌入侵，且可刺激根部及葉內抗真菌之水解酶 (chitinase, chitosanase, β -1, 3-glucanase) 活性，可減少植物因 *Pythium aphanidermatum* 造成植物根部腐敗的情形。同時，以電顯觀察顯示幾丁聚醣造成真菌菌絲細胞壁鬆弛、崩解及細胞質破壞等現象 (24)。Kendra 等人研究顯示來自蝦殼及真菌細胞壁之幾丁聚醣均可誘發豌豆分泌豌豆素 (pisatin)，其量與豌豆受其病原菌 *Fusarium solani* 分生孢子刺激所產生 pisatin 之量相近。10~100 ppm 幾丁聚醣即可保護豌豆免於受 *F. solani* 感染 (25)。Benhamou and Theriault 將蕃茄種子萌發長出三片葉片後，將整株植物連根拔起，清洗掉泥土，浸在幾丁聚醣溶液 5~10 分鐘後，取出，風乾後再種回土中，控制組同樣操作，但浸泡於蒸餾水中，結果顯示經幾丁聚醣處理者根部受病菌 *Fusarium oxysporum* 感染而腐爛的數目明顯降低 (26)。

除真菌外，幾丁聚醣可保護植物免於受病毒及細菌感染。來自蝦、蟹、烏賊軟骨之幾丁聚醣，去乙醯度在 60% 以上者，在 0.1% 用量下，均可有效抑制苜蓿花粉病毒 (alfalfa mosaic virus) 的感染 (27)。煙草葉片若經幾丁聚醣處理，可免於其對病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 之感染，但若使用幾丁聚醣衍生物 carboxymethyl chitosan (CM-chitosan) 及 sulfated chitosan (S-chitosan) 則無此功效。此外，幾丁聚醣可增加種子發芽率，小麥種子經幾丁聚醣處理，發芽率可提高約 20%。

目前有關幾丁聚醣保護植物免於受真菌、細菌及病毒危害之機制仍未明，推測可能由於幾丁聚醣激發植物防禦系統誘使產生

chitinase、 β -glucanase、pisatin、phytoalexin及phenolic compounds等防禦物質。平常植物此等酵素及防禦物質含量很少，當植物碰到其病原菌時，會誘發相對基因生產相對物質，增加對病菌抵抗力。若人為以幾丁聚醣處理植物，亦可產生相似結果；而且，幾丁聚醣本身對多種真菌及細菌有抗菌活性，免於植物受之感染。

(2) 幾丁質與幾丁聚醣的抗菌活性

Hirano and Nagno將不同分子量幾丁聚醣（高分子量、低分子量）及幾丁寡醣（DP 2~8）加入Potato dextrose agar（PDA）中，量測真菌在上生長菌落直徑，結果顯示隨真菌種類不同，各幾丁聚醣抗菌活性不同，且以低分子量幾丁聚醣抗菌活性最好(28)。Fang 等人在培養液中添加0.1~5.0 mg/ml 幾丁聚醣或K-sorbate，探討其對*Aspergillus niger*生長影響，結果顯示幾丁聚醣抗菌效果與K-sorbate相近，在低濃度（1 mg/ml）時甚至優於K-sorbate，有23.2%抑制率，後者僅1.3%，在3 mg/ml濃度時，幾丁聚醣對黃麴毒素生產菌*Asp. parasiticus*之生長可達62.5%抑制，且可抑制其產生黃麴毒素(29)。

Seo 等人以液體培養液探討去乙醯度80%，分子量300 kD之幾丁聚醣對真菌之抗菌活性，結果顯示對*Botrytis cinerea*、*Drechslera sorokiniana*及*Micronectriella nivalis*之活性最強（最低抑菌濃度MIC為10 ppm），對*F. oxysporum*之作用次之（MIC為100 ppm），對*Procularia oryzae*最弱（MIC為5000 ppm）(30)。但Leuba and Stossel探討分子量同樣為300 kD之幾丁聚醣對*F. oxysporum*之抗菌能力，發現即使濃度達5000 ppm仍無法抑制菌體生長(31)。Tsai 等人顯示去乙醯度95%之蝦殼幾丁聚醣在200 ppm可完全抑制*F. oxysporum*生長，但2000 ppm仍無法有效抑制*Asp. fumigatus*及*Asp. parasiticus*之生長(32)。

除真菌外，幾丁聚醣對細菌也有很好的抗菌活性，而且，除了少數真菌外，一般而言，幾丁聚醣對細菌的活性大於真菌。Seo等人顯示去乙醯度80%，分子量300 kD之幾丁聚醣對*Corynebacterium michiganence*、*Escherichia coli*、*Micrococcus luteus*和*Staphylococcus aureus*之抑菌能力很強（MIC 10~20 ppm），但對*Bacillus cereus*、*Erwinia sp.*、*Klebsiella pneumoniae*抑菌能力較弱（MIC 500~1000

