

壳寡糖抑菌及抗肿瘤活性研究

朱小花¹, 赵利敏², 王荣辉³, 黄儒强^{4*}

(1. 华南农业大学园艺学院, 广州 510642; 2. 深圳市深博泰生物科技有限公司, 深圳 518120; 3. 广东省海洋生物废弃物综合利用重点实验室, 湛江 524051; 4. 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631)

摘 要: **目的** 探讨壳寡糖的抑菌及抗肿瘤活性。**方法** 采用牛津杯法研究壳寡糖的抑菌活性; 采用动物实验法研究壳寡糖的抗肿瘤活性, 选取造模成功的 50 只昆明种雄性小鼠, 随机分为 5 组, 分别为模型组、阳性对照组(20 mg/kg)以及壳寡糖高剂量组(300 mg/kg)、中剂量组(150 mg/kg)、低剂量组(100 mg/kg), 测定各组小鼠移植性肿瘤 H₂₂ 生长的情况。**结果** 牛津杯法证实壳寡糖质量浓度较低时(10、20 mg/mL), 壳寡糖对大肠杆菌、沙门氏菌和绿脓杆菌均无抑菌作用; 壳寡糖质量浓度在 50~400 mg/mL 时, 对这 3 种菌均有抑菌作用, 且随壳寡糖质量浓度的升高, 抑菌能力逐渐增强; 但壳寡糖质量浓度在 10~400 mg/mL 时, 对金黄色葡萄球菌无抑菌作用。动物实验证实壳寡糖能够降低小鼠 H₂₂ 瘤体重量壳寡糖中、高剂量可显著抑制小鼠 H₂₂ 肿瘤增长 ($P<0.05$), 肿瘤抑制率分别为 31.65%和 44.30%。**结论** 壳寡糖对大肠杆菌、沙门氏菌和绿脓杆菌具有良好的抑菌活性及抑制小鼠移植性肿瘤 H₂₂ 生长的作用。

关键词: 壳寡糖; 抗菌; 抗肿瘤

Research on antibacterial and antitumor activity of chitooligosaccharides

ZHU Xiao-Hua¹, ZHAO Li-Min², WANG Rong-Hui³, HUANG Ru-Qiang^{4*}

(1. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Shenzhen Botai Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518120, China; 3. Key Laboratory Marine Biological Waste and Comprehensive Utilization of Guangdong Province, Zhanjiang 524051, China; 4. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

ABSTRACT: Objective To study the antibacterial and antitumor activity of chitooligosaccharides. **Methods** The antibacterial activity of chitooligosaccharides was studied by Oxford cup method. The antitumor activity of chitooligosaccharide was studied by animal experiment, 50 male mice of Kunming species were selected and randomly divided into 5 groups: Model group, positive control group (20 mg/kg), chito-oligosaccharide high-dose group (300 mg/kg), medium-dose group (150 mg/kg) and low-dose group (100 mg/kg), the growth of transplanted tumor H₂₂ in each group was determined. **Results** The Oxford cup method confirmed that chitooligosaccharides had no antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Pseudomonas aeruginosa* at low concentrations (10,

基金项目: 广东省科技计划项目(2020B121202014)、湛江市海洋经济创新发展示范城市建设(XM-202107-04A)、湛江市科技计划项目(2019A03018、2019A02028、2018A01016、2016E06007)、大鹏新区科技创新和产业发展专项资金资助项目(CXY202001-03)

Fund: Supported by the Science and Technology Program of Guangdong Province of China (2020B121202014), the Zhanjiang Marine Economy Innovation and Development Demonstration City Construction Project (XM-202107-04A), the Zhanjiang Science and Technology Program Project (2019A03018, 2019A02028, 2018A01016, 2016E06007), and the Dapeng Scientific and Technological Innovation and Industrial Development Project (CXY202001-03)

*通信作者: 黄儒强, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品工程与生化药学。E-mail: qiangdoctor@126.com

*Corresponding author: HUANG Ru-Qiang, Ph.D, Professor, College of Life Science, South China Normal University, No.55, West of Zhongshan Avenue, Tianhe District, Guangzhou 510631, China. E-mail: qiangdoctor@126.com

