

一种甲壳素硫酸酯制备条件的研究

A STUDY ON MANUFACTURE CONDITION OF HYDROPHILIC-CHITOSAN SULFATE

许加超¹ 肖英龙²

(¹ 青岛海洋大学 266003)

(² 青岛园林研究所 266071)

由于甲壳素的水不溶性特点,使其应用受到一定的限制,因此改性甲壳素的开发更受到重视。甲壳素硫酸酯属改性甲壳素,具有类肝素的功能,如:抗炎,抗凝血,降血脂,降低毛细血管的通透性等。本文主要研究了水溶性甲壳素硫酸酯的制备条件^[1],为甲壳素的进一步应用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

自制甲壳素(脱乙酰度分别为80.4%,58%,45.2%,20.8%);浓硫酸(化学纯);氢氧化钠(化学纯);无水乙

收稿日期:1994年12月15日

醇。

1.2 仪器与设备

标准口四口圆底烧瓶;搅拌机;旋转蒸发器;阴阳离子交换脂。

1.3 有机硫测定方法

称取干燥至恒重样品 20~80mg 于 K 氏烧瓶中,加浓盐酸 5ml,浓 HNO₃ 1.5ml,加热至微沸,并不断补加浓盐酸,水解 40~60min,用蒸馏水充定容至 500ml,从中取 10ml 于 100ml 三角瓶中,准确加入 0.01mol/L 的 BaCl₂ 溶液 10ml,在沸水浴中加热 10~20min,冷后以 2mol/L 的 NaOH 中和至溴麝香草酚变蓝为止。

加入 NH₄Cl 缓冲液 10ml,0.01mol/L MgCl₂ 25ml 及铬黑 T 指示剂 4~6 滴,用 0.01mol/L EDTA 标准液滴定多余的 Ba²⁺,则得总硫量,不经水解的样品作对照,则得无机硫量,有机硫量=总硫量-无机硫量

$$\text{有机硫量}(\%) = \frac{(\text{EDTA 空白体积} - \text{EDTA 样品体积}) \times \text{克分子数} \times 0.022}{\text{样品重}(\text{g}) \times 1/5} \times 100$$

1.4 分子量测定

参照特性粘度法。

1.5 实验方法

取甲壳素 10g,慢慢加入到 -10~0℃ 100ml 硫酸(95%,90%,80%)溶液中,不断搅拌 3h,直到形成粘稠溶液,然后加入一定温度的乙醇,沉淀 1h,离心沉淀,乙醇洗涤,再加水溶解,用 30%NaOH 中和,再用阴阳离子交换树脂脱盐,经旋转蒸发器浓缩,加无水乙醇沉淀,离心,70℃ 烘干。

2 结果与讨论

甲壳素硫酸酯化条件的确定,主要以其有机硫含量为准,含硫量越大,酯化反应越完全。影响含硫量的因子有:与浓硫酸的反应温度,反应时间,乙醇沉淀温度,硫酸浓度,甲壳素的乙酰基含量等,以下试验研究了上述因子对含硫量的影响。

2.1 甲壳素与硫酸反应温度对有机硫量的影响

反应温度是影响酯化反应的主要因素,温度区域从 -10℃~5℃,分别取 -10℃,-8℃,-5℃,0℃,5℃ 几个档次进行酯化反应,反应时间为 3h。乙醇沉淀温度为 -30℃,沉淀 1h,产品测硫含量和分子量。从表 1 看出,温度在 -10~-5℃ 之间,甲壳素有机硫含量基本稳定,并略有升高的趋势,高于 -5℃,有机硫量急剧下降,超

过 5℃,甲壳素被碳化。

表 1 甲壳素与硫酸反应温度对有机硫量的影响

| 反应温度 (°C) | 脱乙酰度 (%) | 得率 (%) | 有机硫含量 (%) | 分子量 (×10 ⁴ mol/L) |
|-----------|----------|--------|-----------|------------------------------|
| -10 | 80.4 | 84.2 | 6.85 | 2.65 |
| -8 | 80.4 | 79.4 | 7.04 | 2.57 |
| -5 | 80.4 | 80.3 | 7.66 | 2.51 |
| -2 | 80.4 | 76.32 | 6.08 | 2.42 |
| 0 | 80.4 | 74.6 | 5.82 | 2.36 |
| 5 | 80.4 | * | * | * |