ppm)(30)。Wang(33)比較pH 5.5及6.5溶液中幾丁聚醣抗菌活性，以pH 5.5較好，在0.5%濃度下除了對*Salmonella typhimurium*無活性外，對*S. aureus*、*E. coli*、*Yersinia enterocolitica*均有抗菌活性。Tsai等人(32)比較化學處理及微生物處理而得蝦殼幾丁聚醣對常見食品病原菌及腐敗菌之抗菌活性，結果顯示二種不同處理而得之幾丁聚醣抗菌活性相似，均隨去乙醯度增加而增大，其對菌體抗菌活性大小與菌體為G(+)或G(-)無關。以高去乙醯度幾丁聚醣(去乙醯度95%及98%)而言，其對G(-)之*E. coli*、*Vibrio cholerae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Shigella dysenteriae*及G(+)之*S. aureus*、*Listeria monocytogenes*及*B. cereus*之最低致死濃度(MLC)為50~200 ppm，但*Aeromonas hydrophila*之MLC為500~1000 ppm，*S. typhimurium*為1500 ppm。

(3)影響幾丁聚醣抗菌活性之因子及其機制

影響幾丁聚醣抗菌活性因子，可分三大類：(a)幾丁聚醣本身特性；(b)微生物因子；(c)作用環境影響因子。

(a)幾丁聚醣本身特性

幾丁聚醣分子量、乙醯基含量及其分佈、幾丁聚醣分子空間構形都可能影響其抗菌活性。一般以鹼處理將幾丁質進行去乙醯作用時，常伴隨分子降解，因此，分子量百萬以上，去乙醯度低於30%之幾丁質，以高溫強鹼處理製備去乙醯度90%以上之幾丁聚醣，所得分子量僅餘數十萬，因此，利用此法探討不同去乙醯度幾丁聚醣之抗菌活性時，去乙醯度及分子量二者因子都包含在內。Tsai等人將蝦殼幾丁質以強鹼高溫處理，得到去乙醯度47~53%，74~76%，及95~98%之幾丁聚醣，其對常見病原細菌均有活性，但若將幾丁質以適當蛋白酶處理，使之僅進行去乙醯作用，而無分子降解現象，所得產品之去醯度雖然達69%，但其分子量與幾丁質相近，分子溶解特性也與幾丁質相似，在低鹽酸中不溶，且無抗菌活性，由此顯示除了去乙醯度外，分子量大小亦影響抗菌活性(32)。

蔡與李(2000)將去乙醯度70%及95%之幾丁聚醣分別將其先溶於0.1N HCl，再添加至測試菌體培養液中，或者以粉末狀直接添加於測試菌體培養液中，雖然添加後培養液pH均控制在6.0，結果

顯示後者添加方式幾乎無抗菌活性。由於幾丁聚醣溶解於酸時可能進行分子構形展開，即使後來添加至菌體培養液後pH調回6.0時，分子溶解度降低而有部份沈澱產生，但其仍有良好抗菌活性。反之，若以粉末狀態直接加至測試液中，由於分子構形未展開，仍以緊密結構存在，完全無抗菌活性(34)。因此，幾丁聚醣分子空間構形展開與否，為影響其抗菌活性之重要因子。另外，相同去乙醯度之幾丁聚醣，若其乙醯基分佈呈區域狀分佈者對細菌的抗菌活性明顯大於乙醯基為任意不規狀分佈者(35)。

(b) 微生物因子

一般而言，幾丁聚醣對細菌的抗菌活性大於真菌。Tsai 等人比較不同去乙醯度幾丁聚醣對常見病原細菌、酵母菌及黴菌之抗菌活性，DD 95-98者，對常見病原細菌之MLC值為50~200 ppm（但*S. typhimurium*為1500 ppm，*A. hychrophila*為500~1000 ppm），對人體致病性酵母菌*Candida albicans*為200 ppm，植物病原黴菌*Fusarium oxysporum*為500 ppm，但對*Aspergillus*及*Penicillium spp.*在2000 ppm時幾乎無抗菌活性(32)。其對細菌之抗菌活性大小，與細菌屬於G(+)或G(-)區分無關。幾丁聚醣對同菌種之不同菌株之抗菌活性不同，以及同菌株不同菌齡之活性不同。Tsai and Su探討幾丁聚醣對不同菌齡*E. coli*之抗菌活性，發現指數生長中期（11 h）之菌體對幾丁聚醣最敏感，其次為靜止期（25 h），再其次為指數生長期進入靜止期（14 h）之菌體，而此現象與不同時期菌體表面負電荷量成正相關性(36)。因此，幾丁聚醣對細菌之抗菌活性，似乎與菌體表面負電荷量有關。

(c) 環境影響因子

Tsai and Su（36）以*E. coli*為測試菌株，探討溫度，pH值及鹽含量對幾丁聚醣抗菌活性之影響。在4℃、15℃、25℃及37℃四種測試溫度中，隨著溫度升高，幾丁聚醣抗菌活性增大。低溫降低幾丁聚醣活性除了因化學反應速率降低之因素外，低溫可能還減少了菌體表面可與幾丁聚醣結合的位置。

至於pH之影響，乃影響幾丁聚醣質子化（protonation）之程

度，pH降低，有利於質子化，因而抗菌活性增加。溶液中 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 離子降低幾丁聚醣抗菌活性，其降低效果依序為 $\text{Ba}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} \cong \text{Na}^+$ 。