20 mg/mL). When the mass concentrations of chitooligosaccharides were 50–400 mg/mL, they had antibacterial activities against these 3 kinds of bacteria, and the antibacterial ability gradually increased with the increase of chitooligosaccharide concentration. However, chitooligosaccharides had no antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* at the mass concentration of 10–400 mg/mL. Animal experiments showed that chitooligosaccharides could reduce the tumors weight. The medium and high dose groups of chitooligosaccharides could significantly inhibit the tumors growth ($P<0.05$), and the tumor inhibition rates were 31.65%, 44.40%, respectively. **Conclusion** Chitooligosaccharides has good antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* and inhibits the growth of transplanted tumor H₂₂ in mice.

KEY WORDS: chitooligosaccharides; antibacterial; antitumor

0 引言

壳寡糖(chitooligosaccharides, COS)又叫壳聚寡糖或低聚壳聚糖,是由壳聚糖经化学、物理或生物酶法降解得到,是自然界中唯一带正电荷阳离子碱性氨基低聚糖,具有水溶性好、生物相容性高及易被生物体吸收利用等特点而受到关注^[1–3]。大量研究表明,壳寡糖具有良好的抗菌消炎^[4–7]、调节肠道健康^[8–9]、增强免疫^[10]、抗肿瘤^[11]、改善糖尿病^[12–13]、心血管疾病^[14–15]、退行性疾病^[16]等功效,已广泛应用于医药保健^[17]、食品保鲜^[18]、功能食品^[19]、畜禽养殖^[20]、农业种植^[21]等领域。不同原料及工艺制备的壳寡糖的脱乙酰化程度、平均分子量大小、相对分子量分布范围及聚合度等差异较大,其功能活性也相差较大^[22]。目前研究发现,壳寡糖对多种癌症^[23]都有一定的疗效,聚合度 5~12, 平均分子量 2490 U 的壳寡糖对人宫颈肿瘤细胞 C33A 有显著的抗肿瘤活性^[23]; 聚合度 2~6, 平均分子量 1000 U 的壳寡糖能促进结肠癌 HCT116 细胞凋亡^[24]; 但对分子质量 2000~2500 U, 且分子量分布窄、均一性好的壳寡糖的抗菌和抗 H₂₂ 实体瘤活性较少报道。本研究采用牛津杯法和动物实验考察壳寡糖对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌和绿脓杆菌的抗菌活性及对小鼠移植性肿瘤 H₂₂ 生长的影响, 以期壳寡糖的深度开发及应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

壳寡糖(纯度 90%, 脱乙酰度 92%, 平均分子量 2400 U, 分布宽度 1.06 D)(湛江市博泰生物化工科技实业有限公司); 营养肉汤培养基、营养琼脂培养基(广东环凯微生物科技有限公司)。

1.1.2 菌株

金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC6538)、大肠杆菌 *Escherichia coli* (ATCC8739)、绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853)、沙门氏菌

Salmonella (ATCC13076)(广东省微生物菌种保藏中心)。

1.1.3 动物与瘤株

50 只健康成年昆明种雄性小鼠: SPF 级, 体重 20~22 g, 购于广东省医学实验动物中心。实验动物合格证号为 SYXK(粤)2018-0002。

瘤株: 小鼠肝癌 H₂₂, 购于广东省医学实验动物中心。

1.2 设备

SP-02Y 生化培养箱(黄石市恒丰医疗器械有限公司); YXQ-50G 高压灭菌锅(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 抑菌实验方法

将活化好的 4 种菌株(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌、沙门氏菌)以 0.5 麦氏比浊度(约 10⁸ CFU/mL)稀释菌株至无菌生理盐水中, 用于抑菌实验。抑菌实验采用牛津杯扩散法^[25]: 取灭菌营养琼脂培养基, 待温度降至 50℃左右时倒平板, 每个培养皿约 15 mL。待琼脂凝固后, 在平板上分别涂布已活化的 4 种菌株稀释液, 用灭菌的镊子夹牛津杯均匀的置于营养琼脂平板中。分别加入不同质量浓度的壳寡糖溶液(10、20、50、100、200、400 mg/mL) 0.2 mL 到灭菌的牛津杯中, 加等量灭菌蒸馏水对照, 在 37℃恒温培养箱中培养 24、48 h, 观察抑菌效果。

