

生物科学

N, O-羧甲基壳聚糖的合成、表征与应用

柯仁怀 罗小兰¹ 关怀民¹ 童跃进^{*}

(福建卫生职业技术学院 医学基础部化学教研室, 福州 350101;

福建师范大学化学与材料学院, 福建省高分子材料重点实验室¹, 福州 350007)

摘 要 以甲壳素为原料, 采用连续操作、不分离中间产物的方法合成了羧甲基取代度 1.08 的水溶性 *N, O*-羧甲基壳聚糖, 分别用红外光谱 (FTIR) 和核磁共振谱 (¹H NMR) 对其结构进行了表征。进一步通过重构插层法制备羧甲基壳聚糖/Mg-A 1 双层氢氧化物复合物, X-射线粉末衍射 (XRD) 分析表明双层氢氧化物的片层已经被层离, *N, O*-羧甲基壳聚糖是一种有效的插层剂。

关键词 甲壳素 羧甲基壳聚糖 Mg-A 1 双层氢氧化物复合物 插层剂

中图分类号 Q539 文献标志码 A

羧甲基壳聚糖 (Carboxymethyl chitosan, CMCS) 是壳聚糖 (Chitosan, CS) 经羧甲基化反应后的一类壳聚糖衍生物^[1-2]。根据羧甲基的取代位置不同, 可分为 *O*-羧甲基壳聚糖 (*O*-CMCS), *N*-羧甲基壳聚糖 (*N*-CMCS) 及 *N, O*-羧甲基壳聚糖 (*N, O*-CMCS)^[3]。羧甲基壳聚糖的合成通常是二步法^[4-5], 即先由甲壳素在浓碱作用下脱乙酰基团、分离、纯化和干燥得到壳聚糖, 再由壳聚糖经碱化后与一氯乙酸反应制取 *N, O*-羧甲基壳聚糖或 *O*-羧甲基壳聚糖, 步骤繁琐且成本较高。若改用甲壳素 (Chitin, CHT) 为起始原料, 用浓碱处理, 甲壳素脱乙酰基成为壳聚糖, 不经分离, 而是接着加入一氯乙酸进行羧甲基化反应, 这样可减少碱的用量, 简化制备步骤, 缩短制备时间。由于壳聚糖经羧甲基化改性在结构中引入羧甲基 (-CH₂COOH) 后, 能溶于任何 pH 值的溶液, 这一性能的改善使得羧甲基壳聚糖广泛应用于医药、化工、环保及农业等各个领域^[6-7]。但是, *N, O*-羧甲基壳聚糖作为一种水

溶性的两亲化合物, 可望用作双层氢氧化物 (layered double hydroxide, LDH)^[8-9] 的插层剂, 有关这方面的研究还未见报导。本文介绍用甲壳素为起始原料合成 *N, O*-羧甲基壳聚糖, 并将其用作 Mg-A 1 双层氢氧化物插层剂, 通过重构插层法^[10] 制备羧甲基壳聚糖/双层氢氧化物复合物。

1 实验部分

1.1 试剂

甲壳素 (BR), 含量以 N 计在 6.0-7.0%, 上海国药集团化学试剂有限公司; 一氯乙酸 (AR), 含量 > 99.0%, 广东汕头新宁化工厂; 硝酸镁 (AR), 硝酸铝 (AR), 碳酸钠 (CP)、异丙醇 (CP)、无水甲醇 (CP)、醋酸 (AR)、无水乙醇 (CP) 和氢氧化钠 (CP), 上海国药集团化学试剂有限公司。

1.2 *N, O*-羧甲基壳聚糖 (*N, O*-CMCS) 的制备

称取 10.0 g 甲壳素, 加入 100 mL 异丙醇, 于室温下搅拌 30 min, 然后加入 50 mL 12.5 mol/L 氢氧化钠溶液, 加热至 80°C, 在 80°C 搅拌反应 4 h。接着称取 20.0 g 一氯乙酸分三次加入到以上体系中, 加料时间为 20 min。反应混合物加热至 60°C 并在此温度下搅拌反应 3 h。反应结束后, 用醋酸调节混合体系的 pH 到中性, 过滤除去溶剂。滤出物溶解于

