

低碱法制备羧甲基壳聚糖及表征

宋庆平 岳文瑾 甄梅*

(安徽工程科技学院生物化学工程系 芜湖 241000)

摘 要 以壳聚糖为原料,在水性溶剂中,与氯乙酸钠反应,介绍了制备羧甲基壳聚糖的一种新方法——低碱法。研究了投料比、反应温度、反应时间、催化剂等单因素对取代度的影响,合成高取代度的最佳反应条件为 $m(\text{壳聚糖})/n(\text{氯乙酸})=1.5$,温度 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、时间 5 h ,催化剂量为 3% (与壳聚糖的质量分数),可制得取代度为 1.68 的羧甲基壳聚糖。结果表明,产品的取代度优于醇水混合溶剂法。并对产品的理化性质如溶解度、等电点、吸湿性、特性粘度进行了研究。最后用 IR、TGA、XRD 测试技术对羧甲基壳聚糖进行了表征。

关键词 壳聚糖,羧甲基壳聚糖,取代度,特性粘度,低碱法

中图分类号: O636.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2006)08-0913-05

壳聚糖 (CTS) 是自然界储量极丰富的天然高分子多糖,但是壳聚糖只能溶解于酸和酸性水溶液中,而不能直接溶于水,这在很大程度上限制了其应用,因此壳聚糖的化学改性一直是引人注目的课题。羧甲基壳聚糖 (CMC) 是壳聚糖羧甲基化后的产物,由于它既保留了壳聚糖的优点,又极大地改善了水溶性,因而具有更广泛的用途^[1]。Ge 等^[2]用氯乙酸和壳聚糖在水溶剂中反应,微波催化下,可制备取代度 0.85 的羧甲基壳聚糖。赵爱杰等^[3]将一定量的壳聚糖溶于 1% 乙酸后,加入 30 mL 质量分数为 50% NaOH 溶液碱化 2.5 h ,加入 4 mol/L 氯乙酸 70 mL ,室温反应 4 h 调 pH 值至中性,用乙醇洗涤过滤,分离提纯,可制得取代度 (DS) 为 0.898 的羧甲基壳聚糖。陈浩凡等^[4]认为壳聚糖羧甲基化影响最大的因素为 NaOH 用量,同时碱化也是制得羧甲基壳聚糖的关键。实验发现,碱浓度过低,用量少,不能得到羧甲基壳聚糖。如果不提前碱化,由于壳聚糖是一种较高的晶区聚合物,反应试剂很难进入结晶区。而碱化后的壳聚糖容易与渗入的氯乙酸反应,较易发生羧甲基化反应。陈凌云等^[5]用 50% 浓氢氧化钠碱化壳聚糖,在水和异丙醇的混合溶剂中和氯乙酸反应,室温反应 2 h 再升到 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应 2 h 可制得取代度大于 1.0 的产品。王峰^[6]以壳聚糖 5 g 10 mol/L 的 NaOH ,异丙醇 60 mL ,氯乙酸 5 g $60\text{ }^{\circ}\text{C}$,反应时间 4 h 可制备取代度为 0.854 的羧甲基壳聚糖。上述方法有 4 个缺点: (1) 羧甲基反应需要在浓碱条件下碱化反应,需消耗大量的碱,使生产成本提高并造成环境污染; (2) 反应介质常用有机溶剂异丙醇,使生产成本加大,也会造成环境污染; (3) 产品的取代度很低 (一般在 $0.6\sim 1.5$ 之间),造成产品的溶解度不高,限制了其应用; (4) 对羧甲基壳聚糖的理化性质报道较少。本文尝试在水性溶剂中,低碱条件下,讨论了制备羧甲基壳聚糖的一种未见文献报道的新方法。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

壳聚糖 (青岛金湖甲壳有限公司),脱乙酰度 90% ;其他试剂均为分析纯。EQUINOX55 型傅立叶变换红外光谱仪 (德国 Bunker 公司); T4Q 型 X 射线衍射仪 (丹东射线仪器公司); Pyris 1 型热重分析仪 (美国 PE 公司)。

