

文章编号:1673-1689(2008)04-0049-04

制备甲壳素过程中 EDTA 脱钙法的研究

何兰珍, 杨丹, 刘毅, 陈亚胜

(广东海洋大学理学院, 广东湛江 524088)

摘 要:通过对不同条件下制备而成的甲壳素进行灰分(含钙量)、红外光谱、扫描电镜等分析测试,比较了采用 EDTA 溶液代替盐酸制备甲壳素的脱钙效果以及甲壳素在结构、性能参数等方面的变化。其结果为:无论是用 pH=4, 还是 pH=10 的 EDTA 饱和溶液,其脱钙效果都远远大于 pH=4 的盐酸溶液;由不同脱钙法所制得的甲壳素其结构基本一致,但相对分子质量有较大差别,其中以 EDTA 脱钙法制备的甲壳素相对分子质量较大。

关键词:甲壳素;EDTA;灰分;红外光谱;扫描电镜

中图分类号:Q 539

文献标识码:A

Study on the Preparation of Chitin with EDTA Decalcify Method

HE Lan-zhen, YANG Dan, LIU Yi, CHEN Ya-sheng

(College of Science, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: The ash content (calcium content), DD, IR as well as SEM was used to analyze the chitin prepared by different conditions. The results showed that the saturate solution of EDTA has better decalcification effect in chitin preparation than HCl. No matter the pH of EDTA solution is four or ten, their effects are all much better than that of HCl (pH=4). Therefore EDTA may replace HCl for decalcification in chitin preparation. Although comparing with HCl, the cost of EDTA is high and the disposable investment is also large, it is very easy to be retrieved and could be used repeatedly. The DD of product slightly increased along with the increase of concentration of alkaline solution and the time of reaction.

Key words: chitin; EDTA; ash; IR spectrum; SEM

甲壳素(chitin),又名几丁质,学名为[(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-葡聚糖],是自然界生物所含有的一种氨基多糖,主要存在于节肢动物如虾、蟹的外壳以及真菌及一些藻类植物的细胞壁中。由于甲壳素及其衍生物具有许多独特的优点,如可生物降解、安全无毒、有良好的生物相容性且化学性质稳定等,近年来被广泛应用于化妆品、医药、膜材

料和环保等领域^[1-5]。

甲壳素的制备一般采用 HCl 脱钙(简称 H 法),NaOH 脱蛋白,这两种化学品对甲壳素的分子链都有损害,而且能耗高,废弃物对环境污染较严重,因此,改革生产工艺是研究甲壳素的一个重要课题。作者采用 EDTA 替代 HCl 制备甲壳素(简称 E 法),并进行了较为系统的研究,对两种方法制

收稿日期:2007-05-18.

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(033984);广东省教育厅自然科学研究项目(0151).

作者简介:何兰珍(1966-),女,广东徐闻人,工学硕士,副教授,主要从事应用化学研究. Email: hlzh204@sina.com

得的甲壳素性能指标进行了比较^[6-6]。研究结果表明,由于 EDTA 所特有的脱钙机理,同等条件下,其脱钙效果较好,所制得的甲壳素相对分子质量较高,而且 EDTA 可回收,因而可减少环境污染。作者对 pH=4, pH=10 的 EDTA 饱和溶液与 pH=4, 1 mol/L 的盐酸溶液的脱钙效果进行了比较。

1 材料与方 法

1.1 原材料

甲壳素:采用湛江海水养殖虾蟹壳自制;各种化学试剂均为国产分析纯、化学纯试剂。

1.2 甲壳素的制备

JA-H1:新鲜虾壳洗净,55℃下烘干,用 1 mol/L NaOH 室温下浸泡 24 h,洗涤至中性,烘干,再用 1 mol/L 的 HCl 浸泡至无气泡产生,洗涤至中性,烘干。将此过程重复一遍,制得甲壳素试样;

JA-H2:新鲜虾壳洗净,55℃下烘干,用 1 mol/L NaOH 室温下浸泡 24 h,洗涤至中性,烘干,再用 pH=4 的 HCl 浸泡至无气泡产生,洗涤至中性,烘干。将此过程重复一遍,制得甲壳素试样;

JA-E4:新鲜虾壳洗净,55℃下烘干,用 1 mol/L NaOH 室温下浸泡 24 h,洗涤至中性,烘干,再用 pH=4 的 EDTA 饱和溶液浸泡至无气泡产生,洗涤至中性,烘干。将此过程重复一遍,制得甲壳素试样;

JA-E10:新鲜虾壳洗净,55℃下烘干,用 1 mol/L NaOH 室温下浸泡 24 h,洗涤至中性,烘干,再用 pH=10 的 EDTA 饱和溶液浸泡至无气泡产生,洗涤至中性,烘干。将此过程重复一遍,制得甲壳素试样。

1.3 测试方法

1.3.1 含钙量的测定(灰分的测定) 采用试样在 550℃下灼烧生成的灰分来表征甲壳素试样的含钙量, CaCO₃ 的分解温度为 825℃,所以甲壳素试样的灰分数据可间接表征试样的含钙量^[7]。

在已恒重的坩埚中准确称取 2.000 g 壳聚糖样品,在普通电炉上先行烤至炭化,然后放入马福炉,于 550℃±20℃灼烧 3 h,取出,在空气中冷却 1 min,再在干燥器中冷却 30 min,称重。称重后再放入电炉中灼烧 1 h,冷却,两次质量差小于 0.001 g 为恒重。

按下式计算灰分:

$$\text{灰分} = ((w_2 - w_0) / (w_1 - w_0)) \times 100\%$$

式中: w_0 —已恒重的空坩埚质量, g; w_1 —坩埚加样品质量, g; w_2 —灰化后坩埚灰分质量, g。

1.3.2 产率的计算 参考文献[6]、[7]。

1.3.3 脱乙酰度的测定 参考文献[7]。

1.3.4 相对分子质量的测定 参考文献[8]。

1.3.5 红外光谱 在 Nicolet-550 型红外光谱仪上进行,光谱分辨率为 4 cm⁻¹,扫描次数为 16 次。试样为 KBr 压片。

1.3.6 扫描电镜分析 在 XL30-EDAX 扫描电子显微镜(荷兰 PHILIPS)上完成,用 HITACHI E-1010 离子溅射仪在观察面上镀金。

2 结果与分析

2.1 用 H 法和 E 法制备甲壳素的研究

从表中可看出,用 E 法从虾壳制备的甲壳素的各种性能参数均优于 H 法制备的产品。其中 JA-E4 和 JA-E10 的平均产率比 JA-H1 高 9.6%, (JA-H2 的产率高的原因是脱钙不完全。)脱乙酰度高 30.1%,相对分子质量高 40.9%。各种浓度的 EDTA 饱和溶液都有较好的脱钙效果,从数值上来, pH=4 的 EDTA 饱和溶液的脱钙效果更好一点,但此处不排除试样中存在钙含量分布不均匀的现象。而无论是用 pH=4, 还是 pH=10 的 EDTA 饱和溶液的效果都远远大于 pH=4 的盐酸,可见 pH=4 的 EDTA 饱和溶液脱钙时主要是与金属离子形成配合物的机理发挥作用,其酸性的影响很小。

表 1 用 E 法和 H 法从虾壳制备的甲壳素的各种性能参数

Tab.1 Properties of chitin and chitosan samples made from shrimp shell

编号	产率/%	脱乙酰度/%	相对分子质量 (×10 ⁵)	灰分质量 分数/%
JA-H1	19.05	22.32	9.69	10.38
JA-H2	28.88	18.32	10.62	40.25
JA-E4	21.01	30.24	14.05	1.87
JA-E10	21.12	28.56	13.28	2.18

2.2 红外光谱分析(IR)

图 1 为用 E 法和 H 法制备的甲壳素试样 IR 图。对高分子化合物进行 IR 分析,判断其结构的有无变化^[10]。E 法的产率高于 H 法,可理解为主要由于 E 法的脱钙更充分,使紧密的虾壳变得松动。分别对比 JA-H1、JA-H2、JA-E4、JA-E10,进行了 IR 分析,可看到二者谱图无论是出峰位置,还是吸收峰的强度都极其相似。JA-H、JA-E 中各主要吸收谱带的归属为^[10-12]: 3 500~3 260 cm⁻¹ 处的宽峰为 $\nu(\text{O-H}) + \nu(\text{N-H})$; 2 930~2 892 cm⁻¹ 处的一

组峰为 $\nu(\text{C-H})$; $1\,665\text{ cm}^{-1}$ 左右的峰为 $\nu(\text{C=O})$ (酰胺 I 谱带); $1\,559\text{ cm}^{-1}$ 处的峰为 $\delta(\text{N-H})$ (包括酰胺 II 谱带); $1\,419\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,379\text{ cm}^{-1}$ 处的峰为 $\delta(\text{CH}_2) + \delta(\text{CH}_3)$; $1\,316\text{ cm}^{-1}$ 处的峰为酰胺 III 谱带; $1\,159\text{ cm}^{-1}$ 左右的峰为 $\nu(\text{C-O-C})$; $1\,117\text{ cm}^{-1}$ 处的峰为 $\nu(\text{环})$; $1\,074$ 和 $1\,029\text{ cm}^{-1}$ 处的峰为 $\nu(\text{C-O})$, 依次分别为二级醇羟基和一级醇羟基。比较 JA-H 和 JA-E 可知,在 JA-E 的谱图上没有发生基团增加和减少的情况,也无大的吸收强度变化,可说明 JA-E 相对于 JA-H 没有发生结构上的变化。^[9-10]

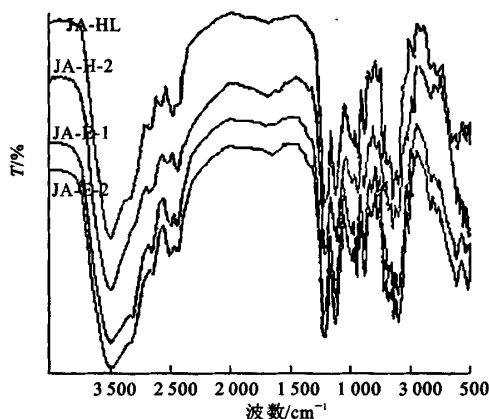
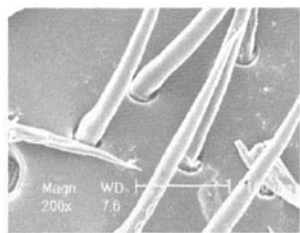


图1 甲壳素试样 IR 图
Fig. 1 IR spectra of chitin samples

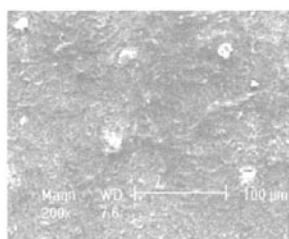
2.3 扫描电镜(SEM)分析

实验在 XL30-EDAX 扫描电子显微镜(荷兰 PHILIPS)上完成,用 HITACHI E-1010 离子溅射仪在观察面上镀金,对样品进行了电镜扫描。分别观察其的外表面和内表面,放大倍数为 200,结果见图 2。

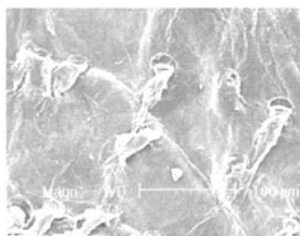
根据 Gershecker 的工作及研究表明,甲壳由表壳层、外壳层、含钙内壳层及非含钙内壳层组成。真皮层位于含钙内壳层内,真皮层内的色素细胞分泌黑色素。表壳层由酚类、脂肪、蛋白质所组成的薄膜状结构,在甲壳体面表起到类似“涂层”的保护作用^[38]。



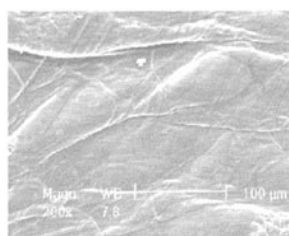
(a) JA 外表面形貌×200



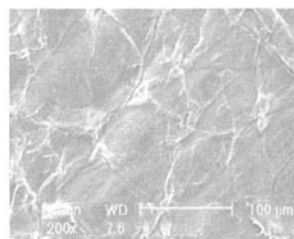
(b) JA 内表面形貌×200



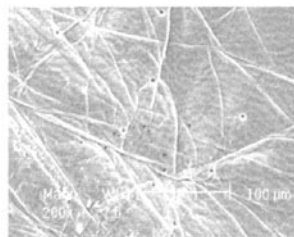
(c) JA-E10 外表面形貌×200



(d) JA-E10 内表面形貌×200



(e) JA-E10F 外表面形貌×200



(f) JA-E10F 内表面形貌×200

图2 甲壳素试样电镜照片

Fig. 2 Electron microscope photo of chitin

JA 是未经任何处理的甲壳,JA-E-10 是 JA 用 1 mol/L NaOH 的 EDTA 饱和溶液浸泡 24 h,再洗涤至中性,烘干而成的,JA-E-10F 是在 JA-E-1 的基

础上在重复用 10 mol/LNaOH 的 EDTA 饱和溶液浸泡 24 h 而制得。

图 2(a)为 JA 的外表面形貌,从这张图可以看出 JA 的外表面布满刚毛,刚毛基部孔穴边缘光滑,在表壳层上还聚有少量碎屑。而从图 2(c)可以看出 JA-E10 外表面的刚毛已被软化,有部分已被溶解,脱钙效果良好。而再用 1 mol/LNaOH 的 EDTA 饱和溶液浸泡 24 h 的 JA-E10F(如图 2(e))外表面已看不到有刚毛,完全溶解了,这跟灰分测出来的结果相符,JA-E10F 的脱钙效果最好。

图 2(b)、2(d)、2(f)都为内表面形貌的图,从图 2(b)可看出 JA 的内表面堆积满钙、脂肪等物质,呈现凹凸不平的“丘陵”形貌,而随着用 1 mol/LNaOH 的 EDTA 饱和溶液浸泡的时间越长,无机盐被去掉的就越多,这种凹凸不平的程度也就有所减低,“丘陵”形貌变得更加平坦,图 2(d)、2(f)明显就比图 2(b)的减低了很多,JA-E10F 效果就更强烈,如 JA-E10F 所示,去掉无机盐和蛋白质后,表面呈典型的蜂窝状结构。

参考文献(References):

- [1] 张延坤,刘国忠. 甲壳素与壳聚糖及其衍生物的制备和在日化工业中的应用[J]. 日用化学工业 1998,8(4):36-40.
ZHAN Yan-kun, LIU Guo-zhong. The preparation and applications of chitin, chitosan[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 1998, 8(4): 36-40. (in Chinese)
- [2] Duarte M L, Ferreira M C, Marvao M R, et al. Determination of the degree of acetylation of chitin materials by spectroscopy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2001, 28: 359-363.
- [3] 刘秉涛 姜渊知. 甲壳素/壳聚糖在环境治理上的应用[J]. 化学教育, 2006, 27(8): 3-5.
LIU Bing-tou, LUO Yuan-zhi. The application of chitin /chitosan to environment[J]. *Journal of Chemical Education*, 2006, 27(8): 3-5. (in Chinese)
- [4] 姚宏亮. 南极磷虾壳制备甲壳素/壳聚糖的工艺研究[J]. 水产科学, 2004, 23(5): 34-36.
YAO Hong-liang. Preparation of chitin and chitosan from the exoskeleton of antarctic Kill[J]. *Fisheries Science*, 2004, 23(5): 34-36. (in Chinese)
- [5] 夏文水, 苏畅. 甲壳素的酶水解机理及动力学研究进展[J]. 无锡轻工大学学报(食品与生物技术), 2002, 21(4): 435-438.
XIA Wen-shui, SU Chang. The reaction mechanism and kinetics of chitin/chitosan degradation with hydrolysaes[J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry(Food Science and Biotechnology)*, 2002, 21(4): 435-438. (in Chinese)
- [6] 刘毅, 杨丹, 何兰珍. EDTA 脱钙法制备甲壳素[J]. 化学研究与应用, 2004, 16(2): 278-279.
LIU Yi, YANG Dan, HE Lan-zhen. Study on the preparation of chitin with substituting EDTA for HCl[J]. *Chemical Research and Application*, 2004, 16(2): 278-279. (in Chinese)
- [7] 赵明, 何兰珍, 刘毅. 高相对分子质量甲壳素、壳聚糖的制备[J]. 药物生物技术, 2004, 11(4): 254-259.
ZHAO Ming, HE Lan - zhen, LIU Yi. Preparation of high relative molecular mass chitin and chitosan[J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2004, 11(4): 254-259. (in Chinese)
- [8] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001. 91-109.
- [9] 马恩忠, 韩蕴华. 甲壳素的制备及 IR 谱图分析[J]. 天津化工, 1997(1): 37-38.
MA An-hua, HAN Yun-hua. The preparation of chitin and IR analysis[J]. *Tianjin Chemical Industry*, 1997(1): 37-38. (in Chinese)
- [10] 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, 19(3): 282-287.
YANG Jian-hong, DU Yu-min, QIN Cai-qin. 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, 19(3): 282-287. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)