



УДК 547.458.04

## ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ХИТОЗАНА НА ЕГО ХАРАКТЕРИСТИКИ

*Генче-Ковас К., Нието Х.М., Гарсиа-Алонсо И., Фернандес-Белтран Х.Р.\**

*Институт экспериментальной химии и биологии  
Академии наук Кубы, Куба, Гавана*

*\* Национальный центр научных исследований, Куба, Гавана*

Изучено влияние времени и температуры реакции на степень дезацетилирования и молекулярную массу хитозана, получаемого щелочным гидролизом хитина омара *Panulirus argus*. Показано, что между достигаемой степенью дезацетилирования и молекулярной массой хитозана существует компромиссная зависимость. Установлено, что время гидролиза может влиять также на оптическую активность получаемого хитозана.

При спектрофотометрическом определении степени дезацетилирования хитозана установлено, что отношение поглощений  $A_{1550}/A_{1430}$ , отложенное против степени дезацетилирования, дает лучшую корреляцию по сравнению с отношением  $A_{1550}/A_{2878}$ , использовавшимся ранее.

Исследования хитозана, дезацетилированного производного хитина (поли-N-ацетил-D-глюкозамина), привлекают к себе все возрастающее внимание в связи с возможным применением этого продукта в самых различных отраслях производства [1, 2].

Хитозан не является химически чистым полимером, а представляет собой продукт, свойства которого определяются источником и методом приготовления. Его характеристики зависят от целого ряда факторов, в частности от концентрации щелочи, используемой при дезацетилировании, времени и температуры дезацетилирования. Поэтому обычно получаемые продукты различаются не только степенью дезацетилирования, но и молекулярной массой [3]. В настоящей работе изучено влияние ряда подобных параметров реакции на характеристики продукта.

Для определения степени дезацетилирования хитозана мы воспользовались ранее не употреблявшимся для этой цели отношением поглощений двух инфракрасных полос.

Таблица I

Характеристики образцов хитозана \*

| Образец ** | Время гидролиза, мин | Содержание Ас-групп, % | $\beta$ *** | $[\eta]$ , дл/г | $\bar{M}_w \cdot 10^4$ | $[\alpha]_D^{20}$ , град |
|------------|----------------------|------------------------|-------------|-----------------|------------------------|--------------------------|
| A          | 15+15                | 0,8                    | 95          | 0,69            | 4,17                   | -14,0                    |
| B          | 10+10                | 0,8                    | 95          | 1,05            | 2,05                   | -12,5                    |
| C          | 90                   | 0,9                    | 94          | 0,51            | 0,79                   | -12,5                    |
| D          | 20                   | 3,3                    | 78          | 1,45            | 3,32                   | -14,5                    |
| E          | 15                   | 3,0                    | 80          | 1,69            | 4,0                    | -16,5                    |
| F          | 5                    | 6,0                    | 60          | 1,65            | 3,98                   | -                        |
| G          | 20                   | 4,6                    | 70          | 1,53            | 3,54                   | -                        |
| H          | 15                   | 5,8                    | 62          | 1,61            | 3,8                    | -                        |
| I          | 5                    | 10,8                   | 28          | -               | -                      | -                        |

\* Проверк указывает, что данные величины не определяли.

\*\* Образцы А—F получали гидролизом хитина 50% NaOH при 140° С, остальные — 45% NaOH при 134° С, образцы А, В подвергались двукратной обработке в указанное время каждая.

\*\*\* Степень дезацетилирования ( $\beta$ ) рассчитана исходя из содержания ацетильных групп в исходном хитине, равного 15%.

Характеристики образцов хитозана, полученных обработкой 50% NaOH (120 мин)

| Образец | Температура гидролиза, °C | Содержание Ас-групп, % | Степень деацетилирования, % | $[\eta]$ , дл/г | $\bar{M}_w \cdot 10^4$ |
|---------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------|------------------------|
| J       | 60                        | 6,1                    | 59                          | 1,62            | 4,0                    |
| K       | 80                        | 3,6                    | 72                          | 1,38            | 3,1                    |
| L       | 100                       | 2,9                    | 81                          | 1,26            | 2,7                    |
| M       | 120                       | 1,2                    | 92                          | 0,73            | 1,3                    |
| N       | 140                       | 0,8                    | 95                          | 0,73            | 1,3                    |

В табл. 1 представлены некоторые основные характеристики хитозанов, полученных при различных условиях протекания реакции. Молекулярную массу продукта, полученного 5-минутной обработкой 45% раствором щелочи из-за нерастворимости образца, в использованной смеси («Эксперимент. часть») установить не удалось.