2008 年 6 月 17 日收到 生物医用高分子材料教育部重点实验室
开放基金 (20070406)、福建省高分子材料
重点实验室开放基金 (K02034) 资助

* 通讯作者简介: 童跃进 (1958-), 男, 教授, 研究方向: 高分子材料改性, E-mail: tongyueji@yaho.com.cn

蒸馏水中,过滤除去水不溶物。用无水乙醇沉淀产物,再过滤和多次洗涤滤出物。室温真空干燥过夜得到 12.1 g *N, O*-羧甲基壳聚糖。

1.3 Mg-Al 双层氢氧化物 (LDH) 及其复合物的制备

分别称取 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.75 mol) 和 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.025 mol) 溶于 100 mL 新鲜的蒸馏水。在搅拌下将此混合物慢慢滴加到 100 mL 预先配制的含 Na_2CO_3 (0.025 mol) 和 NaOH (0.2 mol) 溶液中,得到的浆状物用 1 mol/L NaOH 调节 pH 至 8.0–9.0 并且在 70 °C 静置陈化 24 h, 过滤沉淀并用大量的水洗涤沉淀物至中性。所得 Mg-Al 双层氢氧化物粉末室温下真空干燥过夜,接着在 500 °C 焙烧 6 h 得到 Mg-Al 双层氢氧化物的氧化物 (LDO)。

将经过焙烧的 5 mg Mg-Al 氧化物 (LDO) 与 0.5 g *N, O*-羧甲基壳聚糖置于 250 mL 的烧瓶中,加入 150 mL 新鲜的蒸馏水,待羧甲基壳聚糖溶解后,加热回流 6 h,然后在室温下继续搅拌 24 h。接着在玻璃板上浇注成膜,65 °C 挥发干燥,获得羧甲基壳聚糖/层离双层氢氧化物复合物,其中 Mg-Al LDH 的重量百分数约别为 1.5%。

1.4 表征

红外光谱 (FTIR) 采用美国热电公司 Avatar 360 型傅立叶红外光谱仪 (Nicolet) 测定,衰减全反射 (ATR) 法,扫描波段为 4 000–400 cm^{-1} ,扫描次数为 64 次,分辨率 4 cm^{-1} ;采用 Bruker ACF-300 型核磁共振波谱仪记录样品氢核磁共振波谱 (^1H -NMR),样品溶解于含 D_2O 的 5 mm 直径核磁管中,用四甲基硅烷作为内标;X-射线粉末衍射谱 (XRD) 测定在 X'Pert 型 X 射线粉末衍射仪 (Philips) 上进行, CuK_α 射线, $\lambda = 0.154\,18\text{ nm}$,测定范围 10–80°;通过酸碱滴定法测定羧甲基壳聚糖中羧甲基的总取代度 (DS)^[11]。

