

# 甲壳多糖及单糖的制备工艺研究<sup>\*</sup>

邢荣娥<sup>1</sup> 于华华<sup>1</sup> 刘 松<sup>1</sup> 李鹏程<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院研究生院)

(<sup>2</sup>中国科学院海洋研究所)

甲壳质(chitin),又名甲壳素,几丁质,主要存在于虾、蟹、蛹及昆虫等动物外壳中。其衍生物壳聚糖(chitosan)又名甲壳胺或脱乙酰甲壳素,是甲壳质经脱乙酰化反应制得的产物,是最基本、最重要的甲壳质衍生物。

壳聚糖具有良好的吸湿性、成膜性、气透性、降解性、生物相容性、无毒副作用以及不污染环境的优良性质,广泛应用于环保、食品、化工、医药、纺织、造纸、卷烟、农业、化妆品、印染、生物医学、酶制剂、保健品、金属回收等许多行业中。因此,甲壳质作为一种纯天然的自然资源,对其开发和应用具有极其深远的意义。但甲壳质及其壳聚糖的高度不溶性极大地限制了它们的应用,必须对它们进行化学深加工,或结构修饰,引入或改变其分子链上的某个基团,或者完全降解或部分降解其分子链,从而得到一些具有特殊性质、水溶性有所改善的衍生物产品来满足人们的使用需要,因此甲壳单糖随之问世。

D-氨基葡萄糖盐酸盐(GAH)是甲壳质或壳聚糖的降解产物,其结构为 D-葡萄糖分子中 C<sub>2</sub>-羟基被氨基所取代,因氨基显碱性,与盐酸结合成盐。D-氨基葡萄糖盐酸盐是重要的生化试剂和医药中间体,其用途十分广泛:对人体具有重要的生理功能,它参与肝肾解毒,发挥抗炎护肝的作用;它能促进抗生素药剂的注射功能,也可作为糖尿病患者的营养补助剂,大剂量使用对宿主组织无害,但对体内恶性细胞却是一种细胞毒;它促进人体黏多糖的合成,改善关节软骨的代谢及修复;此外,它还可作为化妆品和饲料的添加剂。目前,国内、外对 D-氨基葡萄糖的需求日益增加。

本文论述了甲壳质和壳聚糖的制备技术,并着重研究了单糖的最优化制备方法,通过正交实验,进行了 3 因素 6 水平 72(3<sup>6</sup>×2) 个实验;同时研究了抽滤工艺和脱色工艺对产品质量的影响,为今后高质量的生产 D-氨基葡萄糖盐酸盐及工业化提供了技术指导。

## 一、甲壳多糖及其衍生物

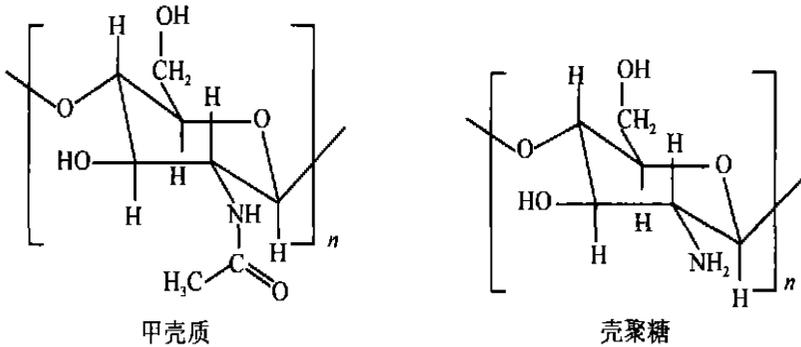
### 1 甲壳多糖及其衍生物的结构

甲壳质及其衍生物壳聚糖具有基本相同的化学结构,由 $\beta(1-4)$ 糖苷键连接,2-乙酰

<sup>\*</sup> 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 4445 号。

李鹏程,研究员,现从事海洋生物活性物质提取研究工作。E-mail: peli @ ms. qdio. ac. cn.