壳寡糖溶液配制: 称取 40 g 壳寡糖, 在紫外灭菌灯下灭菌 20 min, 用 100 mL 无菌水溶解后即得到 400 mg/mL 的母液, 然后将母液分别配制质量浓度为 10、20、50、100、200、400 mg/mL, 过 0.22 μm 的水系膜待用。

药敏实验判定标准: 当抑菌圈直径>15 mm 时为高敏; 介于 10~15 mm 之间时为中敏; <10 mm 时为低敏^[26]。

1.3.2 动物造模与分组

选择腹腔接种 H₂₂ 肝癌细胞 7 d 的小鼠, 在无菌条件下抽取腹水 3 mL, 用生理盐水稀释, 配制细胞密度为 2×10⁶ 个/mL 的肝癌细胞悬液。取 0.1 mL 肝癌细胞悬液接种到小鼠的右上肢腋下, 制备 H₂₂ 移植瘤小鼠模型。造模后将小鼠按体重随机分成 5 组, 每组 10 只, 分别为模型组

和壳寡糖低、中、高剂量组(给药剂量即 100、150、300 mg/kg)及阳性对照组(环磷酰胺组)按 20 mg/kg 的剂量给予环磷酰胺水溶液,模型组灌胃等体积的生理盐水,用苦味酸进行标记编号。各组连续灌胃 14 d,观察各组小鼠的成活和生长情况。14 d 后处死小鼠,解剖剥离瘤体、取胸腺和脾脏,称重,按公式(1)~(3)计算肿瘤抑制率、胸腺指数和脾脏指数。肿瘤抑制率/%=1-(实验组肿瘤重量/对照组肿瘤重量)×100%

$$\text{胸腺指数} = (\text{胸腺重量} / \text{小鼠体重}) \times 10 \quad (2)$$

$$\text{脾脏指数} = (\text{脾脏重量} / \text{小鼠体重}) \times 10 \quad (3)$$

1.3.3 数据分析

数据用 Excel 处理,采用 IBM SPSS Statistics 24 对实验数据进行分析。所有实验重复测定 3 次,实验结果以平均值±标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 壳寡糖的抑菌活性

为了评估壳寡糖的抑菌活性,首先考察了壳寡糖质量浓度 10~100 mg/mL 的抑菌效果,由图 1a 可知,壳寡糖质量浓度为 50、100 mg/mL 时,壳寡糖对大肠杆菌、绿脓杆菌和沙门氏菌均有抑菌作用;但在低浓度(10、20 mg/mL)时,壳寡糖对大肠杆菌、绿脓杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌均无抑菌作用。这一研究结果与王寿权等^[27]研究平均分子量为 852 Da 的自制壳寡糖对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的研究结果类似。这可能是因为低浓度时,壳寡糖的渗透压相对较低,使得壳寡糖不容易通过细菌的胞壁

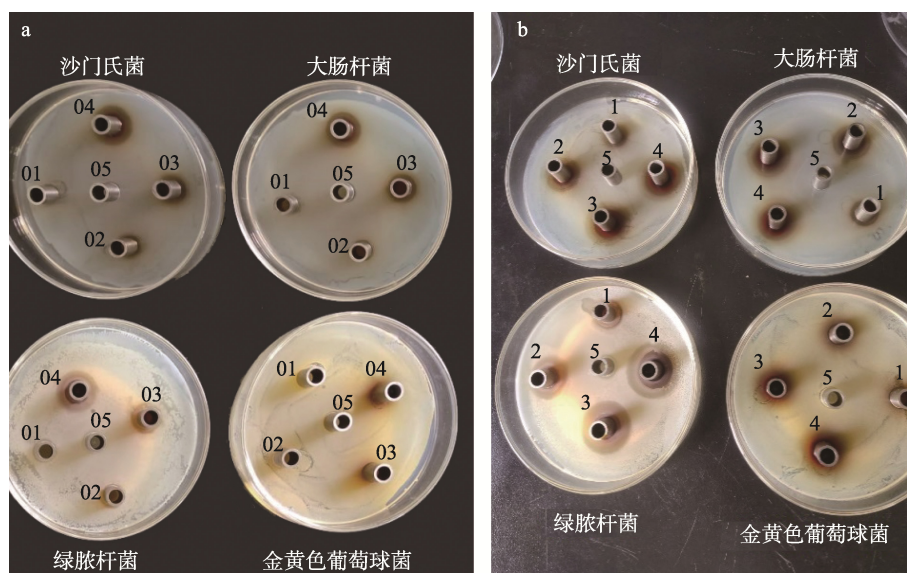
和胞核,而达不到抑菌的效果^[28]。因此壳寡糖质量浓度在 10~100 mg/mL 时,对金黄色葡萄球菌均无抑菌作用。