(d) 幾丁聚醣抗菌機制

早期由幾丁聚醣對植物病原真菌之研究，顯示幾丁聚醣可導致真菌細胞內容物之流出。Tsai and Su發現幾丁聚醣可導致*E. coli*細胞內葡萄糖（小分子）及乳酸脫氫（大分子）之流出，但最終菌體並無裂解現象，其進一步推測幾丁聚醣對細菌之作用機制，首先乃藉著構形展開之幾丁聚醣上帶正電之 $-\text{NH}_3^+$ ，與菌體表面負電荷部位結合，接著長鏈多醣體造成菌體表面穿孔，細胞內容物流出而死亡(36)。

五、幾丁寡醣之生理活性

由於幾丁聚醣不溶於水，人們設法製備水溶性且具生理活性之幾丁寡醣。Kendra and Hadwiger最早提出可刺激植物產生phytoalexin及抗病原真菌之幾丁寡醣分子聚合度（Degree of polymer, DP）為6或大於6，若 $\text{DP} \leq 3$ 者不具活性(37)。

由於純幾丁六醣價格非常昂貴，因此學者們以不同方法生產具抗菌活性的幾丁寡醣混合液。Hadwiger等人將蝦殼幾丁聚醣以亞硝酸作用1小時，所得水解液對豌豆病原菌*F. solani*有良好抑菌效果(38)。Kendra和Hadwiger則以6N HCl水解幾丁聚醣（53℃），以作用10小時而得之水解液最具抗菌活性(37)。此外，磷酸（39）、氟化氫（40）均有人用以製備幾丁寡醣。然而酸水解除了酸腐蝕問題外，所得產物因中和反應含高量鹽，需進行脫鹽操作，且反應條件控制不易，再現性差，此等均為以酸水解製備具活性之幾丁寡醣之缺點。因此，近年來部份學者以酵素法製備幾丁寡醣。分別來自於*Bacillus sp.*、*Aeromonas hydrophila*及*Streptomyces griseus*等菌株之幾丁質酶（chitinase）及幾丁聚醣酶（chitosanase）可用於製備幾丁寡醣（41-43），然而所得寡醣一般主要以聚合度1~3者為主。Tsai等人以纖維素酶水解幾丁聚醣，所得幾丁寡醣之DP為1~8，其中 $\text{DP} \geq 6$ 之重量比為44.3%。此寡醣混合液具很強抗菌活性，對常見病原菌如*Aeromonas hydrophila*、*E. coli*、*Listeria monocytogenes*、*Pseudomonas aeruginosa*、

Salmonella typhimurium、*Shigella dysenteriae*、*Staphylococcus aureus*、*Vibrio cholerae*及*V. parahaemolyticus*之MLC為5~29 ppm。添加0.24%於生乳中，即可有效抑制生乳中腐敗菌及病原菌生長，延長其保存期限(44)。詹(45)首先發現具抗菌活性之幾丁聚醣水解液中含有小分子聚醣(LMWC)，其將水解液中LMWC及幾丁寡醣區分開來，顯示水解液之抗菌活性主要來自LMWC，幾丁寡醣(1~8醣)幾乎不具抗菌活性。以大白鼠餵食試驗顯示幾丁寡醣如同果寡醣般，可明顯增加腸內益生菌雙叉桿菌與乳桿菌之含量，降低害菌產氣莢膜梭菌含量，顯示其具改善腸內菌相功能。

除了抗菌活性外，幾丁寡醣或N-乙醯幾丁寡醣可增強免疫活性。Suzuki等人將N-乙醯幾丁六醣、幾丁六醣及其它幾丁寡醣以皮下注射方式注入老鼠體內，顯示其可增加老鼠腹膜滲出細胞數，其中尤以N-乙醯幾丁六醣與N-乙醯幾丁七醣之效果最好(46)。其另外顯示N-乙醯幾丁六醣對老鼠白血球具引誘劑(attractant)作用，作者推測可能N-乙醯幾丁六醣先與受體鍵結，活化磷脂酶A₂(phospholipase A₂)，引起磷脂質降解，釋出白三烯素B₄(leucotriene B₄)等介質，提高多形核白血球的趨化性，並刺激其活性氧的分泌(47)。

N-乙醯幾丁六醣因具免疫增強活性，可提高動物對病菌的抵抗力。Tokoro等人證實注射N-乙醯幾丁六醣能加強小白鼠對細菌*Listeria monocytogenes*的抵抗力(48)。由於癌症病患進行治療時易受機緣性真菌(opportunistic fungi)感染，最常見者有麴菌屬(*Aspergillus*)、念珠菌(*Candida*)和毛黴菌屬(*Mucor*)等。Kobayashi等人發現N-乙醯幾丁六醣對腫瘤埋植的老鼠具抗*Candida albicans*感染的能力(49)。

