

脱乙酰化反应条件对壳聚糖性能的影响

夏文水 王 璋

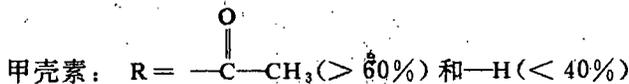
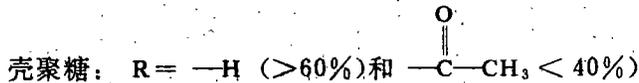
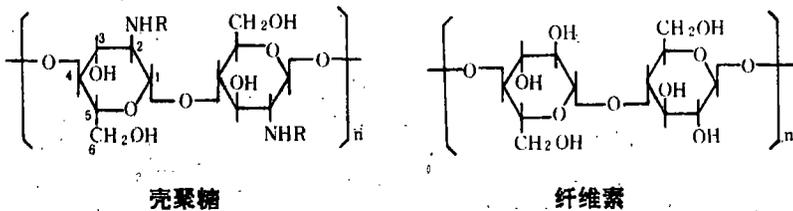
(食品科学与工程系)

摘要 本文研究了甲壳素在脱乙酰化反应时不同反应条件,如碱浓度、反应时间、反应温度和处理方法对壳聚糖性能,如分子量、脱乙酰化度的影响,探讨了分子主链降解反应与脱乙酰化反应之间的关系。结果表明:随着碱浓度和反应时间的增加,壳聚糖脱乙酰化度提高,而分子量降低;脱乙酰化越高,主链降解程度增加;反应温度升高,脱乙酰化反应速度加快;而采用短时重复多次反应的处理方法,则可增加壳聚糖的脱乙酰化度,并减少主链降解程度。

关键词 甲壳素;壳聚糖;脱乙酰化反应;降解反应

0 前 言

壳聚糖(Chitosan)是一种由 2-氨基-2-脱氧葡萄糖和少量 2-乙酰氨基-2-脱氧葡萄糖(小于 40%)单体通过 β -(1,4)糖苷键连接起来的直链多糖,其结构类似于纤维素(Cellulose),可由甲壳素(Chitin)经脱去乙酰基而制得。



由于甲壳素呈晶体结构^[1],在溶剂中的溶解和进行化学反应较困难,而使其应用性受到很大的限制。但壳聚糖因为分子中存在绝大多数游离胺基,不仅显示出许多独特、潜在的新

收稿日期: 1991-10-07

用途,而且也能在稀酸类介质中溶解,加之分子内可供结构修饰的基团增多,反应活性大大增强,可制备成各种各样的衍生物,从而进一步开拓了壳聚糖的应用范围,被广泛应用于纺织、印染、造纸、食品、医药、废水处理、金属回收、环境保护、化妆品、日用化工等众多领域^[2,3]。

壳聚糖在自然界仅存在于接合菌(zygomycetes)的细胞壁中^[4]。壳聚糖的制备,工业上目前主要是以虾、蟹壳为原料,经脱盐、脱蛋白质后,提取得到甲壳素,再将甲壳素在浓碱作用下脱去乙酰基而制得^[5]。我国沿海各地有不少小规模壳聚糖生产厂家^[6]。但不同来源的原料、不同制备方法和不同反应条件,所制备得到的壳聚糖性能存在差异^[7]。Bough 等人研究了壳聚糖的制备过程中,脱蛋白质、脱盐、原料粒度、反应时间和是否充氮气等条件,对壳聚糖的含氮量、灰分、粘度和分子量大小的影响^[8]。但对脱乙酰化反应的影响研究甚少。然而,脱乙酰化反应是影响壳聚糖性能最关键的因素。因为甲壳素在浓碱作用下,除了发生脱乙酰基反应外,还伴随着分子主链的降解反应,致使分子量降低^[3,5]。而分子量大小和游离胺基含量多少是反应壳聚糖性能的两个重要指标。一般用脱乙酰化度来反映游离胺基含量^[2],用粘度来衡量分子量大小^[5]。

本文研究在脱乙酰化反应中,碱浓度、反应时间、反应温度、处理方法等不同条件对壳聚糖粘度和脱乙酰化度的影响,并探讨分子主链降解反应与脱乙酰化反应之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