为确定壳寡糖浓度与抑菌活性的关系,进一步研究了壳寡糖质量浓度为 50~400 mg/mL 的抑菌效果。实验结果表明(图 1b、图 2a),壳寡糖对金黄色葡萄球菌无抑菌作用;壳寡糖对大肠杆菌、绿脓杆菌和沙门氏菌均有较好的抑菌作用,且随壳寡糖质量浓度的升高,抑菌能力逐渐增强。这一研究结果与赵倩等^[29]研究壳寡糖对鸡源、猪源大肠杆菌和沙门氏菌的抑菌效果一致。从图 2 中也可知,菌株接种量为 0.1、0.2 mL 时,接种量对壳寡糖的抑菌活性基本无影响;并且经过 48 h 的培养,壳寡糖对大肠杆菌、绿脓杆菌和沙门氏菌仍有较好的抑菌作用,壳寡糖质量浓度为 200、400 mg/mL,壳寡糖对这 3 种菌的抑菌圈直径均在 15 mm 以上,说明壳寡糖具有较长的抑菌期。壳寡糖对菌株敏感性表现为绿脓杆菌>沙门氏菌>大肠杆菌>金黄色葡萄球菌。

2.2 壳寡糖抗肿瘤活性

2.2.1 壳寡糖对小鼠 H₂₂ 肿瘤的抑制作用

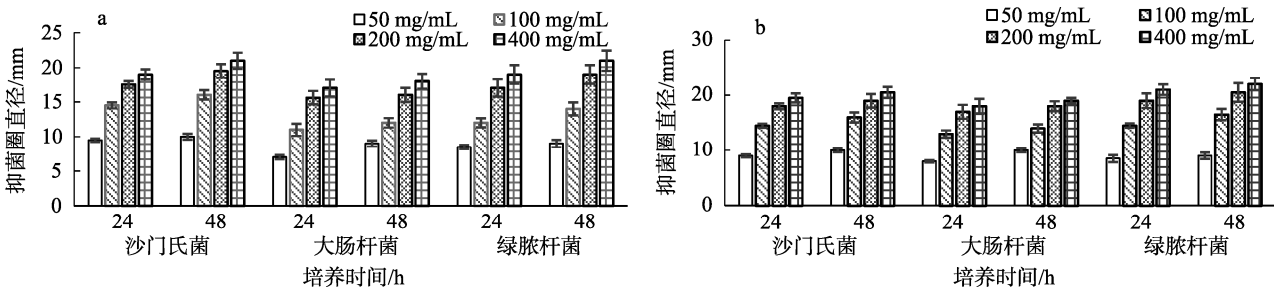
给药期间,小鼠一般状况良好,摄食饮水正常。连续灌胃 14 d 后,将所有小鼠处死并剥离瘤组织称重,考察给药期间各组小鼠的瘤体生长情况。从表 1 中可知,与模型组相比,壳寡糖低剂量、中剂量和高剂量均能降低小鼠瘤体重量,其中壳寡糖中剂量和高剂量可显著降低瘤体重量($P < 0.05$);壳寡糖低剂量、中剂量和高剂量的肿瘤抑制率分别为 25.31%、31.65%和 44.30%,说明壳寡糖具有较好的抑制小鼠 H₂₂ 肿瘤增长的作用,且呈量效关系。



