

文章编号 :1009-038X(2002)01-0015-05

微波对甲壳素脱乙酰反应的影响

张立彦¹, 曾庆孝¹, 林珣², 龙佳²

(1. 华南理工大学 食品与生物工程学院, 广东 广州 510640; 2. 多能保健食品有限公司, 广东 南海 528251)

摘 要:在反应初期,壳聚糖的脱乙酰度随温度的升高而增大,而后反应速率减慢,脱乙酰度的变化也减小。当 NaOH 溶液质量分数达到 45% 左右、温度达 100℃ 以上后,反应速率急剧提高,脱乙酰度也发生较大变化。对于 NaOH 溶液的加热,与常规加热方式相比,微波具有快速加热的优越特性。利用 H-NMR 研究发现,微波对甲壳素脱乙酰反应有一定的“非热效应”。

关键词:微波;甲壳素;脱乙酰反应;机理

中图分类号:TS 241

文献标识码:A

Study of Mechanism of Deacetylation of Chitin Accelerated by Microwave

ZHANG Li-yan¹, ZENG Qing-xiao¹, LIN Xun², LONG Jia²

(1. Department of Food Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2. Guangdong Nanhai Donald Health Food Co., LTD, Nanhai 528251, China)

Abstract: At the initial stage of reaction, the degree of deacetylation (DD) of chitosan increased with the increasing of temperature. Then the velocity of the reaction slowed down, and the change of DD was decreased. When the concentration of NaOH reached about 45% and temperature was above 100℃, the velocity and DD increased greatly. Compared with conventional heating, microwave could heat NaOH solution faster. Through the study of H-NMR, microwave had non-heat effects on deacetylation of chitin.

Key words: microwave; chitin; deacetylation; mechanism

近年来,国内外掀起了甲壳素及其衍生物的开发研究热潮,人们对这一产业的发展表现了极大的关注^[1,2]。甲壳素是一种多糖类物质,每年生物合成的资源量高达 100 亿吨之多^[3]。壳聚糖是甲壳素脱乙酰基后的产物。由于化学结构不同,壳聚糖的水溶性比甲壳素好,其实际应用也较为广泛,在工业、农业、医药、食品、化妆品、造纸和纺织等诸多领域中都具有乐观的发展前景^[4,5]。

“碱量法”是甲壳素经脱乙酰反应制备壳聚糖

的众多方法中最常用的一种。此法是将甲壳素在质量分数为 40%~60% 的 NaOH 溶液中、60~100℃ 处理 20 h 多,或于 100~150℃ 处理 30~60 min^[6,7]。但是,前者处理时间长、所得壳聚糖的脱乙酰度较低,而后的能耗高、壳聚糖的粘度低。利用微波处理甲壳素和碱液的混合物,可以大大提高脱乙酰速率、缩短反应时间、提高壳聚糖的质量指标^[8,9]。国内此方面的研究主要集中在对甲壳素的物理状态及碱溶液质量分数等方面,对微波的作用及特点的

收稿日期:2001-10-22; 修订日期:2001-11-28。

基金项目:广东省海洋与渔业局项目(A2000 99H01)资助课题。

作者简介:张立彦(1974-),女,河北栾城人,食品科学博士研究生。

研究尚不多见.鉴于此,本文中以常规的处理方法作为对比,从两个方面探讨了微波的作用特点,研究此脱乙酰反应中微波的热效应和非热效应,以及对脱乙酰产品的分子结构的影响.

1 材料与方法

1.1 实验材料

粗甲壳素 汕头某厂提供.

1.2 实验仪器及设备

WD800ASL23 型微波炉,广东顺德格兰仕电器有限公司产品;PHS-25 酸度计,上海雷磁仪器厂产品;DZ-1 型滴定装置,上海第二分析仪器厂产品;DM6801A 测温仪,广东制品;核磁共振仪,德国制造.

1.3 实验方法

1.3.1 原料的预处理 将干燥的粗甲壳素打碎到粒度大小在 0.10~0.36 mm 之间,于 2 mol/L 的 HCl 溶液中搅拌浸泡 12 h,然后再用 1 mol/L 的 NaOH 溶液在 100 °C 下搅拌处理 12 h.洗成中性后于 80 °C 下烘干备用.