По мере возрастания времени реакции наблюдалось уменьшение процентного содержания ацетильных групп в получаемом хитозане. Кроме того, видно, что при двукратной обработке в течение 10 или 15 мин каждая достигается большая степень деацетилирования, чем в случае однократного, хотя и более длительного (например, 90 мин), воздействия.

Аналогичная зависимость от времени обработки хитина наблюдается и для молекулярной массы получаемых образцов хитозана; двукратное воздействие также приводит к более значительному снижению молекулярной массы, чем такой же длительности однократная обработка.

Влияние температуры гидролиза на степень деацетилирования и на молекулярную массу хитозана можно проследить в табл. 2. Видно, что влияние температуры сходно с зависимостью от времени в том смысле, что при возрастании температуры степень деацетилирования увеличивается, а молекулярная масса падает.

Это указывает на существование компромиссных зависимостей между степенью достигаемого деацетилирования и молекулярной массой продукта. По мере уменьшения температуры реакции молекулярная масса продукта возрастает, но при этом получение образца с заданной степенью деацетилирования требует более длительного воздействия. По-видимому, активационная энергия гидролиза ацетамидных групп ниже по сравнению с энергией процесса распада полимера.

Исследования оптической активности хитина продемонстрировали изменчивость его удельного вращения в зависимости от источника и метода выделения. В литературе приводились величины удельного вращения хитина, растворенного в смеси N,N-диметилацетамид — 5% LiCl, от  $[\alpha]_D^{25} +75^\circ$  (для розовой креветки) до  $[\alpha]_D^{25} -56^\circ$  (в случае мечехвоста [4]). Эти колебания можно объяснить различной степенью эпимеризации гликозидных связей, либо различной потерей спиральной конформации, либо обоими причинами, возникающими в процессе выделения хитина.

Эти изменения могут иметь значение при формировании пленок и волокон, а также при проявлении биологических свойств, для которых наиболее эффективна нативная левовращающая форма.

Аналогично этому наблюдаются различные величины удельного вращения хитозана. Так, Резерфорд и Остин [4] сообщали о хитозане, который в водном растворе 2% уксусной кислоты обладал удельным вращением  $[\alpha]_D^{25} +30^\circ$ , а Хирано Оэ и Оно [5] приводят величину  $[\alpha]_D^{15} -10,5^\circ$  для почти полностью деацетилированного хитозана в 10% водном растворе уксусной кислоты.

В табл. 1 приведены значения удельного вращения пяти исследованных образцов хитозана. Все они являются левовращающими, а наибольшая величина  $[\alpha]_D$  наблюдается у образца, приготовленного при наименьшей длительности гидролиза.

На рис. 1 представлены ИК-спектры хитина и двух образцов хитозана,

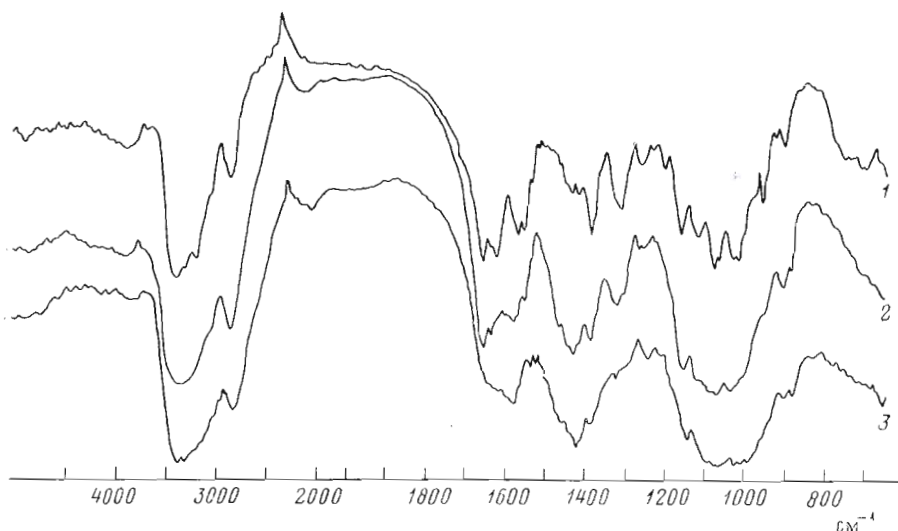


Рис. 1. ИК-спектры хитина (1) и хитозанов со степенью ацетилирования 3,3 (2) и 0,8% (3)