1.2 羧甲基壳聚糖的制备

取 1 g 壳聚糖加到的锥形瓶中,氯乙酸溶解在 50 mL 水中,用碱液中和转变成钠盐并略显碱性,然后和 KI 一起加到锥形瓶中搅拌,在给定温度下反应一定时间,在反应过程中体系返酸时,不断滴加碱液 $2\sim 3$ 滴,使溶液的 pH 值保持弱碱性。反应结束后,向反应混合物中加入 $50\text{ mL H}_2\text{O}$,用醋酸调节溶液

2005-10-09 收稿, 2005-12-02 修回

安徽省教育厅自然科学基金重点项目 (2003kj008xl)

通讯联系人: 丁纯梅,女,1956年生,教授; E-mail: adsqp@163.com; 研究方向: 生物高分子改性及应用

pH 值约为 7, 充分搅拌, 离心分离后, 收集上层澄清液, 边搅拌边加入约 2 倍量的无水乙醇进行沉淀, 待沉淀完全后, 抽滤, 滤渣用无水乙醇洗涤 2 次, 除去产品表面上的水分, 置 60 ℃ 的烘箱内真空干燥, 得白色颗粒状固体, 产品的取代度采用灰分分析法^[7]测定, 特性粘度用乌氏粘度计测定。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 投料比对反应的影响 图 1 为改变壳聚糖与氯乙酸质量比, 对产品取代度 (图 1 曲线 a) 和产品特性粘度 (图 1 曲线 b) 的影响 (下同)。图中可见, 随投料比增加, 取代度值先增大后减小, 而特性粘度则下降。氯乙酸含量增加, 有利于壳聚糖和氯乙酸钠反应, 但二者投料比超过 1.5 时, 产品的取代度下降。可能因投料比增加, 氯乙酸钠的水解副反应增加, 消耗了原料, 使取代度降低。反应的最佳投料比为 1.5 时, 取代度为 1.31。

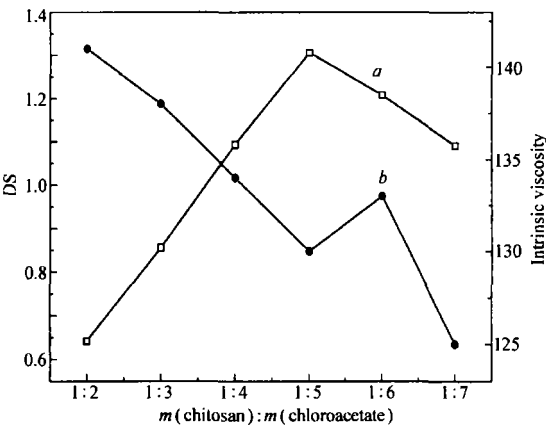


图 1 取代度和特性粘度随投料比的变化图
Fig 1 DS and intrinsic viscosity vs feed ratio plots
a. DS b. intrinsic viscosity
 $t = 95\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{time} = 5\text{ h}$

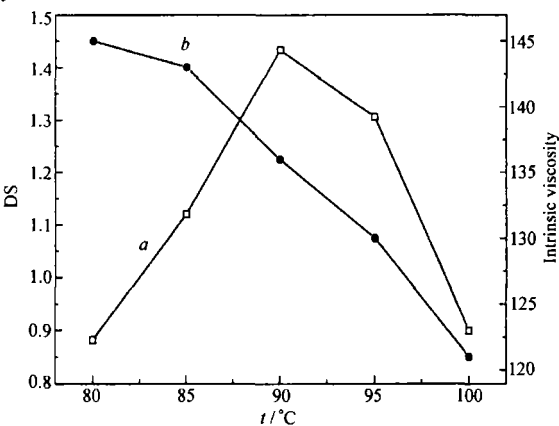


图 2 取代度和特性粘度随反应温度的变化图
Fig 2 DS and intrinsic viscosity vs reaction temperature plots
a. DS b. intrinsic viscosity
 $m(\text{chitosan})/m(\text{chloroacetate}) = 1.5$; $\text{Time} = 5\text{ h}$