2 结果与讨论

2.1 *N, O*-羧甲基壳聚糖的合成与表征

由于从甲壳素制备壳聚糖和以壳聚糖制取羧甲基壳聚糖的过程中均存在碱化步骤^[11,12],可以合

二为一,使碱化一步到位。这样做既可以使碱的用量减少,还可免除分离壳聚糖的步骤,达成简化生产工艺和缩短反应时间。实际上,当用浓碱的醇溶液处理甲壳素脱乙酰基成为壳聚糖时,甲壳素的颗粒已被充分渗透和溶胀,接着生产的壳聚糖可更有效地与一氯醋酸发生羧甲基化反应。影响壳聚糖羧甲基化反应的主要因素是氢氧化钠、一氯乙酸和反应物甲壳素的用量以及它们之间用量的比例。甲壳素脱乙酰化是碱催化水解反应而壳聚糖羧甲基化反应是碱催化的醚化反应,强碱性介质有利于反应的进行,在中性或酸性条件下羧甲基化反应均会停止,但过量的碱会造成分子链的降解。因此,碱的用量要适当,在本工作中氢氧化钠的用量控制在甲壳素质量的 2~3 倍就可以得到羧甲基化程度较高的产物。理论上要得到完全取代的 *N, O*-羧甲基壳聚糖,一氯乙酸与壳聚糖重复单元的摩尔比应是 3:1,实际上一氯乙酸的用量要大于这个比例才能使反应较为完全。在本工作中,发现一氯乙酸用量低于两倍的甲壳素质量时,羧甲基化反应不理想,产品不能全部溶解于水;但是当一氯乙酸用量达 4 倍甲壳素质量时,随着一氯乙酸的加入,反应体系 pH 值逐渐降低,呈中性甚至酸性,羧甲基化反应停止甚至发生副反应,得不到目标产物。因此一氯乙酸的用量为甲壳素质量的 2~3 倍较为适宜。另外,反应温度和时间对该反应也有较大的影响。一般来说,脱乙酰化温度高于羧甲基化,二者的反应时间控制在 3~4 h 较为适宜。对于羧甲基化,反应温度升高,开始利于反应的进行,但随着反应温度继续升高,醇的挥发严重,不利于反应的进行,而且分子链的降解严重且颜色发黄,反应时间过长也有类似的现象发生。因此,较适宜的脱乙酰化温度为 70~80 °C,羧甲基化的温度为 50~60 °C。

采用酸碱滴定的方法测得上述合成产物的羧甲基取代度 (DS) 为 1.08。该产物的结构进一步用 FTIR 和 ^1H NMR 表征。图 1 为 *N, O*-羧甲基壳聚糖 (CMCS) 的红外光谱。如图 1 所示,在波数 1 605 cm^{-1} 和 1 456 cm^{-1} 出现很强的吸收峰,它们分别是羧甲基壳聚糖的羧基 ($-\text{COO}^-$) 基团不对称和对称伸缩振动特

征吸收峰^[12],这说明了产物分子中存在羧基。由图 1 还可以看出, $1\,065\text{ cm}^{-1}$ 有一较弱的壳聚糖的 C—OH 键伸缩振动特征吸收峰,显示壳聚糖中的羟基未被完全羧甲基化,实际上壳聚糖分子中 3 位的羟基由于空间位阻较难发生取代反应; $2\,918\text{ cm}^{-1}$ 左右甲基和亚甲基伸缩振动吸收峰强很弱,是由于甲壳素脱乙酰化和羧甲基化后,甲基和亚甲基的相对含量减少所致。以上红外光谱的结果表明在本工作的条件下制得了部分在氮和伯羟基氧位置上羧甲基取代的壳聚糖。*N*, *O*-羧甲基壳聚糖 (CMCS) 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱显示于图 2。从图 2 很明显地看出壳聚糖 6 和 3 位羟基取代的羧甲基中的 H 质子 ($-\text{OCH}_2\text{COOD}$) 共振峰出现在 $\delta=4.2\sim 4.5$ 而壳聚糖 2 位氨基取代的羧甲基中的 H 质子 ($-\text{NCH}_2\text{COOD}$) 共振峰位于 $\delta=3.2\sim 3.4$ ^[13,14]。而且 $\delta=4.2\sim 4.5$ 间峰的面积明显高于 $\delta=3.2\sim 3.4$ 间峰的面积,这说明得到的羧甲基壳聚糖为 *N*, *O*-羧甲基壳聚糖且以羟基取代为主。另外,在 $\delta=2.1$ 左右出现一个小峰可以看成是甲壳素脱乙酰化不完全残留的乙酰基 ($\text{CH}_3\text{CO}-$),根据峰的面积估算,在本工作的条件下甲壳素脱乙酰化程度大于 90%。

