

文章编号:1674-2869(2014)08-0016-04

不同分子量超高脱乙酰度壳聚糖的制备

柏正武,付克勤,宾 琴,罗迎彬,刘 涛,陈 伟

武汉工程大学化学与环境工程学院,湖北 武汉 430074

摘 要:将甲壳素分别在含硼氢化钠的氢氧化钠-正戊醇中和氢氧化钠-水中进行脱乙酰反应,再将得到的壳聚糖用过氧化氢-水反应体系降解,制得不同分子量的超高脱乙酰度壳聚糖.在氢氧化钠-正戊醇中制备的壳聚糖分子量介于 24 万和 35 万之间,在氢氧化钠-水中制备的壳聚糖分子量介于 81 万和 100 万之间.实验结果表明:在氢氧化钠-正戊醇体系中反应 5 h 或在氢氧化钠-水体系中反应 6 h 所制备壳聚糖的脱乙酰度均达 98% 以上,在脱乙酰反应中,延长反应时间脱乙酰度增大;采用过氧化氢-水反应体系降解壳聚糖时,影响壳聚糖分子量的因素包括过氧化氢与壳聚糖的投料比、反应温度及反应时间,而过氧化氢与壳聚糖的投料比是主要的影响因素.改变这些影响因素,可制备出分子量介于 3.2 万和 56 万之间的壳聚糖.

关键词:甲壳素;壳聚糖;脱乙酰;降解

中图分类号:O636.9

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2014.08.003

0 引 言

壳聚糖是甲壳素脱乙酰化的产物,通常将脱乙酰度大于 95% 的壳聚糖称为超高脱乙酰度壳聚糖^[1].与一般的壳聚糖相比,超高脱乙酰度壳聚糖的结构较为规整,可用来制备具有特殊功能的材料.由甲壳素脱乙酰化制得的壳聚糖通常分子量很大,不溶于普通溶剂,只能在某些酸性介质中溶解,这使壳聚糖的应用受到极大限制.另外,研究表明分子量对壳聚糖的性质有很大影响,不同分子量的壳聚糖性质差异很大.所以,为满足制备不同材料对壳聚糖分子量及脱乙酰度的要求,研究超高脱乙酰度壳聚糖的制备非常重要.

降解壳聚糖的化学方法包括 NaNO_2 或 H_2O_2 氧化法、酸性或碱性水解法等^[2],用 H_2O_2 氧化法制备壳聚糖基本上无副产物,分离提纯方便,是一种较为理想的制备壳聚糖的方法.但要将高分子量的壳聚糖降解为分子量较小的壳聚糖,就要使用较多量的 H_2O_2 ,而较多的 H_2O_2 能氧化壳聚糖中的氨基,破坏壳聚糖的结构.

在本研究中,以甲壳素为原料,先用两种不同的方法制备不同范围分子量的壳聚糖,再用 H_2O_2 氧化法降解壳聚糖,制备出不同分子量的超高脱乙酰度壳聚糖.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent DD 2 400 MHz 核磁共振仪(美国安捷伦科技有限公司);乌氏粘度计(毛细管内径为 0.57 mm);甲壳素,购于青岛潍坊科海生物制品有限公司;正戊醇,购于国药集团化学试剂有限公司; NaBH_4 购于武汉格奥化学技术有限公司;其它试剂均为分析纯.

1.2 壳聚糖的制备

方法一:正戊醇用孔径 40 nm 分子筛干燥,反应体系为甲壳素、 NaOH 和正戊醇,质量比为 1 : 5 : 11,并加入质量分数为 1.0% 的 NaBH_4 ,在 154 °C 下反应,反应结束后用蒸馏水洗涤至中性,干燥.反应 1 h 制得的壳聚糖称之为 C1,反应 2 h 制得的壳聚糖称为 C2,反应 3 h 制得的壳聚糖称为 C3,反应 5 h 制得的壳聚糖称为 C4.