2.1.2 温度对反应的影响 图 2 是改变反应温度对产品取代度和特性粘度的影响。图中可见, 随着反应温度的升高, 产物取代度提高, 当反应温度为 90 ℃ 时, 取代度最大, 而产物的特性粘度随温度升高而降低。这说明温度升高, 加快了壳聚糖的羧甲基化反应, 取代度升高, 当温度达到 90 ℃ 后, 取代度反而会降低。这是因为温度过高增加了氯乙酸钠的水解副反应, 降低了取代度; 温度的升高会使羧甲基壳聚糖分子链发生降解, 导致特性粘度降低, 产品颜色发黄。因此, 最佳反应温度为 90 ℃, 取代度为 1.43。

反应温度是制备高取代度羧甲基壳聚糖的一个很重要的因素。文献^[3-6]中制备羧甲基壳聚糖通常在 30% ~ 50% 的浓碱溶液中对壳聚糖进行羧甲基化反应, 由于碱浓度高, 反应温度如果高于 70 ℃, 氯乙酸钠和浓碱的水解反应成为主反应, 降低羧甲基化率。对于低碱法, 由于氯乙酸钠不易水解, 可以在更高温度下进行羧甲基化, 可大大促进反应, 因而能制备高取代度的羧甲基壳聚糖。

2.1.3 反应时间对反应的影响 图 3 为改变反应时间对产品取代度和特性粘度的影响。图中可见, 随反应时间延长, 取代度增加而特性粘度降低。在最初 5 h 内, 取代度有较大提高, 反应 5 h 后, 取代度增加幅度减小, 变化平缓, 表明羧甲基化反应基本在 5 h 内完成; 反应时间太长, 分子链会发生降解, 特性粘度降低, 因此反应时间以 5 h 较适宜, 此时产品的取代度为 1.43。

2.1.4 催化剂用量对反应的影响 在投料比 1.5, 反应温度 90 ℃, 反应时间 5 h 的条件下, 分别加入壳聚糖质量分数的 1%、3%、5%、7%、10% 的碘化钾催化剂, 进行羧甲基反应, 结果如图 4。

从图 4 可以看出, 取代度和特性粘度随催化剂用量的增加先增加后降低, 当催化剂用量为壳聚糖质量分数的 3% 时, 产物的取代度最高。这是因为 KI 与 $\text{CICH}_2\text{COONa}$ 反应生成 ICH_2COONa 由于 I^- 的离

