

羧甲基壳聚糖制备新工艺研究

韩 笑 谭天伟

(北京化工大学化学工程学院, 北京 100029)

摘 要: 介绍了一种可有效提高羧甲基壳聚糖取代度的制备工艺, 并对试剂用量、反应温度、反应时间等工艺条件以及产品的分离纯化条件进行了优化。同时, 还测定了产品的理化性质。所得产品的取代度高达 1.09, 得率达到 88.24%。

关键词: 壳聚糖; 羧甲基壳聚糖; 氯乙酸; 制备

中图分类号: TQ 031.2

引 言

羧甲基壳聚糖 (Carboxymethyl-chitosan, CMC) 是将羧甲基引入壳聚糖而得到的一类壳聚糖衍生物。由于 CMC 的水溶性比甲壳素和壳聚糖好, 从而能使其更好地发挥功效, 如 CMC 可作化妆品中的保湿剂、果蔬的保鲜剂、植物生长促进剂、水处理中的絮凝剂及多种药物辅剂^[1]等。

目前, CMC 的合成主要有乙醛酸法和氯乙酸法, 为了提高产品羧甲基的取代度, 还可以采用氯乙酸、乙醛酸联用的方法^[2,3]。乙醛酸与壳聚糖的 2-氨基反应可生成希夫碱 (Schiff's base), 经硼氢化钠还原后制得 N-CMC^[4] 或 N,N-CMC^[5]; 氯乙酸与壳聚糖的 6-羟基或 2-氨基进行取代反应, 可生成 O-CMC^[2]、N-CMC^[6] 或 N,O-CMC^[7]。但一般来讲, 由于壳聚糖的 6-羟基和 2-氨基均较活泼, 故反应的最终产物往往是各种羧甲基壳聚糖的混合物。用氯乙酸法制备 CMC 的主要步骤是: 直接向一定量的壳聚糖粉末中加入有机溶剂 (如异丙醇、乙醇等) 进行膨化, 再于碱性条件下缓慢滴加氯乙酸溶液进行反应。由于壳聚糖粉末不溶于有机溶剂, 虽经“膨化”, 仍很难保证氯乙酸与壳聚糖的活性部位最充分的接触, 从而导致 CMC 的取代度及得率偏低。

针对上述问题, 本文对传统有机溶剂膨化工艺进行改进, 使壳聚糖直接酸溶, 然后进行碱化及取代

反应。并对试剂的用量、反应温度、反应时间等工艺条件进行了研究, 对所得产品的理化性质进行了测定。

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

壳聚糖, 实验室自制, 脱乙酰度 83.6%; 氯乙酸, 分析纯, 北京长城化学试剂厂; 其它所用试剂均为分析纯。

pH 计, PH-HJ90B 型, 北京航天计算机公司; 超滤膜组件, 中科院生态环境中心; 乌氏粘度计, 北京玻璃仪器厂; 722 分光光度计, 上海光学仪器厂; 傅立叶变换红外光谱仪, 美国尼高力公司, Nicolet 60 SXB。

1.2 羧甲基壳聚糖的制备

称取 4 g 壳聚糖于 1 000 mL 三颈烧瓶中, 用去离子水溶胀 30 min 后, 加入体积分数为 3% 的盐酸溶液 100 mL, 使壳聚糖完全溶解。然后, 补加一定量的氢氧化钠溶液碱化 60 min, 再滴加一定浓度的氯乙酸溶液 50 mL, 使壳聚糖羧甲基化。

1.3 羧甲基壳聚糖的分离提纯

将上述反应液过滤, 滤出其中的“碱性不溶物” (因其中主要成分是被羧甲基化的壳聚糖, 故利用该值可初步衡量反应进行的情况, 质量为 m (碱性不溶物))。然后, 用盐酸将溶液调成酸性, 再利用超滤膜对该溶液进行超滤以除去相对分子质量较低的杂质。最后, 用一定量的乙醇将产品沉淀出来, 离心分离、干燥、破碎后得到羧甲基壳聚糖。

1.4 产品理化性质的测定方法

1.4.1 取代度的测定 称取 0.2 g 产品, 用 40 mL

收稿日期: 2000-04-05

基金项目: 霍英东教育基金会优秀青年教师基金项目 (71067); 国家“九五”攻关项目 (96-A12-08-01-04)