方法二:将甲壳素和 H_2O 按质量比为 1 : 10 相混合,加入 NaOH 和 NaBH_4 ,质量分数分别为 45% 和 1%,加热回流,反应结束后用蒸馏水洗涤至中性,干燥.脱乙酰反应 3 h 所得产品为 C5;按相同比例投料,间歇脱乙酰化 3 次,每次 2 h,所得产品为 C6;间歇反应 2 次,第一次反应 3 h,第二次反应 4 h,所得产品为 C7;间歇脱乙酰化 2 次,每次反应 4 h,所得产品为 C8.

收稿日期:2014-05-30

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51373127)

作者简介:柏正武(1963-),男,安徽南陵人,教授,博士,博士研究生导师.研究方向:手性功能材料.

1.3 壳聚糖降解

采用 H₂O₂ 为氧化剂对壳聚糖进行降解,在中性条件下,将壳聚糖用蒸馏水分散均匀,加热到预定温度,再加入一定量的 H₂O₂. 改变反应时间、H₂O₂ 与糖单元摩尔比值(R)以及反应温度,得到不同分子量的壳聚糖. 反应完成后用蒸馏水洗涤至中性,室温干燥.

1.4 壳聚糖分子量的测定

将适量壳聚糖溶于 0.1 mol/L 的 CH₃COOH 0.2 mol/L NaCl 溶液中,在 25 ℃用乌氏粘度计测定流出时间,计算特性粘度[η],根据 Mark Houwink 方程(1)计算壳聚糖的粘均分子量 M_η^[3-6].

$$[M\eta]=KM\eta^\alpha$$
$$K=1.81\times10^{-3}\text{cm}^3/\text{g},\alpha=0.93.$$

(1)

2 结果讨论

先将壳聚糖溶于 CF₃COOD 中,再测量其¹H NMR. 在壳聚糖中残留乙酰基的甲基氢化学位移约为 2.30,分别对壳聚糖中不同氢的峰进行积分,得出积分面积,乙酰基的甲基氢峰面积为 S₁,壳聚糖骨架氢峰面积为 S₂,按公式(2)计算壳聚糖的脱乙酰度(D. D)^[3-4].

$$D. D=1-\frac{S_1/3}{S_2/7}\times100\%$$

(2)

在 NaOH-正戊醇反应体系中,C1 的脱乙酰度为 96.1%,C2 的脱乙酰度为 96.2%,C3 的脱乙酰

度为 97.7%. 在 NaOH-水反应体系中,C5 的脱乙酰度为 93.4%,C6 的脱乙酰度为 98.2%. 因此适当延长脱乙酰反应时间可增大产品的脱乙酰度. 图 1 为测量的在 NaOH-水反应体系中制备得到的壳聚糖¹H NMR 谱图. 图 1 表明经过 2 次反应,每次反应 4 h,所制备的壳聚糖乙酰基中 H 的峰几乎消失,脱乙酰度近 100%.

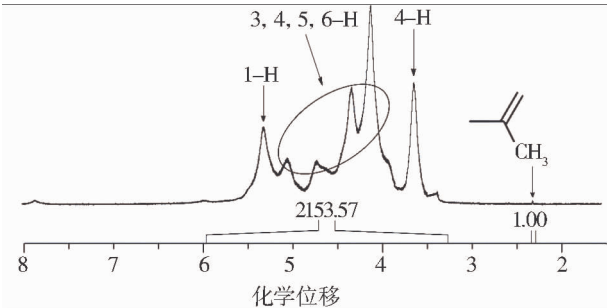


图 1 壳聚糖 C8 的¹H NMR 谱图

Fig. 1 ¹H NMR of chitosan C8

注:400 MHz, 25 ℃

考虑到壳聚糖中残留乙酰基中的甲基氢的化学环境,可推断化学位移在 2.30 附近的峰对应壳聚糖残留乙酰基中的甲基氢. 壳聚糖的分子量不同,或脱乙酰度不同,其残留的乙酰基中的甲基氢的化学位移也略有不同(表 1).

比较两种反应体系,以 NaOH-水为反应体系制得的壳聚糖分子量大,且脱乙酰更趋完全. 在各种条件下制备的壳聚糖的粘均分子量如表 1 所示.