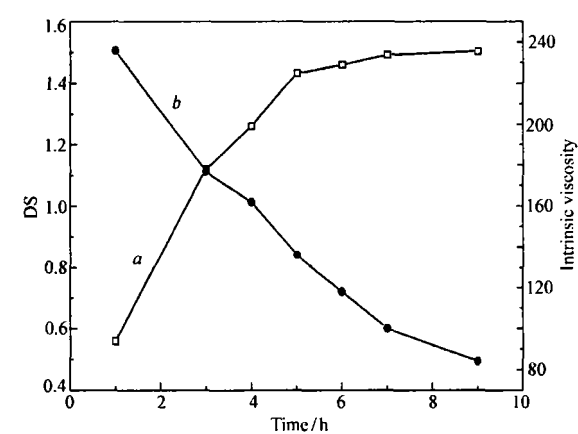


图 3 取代度和特性粘度随反应时间的影响

Fig 3 DS and intrinsic viscosity vs reaction time plots

a. DS b. intrinsic viscosity

$m(\text{chitosan})/m(\text{chloroacetate})=1/5$ $t=90\text{ }^{\circ}\text{C}$

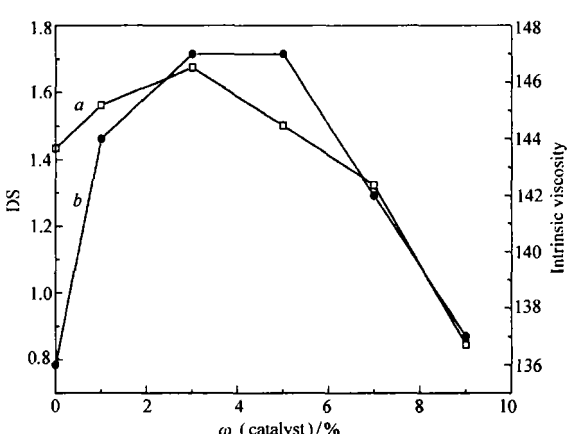


图 4 取代度和特性粘度随催化剂用量的影响

Fig 4 DS and intrinsic viscosity vs amount of catalyst plots

a. DS b. intrinsic viscosity

$m(\text{chitosan})/m(\text{chloroacetate})=1/5$ $\text{Time}=5\text{ h}$ $t=90\text{ }^{\circ}\text{C}$

去能力大于 Cl^- , 因此, ICH_2COONa 更容易与壳聚糖反应, 生成羧甲基壳聚糖。但催化剂量继续增加, ICH_2COONa 的水解副反应也会增强, 故最适宜的催化剂量为壳聚糖质量分数的 3%, 此时产品的取代度为 1.68。

2.2 产品的理化性质和结构表征

羧甲基壳聚糖为白色颗粒状固体, 在空气中吸湿性强, 易溶于水, 不溶于乙醇、丙酮等有机溶剂。其水溶液的 pH 值在 9~10 以羧甲基壳聚糖的钠盐形式存在。

2.2.1 取代度对产品溶解度的影响 溶解度是羧甲基壳聚糖一项重要理化性质, 但羧甲基壳聚糖在水中的溶解度数值文献报道较少。图 5 为不同取代度羧甲基壳聚糖的溶解度。羧甲基壳聚糖的溶解度随取代度的增大而增加, 并且溶解度 (Y) 与取代度 (X) 成线性关系 $Y = -3.397 + 8.858X$, 线性相关系数 $R = 0.998$ 。

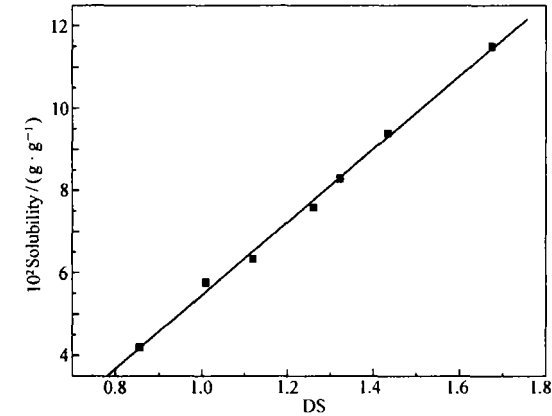


图 5 溶解度随取代度的变化关系

Fig 5 Relationship between DS and solubility

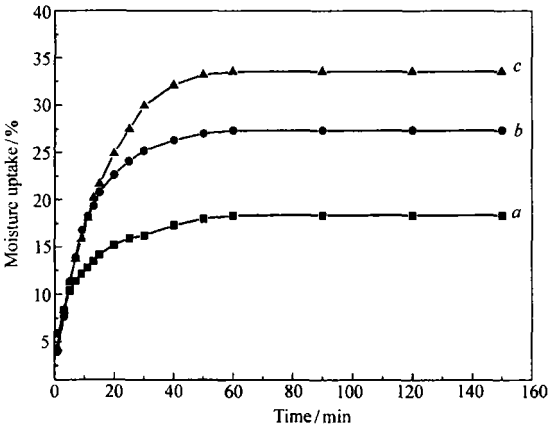


图 6 羧甲基壳聚糖和壳聚糖的吸湿率

Fig 6 Moisture uptake of CTS and CMC

2.2.2 取代度对产品吸湿性的影响 图 6 为不同取代度羧甲基壳聚糖和壳聚糖的吸湿率随时间的变化曲线。从图中可以发现, 高取代度产品的吸湿率高于低取代度的, 而壳聚糖的吸湿率最低。取代度为 1.68 的羧甲基壳聚糖 (图 6 曲线 c) 在 1 h 左右吸湿率可达 33.5%, 取代度大于 0.56 的羧甲基壳聚糖 (图 6 曲线 b) 的吸湿率为 27%, 而壳聚糖 (图 6 曲线 a) 的则为 18%。