第一作者: 女, 1972 年生, 硕士生

去离子水溶解后,用浓度为 0.1 mol/L 的氢氧化钠滴定。同时,用 pH 计检测溶液 pH 的变化。利用二阶微商法确定拐点处的碱用量。羧甲基壳聚糖取代度 S (Degree of Substitution) 的计算公式如下:

$$S = 161A / (1 - 58A)$$

$$A = V(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) / m(\text{CMC})$$

其中, $V(\text{NaOH})$ 为滴定终点时消耗的氢氧化钠的体积, L; $c(\text{NaOH})$ 为氢氧化钠的浓度, mol/L; $m(\text{CMC})$ 为羧甲基壳聚糖的质量, g。

1.4.2 等电点的测定 用氢氧化钠分别将相同浓度的羧甲基壳聚糖水溶液调至不同的 pH 值,离心分离沉淀后,于 630 nm 下测定各上清液的透光率 T 。由于越接近等电点,CMC 的溶解性越差,产生的沉淀越多,导致其水溶液中 CMC 的浓度下降,而 CMC 水溶液的浓度与其透光率成反比。根据透光率-pH 值曲线,可以确定产品的等电点。

2 结果与讨论

2.1 羧甲基壳聚糖制备工艺的优化

2.1.1 氯乙酸用量的影响 反应中氢氧化钠与壳聚糖的组成单元(即氨基葡萄糖 Glucosamine, Glu)的摩尔比 $n(\text{NaOH})/n(\text{Glu}) = 10$ 1,反应温度为 60,反应时间为 3 h,随着氯乙酸(Chloroacetic acid, CIA)与氨基葡萄糖单元摩尔比($n(\text{CIA})/n(\text{Glu})$)的增加,碱性不溶物及 CMC 取代度的变化如图 1 所示。

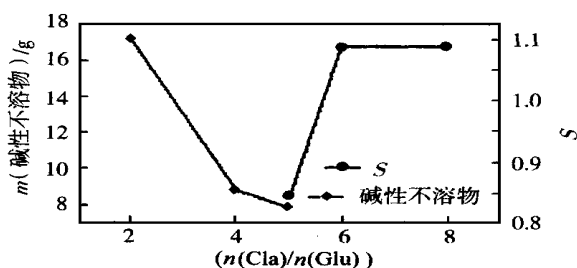


图 1 氯乙酸用量对 CMC 制备的影响

Fig. 1 Effect of the molar ratio of chloroacetic acid to glucosamine on the preparation of CMC

由图 1 可见,随着氯乙酸用量的提高,“碱性不溶物”逐渐减少,当氯乙酸与氨基葡萄糖单元的摩尔比为 6 1 时,取代度达到最高。

2.1.2 氢氧化钠用量的影响 取 $n(\text{CIA})/n(\text{Glu})$

为 6 1,其它实验条件不变,研究不同氢氧化钠与氨基葡萄糖单元的摩尔比($n(\text{NaOH})/n(\text{Glu})$)对 CMC 合成的影响,实验结果如图 2 所示。

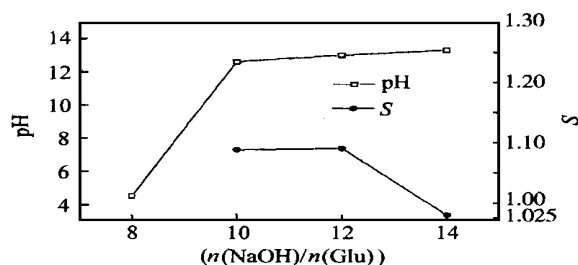


图 2 氢氧化钠用量对 CMC 合成的影响

Fig. 2 Effect of the molar ratio of NaOH to glucosamine on the preparation of CMC

图 2 表明,当 $n(\text{NaOH})/n(\text{Glu}) = 8$ 时,体系仍处于酸性($\text{pH} = 4.5$),不符合反应要求的条件。而当 $n(\text{NaOH})/n(\text{Glu}) = 10 \sim 12$ 时,所得产物的羧甲基取代度达到最大,从经济效益考虑,取 $n(\text{NaOH})/n(\text{Glu}) = 10$,即反应中氨基葡萄糖单元、氯乙酸、氢氧化钠的摩尔比为 1 6 10。

2.1.3 反应温度的影响 在氨基葡萄糖单元、氯乙酸、氢氧化钠的摩尔比为 1 6 10 的条件下,于不同温度反应 3 h,所得羧甲基壳聚糖的取代度结果如表 1 所示。