表 1 不同反应条件下制备的壳聚糖的脱乙酰度及黏均分子量

Table 1 Degree of deacetylaion and viscosity-average molecular weight of chitosan prepared under different conditions

样品	反应体系	反应时间/h	CH ₃ CO—中 H 的化学位移	脱乙酰度/%	分子量/(M _η ×10 ⁻⁴)
C3	NaOH 正戊醇	3.0	2.27	97.7	35
C4	NaOH-正戊醇	5.0	2.27	98.2	24
C6	NaOH-H ₂ O	2.0+2.0+2.0	2.32	98.2	84
C7	NaOH-H ₂ O	3.0+4.0	2.32	99.7	100
C8	NaOH-H ₂ O	4.0+4.0	2.33	99.9	81

在用 H₂O₂ 氧化降解壳聚糖时,若 H₂O₂ 用量少,则降解程度小,如果用量过大,则导致氨基被氧化,产品颜色加深^[7-10],甚至发生脱氨基现象,严重破坏壳聚糖的结构^[11]. 因此制备分子量较小的壳聚糖(如分子量为几万),就不能使用高分子量的壳聚糖为反应底物,而应该用 H₂O₂ 降解中等分子量的壳聚糖,这样 H₂O₂ 的用量不会太大,壳聚糖可保持原有的结构.

改变降解时过氧化氢的用量、反应温度及反

应时间,能制得不同分子量的壳聚糖(表 2).

反应温度为 75 ℃,R 值为 1.0 时,反应时间由 30 min 延长至 90 min,降解后壳聚糖分子量变化不大. C4 降解反应 30 min 后,R 值由 0.5 变为 1.0 时,降解后壳聚糖分子量由 14 万降至 5.4 万,变化显著. 因此 H₂O₂ 的用量对壳聚糖降解的影响较反应时间和反应温度的影响大,H₂O₂ 用量越大降解越快且降解程度越大.

表 2 降解条件对壳聚糖黏均分子量的影响

Table 2 Influence of degradation conditions on viscosity-average molecular weights of chitosan

原壳聚糖 分子量 $/(M\eta\times10^{-4})$	反应 时间 /min	R	反应 温度 /℃	产物壳聚 糖分子量 $/(M\eta\times10^{-4})$
84	30	0.3	65	56
84	30	0.5	65	44
84	20	0.5	65	50
24	30	0.3	65	16
24	30	0.5	65	14
24	30	1.0	75	5.4
24	45	1.0	75	4.6
24	90	1.0	75	3.2

3 结 语

用正戊醇-NaOH 反应体系脱乙酰化 5 h 可制备脱乙酰度大于 98% 的超高脱乙酰度壳聚糖, 所得到的壳聚糖黏均分子量为 24 万. 甲壳素在 NaOH-水体系中脱乙酰化, 间歇反应 2 次(3 h 和 4 h)或间歇反应 3 次(每次 2 h), 均可生成脱乙酰度大于 98% 的超高脱乙酰度壳聚糖, 所制得的壳聚糖黏均分子量在 81 万到 100 万之间. 延长反应时间, 脱乙酰度略有增大, 但壳聚糖分子量逐渐减小. 甲壳素在 NaOH-水体系中脱乙酰更彻底.

将分子量为 24 万的壳聚糖降解, 在 65~75 ℃ 的温度范围内, 改变 H₂O₂ 用量、反应时间, 即可制备粘均分子量在 20 万以下的超高脱乙酰度壳聚糖. 用相同的方法降解高分子量壳聚糖, 可以制备粘均分子量在 24 万到 100 万之间的超高脱乙酰度壳聚糖.

致 谢

感谢国家自然科学基金委员会对本工作的资助.

参考文献:

[1] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. JIANG Ting-da. Chitosan[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006. (in Chinese)

[2] 欧春艳, 李林通. 壳聚糖降解研究的最新进[J]. 广州化工, 2013, 41(6): 13-15. OU Chun-yan, LI Lin-tong. Recent progress of study on degradation of chitosan[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2013, 41(6): 13-15. (in Chi-

nese)

[3] 蒋元勋, 李海鹰, 杨文智, 等. 壳聚糖脱乙酰度测定方法的总结与比较[J]. 应用化工, 2011, 40(10): 1837-1841. JIANG Yuan-xun, LI Hai-ying, YANG Wen-zhi, et al. The methods about degree of deacetylation determination of chitosan: summary and discussion[J]. Applied Chemical Industry, 2011, 40(10): 1837-1841. (in Chinese)

[4] 林春梅. 壳聚糖黏均分子量的测定[J]. 山东农业科学, 2011(7): 105-106. LIN Chun-mei. Detection of chitosan molecular weight[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2011(7): 105-106. (in Chinese)

[5] KWON T H, JUN T K, SOON T J, et. al. Properties of chitosan-based biopolymer films with various degrees of deacetylation and molecular weights[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2003, 89: 3476 - 3484.

[6] 寇晓亮, 王琛. 壳聚糖及其降解产物黏均分子质量的测定[J]. 化纤与纺织技术, 2010, 39(1): 43-46. KOU Xiao-liang, WANG Chen. Detection the viscosity-average molecular weight of chitosan and its degradation products[J]. Chemical Fiber & Textile Technology, 2010, 39(1): 43-46. (in Chinese)

[7] 王喆. 低分子量壳聚糖的制备[D]. 长春: 长春工业大学, 2011. WANG Zhe. Preparation of low molecular weight chitosan[D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2011. (in Chinese)

[8] 郑必胜, 周萌. 壳聚糖氧化降解制备壳寡糖的研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(8): 959-963. ZHENG Bi-sheng, ZHOU Meng. Oxidation degradation of chitosan for preparation of oligochitosan[J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(8): 959-963. (in Chinese)

[9] 周萌. 壳聚糖的氧化降解及壳寡糖的分离纯化[D]. 广州: 华南理工大学, 2013. ZHOU Meng. The oxidative degradation of chitosan and the purification of oligochitosan[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013. (in Chinese)

[10] CHANG K L B, TAI M C, CHENG F H. Kinetics and products of the degradation of chitosan by hydrogen peroxide[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49: 4845-4851.

[11] QIN C Q, DU Y M, XIAO L. Effect of hydrogen peroxide treatment on the molecular weight and structure of chitosan[J]. Polymer Degradation and Stability, 2002, 76: 211-218.

Preparation of chitosan with various molecular weight and ultra-high degree of deacetylation

BAI Zheng-wu , FU Ke-qin , BIN Qin , LUO Ying-bin , LIU Tao , CHEN Wei

School of Chemical and Environmental Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China

Abstract: In the presence of sodium borohydride, chitin was deacylated in n-pentanol/sodium hydroxide or in an aqueous solution of sodium hydroxide, followed by the degradation with an aqueous solution of hydrogen peroxide as the reaction system to obtain the chitosan with various molecular weight (*M. W.*) and ultra-high degree of deacetylation (*D. D.*). The *M. W.* ranges from 2.4×10^5 to 3.5×10^5 when the chitosan is prepared in n-pentanol/sodium hydroxide, and ranges from 8.1×10^5 to 1.0×10^6 when the one is prepared in an aqueous solution of sodium hydroxide. The experimental results show that the *D. D.* is above 98% when the chitosan is prepared by the reaction in n-pentanol/sodium hydroxide for 5 hours or in an aqueous solution of sodium hydroxide for 6 hours. With respect to deacetylation reaction, the *D. D.* will be increased if the reaction time is prolonged. Regarding the degradation of chitosan in an aqueous solution of hydrogen peroxide, the elements influencing the *M. W.* of the prepared chitosan include the feed ratio of hydrogen peroxide to chitosan, reaction temperature and reaction duration. Meanwhile the feed ratio of hydrogen peroxide to chitosan is a dominant factor. By adjusting these elements, the chitosan with a *M. W.* ranges from 3.2×10^4 to 5.6×10^5 can be prepared.

Key words: chitin; chitosan; deacetylation; degradation

本文编辑:张 瑞