甲壳素 自制,粒度约 20 目。从新鲜河虾加工下脚料中经酶解和酸碱处理而制得^[9]。

1.2 方法

1.2.1 壳聚糖分子中游离氨基基团含量和葡萄糖胺基含量的测定 采用碱量法^[10]。

1.2.2 脱乙酰化度的计算 脱乙酰化度(Degree of Deacetylation 简称 DD)定义为甲壳素分子中脱除乙酰基的链节数(或胺基葡萄糖链节数)(用 m 表示)占总链节数(用 n 表示)的百分数。用下式表示

$$DD = \frac{m}{n} \times 100\% \quad (1)$$

脱乙酰化度可通过测定游离氨基基团含量而计算得到。其关系如下式

$$NH_2\% = \frac{m \times 16}{n \times 203 - m \times 42} \times 100 \quad (2)$$

其中 16 为 NH_2 的分子量,203 为乙酰胺基葡萄糖链节分子量,42 为被脱去的乙酰基分子量。

(2)式可改写为

$$\frac{m}{n} = \frac{203 \times NH_2}{16 + 42NH_2} \quad (3)$$

将(1)式代入(3)式

$$DD = \frac{203 \times \text{NH}_2}{16 + 42\text{NH}_2} \times 100\%$$

1.2.3 壳聚糖溶液粘度测定 将壳聚糖以 0.1% (g/L) 浓度溶解于 2% 醋酸溶液中, 搅拌溶解后, 用棉花过滤, 取滤液在 30°C 下, 用奥氏粘度管测量壳聚糖溶液在管中的流动时间 t , 以蒸馏水流动时间 $t_{\text{H}_2\text{O}}$ 作空白对照, 以 $t/t_{\text{H}_2\text{O}}$ 表示为壳聚糖的相对粘度 η_r .

1.2.4 脱乙酰化反应速度的测定 取 10g 甲壳素在不同碱浓度中于 60°C 反应 16h, 取一定量产物测定葡萄糖胺基的含量, 以每小时葡萄糖胺基的生成量表示为脱乙酰化反应速度。

1.2.5 甲壳素的脱乙酰化反应 取一定量的甲壳素, 放于三角烧瓶中, 加入不同浓度的 NaOH 溶液, 待甲壳素浸湿后, 在不同温度下, 反应不同时间, 反应完毕, 将反应液倒入大量水中, 离心 (4000r/min) 分离, 沉淀物水洗至中性, 干燥得到无色无味的细片状固体。

1.2.6 甲壳素脱乙酰化反应的处理方法 取一定量的甲壳素两份, 在 50% NaOH 溶液中反应。一份连续反应 48h, 测定产物的 η_r 和 DD. 另一份在反应到 16h 时, 将反应物离心分离, 水洗至中性, 沉淀物经干燥后, 在同样条件下, 再重复反应二次。每次测定产物的 η_r 和 DD.

2 实验结果

2.1 碱浓度和反应时间对壳聚糖脱乙酰化度的影响

在一定温度下, 甲壳素在不同碱浓度中反应不同时间后, 其产物壳聚糖脱乙酰化度的变化见图 1. 从图中可看出, 碱浓度越高, 脱乙酰化度越大, 反应时间越长, 脱乙酰化度增加, 在反应开始至 8h 前, 脱乙酰化度增加快, 随着反应的进行, 脱乙酰化度增加减慢。30% NaOH 溶液对甲壳素的脱乙酰基作用不大。

2.2 碱浓度对脱乙酰化反应速度的影响

图 2 表示碱浓度与甲壳素脱乙酰化反应速度的关系, 从图中可知, 随着碱浓度的增加, 脱乙酰化反应速度增加; 但 NaOH 浓度在 50% 以后, 反应速度缓慢增加。

2.3 碱浓度和反应时间对壳聚糖粘度的影响

图 3 表示碱浓度和反应时间对壳聚糖粘度的影响。从图中可看出, 随着反应时间增加, 壳聚糖粘度逐渐下降; 碱浓度越大, 粘度降低速度越快。

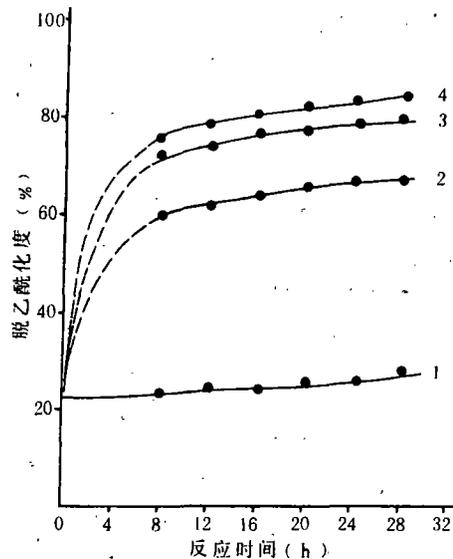


图 1 碱浓度和反应时间对壳聚糖脱乙酰化度的影响

1. 30% NaOH 2. 40% NaOH 3. 50% NaOH
4. 60% NaOH 反应温度 65°C

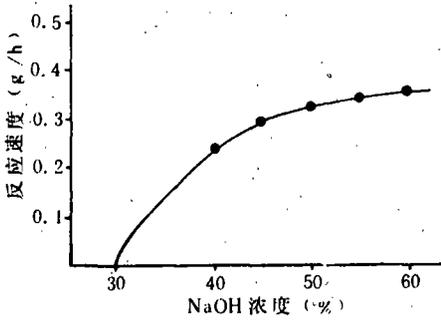


图 2 碱浓度与脱乙酰化反应速度的关系

反应温度 65°C 反应时间 16h

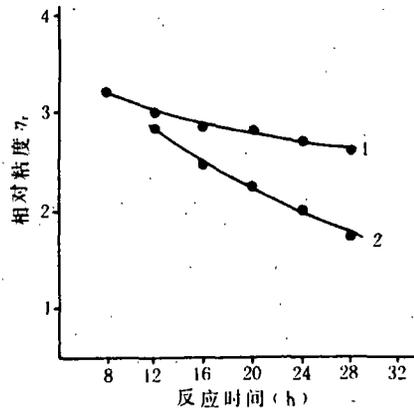


图 3 碱浓度和反应时间对壳聚糖粘度的影响

1. 1.50%NaOH 2. 2.60%NaOH 反应温度 65°C

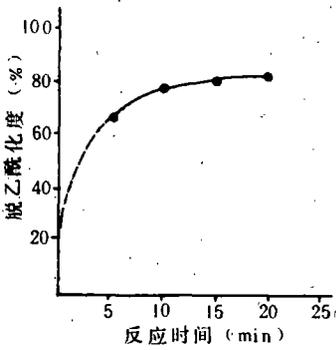


图 4 反应温度与壳聚糖脱乙酰化度的关系

反应温度 150°C 50%NaOH

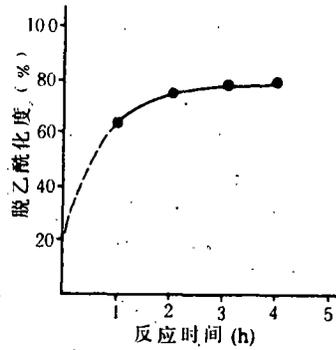


图 5 反应温度与壳聚糖脱乙酰化度的关系

反应温度 120°C 50%NaOH

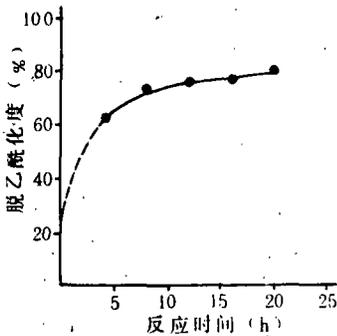


图 6 反应温度与壳聚糖脱乙酰化度的关系

反应温度 80°C 50%NaOH

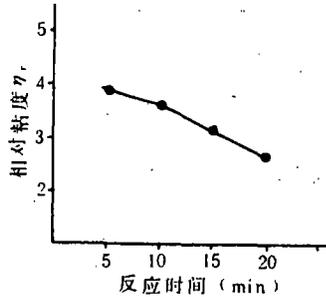


图 7 反应温度对壳聚糖粘度的影响

反应温度 150°C 50%NaOH

2.4 反应温度对壳聚糖的脱乙酰化度和粘度的影响

图4—图6表示反应温度与壳聚糖脱乙酰化度的关系。从中可看出,温度升高,可使脱乙酰化反应速度加快。在脱乙酰化度达到80%时,150°C只需反应15min,120°C时为3h,而80°C时则需要16h。图7—图9表示反应温度对壳聚糖粘度的影响,由此可知,在不同温度下,随着反应进行,壳聚糖粘度均有所下降。且温度越高,壳聚糖粘度下降越快。

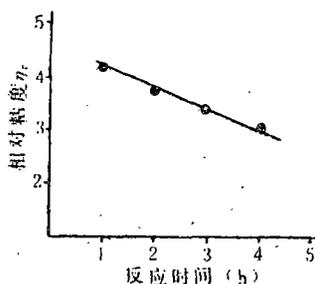


图8 反应温度对壳聚糖粘度的影响

反应温度 120°C 50%NaOH

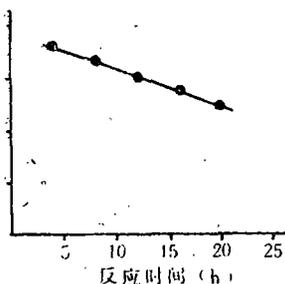


图9 反应温度对壳聚糖粘度的影响

反应温度 80°C 50%NaOH

2.5 不同处理方法对壳聚糖脱乙酰化度和粘度的影响

图10表示不同处理方法对壳聚糖脱乙酰化度和粘度的影响。由此可知,一次性反应(长时间连续反应),壳聚糖粘度降低快,且脱乙酰化度增加缓慢;若分次重复反应(间断反应),则壳聚糖粘度下降减少,而脱乙酰化度增加幅度变大。

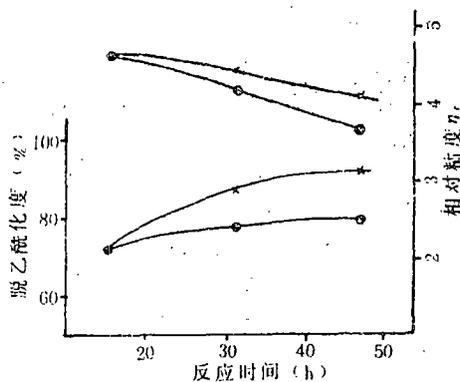


图10 不同处理方法对壳聚糖粘度和脱乙酰化度的影响

1. 壳聚糖粘度曲线 2. 壳聚糖脱乙酰化度曲线
 · 一次性反应 48h × 分三次重复反应, 每次 16h 反应温度 60°C 50%NaOH

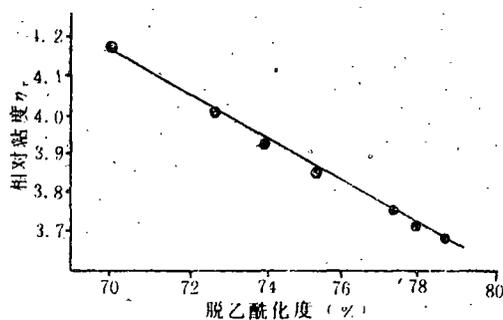


图11 壳聚糖粘度与脱乙酰化度的关系

50%NaOH 反应温度 60°C 图中从左上到右下各点分别为反应 8、12、16、20、24 和 28h 时壳聚糖的 η_r 和 DD。

2.6 壳聚糖粘度与脱乙酰化度的关系

在脱乙酰化反应中,壳聚糖粘度与脱乙酰化度的关系见图 11.从图中可看出,在一定碱浓度作用下,壳聚糖脱乙酰化度越高,其粘度相应变小,随着脱乙酰化度的增加,粘度呈线性下降。

3 讨 论

3.1 反应条件对甲壳素脱乙酰化反应的影响

甲壳素脱乙酰化反应本质上是乙酰胺的水解,用反应式表示如下,由于酰胺键比较稳



定,在普通条件下不易发生水解,需要强酸、强碱等激烈条件。对于有空间阻碍的酰胺,水解更难进行^[11]。在甲壳素分子中,C₂上乙酰胺基受到了邻位羟基位阻的影响,加之甲壳素与浓碱反应为非均相反应,更增添了酰胺键水解的难度。实验结果显示,甲壳素脱乙酰化反应需要 30% 以上的 NaOH 溶液。碱浓度越高,脱乙酰化反应越易进行。若提高反应温度,可使水解反应速度加快。在一定条件下,在初始阶段,甲壳素脱去乙酰基反应明显,而当脱乙酰化度达到 80% 左右时,随着反应时间的延长,脱乙酰化度基本不变。这说明在反应条件中,碱浓度是影响脱乙酰化反应的主要因素。

3.2 主链降解反应与脱乙酰化反应之间的关系

在甲壳素分子中,除了有酰胺键外,还存在缩醛结构和糖苷键等,在强烈条件的作用下,特别是在空气中,也会发生断裂,使分子主链降解,分子量变小,反应在宏观上就是壳聚糖粘度降低。从实验结果可知,碱浓度越高,反应时间越长,壳聚糖粘度降低越多;温度增高,粘度降低越快,并且随着脱乙酰化反应进行,粘度逐渐下降,脱乙酰化度越高,粘度变小,这说明分子主链发生了降解,同时降解反应是伴随脱乙酰化反应发生,是无法避免的。但降解反应比脱乙酰化反应要小得多,因而可以通过选择一定的脱乙酰化反应条件,尽可能减少分子主链降解的程度。

3.3 反应条件与壳聚糖性能的关系

要制备具有一定性能的壳聚糖,应当选择最佳反应条件。从实验结果可以看出,若要提高壳聚糖的脱乙酰化度,可以增加碱浓度,但碱浓度太高,易发生主链降解,宜选择 40%—50% 的 NaOH 溶液。为了得到高分子量的壳聚糖,应尽量在乙酰化反应达到最大时,缩短反应时间,以减少主链降解反应。采用短时重复多次反应的处理方法,可以生产脱乙酰化度很高而分子量又大的壳聚糖。对于反应温度,视情况而异,由于低温下,主链降解反应慢,较易得到高粘度的壳聚糖,而在高温下,操作要求严,若工业化生产时,则机械化程度必须高。不同性能的壳聚糖具有不同的用途,可根据脱乙酰化反应条件与壳聚糖性能之间的关系,采用相应的制备工艺条件。

参 考 文 献

- 1 Dweltz N E. *Biochim Biophys Acta*. 1960;44:416-435
- 2 Muzzarelli R A A and Pariser E R. eds. *Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan*. MIT Sea Grant. Cambridge, MA, 1978
- 3 Muzzarelli R A A. *Chitin*, Oxford Pergamon Press, 1977
- 4 Davis B and Eveleigh O E. *Chitin, Chitosan and Related Enzymes*. 1984:161-179
- 5 谢雅明. *化学世界*, 1983;4:118
- 6 陈玉铭, 朱明生, 姚敏杰等. *江苏食品与发酵*, 1991;1:1
- 7 Muzzarelli R A A, Tanfani F, Emanuelli M etc. *J Applied Biochem*. 1981;3:316-321
- 8 Bough W A, Salter W L, Wu A C M etc. *Biotechnology and Bioengineering*, 1978;XX:1931-1943
- 9 夏文水, 王璋. *无锡轻工业学院学报*, 1991;4:11
- 10 汪志君. *化学世界*, 1986;1:22
- 11 邢其毅, 徐瑞秋, 周政. *基础有机化学*. 高等教育出版社, 1984:474

The Effect of Deacetylating Variables on the Performances of Chitosan

Xia Wenshui Wang Zhang

(Dept. of Food Sci. and Eng.)

Abstract The effect of reaction variables (alkali concentration, time, temperature and treatment) on the performances (molecular weight and degree of deacetylation) of chitosan was investigated when chitin was deacetylated with alkali. The relation between degradation and deacetylation of chitin was observed in the reaction. It is shown that the higher alkali concentration and prolonged time increase the degree of deacetylation and reduce molecular size; the higher the degree of deacetylation, the degradation of the molecular chains is more severe; the higher the temperature increases the rate of deacetylation; however, the shortened time and intermittent treatments increase the degree of deacetylation and lower the extent of degradation. The above conclusion will provide scientific basis for the improvement of technological condition in the preparation of chitosan.

Key words chitin; chitosan; deacetylation; degradation