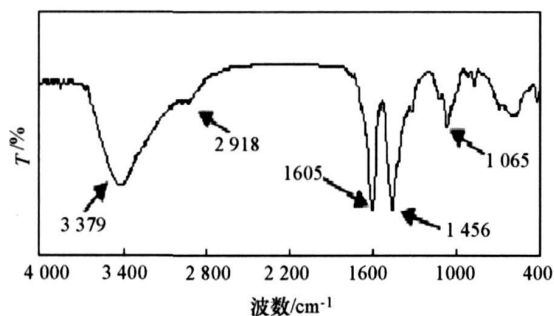


图 1 *N*, *O*-羧甲基壳聚糖 (CMCS) 的红外光谱图

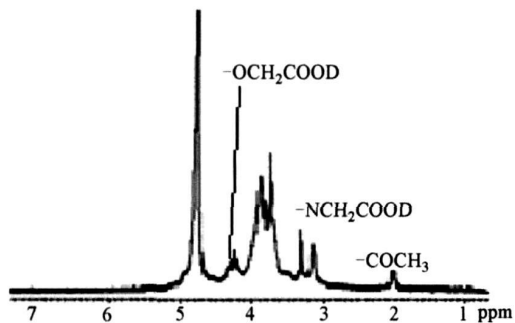


图 2 *N*, *O*-羧甲基壳聚糖 (CMCS) 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

2.2 *N*, *O*-羧甲基壳聚糖 / 双层氢氧化物复合物的制备与表征

层状双层氢氧化物 (LDH) 属于阴离子型粘土,其结构可以看成是由水镁石中的二价阳离子 (M^{2+}) 被三价阳离子 (M^{3+}) 取代而形成的,层上产生的剩余正电荷被吸附在层间的阴离子平衡。与层状硅酸盐相比, LDH 层间电荷密度高,层间空隙小,层与层之间相互作用强,导致聚合物的大分子链难以进入层间形成插层纳米复合材料。*N*, *O*-羧甲基壳聚糖在水中可以解离成大分子阴离子,并与 LDH 层间的平衡阴离子发生交换。双层氢氧化物 (LDH) 煅烧成为双层氧化物 (LDO) 后,在水溶液中可以重构再形成 LDH 结构^[15]。当双层氧化物分散在羧甲基壳聚糖的水溶液过程中,羧甲基壳聚糖大分子链进入双层氧化物重构形成的 LDH 层间形成复合物。

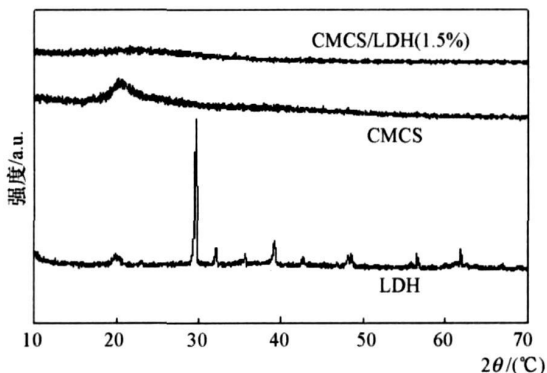


图 3 双层氢氧化物、羧甲基壳聚糖及其复合物的 X-射线衍射谱图

图 3 是本工作制备得到的羧甲基壳聚糖 / Mg-A 双层氢氧化物复合物 (CMCS/LDH) 的 X-射线衍射 (XRD) 谱图。图 3 中的 Mg-A 双层氢氧化物 (LDH) XRD 谱线显示 2θ 在 20.3° 、 29.7° 、 32.3° 、 39.3° 的尖锐衍射峰,然而从羧甲基壳聚糖 / 双层氢氧化物复合物 (CMCS/LDH) 的 XRD 谱图中可见, Mg-A 双层氢氧化物 (LDH) 组分的衍射峰不再出现或宽化弥散,表明复合物中 LDH 的片层已经被层离,并且均匀分散在大分子羧甲基壳聚糖基体中。由此可见, *N*, *O*-羧甲基壳聚糖是一种有效的插层剂,可以用来修饰层状双氢氧化物,开发一类新型的插层纳米复合材料,拓宽羧甲基壳聚糖的应用范围。

3 结论

本文成功地以甲壳素为原料, 碱的异丙醇/水溶液为反应介质, 采用连续操作、不分离中间产物的方法合成了水溶性 *N, O*-羧甲基壳聚糖。实验结果表明: 甲壳素、氢氧化钠、一氯乙酸三者质量之比为 1: 2. 5: 2. 0, 羧甲基化温度为 60℃, 反应时间为 3h 时, 所得羧甲基壳聚糖的取代度达到 1. 08, 产率 12. 1% (以甲壳素计)。所合成的 *N, O*-羧甲基壳聚糖在双层氢氧化物的氧化物重构过程中, 可以进入 LDH 层间、层离 LDH 的片层得到羧甲基壳聚糖 / Mg-Al 双层氢氧化物的复合物。进一步的工作是研究 *N, O*-羧甲基壳聚糖对其他双层氢氧化物的插层作用以及所生成插层复合物的特性。