2.2.3 取代度对产品等电点的影响 表 1 为不同取代度羧甲基壳聚糖的等电点, 等电点的测定采用李继珩等^[8]的方法。

表 1 取代度对产品等电点的影响
Table 1 Effect of DS on the isoelectric point

DS	0.559	0.844	1.208	1.261	1.46	1.503
Isoelectric point	1.09	1.03	1.1	1.17	1.05	1.07

从表 1 可以发现,等电点随取代度的变化不大,产品的等电点在 pI 为 1.1 左右。产品在等电点附近的溶解性很差,当达到等电点时,产品几乎不溶于水。

2.2.4 红外表征 从图 7 中可以看出,在羧甲基壳聚糖中 1 595 和 1 407 cm^{-1} 处出现了羧基钠盐的特征吸收峰,分别为 $-\text{COONa}$ 的不对称和对称伸缩振动吸收峰。壳聚糖中 1 654 cm^{-1} 为酰胺 I 谱带,1 598 cm^{-1} 为氨基的吸收峰,在羧甲基壳聚糖中的二峰重合为 1 595 cm^{-1} 单峰,且强度增加,是氨基发生羧甲基化的标志。另外,壳聚糖中伯羟基和仲羟基的碳氧键的伸缩吸收峰分别为 1 033 和 1 091 cm^{-1} ,而在羧甲基壳聚糖中分别为 1 026 和 1 068 cm^{-1} ,且强度减弱,说明伯羟基和仲羟基也发生了羧甲基化反应。

2.2.5 TGA 分析 壳聚糖和羧甲基壳聚糖的 TGA 曲线如图 8 所示。图中可以看出,壳聚糖(图 8a)的分解温度要高于羧甲基壳聚糖(图 8b),这是因为在羧甲基化过程中,壳聚糖的聚合度受到一定的破坏,因此产物羧甲基壳聚糖的热稳定性要差些。