氨基-2-脱氧-D 吡喃葡萄糖和 2-氨基-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖。其结构为



## 2 甲壳质及其衍生物(壳聚糖)的理化性质

甲壳质为白色或淡黄色的固体, 常温下能稳定存在, 它的分子间存在着强烈的氢键作用, 使其结晶高度稳定, 从而造成了甲壳质的高度难溶解的性质。甲壳质不溶于水及绝大多数有机溶剂, 也不溶于稀酸、稀碱、浓碱中, 仅溶于极少数特殊的溶剂中如含氯化钾的二甲基甲酰胺溶剂。壳聚糖多数为有珍珠光泽的亮片, 分子上的活性基团为氨基而不是乙酰氨基, 这也是甲壳质和壳聚糖在结构和理化性质上发生变化的主要原因。壳聚糖随着乙酰氨基含量的减少或游离氨基含量的增加, 溶解性增加, 可在某些有机酸及稀酸中溶解, 从而使反应活性增加。利用壳聚糖糖环上的 C<sub>6</sub> 位的羟基和 C<sub>2</sub> 位的氨基的反应活性, 可进行各种化学改性, 得到许多新的衍生物。

## 3 甲壳质及其衍生物(壳聚糖)的制备

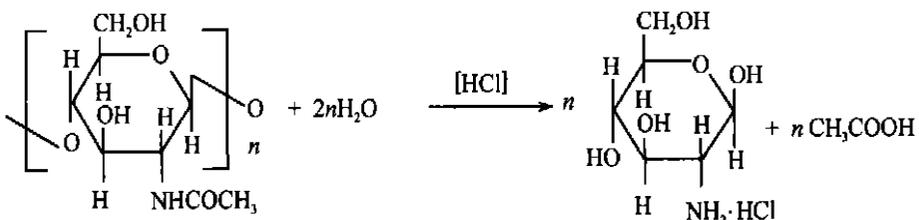
甲壳质及其衍生物(壳聚糖)的制备选自李鹏程等(1997)的制备方法。

# 二、甲壳单糖的制备

本文采用酸降解甲壳质制备单糖, 通过对此方法的研究, 将确定出省时节能的优化工艺。

## 1 制备原理

甲壳质(N-乙酰基-2-脱氧-β-D-葡萄糖聚合物)在一定的条件下用盐酸充分水解, 生成 D-氨基葡萄糖盐酸盐, 分子式为 C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>NCl, 分子量(MW)为 215.64。此单糖盐酸盐易溶于水, 稀酸及稀碱溶液; 微溶于甲醇、乙醇; 难溶于丙酮、乙醚、石油醚及氯仿等溶剂, 其 1% 溶液 pH 值为 6~7, 反应式为



甲壳质经历了糖苷键的断裂和酰胺键的水解两个反应,这两个反应主要取决于酸的浓度、反应温度和加热时间。

## 2. 制备方法

向装有搅拌器、恒温温度计的三口瓶中,按正交实验条件加入甲壳质和浓盐酸,加热水解,脱色,过滤(或过滤,脱色),浓缩,结晶得粗产品,粗产品重结晶,烘干得 D-氨基葡萄糖盐酸盐,与氢氧化钠中和、脱盐得 D-氨基葡萄糖。

## 3. 制备流程图

甲壳质→酸解→脱色→浓缩→结晶→粗产品→重结晶→纯品→保存,最后进行其他项目分析。

# 三、甲壳质水解制备单糖的条件研究

## 1. 甲壳质与盐酸的配比影响

甲壳质与盐酸的配比对单糖盐酸盐产率的影响,也就是酸度对其的影响。由图 1 可看出,在不同的温度下,酸度对甲壳质降解的影响是不同的。在 36%~38% 的浓盐酸作

用下,温度为 80℃ 时,随着酸度增大,产率先增后减;温度为 90℃ 时,产率则随着浓度增大,逐渐减小。而且无论是先抽滤后脱色处理还是先脱色后抽滤处理,它们的变化效果是一致的。这是因为随着酸度增大,破裂糖苷键的能力也增大,水解所需温度随之降低,时间相应缩短。但若温度过高,时间过长,则原已完全水解的单糖就会在高温下产生粘壁焦化现象,从而造成产品的质量、产量均下降。因此,为提高甲壳质的利用率,在特定的温度与时间下,选择适当的酸度是一个很关键的问题。