注: a. 01、02、03、04、05 分别是壳寡糖质量浓度 10、20、50、100 mg/mL 和空白对照; b. 1、2、3、4、5 分别是壳寡糖质量浓度 50、100、200、400 mg/mL 和空白对照。

图 1 壳寡糖对常见致病菌的抑菌圈大小

Fig.1 Inhibition zone of chitooligosaccharides on common pathogenic bacteria



注: a. 菌株接种量为 0.1 mL; b. 菌株接种量为 0.2 mL。

图 2 不同壳寡糖质量浓度的抗菌活性($n=3$)

Fig.2 Antibacterial activities of chitooligosaccharides at different concentrations ($n=3$)

表 1 壳寡糖对小鼠 H₂₂(肝癌)肿瘤的影响($n=10$)
Table 1 Effects of chitooligosaccharides on liver cancer tumors in mice ($n=10$)

组别	剂量 /(mg/kg)	动物数/ 只/始终	瘤重 /g	抑制率 /%
模型组	—	10/10	1.58±0.24	—
低剂量组	100	10/10	1.18±0.22	25.31
中剂量组	150	10/10	1.08±0.16*	31.65
高剂量组	300	10/10	0.88±0.17*	44.30
环磷酸胺组	20	10/10	0.59±0.22**	62.66

注: 与模型组比较, *表示差异显著($P<0.05$), **表示差异极显著($P<0.01$); —表示未加入。

2.2.2 壳寡糖对小鼠免疫器官重量的影响

各组小鼠胸腺及脾脏指数见表 2。与模型组相比, 环磷酸胺组的胸腺指数和脾脏指数均极显著降低($P<0.01$), 说明环磷酸胺对免疫器官有较大的损害作用。与模型组相比, 除壳寡糖低剂量组对胸腺指数有明显降低作用外($P<0.05$), 壳寡糖中剂量组和高剂量组的胸腺指数、脾脏指数均无显著差异($P>0.05$)。与环磷酸胺组相比, 壳寡糖能够剂量依赖性的提高小鼠胸腺指数和脾脏指数, 其中壳寡糖中剂量组和高剂量组的胸腺指数、脾脏指数与环磷酸胺组相比均有显著提高($P<0.05$), 壳寡糖高剂量组的脾脏指数与环磷酸胺组相比有极显著提高($P<0.01$)。说明壳寡糖具有保护小鼠免疫器官的作用。翟星辰^[30]利用环磷酸胺诱导的免疫低下小鼠模型, 发现壳寡糖能够剂量依赖地抑制肾癌细胞生长, 并显著提高肾癌小鼠的脾脏指数和胸腺指数($P<0.05$), 能有效缓解环磷酸胺引起的免疫抑制状态, 本实验与其研究结果一致。

3 结论与讨论

壳寡糖已被证实具有广谱抗菌作用, 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有抗菌作用, 且随壳寡糖分子量和脱乙酰度的增加抗菌作用增强^[31]。壳寡糖的抗菌活性除与其理

化性质有关, 还与接种量、菌种和壳寡糖浓度等有关^[32]。本研究通过对壳寡糖抑菌活性研究发现, 壳寡糖在较低浓度时(10、20 mg/mL)对肠杆菌、绿脓杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌均无抑菌作用, 壳寡糖质量浓度为 50~400 mg/mL 时, 壳寡糖对大肠杆菌、绿脓杆菌和沙门氏菌均有抑菌作用, 且随着壳寡糖质量浓度的升高, 抑菌能力逐渐增强。抑菌实验表明壳寡糖对大肠杆菌、绿脓杆菌和沙门氏菌均有良好的抑菌活性, 但对金黄色葡萄球菌无抑菌活性。FERNANDES 等^[32]研究发现, 较低接种量(10^3 CFU/mL)时, 分子量小于 3000 Da 和小于 5000 Da 的壳寡糖对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有抑菌作用, 但较高接种量(10^5 CFU/mL 或 10^7 CFU/mL)时, 壳寡糖对大肠杆菌有抑菌活性, 但对金黄色葡萄球菌无抑菌活性, 与本研究结果一致。