1.3.2 微波处理 称取 1 g 甲壳素原料于坩锅中,加入质量浓度为 50 g/dL 的 NaOH 溶液 12 mL,搅拌均匀后浸泡 20 min.将反应物放入微波炉内,炉内放入 150 mL 水,然后在一定功率下处理一段时间.待冷却后,过滤,用水反复冲洗至中性,于 102 °C 下烘干至恒重.

1.3.3 脱乙酰度的测定 酸碱滴定法^[10].脱乙酰度定义为,壳聚糖中乙酰化的氨基葡萄糖残基占总的氨基葡萄糖残基的百分比.

1.3.4 特性粘度的测定 以 0.1 mol/L 醋酸钠 + 0.2 mol/L 醋酸溶液为溶剂溶解壳聚糖,于 (30 ± 0.5) °C 下用乌氏粘度计测定样品的特性粘度.详见文献[11].

1.3.5 壳聚糖溶解性的测定 称取 0.020 g 壳聚糖样品置于烧杯中,加入 2% 的乙酸溶液 2 mL,充分搅拌,观察其溶解性.详见文献[8].

1.3.6 微波反应体系温度及质量变化的测定 微波处理前反应体系的质量计为 m_1 .微波加热后,立即取出坩锅放入自制保温杯(质量为 m_2)中,在 10 s 内准确测得总重 m_3 及温度 T (°C).待冷却后,用水反复冲洗产品至中性.烘干至恒重,测定产品脱乙酰度.

计算公式如下:

水分减少量 $m_4 = m_1 + m_2 - m_3$

$$\text{NaOH 质量分数 } X = \frac{6}{16.198 - m_4}$$

式中: m_1 ——反应前整个体系的质量(g);

m_2 ——自制保温杯的质量(g);

m_3 ——反应后整个体系的总质量(g);

m_4 ——水分减少量(g);

6——12 mL 50% 的 NaOH 溶液中 NaOH 的含量(g);

16.198——12 mL 50% 的 NaOH 溶液的质量(g).

1.3.7 核磁共振测定方法 溶剂: D_2O , 加少量盐酸溶解待测样品(pD_4);测定核: 1H 核;共振频率: 400 MHz;测定温度: 35 °C.详见文献[12,13].

2 结果与讨论

2.1 微波场中反应体系的变化情况

2.1.1 微波功率为 160 W 时反应体系的变化 测定了微波功率为 160 W 时,一系列微波处理时间下整个反应体系的温度、NaOH 溶液质量分数以及甲壳素脱乙酰度的变化情况,借此表征甲壳素的脱乙酰过程,结果如图 1 所示.

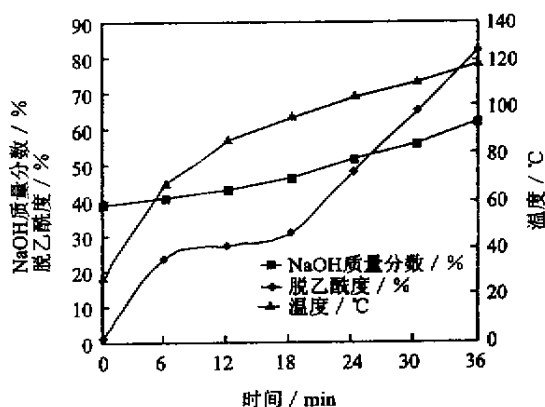


图 1 160 W 微波功率下体系参数的变化

Fig.1 Variation of parameters under microwaves of 160 W

由图 1 可以看出,在微波处理的最初 6 min 内,反应体系温度上升较快,NaOH 溶液质量分数由于水分的蒸发而逐渐变大,从 37% 升为 39%.观察产品脱乙酰度的变化,此时温度的提高对反应的影响最大,而在以后的 12 min 内,无论温度、NaOH 质量分数怎样变化,脱乙酰度都变化不大.当 NaOH 质量分数达到 45% 左右、温度达到 100 °C 以上时,脱乙酰度又开始逐渐增大,直至 NaOH 溶液被蒸干.此时,脱乙酰度最大可达 79.4%,共需时 36 min.