表 1 反应温度对 CMC 合成的影响

Table 1 Effect of the reactive temperature on the preparation of CMC

$t/$	$m(\text{碱性不溶物})/\text{g}$	S
30	10.706	-
45	10.221	-
60	-	1.088
75	-	0.99

由表 1 的实验结果得出,升高反应温度有利于壳聚糖的羧甲基化,当温度增加至 60 时,所得产品的取代度最高,此时若再增加温度,则产品的取代度反而下降,所以,反应的温度应定为 60。

2.1.4 反应时间的影响 在已经确定的氯乙酸、氢氧化钠用量的基础上,于 60 下反应不同时间,结果如表 2 所示。

根据表 2,反应时间对产品的质量影响不大,反

应 5 h 比反应 3 h 产品的羧甲基取代度略有增加,而反应 7 h 与反应 5 h 差别不大,故反应时间取 5 h。

表 2 反应时间对 CMC 合成的影响

Table 2 Effect of the reactive time on the preparation of CMC

/h	<i>S</i>
3	1.088
5	1.093
7	1.095

综上所述,可以确定,羧甲基壳聚糖制备的最佳工艺条件是:氨基葡萄糖单元、氯乙酸、氢氧化钠的

摩尔比 $n(\text{Glu}) : n(\text{ClA}) : n(\text{NaOH}) = 1 : 6 : 10$, 反应温度为 60 , 反应时间为 5 h。

2.2 羧甲基壳聚糖分离纯化条件的确定

2.2.1 超滤膜截留相对分子质量的确定 为了将反应液中低相对分子质量盐类物质除去,同时对制得的 CMC 进行浓缩,对反应液进行超滤。选择合适的超滤膜,即能防止 CMC 漏滤,又能使超滤的效率最高:分别用截留的相对分子质量为 6 000, 30 000, 60 000 的聚丙烯腈超滤膜浓缩产品,并各移取小分子部分溶液 10 mL 于 100 mL 锥形瓶中,加入 30 mL 无水乙醇,观察锥形瓶中的现象(见表 3)。

表 3 超滤膜的选择

Table 3 The choice of the ultrafilter membrane

超滤膜截留的相对分子质量	超滤膜的材质	有无 NaCl 颗粒状沉淀产生	有无 CMC 絮状沉淀产生	实验结果
6 000	PS	有	无	虽未漏滤,但超滤速度较慢
30 000	PAN	有	无	未漏滤,超滤速度较高,是最佳选择
60 000	PAN	有	有	漏滤

2.2.2 乙醇用量的确定 分别加入不同比例的无水乙醇于一定量超滤后的大分子部分溶液中,随着溶液中乙醇体积分数 φ 的增加,CMC 得率 y 的变化如图 3 所示。

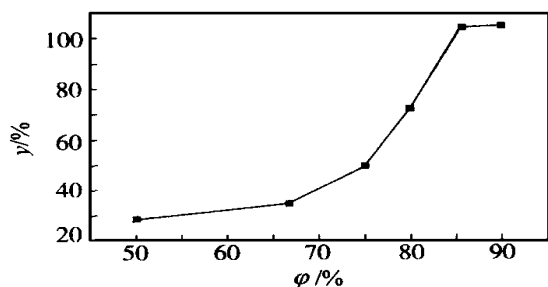


图 3 乙醇用量对 CMC 得率的影响

Fig. 3 Effect of the concentration of ethanol on the yield of CMC

由图 3 可见,随着乙醇加入量的增加,产品的得率不断增加,当乙醇体积分数达到 85 % (即加入 6 倍体积的乙醇) 时,CMC 的得率达到最大,再增加乙醇的用量,产品的质量不再增加。所以,乙醇的用量为溶液体积的 6 倍。

2.3 产品的红外光谱鉴定

以石蜡油为基质,对羧甲基壳聚糖在 4 000 ~

400 cm^{-1} 范围内进行扫描,如图 4 所示。图 4 中的 1 735 cm^{-1} 峰为羧基上的羰基振动引起,从而证明,所制得的产品确实被羧甲基取代了。