表 2 壳寡糖对小鼠胸腺指数及脾脏指数的影响($n=10$)
Table 2 Effects of chitooligosaccharides on thymus index and spleen index in mice ($n=10$)

组别	剂量 /(mg/kg)	胸腺指数 /(mg/10 g)	脾脏指数 /(mg/10 g)
模型组	—	0.24±0.02	0.36±0.05
低剂量组	100	0.15±0.02*	0.27±0.01
中剂量组	150	0.18±0.01 [#]	0.29±0.03 [#]
高剂量组	300	0.23±0.02 [#]	0.36±0.04 ^{###}
环磷酸胺组	20	0.12±0.02**	0.20±0.01**

注: 与模型组比较, *表示差异显著($P<0.05$), **表示差异极显著($P<0.01$); 与阳性对照组相比, [#]表示差异显著($P<0.05$), ^{###}表示差异极显著($P<0.01$); —表示未加入。

抑瘤率是评估药物在药效学方面的基础性指标, 减缓肿瘤的生长, 甚至使瘤体缩小, 是抗肿瘤药物是否有效的重要标志。环磷酸胺是临床常用的化疗药, 能有效杀伤癌细胞, 但同时也产生不同程度的毒副作用, 包括免疫功能低下和白细胞减少等。小鼠体内实验观察了壳寡糖对 H₂₂ 实体瘤生长的抑制作用(以抑瘤率为指标), 结果表明壳寡糖表现出良好的抑瘤效果, 壳寡糖低、中、高剂量均对

H₂₂ 小鼠瘤体生长有抑制作用, 其中壳寡糖高剂量的抑瘤效果最好, 抑瘤率达到了 44.30%。实验各组胸腺指数、脾脏指数的比较, 说明了环磷酸胺的毒副作用, 同时提示了壳寡糖对小鼠免疫器官有保护作用。壳寡糖可能通过调节机体免疫反应来抑制肿瘤细胞的生长^[33-34]。壳寡糖的抑菌和抗肿瘤活性与其分子量、聚合度和脱乙酰度等有关^[35], 本研究只是对壳寡糖的抑菌和抗肿瘤活性进行了初步探讨, 壳寡糖抑菌和抗肿瘤的作用机制还需要进一步深入研究。壳寡糖资源丰富、生物活性优良, 具有广阔的市场前景及科研价值, 希望通过今后的研究能够为壳寡糖资源开发及产业化发展提供理论依据。