另外，N-乙醯幾丁六醣及幾丁六醣因可增強動物免疫活性，進而抑制腫瘤產生。Suzuki等人顯示N-乙醯幾丁六醣與幾丁六醣可抑制老鼠體內Sacroma 180 solid tumor產生，其中前者活性高於後者(50)。Tokoro等人以N-乙醯幾丁六醣做為免疫刺激劑，抑制老鼠體內腫瘤。其發現當N-乙醯幾丁六醣劑量在0.1~1 mg/ml時，可提高巨噬細胞產生間白素-1(interleukin-1, IL-1)，以促使脾臟細胞產生間白素-2(IL-2)，提高細胞對IL-2之反應。另外，其更發現N-乙醯幾丁六醣能誘發毒殺性T細胞(cytolytic Tcells)之分化，而有更好的細胞毒殺效果。因而具抗癌效果(51)。

目前有關幾丁寡醣或*N*-乙醯幾丁寡醣之免疫及抗腫瘤活性，大多以純幾丁六醣及*N*-乙醯幾丁六醣進行測試，然而此等純六醣價格非常昂貴，限制其應用層面。林(52)利用酵素法生產具免疫增強活性之幾丁寡醣混合物及*N*-乙醯幾丁寡醣混合物，比較乙醯化程度對其活性影響，顯示免疫活性隨乙醯度增加而增加，其所得之完全乙醯化之幾丁寡醣注射入小白鼠體內，可增加小白鼠血清中免疫球蛋白IgM與IgG含量，以及刺激小白鼠淋巴細胞增生，其效果與標準品*N*-乙醯幾丁六醣無明顯差異。

六、其他功能

幾丁聚醣除了上述生理活性外，由於其在酸性環境下帶正電荷，可用以吸附帶負電荷之物質，可當澄清劑使用。此外，其可螯合重金屬；又由於帶氫氧基，可與水產生氫鍵因而具保濕效果。此外，幾丁質與幾丁聚醣具成膜性。

七、幾丁質類物質之應用

1. 食品方面之應用

幾丁質類物質由於具降血脂、免疫增強、抗腫瘤等生理活性，具備保健食品之潛力。此外，幾丁聚醣因具抗菌活性，可用於蔬果、水產品、乳製品保鮮，以延長期儲存期限(32,44,53)。其可吸引果汁中果膠等物質，可當作果汁澄清劑(54)。幾丁質經熱解後可產生芳香物pyrazine，可作為香味增強劑(55)；又由於幾丁質與幾丁聚醣可食且具成膜性，可當做食用膜使用。

2. 醫藥方面之應用

由於幾丁質類物質無毒且具生物相容性，除了上述人體保健應用外，在口腔醫學上，幾丁質做為齲齒充填物有助於牙齦回復，可治療牙周病(56)。由幾丁質與幾丁聚醣製成的醫用敷材，具促進傷口癒合且不留疤痕之優點，在日本市場已佔有一席之地。此外，由幾丁質製成人體可吸收的手術縫線，以及人工皮膚、人工黏膜、人工鼓膜、人工肌腱等應用，均廣被探討。近年來，許多學者探討利用幾丁聚醣包覆敏感性藥物，以延長藥物作用時效或更改藥物成為口服性等。

3. 農業方面之應用

由於幾丁聚醣可誘發植物對病原菌之抵抗能力，同時其本身又

具抗菌活性，因此幾丁聚醣在農業上具應用潛力。將適當濃度幾丁聚醣直接施灑於農田，可增加葡萄、柚子等水果，以及葉菜、花卉類植物對抗其病菌之能力，提高水果產量，且促進水果早熟。作物種子若先經幾丁聚醣浸泡處理，可提高其發芽率。水果如香蕉、芒果、楊桃等經過幾丁聚醣及水果熟成抑制劑共同處理，可有效延緩其老化及表面黑斑的產生，延長其儲存期限。

4. 化工方面應用

幾丁聚醣因具抗菌與保濕功能，可應用在化妝品、洗髮劑、洗潔劑、紡織品、染料等方面。另外，幾丁聚醣與多種化工材料之交聯反應，以增加原始化工材料之生物相容性、抗菌性等之研究，目前正熱烈進行中。

5. 環保方面之應用

幾丁聚醣可螯合重金屬，可用於廢水處理及養殖池水質之淨化。同時，其可吸附油脂與放射性物質，可應用在海面油污處理與廢核料處理。此外，幾丁質/幾丁聚醣顆粒具多孔性，可吸附空氣中硫化物等，可淨化空氣。

6. 在生物技術方面之應用

幾丁聚醣可供做酵素與菌體固定化之擔體；可當做管柱層析用材質，以分離純化蛋白質。其亦可供做薄膜層析(TLC)之基材。

八、結論

幾丁質類物質基本上具備無毒、生物相容且生物可分解之特性，其具有多重生理活性與功能，可說是目前單一種類物質應用層面最廣泛之物質，它吸引著生物、醫學、化工、工程等多種不同專長領域的人進行研究。估計全世界每年包括蝦、蟹、烏賊、真菌、昆蟲等含幾丁質之廢棄物之總乾重量為164萬公噸，從中分離幾丁質含量為15萬公噸(57)。由1995年統計數值得知台灣每年蝦蟹廢棄物約10,900公噸，由中可分離出幾丁質之產量約1200公噸(58)。原本此等蝦蟹殼若任意棄置，將造成環境污染與產生惡臭，今利用適當技術從中分離出各種幾丁質類產品，立刻成為高價值之「明日之星」，確實達到化腐朽為神奇之境地。