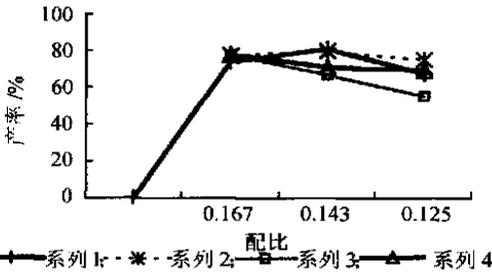


图 1 不同温度和配比对甲壳质降解为单糖的影响  
系列 1: 80℃ 时先脱色后抽滤的结果; 系列 2: 80℃ 时先抽滤后脱色的结果; 系列 3: 90℃ 时先脱色后抽滤的结果; 系列 4: 90℃ 时先抽滤后脱色的结果

## 2. 水解时间的影响

图 2 说明了水解时间与产率的关系。由图中可看出,在不同的温度下,水解所得的最高产率要求的时间不同。反应温度在 80℃ 时,所需时间为 2.5h,最高产率为 80.45%; 温度在 90℃ 时,所需时间为 1.5h,最高产率是 82.15%。但由图可看出,他们总体的变化趋势是相同的,即随时间延长,产率先增后减。此变化趋势与抽滤和脱色的先后顺序无关。产率随时间延长先增后减的现象表明:甲壳质水解是酸催化反应,酸浓度越大,反应速度越快;但当反应时间

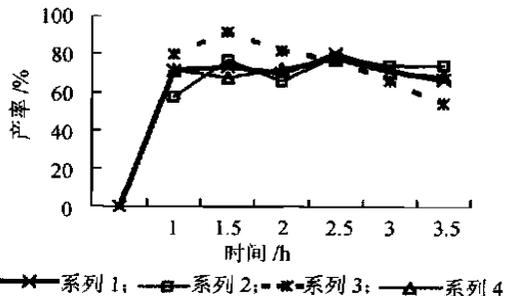


图 2 不同温度和时间对甲壳质降解为单糖的影响  
系列 1: 80℃ 时,先脱色后抽滤的结果; 系列 2: 80℃ 时先抽滤后脱色的结果; 系列 3: 90℃ 时先脱色后抽滤的结果; 系列 4: 90℃ 时先抽滤后脱色的结果

达到一定后, D-氨基葡萄糖盐酸盐产率下降, 这是因为随着时间的增加, 水解生成的D-氨基葡萄糖盐酸盐受酸的催化作用发生复合反应和分解反应的结果。复合反应有可能使氨基葡萄糖盐酸盐的 1, 6 糖苷键结合成二糖或其他低聚糖; 分解反应则可能使氨基葡萄糖盐酸盐分解成 5-氨基糖醛, 乙酰丙酸, 其他有机酸和有色物质。

### 3. 水解温度的影响

图 3 表明了水解温度与产率的关系。温度是影响水解和氧化副反应的最重要因素之一。由图 3 可看出, 随着温度升高, 产率先增后减趋势(先抽滤后脱色或先脱色后抽滤结果是一样的)。温度在 80℃时, 产率达到最高。造成此现象的原因主要是由于盐酸浓度大, 温度高, 焦化现象严重; 再就是温度(即能量)对链断裂反应直接影响。根据能量守恒定律

$$\Delta U_{\text{体系}} = U_2 - U_1 = Q_{-w} = Q_v \quad \text{或} \quad \Delta H = Q_p$$