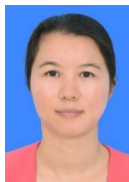
参考文献

- [1] 原佳琪, 梁爽, 孙雅焯, 等. 壳寡糖的制备及生物学活性研究进展[J]. 生命的化学, 2019, 39(4): 759-765.
YUAN JQ, LIANG S, SUN YX, *et al.* Research progresses on preparation and biological activities of chito-oligosaccharides [J]. Chem Life, 2019, 39(4): 759-765.
- [2] KHOUSHAB F, YAMABHAI M. Chitin research revisited [J]. Mar Drugs, 2010, 8(7): 1988-2012.
- [3] MUHAMMAD N, LUCA P, MUHAMMAD S, *et al.* Chitosan oligosaccharide (cos): An overview [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 129: 827-843.
- [4] 张金豫. 不同原料壳寡糖的制备及抑菌活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
ZHANG JY. Study on preparation and antibacterial activity of chitooligosaccharides from different raw materials [D]. Tianjin: Tianjin University, 2018.
- [5] 杨硕. 壳寡糖对高脂饮食诱发肥胖的 C57BL/6J 小鼠脂肪组织炎症因子释放的影响及机制探究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
YANG S. Effects and mechanism studies of chitooligosaccharides on inflammatory cytokines in adipose tissue of high-fat diet-induced C57BL/6J mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [6] SHI L, FANG B, YONG Y, *et al.* Chitosan oligosaccharide mediated attenuation of LPS-induced inflammation in IPEC-J2 cells is related to the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. Carbohydr Polymers, 2019, 219: 269-279.
- [7] 李温静. 幽门螺旋杆菌致癌风险与壳寡糖抗幽门螺旋杆菌效应的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2020.
LI WJ. Study on the carcinogenic risk of *Helicobacter pylori* and the effect of chitooligosaccharides on *Helicobacter pylori* [D]. Qingdao: Qingdao University, 2020.
- [8] 陈爽. 壳寡糖对 DSS 诱导小鼠结肠炎的缓解作用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
CHEN S. Ameliorating effects of chitooligosaccharides on DSS-induced colitis in mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.
- [9] 赵丹莉, 谢明杰. 高通量测序技术分析壳寡糖对小鼠肠道菌群的影响[J]. 营养学报, 2018, 40(5): 449-453.
ZHAO DL, XIE MJ. Effect of chitooligosaccharides on intestinal flora in mice using illumina-miseq high-throughput sequencing platform [J]. Acta Nutr Sin, 2018, 40(5): 449-453.
- [10] ZHANG P, LIU W, PENG Y, *et al.* Toll like receptor 4 (TLR4) mediates the stimulating activities of chitosan oligosaccharide on macrophages [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 23: 254-261.
- [11] 潘珍. 壳寡糖通过激活骨肉瘤中 p53/mTOR 途径抑制肿瘤进展并诱导自噬的机制研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2020.
PAN Z. Chitooligosaccharides inhibit tumor progression and induce autophagy through activation of the p53/mTOR pathway in osteosarcoma [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2020.
- [12] 王园园. 壳寡糖双胍对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗和炎症的调节作用研究[D]. 天津: 天津大学, 2019.
WANG YY. Effects of chitooligosaccharide biguanide on the regulation of insulin resistance and inflammation in type 2 diabetic rats [D]. Tianjin: Tianjin University, 2019.
- [13] 李程呈. 壳寡糖对 2 型糖尿病小鼠糖脂代谢及对免疫炎症状态的影响研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2021.
LI CC. Effects of chitooligosaccharides on glucose and lipids metabolism immune inflammation in type 2 diabetic mice [D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2021.
- [14] 白怡博. 壳寡糖对脂代谢紊乱的调节作用及其可能机制的研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
BAI YB. The study on the regulation effect of chitosan oligosaccharide on glucolipid metabolism disorder and its possible mechanism [D]. Shenyang: China Medical University, 2020.
- [15] YU Y, LUO T, LIU S, *et al.* Chitosan oligosaccharides attenuate atherosclerosis and decrease non-HDL in ApoE^{-/-} mice [J]. J Atheroscler Thromb, 2015, 22(9): 926-941.
- [16] 朱立猛. 壳寡糖对阿尔茨海默病的作用效果评价及其机制初探[D]. 北京: 中国科学院大学, 2021.
ZHU LM. Neuroprotective effect of chitosan oligosaccharides on alzheimer's disease and its related mechanism [D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2021.
- [17] KUMAR A, KUMAR A. The virtuous potential of chitosan oligosaccharide for promising biomedical applications [J]. J Mater Res, 2020, 35(9): 1123-1134.
- [18] 杨焕蝶, 张翔, 亚历山大, 等. 壳聚糖与壳寡糖抑菌保鲜研究进展[J]. 山东农业科学, 2020, 52(2): 167-172.
YANG HD, ZHANG X, YA LSD, *et al.* Research progress of chitosan and chitooligosaccharide in bacteriostasis and preservation [J]. Shandong Agric Sci, 2020, 52(2): 167-172.
- [19] 王慧茹. 壳寡糖类肿瘤非全营养配方食品的制备及其性能[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2021.
WANG HR. Chitosan-based oncology non-whole nutritional formula is preparation and its performance [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2021.
- [20] 熊爱军, 张增玉, 邹新华, 等. 壳寡糖的生物学功能及其在畜禽生产中的应用[J]. 今日畜牧兽医, 2020, 36(11): 64-66.
XIONG AIJ, ZHANG ZY, ZOU XH, *et al.* Biological function of chitosaccharide and application in livestock and poultry production [J]. Today Anim Husbandry Vet Med, 2020, 36(11): 64-66.
- [21] 高雨萌, 费昭雪, 史健飞, 等. 壳寡糖对花椒干腐病菌的抑菌活性研究[J]. 中国森林病虫, 2021, 40(3): 1-8.
GAO YM, FEI ZX, SHI JF, *et al.* Antifungal activities of oligochitosan against the pathogen of stem canker of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Forest Pest Dis, 2021, 40(3): 1-8.