2.1.2 微波功率为 320 W 时反应体系的变化 微波功率为 320 W 时,甲壳素的脱乙酰反应过程如图

2 所示.

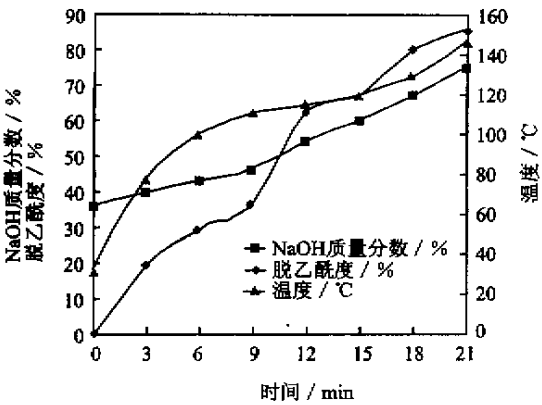


图 2 320 W 微波功率下反应体系的变化

Fig.2 Variation of reaction systems under microwaves of 320 W

由图 2 可以看出,在微波处理初期,脱乙酰度受温度的影响较大(与功率 160 W 时类似).同时,也出现了脱乙酰度变化较慢的阶段.但当 NaOH 质量分数达到 45% 以上、温度为 110 °C 左右时反应加速,脱乙酰度急剧增大,而后变化又减慢,在温度达到 120 °C、NaOH 溶液质量分数为 60% 时又急剧增大,最终脱乙酰度可达 85.65%.

2.1.3 微波功率为 480 W 时反应体系的变化 微波功率为 480 W 时,甲壳素的脱乙酰反应过程如图 3 所示.

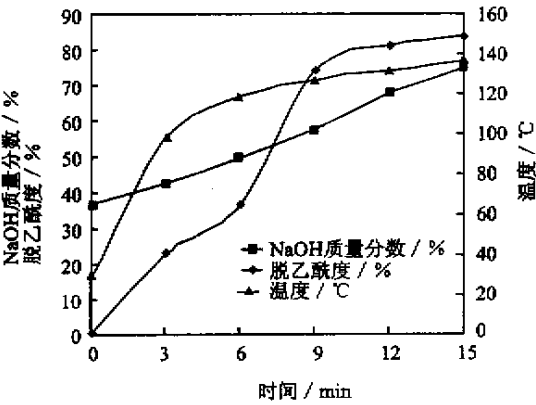


图 3 480 W 微波功率下反应体系参数的变化

Fig.3 Variation of reaction systems under microwaves of 480 W

从图 3 可以看出,微波加热初期,温升迅速,3 min 内反应体系温度就已达 99 °C,此时脱乙酰度也随之不断增加,而后速率稍慢.当 NaOH 溶液质量分数达 45% 以上、体系温度达到 120 °C 左右时,脱乙酰度急剧增大,再反应 3 min 后又立即转为平缓.整个反应只需 15 min,产品的脱乙酰度就可达 84.66%.

比较以上不同功率下反应体系温度、NaOH 溶液质量分数及脱乙酰度的变化情况,发现在反应初

期,体系受温度变化的影响较大,脱乙酰度随温度的升高而增大.而后反应速率减慢,脱乙酰度增加很小.当 NaOH 溶液质量分数达到 45% 左右、温度又在 100 °C 以上之后,反应速率急剧提高,脱乙酰度也发生较大变化.此状态持续的时间随微波功率不同而不同,如 160 W 为 18 min,320 W 为 3 min,480 W 为 2~3 min.此后,反应速率又趋于缓慢.对于上述 3 个反应,产品脱乙酰度达到 85% 左右后就不再变化了,这可能是由于脱下来的乙酰基浓度增加,且体系水分减少,溶剂作用减弱,使 NaOH 及乙酰基扩散速率降低,抑制了反应的进行.

2.2 微波与电加热对溶液温度变化的影响

常规加热及微波加热(功率为 160 W、320 W、480 W)蒸馏水、20% 和 50% 的 NaOH 溶液温升情况如图 4~7 所示.