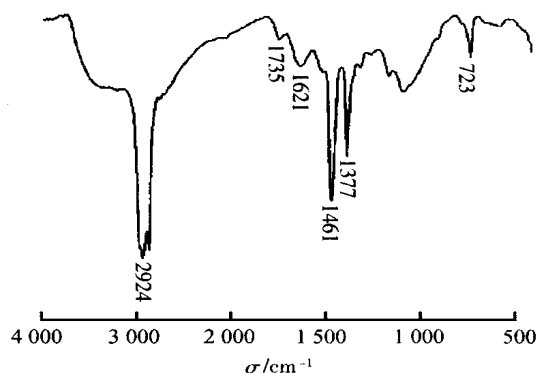


图 4 羧甲基壳聚糖的红外谱图

Fig. 4 IR spectra of CMC

2.4 产品的理化性质

(1) 外观 白色粉末,吸湿后略呈淡黄色。

(2) 取代度 测定方法见 1.4.1 所述。在实验确定的最优工艺条件下,制得产品的取代度不小于 1.09,与文献[6]的值(为 0.6 左右)相比,有较大程

度的提高。

(3) 等电点 测定方法见 1.4.2 所述。根据 T -pH 曲线,产品的等电点为 7.00。

(4) 粘均相对分子质量 采用乌氏粘度计,用浓度为 0.1 mol/L 的乙酸和浓度为 0.02 mol/L 的氯化钠作溶剂,(25.0 ± 0.5) °C 下测得 CMC 的特性粘度 $[\eta]$ 为 177.6 mL/g。

根据 Roberts 和 Domszy 方程^[8]:

$$[\eta] = 3.04 \times 10^{-5} \times M_r^{1.26}$$

可算得 CMC 的粘均相对分子质量为 2.34×10^5 。

(5) 干燥失重 将 CMC 于 105 °C 恒重,测得其失重不大于 10%。

(6) 灰分 于 600 °C 马福炉中灼烧 CMC,测得其灰分的质量分数为 0.83%。

2.5 得率的测定

羧甲基壳聚糖的质量乘以氨基葡萄糖单元的摩尔质量与羧甲基化的氨基葡萄糖单元的摩尔质量之比,与壳聚糖的净质量(不包含水分、灰分的质量)之比即为羧甲基壳聚糖的得率。经测定,产品的得率为 88.24%。

3 结 论

实验表明,采用先将壳聚糖酸溶后,再碱化、羧甲基化制备 CMC 是一种行之有效的办法。与常规

方法相比,氯乙酸能够与壳聚糖的活性部位更加充分地接触,从而保证了羧甲基化的充分进行,所制得的产品取代度可高达 1.09。整个工艺过程产品得率达 88.24%。

参 考 文 献

- [1] 俞继华,冯才旺,唐有根. 甲壳素和壳聚糖的化学改性及其应用. 广西化工,1997,26(3):28~32
- [2] Roberts George A F. Chitin chemistry. London: Macmillan, 1992. 173~186
- [3] 唐本琏,杨定国. 果蔬涂剂保鲜剂及其制取方法. CN, 1060010A. 1992-04-08
- [4] Muzzarelli Riccardo A A, Ilari Pierluca. Solubility and structure of N-carboxymethylchitosan. Int J Biol Macromol, 1994, 16(4):177~180
- [5] Pham le Dung, Michel Milas, Marguerite Rinaudo, et al. Water soluble derivatives obtained by controlled chemical modifications of chitosan. Carbohydrate Polymers, 1994, 24:209~214
- [6] 王爱勤,闫志宏,贾宝全,等. 羧甲基壳聚糖的制备与质量分析. 中国生化药物杂志,1996,17(4):147~149
- [7] Hayes E R. N, O-Carboxymethyl chitosan and preparative method therefor. US, Patent 4619995. 1986-10-28
- [8] Roberts GA F, Domszy J G. Determination of the viscometric constants for chitosan. Int J Biol Macromol, 1982, 4:374~377

New process for preparation of carboxymethyl-chitosan

HAN Xiao TAN Tian-wei

(College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: An effective way to enhance the degree of substitution (D. S.) of carboxymethyl-chitosan (CMC) was described. The molar ratio of glucosamine (the basic unit of chitosan) to chloroacetic acid and sodium hydroxide and the reactive temperature, and time were optimized. The physical and chemical properties of CMC were detected. The D. S. and the yield of CMC were 1.09 and 88.24%, respectively.

Key words: chitosan; carboxymethyl-chitosan; chloroacetic acid; preparation