различающихся по степени ацетилирования. В спектре хитина можно наблюдать характерные полосы при 1650, 1550 и 1320  $\text{см}^{-1}$ , которые принято относить к полосам Амид I, II и III. Четко выраженная полоса при 1380  $\text{см}^{-1}$  была приписана асимметричному деформационному колебанию  $\text{СН}_2$ -группы.

Можно видеть, что увеличение степени дезацетилирования приводит к уменьшению интенсивности этих полос. Напротив, поглощение при 1430  $\text{см}^{-1}$  возрастает с ростом степени дезацетилирования. Т. Саннан и соавт. [6] сообщали, что отношение поглощения в полосе 1550  $\text{см}^{-1}$  к поглощению  $\text{СН}$ -группы при 2878  $\text{см}^{-1}$ , отложенное против степени дезацетилирования образца хитозана, дает прямую линию, которая с хорошей точностью может служить для оценки степени дезацетилирования хитина.

На рис. 2 приведены графики этой зависимости для 10 образцов хитозана. Коэффициент корреляции составил 0,935. Альтернативный подход, предлагаемый в данной работе, состоит в отложении отношения поглощений в полосах при 1550 и 1430  $\text{см}^{-1}$  против степени дезацетилирования,

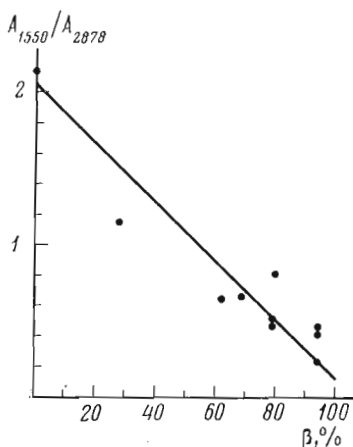


Рис. 2

Рис. 2. Калибровочная кривая, полученная для отношения поглощений  $A_{1550}/A_{2878}$  как функция степени дезацетилирования ( $\beta$ )

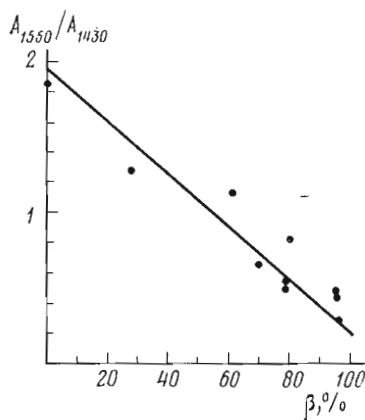


Рис. 3

Рис. 3. Калибровочная кривая, полученная для отношения поглощений  $A_{1550}/A_{1430}$  как функции степени дезацетилирования ( $\beta$ )

как это сделано на рис. 3. Коэффициент корреляции полученной прямой составляет 0,955.

Линии регрессии как функции процентного содержания ацетильных групп в образце имеют следующий вид:

а) для отношения  $A_{1550}/A_{2878}$

$$y = 8,07x - 1,32; \quad r = 0,935;$$

б) для отношения  $A_{1550}/A_{1430}$

$$y = 9,72x - 3,11; \quad r = 0,955.$$

В обоих случаях  $y$  представляет собой процентную долю ацетильных групп в образце,  $x$  — отношение поглощений и  $r$  — коэффициент корреляции.

Авторы благодарят Институт физической химии АН СССР за измерения оптической активности образцов.

### Экспериментальная часть

Образцы хитозана получали из хитина панцирей омаров *Panulirus argus* по методике, описанной Р. Д. Хенрикесом и О. М. Ньюто [7].