參考文獻

1. Landes, D. R. and Bough, W. A. 1976. Bulletin of environmental contamination and toxicology. 15: 555-563.
2. Lehoux, J. G. and Grondin, F. 1993. Some effects of chitosan on liver function in the rat. Endocrinology 132:1078-1084.
3. Deuchi, K., Kanauchi, O., Imasatu, Y. and Dobayshi, E. 1994. Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility, by rats feed on a high-fat diet. Biosci. Biotech. Biochem. 58:1613-1616.
4. Razdam, A. and Pettersson, D. 1994. Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. British J. Nutri. 72:277-288.
5. Kanauchi, O., Deuchi, K., Imasato, Y., Shizukuishi, M. and Kobayashi, E. 1995. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. Biosci. Biotech. Biochem. 59:786-790.
6. Vahouny, G. V., Satchithanandam, S., Cassidy, M. M., Lightfoot, F. B. and Furda, I. 1983. Comparative effect of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in rats. Am. J. Clin. Nutr. 38: 278-284.
7. Jennings, C.D., Boleyn, K., Bridges, S.R., Wood, P.J. and Anderson, J. W.A. 1988. Comparison of the lipid lowering and intestine morphological effect of cholestyramine, chitosan, and oat gum in rats. Soc. Exp. Bio. Med. 189:13-20.
8. Chang, M. T., Yao, H. T. and Chen, H. C. 2000. Effect of dietary chitosans with different viscosity on plasma lipids and lipid peroxidation in rats fed on a diet enriched with cholesterol. Biosci. Biotechnol. Biochem. 64:965-971.
9. Sugano, M., Watanabe, S., Kishi, A., Izume, M. and Ohtakara, A. 1988. Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats. Lipids 23:187-191.
10. Ormrod, D., Holmes, C. C. and Miller, T. E. 1998. Dietary chitosan inhibits hypercholesterolaemia and atherogenesis in the apolipoprotein E-

- deficient mouse model of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 138:329-334.
11. Gordon, D. T. and Williford, C. B. 1983. pp.155-185 in “Unconventional Sources of Dietary Fiber” . American Chemical Society.
12. Deuchi, K., Kanauchi, O., Shizukushi, M. and Kobayashi, E. 1995. Continuous and massive intake of chitosan affects mineral and fat-soluble vitamin status in rats fed on a high-fat diet. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59:1211-1216.
13. Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Saiki, I., Tokura, S. and Azuma, I. 1984. Immunological activity of chitin and its derivatives. *Vaccine* 2:93.
14. Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Tokura, S. and Azuma, I. 1986. Immunological activity of chitin derivatives. pp. 477-486. In *Chitin in Nature and Technology*. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. and Gooday, G. W. (eds), Plenum Press, N. Y.
15. Tanigawa, T., Tanaka, Y., Tomita, K., Sasaki, T., Sashiwa, H., Saimoto, H., Shigemasa, Y., Okamoto, Y., Minami, S. and Matsushashi, A. 1992. Effect of chitin on the production of interleukin-1 β in human blood monocytes. *Yonago Acta Med.* 35, 147-150.
16. Minami, S., Okamoto, Y., Mori, T., Fujinaga, T. and Shigemasa, Y. 1997. Mechanism of wound healing acceleration by chitin and chitosan In. *Advances in Chitin Science*. pp. 663-639, Domard, A., Roberts, G. A. F. and Varum, K. M. (eds). Jacques Andre Publisher, Lyon.
17. Mori, T., Okumura, M., Matsura, M., Ueno, K., Tokura, S., Okamoto, Y., Minami, S. and Fujinaga, T. (1997). Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro. *Biomaterials* 18, 947-951.
18. Jabbal-Gill, I., Neil Fisher, A., Rappuoli, R., Davis, S. S. and Illum, L. 1998. Stimulation of mucosal and systemic antibody responses against *Bordetella pertussis* filamentous haemagglutinin and recombinant pertussis toxin after nasal administration with chitosan in mice. *Vaccine* 16:2039-2046.
19. Peluso, G., Petillo, O., Ranieri, M., Santin, M., Ambrosio, L., Calabro, D.,

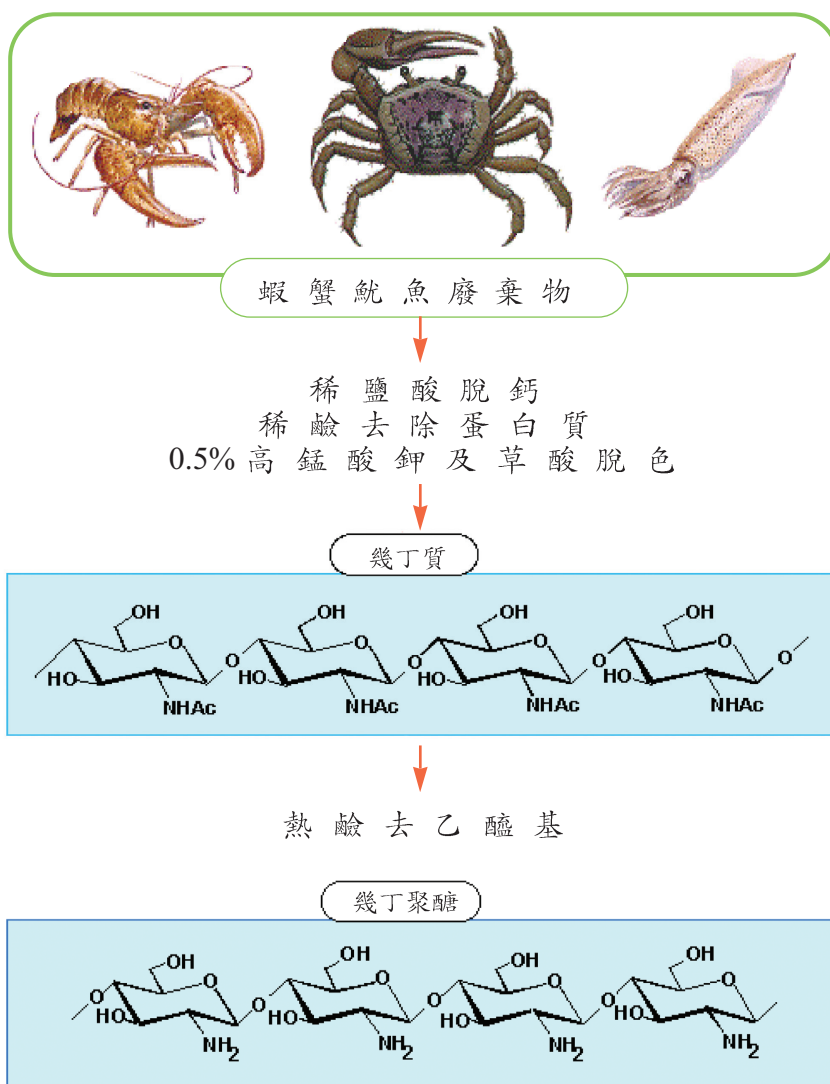
- Avallone, B. and Balsamo, G, 1994. Chitosan-mediated stimulation of macrophage function. *Biomaterials* 15:1215-1220.
20. Shibata Y., Foster, L. A., Metzger, W. J. and Quentin, N. M. (1997). Alveolar macrophage priming by intravenous administration of chitin particles, polymers of N-acetyl-D-glucosamine, in mice. *Infect. And Immun.* 65:1734-1741.
 21. Hadwiger, L. A. and Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a component of pea-Fusarium solani interaction. *Plant Physiol.* 66:205-221.
 22. Hadwiger, L. A. and Loschke, D. C. 1981. Molecular communication in host-parasite interactions: hexosamine polymers (chitosan) as regulator compounds in race-specific and other interactions. *Phytopathology* 71:756-762.
 23. Hadwiger, L. A., Kendra, D. F., Fristensky, B. W. and Wagoner, W. 1986. Chitosan both activates genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi. In “Chitin in Nature and Technology” , pp. 209-214, Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. and Gooday, G.(eds), Plenum Press, N. Y.
 24. Ghaouth A. E., Arul, J., Grenier, J., Bemhamou, N., Asslin, A. and Belanger, R. 1994. Effect of chitosan on cucumber plants: suppression of *Pythium aphanidermatum* and induction of defense reaction. *Phytopathology.* 84(3) :313-319.
 25. Kendra, D. F., Christian, D. and Hadwiger, L. A. 1989. Chitosan oligomers from *Fusarium solani* / pea interactions, chitinase / β -glucanase digestion of sporelings and from fungal wall chitin actively inhibit fungal growth and enhance disease resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 35:215-230.
 26. Benhamon, N. and Theriault, G. 1992. Treatment with chitosan enhances resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 41:33-52.
 27. Struszczyk, H. and Pospieszny, H. 1997. New applications of chitin and its derivatives in plant protection. Chap 11. in *Applications of Chitin and Chitosan*. Goosen, M.F.A. ed. Technomic Publishing Company, Inc.,

Lancaster, USA.

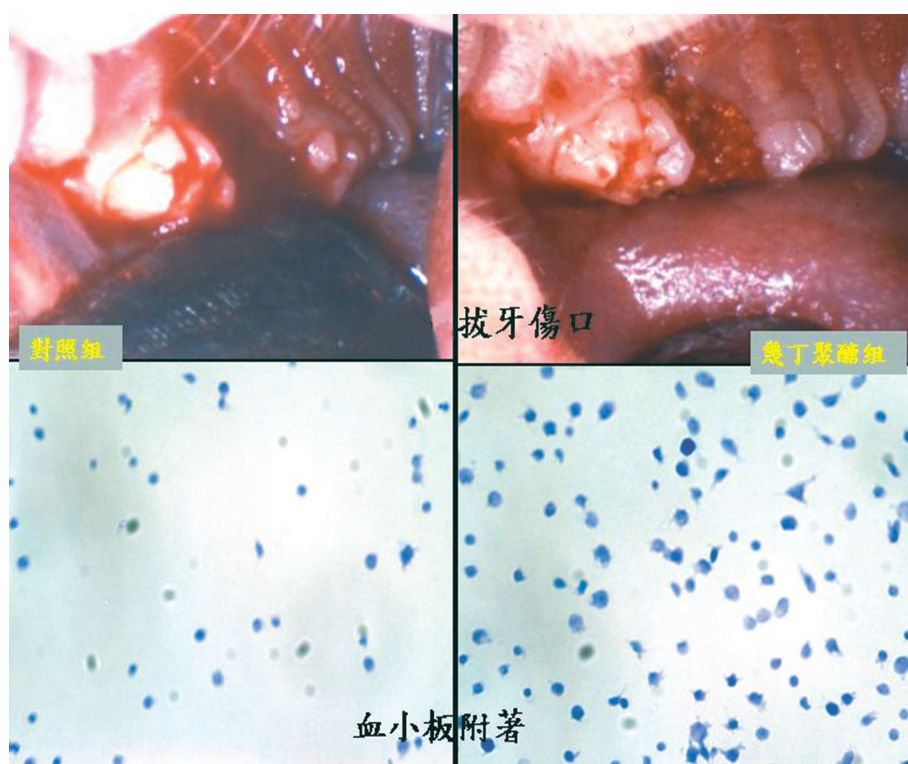
28. Hirano, S. and Nagao, N. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytophathogens. *Agric. Biol. Chem.* 53:3065-3066.
29. Fang, S. W., Li, C. F. and Shih, D. Y. C. 1994. Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied kumquat. *J. Food Prot.* 56:136-140.
30. Seo, H., Mitsuhashi, K. and Tanibe, H. 1992. Antibacterial and antifungal fiber blended by chitosan. In *Advances in Chitin and Chitosan*, pp. 34-40. Brine, C. J., Sandford, P. A., and Zikakis, J. P. (eds.), Elsevier Applied Science, N. Y.
31. Leuba, J. L. and Stossel, P. 1986. Chitosan and other polyamines: antifungal activity and interaction with biological membranes. In *Chitin in Nature and Technology*, pp. 215-221, Muzzarelli, R., Jeuniarx, C. and Gooday, G. (eds), Plenum Press, N. Y.
32. Tsai, G. J., Su, W. H. and Chen S. C. 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and application to fish preservation. *Fisheries Sci.* 68:170-177.
33. Wang, G. H. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Prot.* 55: 916-919.
34. 蔡國珍、李晏雯 2000，利用蝦類多醣強化鯖魚漿煉製品品質。pp.98-121，88年度水產加工研究成果彙編，食品工業發展研究所，新竹。
35. 彭仁信，2002，醋酸酐乙醯化反應之幾丁聚醣特性及幾丁聚醣酵素水解產物對微生物生長之影響。國立台灣海洋大學食品科學研究所碩士論文，基隆。
36. Tsai, G. J. and Su, W.H. 1999. Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J. Food Prot.* 62:239-243.
37. Kendra, D. F. and Hadwiger, L. A. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium soloni* and elicits pisatin formation in *Pisum sativum*. *Exp. Mycol.* 8: 276-281.

38. Hadwiger, L.A., Beckman, J.M. and Adams, M.J. 1981. Localization of fungal components in the pea-Fusarium interaction detected immunochemically with anti-chitosan and anti-fungal cell wall antisera. *Plant Physiol.* 67:170-175.
39. Hasegawa, M., Isogi, A. and Onabe, F. 1993. Preparation of low molecular weight chitosan using phosphoric acid. *Carbohydr. Polym.* 20:279-283.
40. Defaye, J., Gadelle, A., and Pedersen, C. 1989. Chitin and chitosan oligosaccharides. In *Chitin and Chitosan*, pp.415-429. Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. and Sanford, P. (eds.), Elsevier Applied Science, London.
41. Izume, M., Nagae, S., Kawagishi, H., Mitsutomi, M., and Ohtakara, A. 1992. Action pattern of *Bacillus* sp. No. 7-M chitosanase on partially N-acetylated chitosan. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56:448-453.
42. Mitsutomi, M., Ohtakara, A., Fukamizo, T. and Goto, S. 1990. Action pattern of *Aeromonas hydrophila* chitinase on partially N-acetylated chitosan. *Agric. Biol. Chem.* 54:871-877.
43. Ohtakara, A., Matsunaga, H. and Mitsutomi, M. 1990. Action pattern of *Streptomyces griseus* chitinase on partially N-acetylated chitosan. *Agric. Biol. Chem.* 54:3191-3199.
44. Tsai, G. J., Wu, Z.Y. and Su, W.H. 2000. Antibacterial activity of a chitooligosaccharide mixture prepared by cellulase digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation. *J. Food Prot.* 63:747-752.
45. 詹淑玲，2002，由纖維素水解幾丁聚醣而得之小分子量幾丁聚醣與幾丁寡醣對腸道菌群生長之影響。國立台灣海洋大學食品科學研究所碩士論文，基隆。
46. Suzuki, S., Okawa, Y., Tokoro, A., Suzuki, K., and Suzuki, M. 1986b. Immunopotentiating effects of N-acetyl-chitooligosaccharides. In *Chitin in Nature and Technology*, pp. 485-492, Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. and Gooday, G. (eds), Plenum Press, N.Y.
47. Suzuki, K., Tokoro, A., Okawa, Y., Suzuki, S., and Suzuki, M. 1986c. Effect of N-acetyl-chitooligosaccharides on activation of phagocytes.