参 考 文 献

- 1 赵爱杰, 原续波, 常 津. *O*-羧甲基壳聚糖的制备及应用研究进展. 高分子通报, 2004 (4): 59—63
- 2 赵丽瑞, 孙多先, 刘满英. 羧甲基壳聚糖的性能及其在生物医学领域的应用. 高分子通报, 2007 (8): 43—47
- 3 陈 煜, 多英全, 谭惠民. *N, O*-羧甲基壳聚糖的制备及表征. 化工科技, 2007; 15(5): 45—47
- 4 李小飞, 吴玉英. 羧甲基壳聚糖的制备及表征. 精细与专用化学品, 2006 14(24): 26—29
- 5 唐振兴, 石陆娥, 钱俊青. 羧甲基壳聚糖的合成. 新疆化工, 2004; (2): 12—15
- 6 吴 刚. 羧甲基壳聚糖的应用. 滁州学院学报, 2007; 9(6): 65—67
- 7 王海青, 高忠良. 羧甲基壳聚糖的制备及应用现状. 中国食品添加剂, 2002; (6): 67—70
- 8 刘 媛. 层状双金属氢氧化物的合成与应用. 化工时刊, 2005 19(12): 59—62
- 9 柯满竹, 俞康泰. 聚合物-无机层状氧化物纳米复合材料的研究进展. 陶瓷学报, 2003; 24(1): 54—57
- 10 张亚涛, 姜俊青, 张延武, 等. 环氧树脂/层状无机物纳米复合材料. 高分子通报, 2006; (4): 47—51, 83
- 11 No H K, Meyers S P. Preparation of chitin a chitosan. In: Eds. Muzzarelli R A A, Peter M G. Chitin Handbook. Grotammare: Atec Edizioni, 1997, 475—489
- 12 孙胜凌, 王爱琴. *N, O*-羧甲基壳聚糖的合成和吸附性能. 高分子材料科学与工程, 2006 22, 25—29
- 13 Hjerde R J N, Vanm, K M, G nasdalen H *et al*. Chemical composition of *O*-(carboxymethyl)-chitin in relation to lysozyme degradation rates. Carbohydrate Polym., 1997; 34(3): 131—139
- 14 Xie W en m ing Xu Pei q in Liu Q ing. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. Biorg. Medicinal Chem Lett, 2001 11 (13): 1699—1701
- 15 孟锦宏, 张 慧, 王治强, 等. 插层组装超分子结构有机物柱撑阴离子层状材料. 化学通报, 2003 (2): 85—94

Preparation, Characterization and Application of Carboxymethyl Chitosan

KE Ren-huai¹, LUO Xiao-lan¹, FANG Xi-ping¹, TONG Yue-jin¹

(Fujian College of Medical Occupation and Technology, Fuzhou 350101, P. R. China; College of Chemistry and Materials Science,

Fujian Normal University, Fujian Key Laboratory of Polymer Materials¹, Fuzhou 350007, P. R. China)

[Abstract] *N, O*-Carboxymethyl chitosan (*N, O*-CMCS) with a degree of substitution 1. 08 and high aqueous solubility was synthesized by a continuous procedure using chitin as starting material at the presence of isopropyl alcohol as the swelling agent and sodium hydroxide as alkalinity agent. The resulting carboxymethyl chitosan was characterized by FTIR and ¹H NMR spectra. Further, the carboxymethyl chitosan/Mg-Al layered double hydroxide (LDH) composite was prepared by the intercalation method. The XRD demonstrated that the LDHs are exfoliated in the *N, O*-CMCS matrix and *N, O*-CMCS is an effective intercalating material for LDH.

[Key words] chitin *N, O*-carboxymethyl chitosan Mg-Al LDH composite intercalation