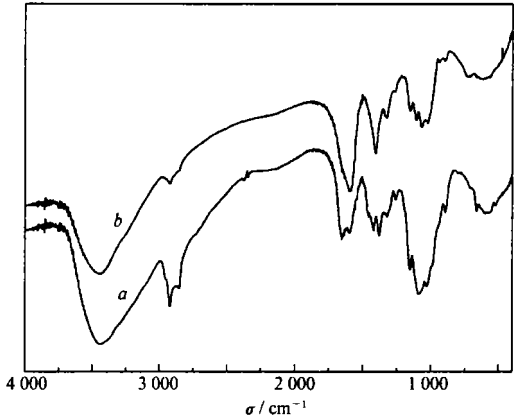


图 7 壳聚糖(a)和羧甲基壳聚糖(b)的红外谱图
Fig. 7 IR spectra of (a) CTS and (b) CMC

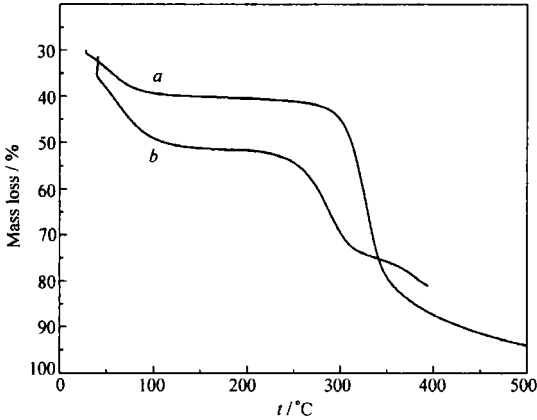


图 8 壳聚糖(a)和羧甲基壳聚糖(b) TGA 曲线
Fig. 8 TGA curves of CTS and CMC

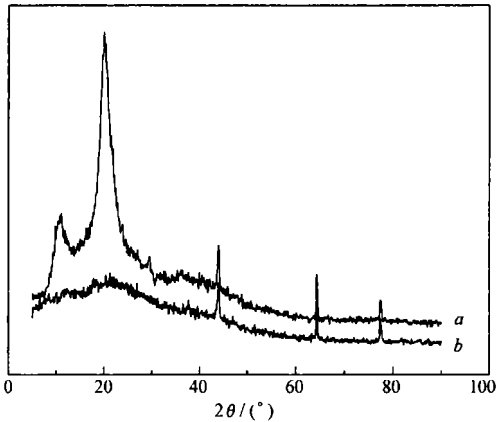


图 9 壳聚糖(a)羧甲基壳聚糖(b)的 X 射线衍射图
Fig. 9 XRD patterns of CTS and CMC

2.2.6 XRD 分析 壳聚糖 XRD 曲线(图 9 曲线 a)在 10°和 20°附近有 2 个强结晶峰,说明壳聚糖分子内有一定的结晶区,这是分子内氢键造成的,而羧甲基壳聚糖的 XRD 曲线(图 9 曲线 b),二处结晶吸收峰基本消失,说明羧甲基基团的引入,使分子链间的距离增加,破坏了壳聚糖的结晶状态,结晶度降低。

参 考 文 献

1 Duran B Ak D Cetin A. *et al Exp Anim* [J], 2003 52(4): 267
2 Ge H G Luo D K. *Carbohydrate Res* [J], 2005 340(7): 1 351
3 ZHAO Ai Jie(赵爱杰), YUAN Xu Bo(原续波), CHANG Jin(常津). *Polym Bull*(高分子通报) [J], 2004 (4): 59
4 CHEN Hao Fan(陈浩凡), PAN Shi Rong(潘仕荣), WANG Qin Mei(王琴梅). *J Huazhong Univ Sci Tech* (Health Sci) (华中科技大学学报) [J], 2003 32(2): 153

5 CHEN Ling Yun(陈凌云), DU Yu Min(杜予民), XIAO Ling(肖玲). *Chinese J Appl Chem* (应用化学) [J], 2001 18(1): 5

6 WANG Feng(王峰). DoctoralD issertation([博士学位论文]). Shanghai 上海): Tongji University(同济大学), 2003

7 WANG Zhi Ming(王志铭), YE Xin Yu(叶心宇). *Chinese J Anal Chem* (分析化学) [J], 1994 22(11): 1 121

8 LI Ji Yan(李继珩), YU You Wen(虞有文), YU Yan Ling(于燕玲). *Chinese J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志) [J], 2002 21(4): 175

Preparation of Carboxymethyl Chitosan by Low-Alkali Method and Its Characterization

SONG Qing-Ping YUE Wen-Jin, DING Chun-Mei*

(Department of Biochemical Engineering, Anhui University of Technology and Science, Wuhu 241000)

Abstract With chitosan and sodium chloroacetate as the reactants and water as the reaction solvent, carboxymethyl chitosan (CMC) was synthesized by a new kind of method i.e., low-alkali method. The dependence of the degree of substitution of the CMC on the ratio of reactants, reaction temperature, reaction time and amount of catalyst was investigated. The result shows that the best reaction conditions for synthesizing CMC with a high degree of substitution (1.68) are that the ratio of chitosan to sodium chloroacetate is 1:5, reaction temperature is 90 °C, reaction time is 5 h, and the amount of catalyst is 3%. The method is much better than using an alcohol-water mixed solvent. Physicochemical properties such as solubility, isoelectric point, moisture absorption, intrinsic viscosity were also studied. Finally, the CMC was characterized by IR, TGA and XRD.

Keywords chitosan, carboxymethyl chitosan, degree of substitution, intrinsic viscosity, low-alkali method