- Microbiol. Immunol. 30:777-787.
48. Tokoro, A., Kobayashi, M., Tatewaki, N., Suzuki, K., Okawa, Y., Mikami, T., Suzuki, S. and Suzuki, M. 1989. Protective effect of N-acetyl-chitohexaase on Wisteria monocytogens infection in mice. Microbiol. Immunol. 33:357-367.
 49. Kobayashi, M., Watanabe, T., Suzuki, S. and Suzuki, M. 1990. Effect of N-acetyl-chitohexaase against Candida albicans infection of tumor-bearing mice. Microbiol. Immunol. 34:413-426.
 50. Suzuki, K., Mikami, T., Okawa, Y., Tokoro, A., Suzuki, S., and Suzuki, M. 1986a. Antitumor effects of hexa-N-acetyl chitohexaase and chitohexaase. Carbohydr. Res. 151: 403-408.
 51. Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T., Suzuki, S. and Suzuki, M. 1988. Growth-inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexaase against Meth A solid tumor. Chem. Pharm. Bull. 36:784-790.
 52. 林泓廷，2000，利用纖維素?製備幾丁寡糖及其免疫功能評估。國立台灣海洋大學食品科學研究所碩士論文，基隆。
 53. Ghaouth, E. Arul, A., Grenier, J. and Asselin, A. 1992. Antifungal activity of chitosan on two pathogens of strawberry fruits. Phytopathology 82:398-402.
 54. Soto-Peralta, N. V., Muller, H. and Konner, D. 1989. Effect of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. J. Food Sci. 54:495-496.
 55. Knorr, D., Wampler, J. P. and Teutonico, R. A. 1985. Formation of pyrazine by chitin pyrolysis. J. Food Sci. 50:1762-1763.
 56. 沈一慶，傅鐸。2001。幾丁質與幾丁聚糖之機能及其有效利用。2001年幾丁質幾丁聚糖研討會論文專輯，p.17。
 57. 董崇民，2002，幾丁質 幾丁聚糖的改質。幾丁質幾丁聚糖生物科技應用研討會論文專輯，pp.188-205。台北，台灣。
 58. 陳榮輝，2002，台灣幾丁質物質之工業與研究。幾丁質幾丁聚糖生物科技應用研討會論文專輯，pp.2-24。台北，台灣。



圖一 由蝦蟹殼生產幾丁質與幾丁聚醣流程圖



(本圖片由國防大學牙醫系傅鈺教授提供)

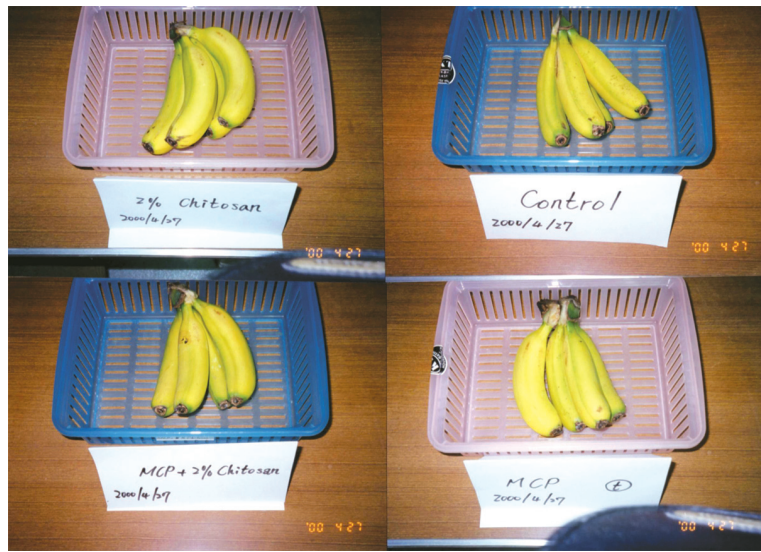
圖二. 幾丁聚醣在醫療上的應用

幾丁聚醣可促使大白鼠拔牙傷口癒合(上)，以及增加血小板的附著(下)。



(本圖片由凱得生公司提供)

圖三. 幾丁質類產品：(左)保健食品；(中)濾水器；(右)創傷敷材。



處理後首日



五天後

(本圖片由利統公司提供)

圖四. 幾丁聚醣在香蕉保鮮上的應用。

香蕉若經幾丁聚醣與熟成抑劑(MCP)共同處理，在室溫貯存五天後(下圖左下)，表皮黑斑明顯比其他三組少。



處理後首日



處理後七日



處理後十二日

(本圖片由利統公司提供)

圖五. 幾丁聚醣在楊桃保鮮上的應用

楊桃在1°C貯存14天，然後置於20°C貯存0天(上)、7日(中)、12日(下)，經幾丁聚醣(KaDoZan)與熟成抑製劑(AnsiP)共同處理者，12天後，色澤較綠黃斑較少。(楊桃上面黑色圓圈乃人為黑筆所做記號)。