- [22] MUANPRASAT C, CHATSUDTHIPONG V. Chitosan oligosaccharide: Biological activities and potential therapeutic applications [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 170: 80–97.
- [23] ZHAO M, GU L, LI Y, *et al*. Chitooligosaccharides display anti-tumor effects against human cervical cancer cells via the apoptotic and autophagic pathways [J]. *Carbohydr Polymer*, 2019, 22: 115171.
- [24] ZOU P, YUAN S, YANG X, *et al*. Chitosan oligosaccharides with degree of polymerization 2–6 induces apoptosis in human colon carcinoma HCT116 cells [J]. *Chem-Biol Interact*, 2018, 279: 129–135.
- [25] 刘冬梅, 李理, 杨晓泉, 等. 用牛津杯法测定益生菌的抑菌活力[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(3): 110–111.
LIU DM, LI L, YANG XQ, *et al*. Determining the antibacterial activity of probiotics by oxford cup method [J]. *Food Res Dev*, 2006, 27(3): 110–111.
- [26] 张赛奇, 王米, 雷娜, 等. 中药对猪源大肠杆菌 O₈ 体外抑菌实验研究 [J]. *家畜生态学报*, 2015, 36(8): 62–65.
ZHANG SQ, WANG M, LEI N, *et al*. Antibacterial sensitivity of Chinese herbal medicine against swine *Escherichia coli* O₈ *in vitro* [J]. *J Domest Anim Ecology*, 2015, 36(8): 62–65.
- [27] 王寿权, 赵双枝, 张彦昊, 等. 自制壳寡糖抑菌性能及抑菌机理的初步研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(24): 218–221.
WANG SQ, ZHAO SZ, ZHANG YH, *et al*. Preliminary study on antibacterial activity and mechanism of chitosan oligosaccharide [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(24): 218–221.
- [28] QIAN JY, DING ZZ, ZHU YX, *et al*. Antibacterial activity of chitosan oligosaccharide on *Escherichia coli* [J]. *Ind Microbiol*, 2016, 13(16): 3101–3104.
- [29] 赵倩, 谢全喜, 徐海燕, 等. 壳寡糖抑菌性能的研究[J]. *中国酿造*, 2021, 40(3): 44–47.
ZHAO Q, XIE QX, XU HY, *et al*. Antibacterial property of oligochitosan [J]. *China Brew*, 2021, 40(3): 44–47.
- [30] 翟星辰. 壳寡糖免疫增强及对肾癌抑制作用的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2019.
DI XC. Research on immune enhancement of chitooligosaccharides and inhibitory effects against renal carcinoma [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2019.
- [31] KITTUR FS, VISHU AB, VARADARAJ MC, *et al*. Chitooligosaccharides preparation with the aid of pectinase isozyme from *Aspergillus niger* and their antibacterial activity [J]. *Carbohydr Res*, 2005, 340: 1239–1245.
- [32] FERNANDES JC, TAVARIA FK, SOARES JC, *et al*. Antimicrobial effects of chitosans and chitooligosaccharides, upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in food model systems [J]. *Food Microbiol*, 2008, 25: 922–928.
- [33] MAEDA Y, KIMURA Y. Antitumor effects of various low-molecular-weight chitosans are due to increased natural killer activity of intestinal intraepithelial lymphocytes in Sarcoma 180-bearing mice [J]. *J Nutr*, 2004, 134: 945–950.
- [34] MASUDA S, AZUMA K, KUROZUMI S, *et al*. Anti-tumor properties of orally administered glucosamine and N-acetyl-d-glucosamine oligomers in a mouse model [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 111: 783–787.
- [35] PARK JK, CHUNG MJ, CHOI HN, *et al*. Effects of the molecular weight and the degree of deacetylation of chitosan oligosaccharides on antitumor activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12: 266.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



朱小花, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为海洋生物资源综合利用。
E-mail: 175907156@qq.com



黄儒强, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品工程与生化药学。
E-mail: qiangdoctor@126.com