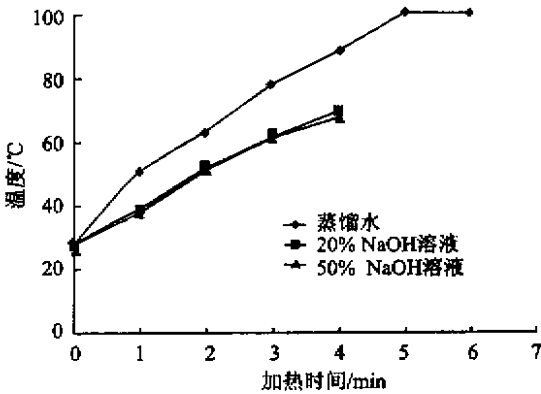


图 4 160 W 微波下溶液温升情况

Fig.4 Temperature variation of a solution when it was heated by microwaves of 160 W

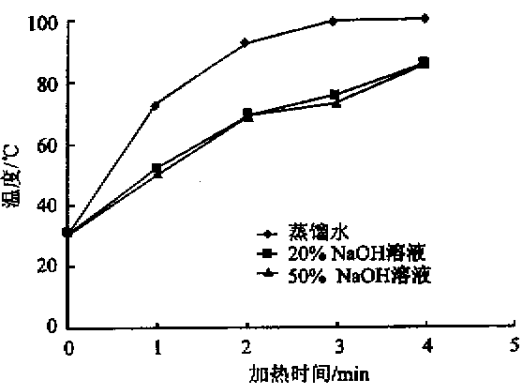


图 5 320 W 微波下溶液温升情况

Fig.5 Temperature variation when the solution was heated by microwaves of 320 W

可以看出,即使微波的功率较低(160 W),也能使纯水在较短时间内(5 min)达到沸腾的温度,320 W 时只需 3 min,而常规加热(300 W)需要较长时间(7 min)才使水沸腾.同时,比较图 4~6 可以看出,水中加入 NaOH 后,减弱了溶液对微波的吸收,温升

速率较纯水的慢,但不受溶液质量分数大小的影响.如在 320 W 微波功率下加热 4 min 后,溶液温度才达到 86 ℃.而对于常规加热方式,NaOH 的加入提高了溶液的温升速率,使溶液沸点升高,也不受 NaOH 溶液质量分数的影响,但相同加热时间内的温度仍较微波加热的低.因此可以说,在本实验条件下,对于 NaOH 溶液的加热,微波依然具有快速加热的优越特性.