Хитин обрабатывали 45 и 50% водными растворами NaOH при весовом отношении хитина к щелочи 1 : 15. Реакции проводили при различных температурах. Наивысшими температурами были точки кипения смесей:  $140 \pm 2^\circ \text{C}$  в случае гидролиза 50% раствором NaOH и  $134 \pm 2^\circ \text{C}$  в случае 45% раствора (см. табл. 1 и 2). Два образца подвергались двум последовательным воздействиям в течение коротких промежутков времени (10 и 15 мин).

Продукт отмывали дистиллированной водой вплоть до pH 7, а затем этанолом и водой. После этого образец высушивали при  $20^\circ \text{C}$ .

ИК-спектры записывали на спектрофотометре Unicam SP-200. Таблетки для ИК-измерений приготавливали из образцов, измельченных с KBr.

Величину характеристической вязкости определяли на вискозиметре типа Ubbelohde, помещенном в термостатируемую ванну при  $25 \pm 0,02^\circ \text{C}$ . В качестве растворителя использовали смесь 0,2 М уксусной кислоты, 0,1 М хлорида натрия и 4 М мочевины.

Молекулярные веса рассчитывали с помощью уравнения

$$[\eta] = K \bar{M}_w^a,$$

где  $[\eta]$  — характеристическая вязкость,  $\bar{M}_w$  — средневесовая молекулярная масса, а  $K$  и  $a$  — постоянные. Значения  $K$  и  $a$  были взяты из работы Ли [8], исследовавшего хитозан в таком же растворителе при  $25^\circ \text{C}$ :  $K = 8,93 \cdot 10^{-4}$  и  $a = 0,71$ .

Содержание ацетильных групп определяли по методике, предложенной Ф. А. Резерфордом и П. Р. Остином [4]. Она основана на гидролизе ацетильных групп сильной щелочью и их превращении в уксусную кислоту. Уксусную кислоту отгоняли в виде азеотропной смеси с водой, а затем титровали.

Оптическую активность хитозана измеряли в 10% водном растворе уксусной кислоты на фотоэлектронном поляриметре AJ-EPO в 5-см кюветах. Угол вращения определяли с ошибкой  $0,01^\circ$ .

### ЛИТЕРАТУРА

1. Muzzarelli R. A. A. Chitin. Oxford: Pergamon Press, 1977.
2. Austin P. R., Brine C. J., Castle J. E., Zikakis J. P. Science, 1981, v. 212, p. 749–753.
3. Filar L. J., Wirick M. G. In: Proc. First Int. Conf. on Chitin/Chitosan, MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA/Eds Muzzarelli R. A. A., Pariser E. R., 1978, p. 169–181.
4. Ruiterford F. A., Austin P. R. In: Proc. First Int. Conf. on Chitin/Chitosan, MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA/Eds Muzzarelli R. A. A., Pariser E. R., 1978, p. 182–192.
5. Hirano S., Ohe Y., Ono H. Carbohydr. Res., 1976, v. 47, p. 315.

6. Sannan T., Kurita K., Ogura K., Iwakura Y. *Polymer*, 1978, v. 19, p. 458.
7. Nieto O. M., Henriquez R. D. Patent No. 34222. Boletín Oficial de la Oficina Nacional de Investigaciones Informacion Tecnica y Marcas, No. 62, Havana, 1976.
8. Lee V. F. University Microfilms (Ann Arbor), 1974, 74/29446.

Поступила в редакцию  
25XI.1983

## INFLUENCE OF SOME PARAMETERS OF CHITOSAN PREPARATION ON ITS CHARACTERISTICS

PENICHE-COVAS C., NIETO J. M., GARCÍA-ALONSO I.,  
FERNÁNDEZ-BELTRÁN J. R.\*

*Instituto de Química y Biología Experimental, A.C.C., Ave. 26, No. 1605, Nvo. Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba; \*Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apartado 6690, Ciudad de La Habana, Cuba*

The influence of reaction duration and temperature on the deacetylation degree and molecular weight of chitosan obtained by alkaline hydrolysis of lobster chitin was studied. A compromise dependence was revealed between the attainable degree of deacetylation and molecular weight. It was found that the time of hydrolysis may also affect the optical activity of the resulting chitosan. Spectrophotometric determination of the deacetylation degree for chitosan samples demonstrated that the absorbance ratio  $A_{1550}/A_{1430}$  plotted versus the deacetylation degree gives a better correlation than the earlier employed ratio  $A_{1550}/A_{2878}$ .