注:“*”表示碳化。

2.2 甲壳素与浓硫酸的反应时间对有机硫含量的影响

浓硫酸的反应温度为 -5℃,乙醇沉淀温度为 -30℃,反应时间选区为 1~8h,分别取 1,2,3,5,8h,酯化结果见表 2。时间在 1~3h 之间,随着时间的延长,有机硫量逐渐增加,超过 3h,产品有机硫量忽高忽低,但没有太大的波动,基本趋于平稳,通过分析分子量知,随着时间的延长,分子量降解不大。

表 2 甲壳素与浓硫酸的反应时间对有机硫含量的影响

| 反应温度 (°C) | 反应时间 (h) | 有机硫含量 (%) | 分子量 (×10 ⁴ mol/L) |
|-----------|----------|-----------|------------------------------|
| -5 | 1 | 4.23 | 2.85 |
| -5 | 2 | 5.36 | * |
| -5 | 3 | 7.66 | 2.51 |
| -5 | 5 | 6.86 | * |
| -5 | 8 | 7.01 | 2.08 |

注: * 表示碳化。

2.3 乙醇沉淀温度对含硫量的影响

乙醇沉淀温度取 -10℃,-20℃,-30℃,-40℃,其他条件同上,结果见表 3。

表 3 乙醇沉淀温度对含硫量的影响

| 沉淀温度 (°C) | 有机硫含量 (%) |
|-----------|-----------|
| -10 | 6.85 |
| -20 | 7.34 |
| -30 | 7.66 |
| -40 | 7.62 |

2.4 甲壳素中乙酰基量与有机硫的关系

硫酸软骨素,右旋葡萄糖硫酸酯,褐藻胶硫酸酯等,有机硫量均超过 10%^[2],而甲壳素硫酸酯的有机硫量只在 7% 左右。通过分析,主要是甲壳素的 C₂ 为有乙酰基存在,导致甲壳素硫酸酯有机硫含量较其他多糖低。甲壳素中乙酰基量与有机硫的关系见表 4。

表 4 甲壳素中乙酰基量与有机硫含量的关系

| 脱乙酰度 (%) | 反应温度 (°C) | 反应时间 (h) | 乙醇沉淀温度 (°C) | 有机硫含量 (%) | 分子量 ($\times 10^4$ mol/L) |
|----------|-----------|----------|-------------|-----------|----------------------------|
| 80.4 | -5 | 3 | -30 | 7.66 | 2.51 |
| 58 | -5 | 3 | -30 | 4.48 | 1.41 |
| 45.2 | -5 | 3 | -30 | 4.01 | 1.06 |
| 20.8 | -5 | 3 | -30 | 1.28 | 0.53 |

表 5 浓硫酸浓度对有机硫量的影响

| 浓硫酸浓度 (%) | 脱乙酰度 (%) | 有机硫含量 (%) | 分子量 ($\times 10^4$ mol/L) |
|-----------|----------|-----------|----------------------------|
| 95 | 80.4 | 7.66 | 2.51 |
| 90 | 80.4 | 4.28 | 1.48 |
| 80 | 80.4 | 2.67 | 0.98 |
| 70 | 80.4 | * | / |

注：“*”表示不反应。

试验结果表明,产品的有机硫含量与乙酰基的量有非常密切的关系,乙酰基含量越高,产品的有机硫量越低;乙酰基含量越低,产品的有机硫量越高;脱乙酰度 80%的甲壳素,其有机硫量达 7.66%,脱乙酰度 20%的甲壳素,其有机硫量只有 1.28%,这说明乙酰基的存在会妨碍硫酸基基因联结到甲壳素结构上,而且乙酰基量越大,影响程度越大。

2.5 浓硫酸浓度对有机硫量的影响

结果见表 5。

随着硫酸浓度的依次降低,有机硫含量也逐渐降低,硫酸浓度低于 80%,不发生酯化反应。

由以上试验得出比较理想的酯化条件:

酯化反应温度必须控制在 $-5\sim 8^{\circ}\text{C}$,反应时间最低 3h,乙醇沉淀温度为 -30°C ,尽可能用脱乙酰度高的甲壳素,浓硫酸浓度为 95%以上,在此条件下生产的甲壳素硫酸酯的有机硫含量在 7%以上。

3 结语

本实验探讨了浓硫酸法甲壳素硫酸酯的制备条件,为甲壳素在医药上的进一步应用,提供理论依据,为从事水溶性甲壳素新产品的开发及应用提供了主要参数和理论依据。

主要参考文献

- [1] 赵学武等,1982.水产学报 6(4):379~383.
- [2] 方积年等,1986.药学报 21(12):944~950.