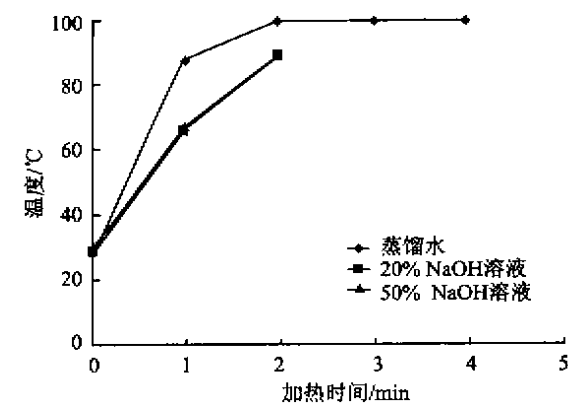


图 6 480 W 微波下溶液的温升情况

Fig. 6 Temperature variation when the solution was heated by microwaves of 480 W

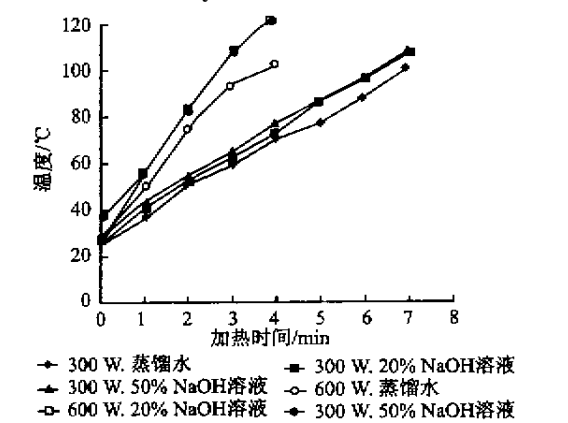


图 7 常规电炉加热时溶液的温升情况

Fig. 7 Temperature changes when solution was heated by oven

在水中加入电解质后,溶液在微波场中将表现为不同于纯水的行为.这种影响,随电解质的性质及其浓度的不同有很大的差异^[14].NaOH 溶解于水中后,离子 Na⁺、OH⁻ 对溶液温度的影响大于电导损耗的影响.这是因为 Na⁺ 发生溶剂化,破坏了水分子的本来结构,使外加电场对它们的作用减弱,这种减弱作用超过了 OH⁻ 所带来的正面影响,因此出现了图 4~6 中 NaOH 溶液温升速率较纯水慢的情况.

2.3 微波处理与常规热处理所得壳聚糖产品分子结构的比较

为了进一步研究微波促进甲壳素脱乙酰反应

的机理和效果,作者还利用 ¹H-NMR,比较了微波处理与电炉处理下壳聚糖产品的分子结构,探讨微波是否存在“非热效应”.结果如图 8 和图 9 所示.

可以看出,经不同处理条件得到的壳聚糖分子结构没有大的改变.只是位于乙酰葡萄糖胺残基上的氢质子有些不同,其原因尚有待于进一步研究.

为了进一步分析壳聚糖分子中的乙酰氨基的分布情况,按图谱计算得到相应的残基分布情况,见表 1.

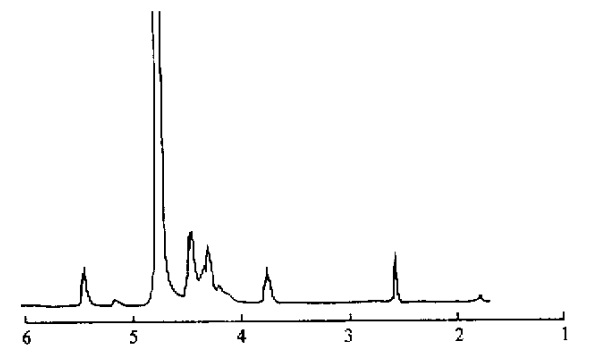


图 8 微波处理后壳聚糖(a)的¹H-NMR 图谱

Fig.8 The ¹H-NMR profile of chitosan treated with microwaves

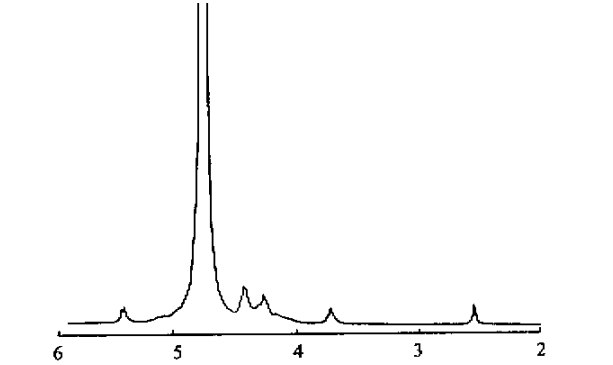


图 9 常规加热方式后壳聚糖(b)的¹H-NMR 图谱

Fig.9 The ¹H-NMR profile of chitosan treated with conventional heating

表 1 壳聚糖分子中相邻残基的分布情况

Tab.1 The distribution of residues in chitosan molecule				
样品	F_A	F_{AA}	$F_{AD} = F_{DA}$	F_{DD}
a	0.18	0.04	0.14	0.68
b	0.18	0.05	0.13	0.69

注:A 是指乙酰葡萄糖胺残基,D 指脱乙酰葡萄糖胺基. F_{AA} 是指分子链上相邻两个残基均为乙酰葡萄糖胺基时,在壳聚糖分子上的出现频率. F_{AD} 、 F_{DA} 、 F_{DD} 类同^[17].

表 1 表明,在常规电加热方式下,乙酰葡萄糖胺基的分布较微波处理样品的密,也就是说脱乙酰反

应较集中,不均匀.虽然微波作用下,乙酰葡萄糖胺基的分布仍不如均相条件下制得的均匀^[15],但已略有改善.因此可以推测微波在加热时,可能会破坏分子链中的氢键,促进分子链分散,NaOH 溶液进入内部进行反应,而不是仅仅停留在甲壳素分子的表面.以上研究表明,与常规处理相比,微波对甲壳素碱法脱乙酰反应有一定的“非热效应”.关于微波的具体作用方式仍需进一步研究确定.