当一个化学反应发生后, 若使产物的温度回到反应物的起始温度, 体系放出或吸收的能量为反应热, 即

$$\Delta H^0 = \sum(\Delta H_f^0)_{\text{产物}} - \sum(\Delta H_f^0)_{\text{反应物}}$$

因体系温度过高, 也就是  $\Delta H > \Delta H^0$

即  $\Delta H > n\Delta H_f^0(N-H) + n\Delta H_f^0(C-O) - n\Delta H_f^0(C-N) - n\Delta H_f^0(O-HU)$  (对于甲壳质而言)

或  $\Delta H > n\Delta H_f^0(N-H) + n\Delta H_f^0(C-O) - n\Delta H_f^0(O-HU)$  (对于壳聚糖而言)

为了达到能量平衡, 因温度过高而使反应体系中积蓄的过多能量就会使部分甲壳单糖盐酸盐在酸催化下, 或发生复合反应生成二糖或更低键合的糖, 或发生分解使大环变成小环或环断裂成其他的小分子, 这是使反应产率降低的一大原因。

### 4. 洗脱溶剂的影响

洗脱的目的是除去结晶体表面的母液和少量存在的色素。氨基葡萄糖盐酸盐在不同溶剂中的溶解度的大小顺序为: 水 > 乙醇 > 丙酮(钱和生等, 1994 年)。因氨基葡萄糖盐酸盐在水中的溶解度太大, 产品损失严重; 在丙酮中的溶解度虽小, 但因丙酮的挥发性强, 溶剂损失严重且对人体的伤害性大, 因此我们在研制过程中选择了价格低、易回收、效果好的乙醇作为洗脱剂。但乙醇的浓度必须达 95% 以上, 否则会因产品溶于水而造成部分损失。

### 5. 比旋光度测定

通过对旋光度的测定, 发现 D-氨基葡萄糖盐酸盐(D-GAH)存在变旋现象, 这与  $\alpha$  和  $\beta$  的构型转换有关。在溶液放置 4h 后, 比旋光度开始达到平衡。[ $\alpha$ ] $_b^{20}$  为 +72.0, 与 Sigma 公司的产品相吻合(图 4)。

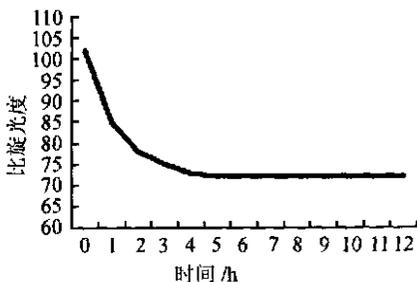


图 4 GAH 溶液比旋光度随时间的变化 ( $T=20^\circ\text{C}$ )

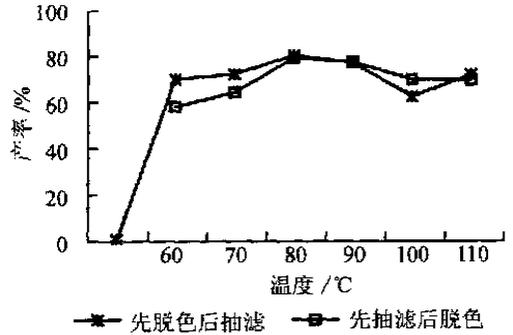


图 3 同一时间不同温度对甲壳质降解为单糖的影响

## 四、总 结

(1) 先前已有多位研究者对单糖酸盐的制备工艺进行了研究,但研究的不是很系统,而且产率最高也仅达到 60%左右。本文采用正交实验以 3 因素 6 水平做了一系列实验,确定了制备甲壳单糖酸盐的最佳工艺条件为:温度在 80~90℃,时间为 2.0~2.5 h,盐酸浓度为 36%,甲壳质与盐酸配比为 1:7, D-氨基葡萄糖酸盐产率可达 80%以上且含量达 99%以上。