3 结 论

1) 在微波处理过程中,反应体系在短时间内升温迅速,在主要的反应阶段温度能保持基本不变.同时,NaOH 溶液质量分数逐渐增大,可以使反应逐渐深入,壳聚糖的脱乙酰度逐渐增大.在甲壳素脱

乙酰反应的初期,产品的脱乙酰度随温度的升高而增大.而后反应速率减慢,脱乙酰度的变化也减小.当 NaOH 溶液质量分数达到 45% 左右、温度在 100℃ 以上后,反应速率急剧提高,脱乙酰度也发生较大变化.此状态持续的时间随微波功率不同而不同.

2) 水中加入 NaOH 后,减弱了溶液对微波的吸收,但与常规加热方式相比,微波仍具有快速加热的优越特性.NaOH 质量分数大小对溶液吸收微波能无影响.

3) 利用 H-NMR 研究常规热处理及微波处理后壳聚糖分子的结构,发现微波对甲壳素脱乙酰反应有一定的“非热效应”.这可能是因为微波在加热的同时,破坏了甲壳素分子链中的氢键,促进分子链分散,NaOH 溶液容易渗入.

参考文献:

- [1] 王小红,马建标,何柄林. 甲壳素、壳聚糖及其衍生物的应用[J]. 功能高分子学报,1999,12(2):197~202.
- [2] TOKUYASU KEN, ONE HIROSHI, OHNISHI KAMEYAMA MAYUM, *et al.* Deacetylation of chitin oligosaccharides of dp2-4 by chitin deacetylase from *Colletotrichum lindemuthianum*[J]. **Carbohydrate Research**, 1997, 303(3):353~358.
- [3] 王士奎,王汉潜. 几丁质及脱乙酰几丁质的微生物降解作用[J]. 微生物学通报,1994,21(3):180~183.
- [4] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 北京:中国环境出版社,1996.5.
- [5] FERENDOON SHAHIDI, JANAK KAMIL V A, YOU-JIN JEON. Food applications of chitin and chitosan[J]. **Trends in Food Science & Technology**, 1999, 10:37~51.
- [6] 钱俊青. 新型食品增稠剂脱乙酰甲壳素制备及性能研究[J]. 饮料工业,1998,1(5):11~14.
- [7] CHANG KE LIANG, TSAI GENGIN, LEE JOHE, *et al.* Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution[J]. **Carbohydrate Research**, 1997, 303(3):327~332.
- [8] 梁亮,崔英德,罗宇铭. 微波新技术制备壳聚糖的研究[J]. 广东工业大学学报,1999,3(3):63~65,81.
- [9] 周能,蒋先明. 微波半干一步法制备壳聚糖的研究[J]. 广西师范大学学报,1998,6(6):54~57.
- [10] 牟占军,黄锡文. 甲壳素脱乙酰反应条件的试验研究[J]. 内蒙古工业大学学报,1999,18(2):109~113.
- [11] 王伟,薄淑琴,秦汶. 壳聚糖溶液性质的研究[J]. 高分子学报,1992,2(2):202~208.
- [12] KJELL M VARUM, MARIT W ANTHONSEN, HANS GRASDALEN, *et al.* Determination of the degree of N-acetylation and the distribution of N-acetyl groups in partially N-deacetylated chitins(chitosans) by high-field n m r spectroscopy[J]. **Carbohydrate Research**, 1991, 211:17~23.
- [13] KENICHI ISHIGURA, NAOKO YOSHIE, MINORU SAKURAI, *et al.* A ¹H NMR study of a fragment of partially N-deacetylated chitin produced by lysozyme degradation[J]. **Carbohydrate Research**, 1992, 237:333~339.
- [14] 金钦汉. 微波化学[M]. 北京:科学出版社,1999.10.
- [15] TOLAIMATE A, DESBRIERES J, RHAZI M, *et al.* On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin[J]. **Polymer**, 2000, 41:2463~2470.

(责任编辑:秦和平)