(2) 通过对此实验的研究,得出甲壳单糖酸盐产率随时间先增后减的变化趋势,这是因为随着时间的增加,水解生成的 D-氨基葡萄糖酸盐受酸的催化作用发生复合反应和分解反应的结果。复合反应有可能使氨基葡萄糖酸盐的 1,6,糖苷键结合成二糖或其他低聚糖;分解反应则可能使氨基葡萄糖酸盐分解成 5-氨基糠醛,乙酰丙酸,其他有机酸和有色物质。此结果目前尚未见有报道。

(3) 本实验对反应后过量的盐酸进行了回收,测得回收的盐酸浓度约为 20%左右,可以继续利用而不会造成环境污染。

通过对此实验的研究,为今后充分利用甲壳质资源提供了更好的空间,而且随着 D-氨基葡萄糖酸盐工业化的成熟,必将使 D-氨基葡萄糖酸盐这一中间体得到更加充分的利用。

## 参 考 文 献

- 仇立干, 2000, D-氨基葡萄糖酸盐的研制, 苏州大学学报(自然科学), 16(3): 86~90.
- 李南、李继行, 1997, D-氨基葡萄糖酸盐的制备研究, 中国药科大学学报 28(1): 56~58.
- 李鹏程、宋金明, 1997, 甲壳质/壳聚糖及其衍生物化学, 中国甲壳资源研究开发应用学术研讨会论文集(上册), 64~75.
- 杜予民, 2000, 甲壳素化学与应用的新进展, 武汉大学学报(自然科学版), 46(2): 181~186.
- 张立伟、赵椿贵、董建华等, 1999, 氨基葡萄糖酸盐制备及脱色研究, 化学世界, 2: 84~86.
- 严共鸿、李鹏程, 1999, 甲壳质/壳聚糖硫酸酯研究进展, 海洋科学, 4: 24~27.
- 夏文水, 2001, 壳聚糖保健食品的研究, 第三届甲壳素化学与应用研讨会论文集, 15~18.
- 钱和生、李兰、薛红梅, 1994, 氨基葡萄糖酸盐制备及溶解度研究, 化学世界, 2: 75~78.
- 曹根庭, 1998, 盐酸氨基葡萄糖的研制, 化学世界, 5: 250~253.
- Eric Samain, Sophie Drouillard, Alain Heyraud, Hugues et al., 1997, Gram-scale synthesis of recombinant chitooligosaccharides in Escherichia Coli, *Carbohydrate research*, 302: 35~42.
- Ko Suzuki, Takham Mikami, Yoshio Okawa, et al., 1986, Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose, *Carbohydrate research*, 151: 403~408.
- Liang Z., Leslie J., Adebowale, A., et al., 1999, Determination of the nutraceutical, glucosamine hydrochloride, in raw materials, dosage forms and plasma using pre-column derivatization with ultraviolet HPLC, *J. Pharm Biomed Anal.*, 20(5): 807~814.

## STUDY ON PREPARATION OF CHITIN CHITOSAN TO YIELD D-GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE \*

XING Rong<sup>1</sup>, YU Huahua<sup>1</sup>, LIU Song<sup>1</sup>, LI Pengcheng<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences*)

(<sup>2</sup>*Graduate School, The Chinese Academy of Sciences*)

### Abstract

This paper determined the optimum producing technology conditions of chitosan monomer through lots of experiments and compared for merit and shortcoming with the former results.

D-glucosamine hydrochloride is one of the derivation of chitin monomer, it is an important kind of biochemicals and intermedium of medicine, and it is well-liked in international market. We had verdict-crossing experiment with three factors and six levels. On the basis of ultimate yield, monomer content, optical rotation, chromaticity, crystal and so on, we obtained optimum technology conditions. Meanwhile, we investigated the influence of orders of filtration craft and de-colorization craft on the product quality. Our experimental products are consistent with that of sigma Corp. by IR. This work establish an excellently technological guarantee for the future industrialization.

---

\*Contribution No. 4445 from the Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences.