

球磨壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收

喻弘, 邱朝坤, 段东亚, 程晓禾, 张维妮

(武汉设计工程学院食品与生物科技学院, 湖北武汉 430205)

摘要: 采用行星式球磨机对壳聚糖进行球磨处理, 研究了温度和氢氧化锂浓度对球磨壳聚糖在氢氧化锂溶液中吸收效果的影响, 并通过傅立叶红外光谱和 X-射线衍射进行表征。在球磨过程中, 壳聚糖的脱乙酰度没有变化, 而分子量呈逐渐减小的趋势。球磨壳聚糖在 LiOH 溶液中的膨胀度均高于原壳聚糖在 LiOH 溶液中的膨胀度, 说明球磨处理可以促进壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收。溶解温度和 LiOH 溶液的浓度对壳聚糖的膨胀度有显著影响, 其中球磨壳聚糖在 5 °C、4.8wt% LiOH 溶液中膨胀度最高, 与壳聚糖溶于氢氧化锂溶液经冻融后的膨胀度无显著性差异, 说明壳聚糖经过球磨处理后, 不需要经过繁琐的冷冻-解冻过程, 在低温氢氧化锂溶液中可以达到相同的溶解效果。X-射线衍射和红外图谱分析可知壳聚糖在 LiOH 溶液的溶胀过程中, 壳聚糖的结晶结构受到破坏, 壳聚糖的乙酰氨基和羟基与 LiOH 发生反应。

关键词: 壳聚糖; 球磨; 壳聚糖溶剂; 氢氧化锂

文章编号: 1673-9078(2017)12-89-92

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.014

Adsorption Behavior of Ball-milled Chitosan in LiOH Solution

YU Hong, QIU Chao-kun, DUAN Dong-ya, CHENG Xiao-he, ZHANG Wei-ni

(Wuhan Institute of Design and Sciences, College of Food and Biology Science and Technology, Wuhan 430205, China)

Abstract: Chitosan was ball milled by a planetary ball mill, and the effects of temperature and concentration of LiOH aqueous solution on the adsorption of chitosan in LiOH aqueous solution were studied and characterized by FT-IR spectra and XPRD spectra. The deacetylation degree of chitosan had no change, while the molecular weight of chitosan gradually declined during ball milling. Swelling degree of ball-milled chitosan in LiOH aqueous solution was all higher than that of the native chitosan in LiOH aqueous solution, which illustrated that ball milling treatment could promote the absorption of chitosan in LiOH aqueous solution. The solution temperature and concentration of LiOH aqueous solution had a significant influence on the swelling degree of chitosan and the swelling degree of ball-milled chitosan at 5 °C in 4.8wt% LiOH aqueous solution was the highest, which had no significant difference with swelling degree of chitosan in 4.8wt% LiOH solution by freezing-blasting. It illustrated that adsorption of ball-milled chitosan in low-temperature LiOH aqueous solution could also achieve the same effect of dissolution without tedious process of freezing-blasting. XPRD spectra and FT-IR spectra indicated that LiOH destroyed the crystal structure of chitosan and reacted with the acetyl and the hydroxyl groups of chitosan during the swelling process of LiOH solution.

Key words: chitosan; ball-milling; chitosan solvent; Lithium hydroxide

壳聚糖学名是 β -(1 \rightarrow 4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 是由 N-氨基葡萄糖以 β -(1 \rightarrow 4)糖苷键缩合而成的, 是天然高分子中唯一的碱性多糖^[1], 通常是由甲壳素脱乙酰基制备而成^[2]。壳聚糖具有优异的广谱抗菌性、生物相容性和微生物降解性, 但由于分子内和分子间强烈氢键作用的存在, 使其难以溶解在普通溶剂中进行生产加工, 这在一定程度上限制了其研究与应用。

壳聚糖的溶解性与其结构有着密不可分的关系, 其脱乙酰度、乙酰基沿主链的分布、分子量、结晶类型和氢键等因素都是决定溶解度的重要因素^[3]。壳聚

糖通常不溶于水, 也不溶于碱液、有机溶剂和稀硫酸等, 但可溶于乙酸等有机酸和盐酸等无机酸。壳聚糖在酸性水溶液中以聚阳离子形式存在, 通过酸中的质子与壳聚糖上的胺基作用形成铵盐, 从而破坏壳聚糖分子间的氢键进而实现溶解过程^[4]。

关于壳聚糖溶解行为的研究主要集中在酸性体系中, 对壳聚糖在碱溶剂体系中的研究较少。Fan 等人^[5]发现壳聚糖可以通过冷冻-解冻过程, 溶解于 LiOH/尿素溶液, 最适溶剂体系浓度为 4.8% LiOH/8.0% 尿素溶液。Fan 等人^[6]研究了壳聚糖在 LiOH 溶液中的吸收行为和机理, 发现壳聚糖溶解机理是因为壳聚糖分子内、分子间氢键破坏, 低温起到重要作用。同时研究表明, 在碱性-冷冻解冻溶解法中, 脱乙酰度对于壳聚糖的溶解性有着显著影响。本研究采用行星式球磨机

收稿日期: 2017-07-20

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究计划指导性项目 (B2015206)

作者简介: 喻弘 (1987-), 女, 硕士研究生, 实验师, 研究方向: 大分子结构与功能

对壳聚糖进行球磨处理,研究了温度和氢氧化锂浓度对球磨壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收效果的影响,并通过傅立叶红外光谱和 X-射线衍射进行表征。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

壳聚糖,脱乙酰度 $\geq 90\%$,合肥博美生物公司;氢氧化锂:无水,98%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

TDL-5-A 低速大容量离心机,上海安亭有限公司;SPX-430 生化培养箱,上海新苗有限公司;FD-1A-50 冷冻干燥机,北京博医康有限公司;D/Max-III A 型衍射仪,日本 Rigaku 公司;470 FT-IR 型红外光谱仪,日本 NICOLET NEXUS 公司;QM-IBP2 行星球磨机,南京大学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 球磨壳聚糖的制备

采用行星式球磨机,每个罐子加 5 g 壳聚糖,70 g 钢珠(直径 10 mm),转速 400 r/min,球磨一定时间(2 h、4 h、6 h、8 h 和 11 h)。

1.3.2 壳聚糖脱乙酰度的测定^[7]

采用酸碱滴定法测定壳聚糖的脱乙酰度。

1.3.3 壳聚糖分子量的测定^[8,9]

利用乌氏粘度计一点法测定特性粘度。以 0.1 mol/L 乙酸、0.2 mol/L 氯化钠溶液为溶剂,在 25 °C 恒温水浴的条件下测定一个浓度下(稀溶液中)的 η_r 值(其中 $\eta_r = t/t_0$, t_0 为纯溶剂的流出时间, t 为壳聚糖降解液的流出时间),用公式(1)求出特性粘度 $[\eta]$:

$$[\eta] = (\ln \eta_r / c) \times \eta_r^{-1/9} \quad (1)$$

六种样品用以上方法进行测定,每种样品做 3 次平行试验。

测得壳聚糖原料以及壳聚糖降解溶液的粘均分子量后,按式(2)即可求得壳聚糖溶液的粘均分子量 M。

$$[\eta] = 1.81 \times 10^{-3} M^{0.93} \quad (2)$$

1.3.4 温度对壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收影响

分别称取 0.05 g 原壳聚糖及球磨壳聚糖样品,加入到 10 g 4.8% 氢氧化锂溶液中,超声分散 10 min,分别在 25 °C、10 °C 和 5 °C 的温度下静置 4 h 后取出备用。

1.3.5 氢氧化锂浓度对壳聚糖在氢氧化锂溶液

中的吸收影响

分别称取 0.05 g 原壳聚糖以及球磨壳聚糖样品,分别加入到 10 g 2.4%、3.6%、4.8% 和 6% 浓度的氢氧化锂溶液中,超声分散 10 min,在 5 °C 下静置 4 h 后取出备用。

1.3.6 壳聚糖在氢氧化锂溶液中的膨胀度的测定^[6]

将溶解好的壳聚糖样品倒入离心管,3500 r/min 离心 20 min,称取沉淀重量,用公式(3)计算膨胀度 A。

$$A = \frac{m_1 - 0.05 \text{ g}}{0.05 \text{ g}} \times 100\% \quad (3)$$

其中, m_1 : 称取沉淀的重量,单位为克(g)。

1.3.7 样品的 X-射线衍射和红外图谱分析^[6]

分别制备 LiOH 粉末、原壳聚糖粉末、球磨 8 h 壳聚糖粉末、球磨壳聚糖溶胀于 25 °C 4.8wt% LiOH 后的冻干样品、原壳聚糖和球磨壳聚糖分别溶胀于 5 °C 4.8wt% LiOH 后的冻干样品、原壳聚糖和球磨壳聚糖溶胀于 4.8wt% LiOH 冻融后的冻干样品共 8 种样品进行 X 衍射和红外图谱分析,采用傅里叶红外光谱仪采集数据,扫描范围 4000 cm^{-1} ~500 cm^{-1} ,探讨其溶解机理;X 衍射条件:40 kV、34 mA Cu K_{α} ($k=1.5406 \text{ \AA}$),扫描范围 2θ 为 5~60°。

1.3.8 数据分析

采用 SASV 8.1 软件进行分析,用 Anova 进行方差分析,显著性检验方法为 Duncan,检测限为 0.05。有关数据为 3 次以上平均值。

2 结果与分析

2.1 球磨处理对壳聚糖结构的影响

表 1 球磨处理对壳聚糖结构的影响

Table 1 Effects of ball milling treatment on the structure of

chitosan		
球磨时间/h	脱乙酰度/%	M/(g/mol)
0	95.46 \pm 1.38	6.06 $\times 10^5$ \pm 137.38
2	94.10 \pm 1.91	5.84 $\times 10^5$ \pm 127.56
4	94.06 \pm 0.55	5.54 $\times 10^5$ \pm 195.60
6	93.54 \pm 0.20	5.32 $\times 10^5$ \pm 131.06
8	92.77 \pm 1.45	5.10 $\times 10^5$ \pm 129.40
11	93.58 \pm 1.40	4.82 $\times 10^5$ \pm 173.37

由表 1 可知,在球磨过程中,壳聚糖的脱乙酰度变化不大,而壳聚糖的分子量呈逐渐减小的趋势。这是因为球磨介质和壳聚糖之间产生的冲击、剪切和挤压等作用使壳聚糖高分子键发生断裂而发生力化学反应,使壳聚糖降解成低分子质量的聚合物^[10]。

2.2 温度对壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收影响

由表 2 可知, 随溶解温度的降低, 壳聚糖在氢氧化锂溶液中的膨胀度逐渐升高, 其中 5 °C 温度下壳聚糖在氢氧化锂溶液中的膨胀度达到最高, 说明低温可以促进壳聚糖的溶解。由表 2 可以看出, 球磨壳聚糖在氢氧化锂溶液中的溶解度均高于原壳聚糖在氢氧化锂溶液中的膨胀度, 说明球磨处理可以提高壳聚糖在氢氧化锂溶液中的膨胀度。

Fan 等人^[9]研究发现壳聚糖可以通过冷冻-解冻过程, 溶解于 LiOH/尿素溶液。大分子充分吸水后, 分子内部结合水结冰后膨胀, 对分子内分子间氢键的破坏起到重要作用, 类似爆破。因此本研究均用冷冻-

解冻过程作为对照, 比较壳聚糖在氢氧化锂溶液中的溶解效果。由表 2 可知, 球磨壳聚糖在 5 °C 的膨胀度与壳聚糖溶于氢氧化锂经冻融处理后的膨胀度无显著性差异。由此可见, 壳聚糖经过球磨处理后, 不需要经过繁琐的冷冻-解冻过程, 在低温氢氧化锂溶液中也可以达到相同的溶解效果。

2.3 氢氧化锂浓度对壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收影响

由表 3 可知, LiOH 溶液的浓度对壳聚糖的膨胀度有显著影响, 其中壳聚糖在 4.8wt% LiOH 溶液中的膨胀度要明显高于其他浓度下的膨胀度 ($p \leq 0.05$)。LiOH 可以占领壳聚糖的氢键复合位点, 破坏壳聚糖分子间氢键, 从而促进壳聚糖的溶解^[11]。

表 2 球磨壳聚糖在不同温度下的膨胀度

Table 2 Swelling degree of ball milling chitosan at different temperatures

球磨时间/h	温度				
	25 °C	15 °C	10 °C	5 °C	冻融
0	10.73±1.17 ^c	10.40±3.33 ^b	12.11±2.06 ^b	14.13±1.41 ^{ab}	19.59±2.12 ^a
2	12.10±0.29 ^b	11.71±2.54 ^{bc}	15.11±1.72 ^b	21.68±1.15 ^a	21.81±1.44 ^a
4	13.59±1.56 ^{ab}	13.47±2.24 ^{bc}	15.52±1.85 ^b	23.28±2.15 ^a	21.83±3.80 ^a
6	14.79±2.16 ^a	17.38±1.52 ^a	17.74±0.76 ^{ab}	24.30±1.46 ^a	21.84±1.14 ^a
8	15.65±1.03 ^a	16.95±0.50 ^a	23.79±6.86 ^{ab}	22.63±1.19 ^a	23.20±3.31 ^a
11	13.20±1.58 ^{ab}	16.98±2.36 ^a	19.83±2.71 ^{ab}	21.39±2.36 ^a	20.05±4.04 ^a

注: 同一行不同的小写字母表示差异显著 ($p \leq 0.05$)。

表 3 氢氧化锂浓度对壳聚糖在氢氧化锂溶液中的吸收的影响

Table 3 Effects of LiOH concentration on the absorption of chitosan in LiOH solution

球磨时间/h	氢氧化锂浓度/%			
	2.4	3.6	4.8	6
0	5.66±0.04 ^d	7.44±0.75 ^b	10.40±1.33 ^a	8.10±0.84 ^c
2	6.85±0.14 ^c	8.53±1.16 ^b	21.68±1.15 ^a	8.91±2.11 ^b
4	5.97±0.65 ^c	8.91±0.57 ^b	23.28±2.15 ^a	8.07±0.99 ^b
6	6.70±0.99 ^c	7.90±0.49 ^b	24.30±1.46 ^a	9.37±1.51 ^b
8	7.76±0.31 ^c	8.87±0.79 ^b	22.63±1.19 ^a	7.71±0.47 ^c
11	7.30±0.51 ^c	9.76±0.87 ^b	21.39±2.36 ^a	9.01±1.52 ^b

注: 同一行不同的小写字母表示差异显著 ($p \leq 0.05$)。

2.4 壳聚糖样品的 X 衍射和红外射线图谱分析

图 1 为原壳聚糖、球磨壳聚糖和球磨壳聚糖在 LiOH 溶液中溶胀后的冻干样品的 FT-IR 谱图。由图 1 可以看出, 球磨壳聚糖和原壳聚糖的红外谱图无明显差异, 而溶胀后的壳聚糖冻干样品的红外谱图有较

大变化。在壳聚糖红外光谱图中, 2875 cm^{-1} 处为壳聚糖中 C-H 键的伸缩振动峰, 1657 cm^{-1} 处为 C=O 伸缩振动(酰胺 I), 1597 cm^{-1} 为 N-H 键的弯曲振动峰(酰胺 II)^[12,13]; 在壳聚糖溶胀样品的红外图谱中, 1657 cm^{-1} 处酰胺 I 的伸缩振动峰消失, 1597 cm^{-1} 处 N-H 的弯曲振动峰减弱并向低波数移动至 1579 cm^{-1} , 3373 cm^{-1} 处-OH 峰减弱, 而在 3568 cm^{-1} 处出现了明显的尖峰, 说明 LiOH 和壳聚糖的乙酰氨基和羟基发生反应,

与文献[9]报道相符。

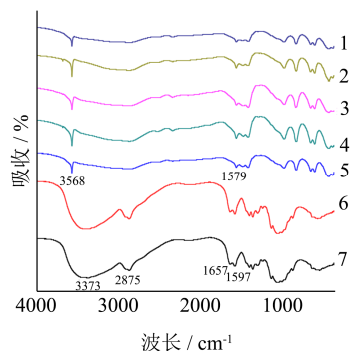


图1 壳聚糖和壳聚糖在 4.8% LiOH 溶液中的溶胀样品的红外光谱图

Fig.1 FT-IR spectra of chitosan and swollen chitosan in 4.8% LiOH aqueous solution

注: 1, 原壳聚糖在 5 °C、4.8% LiOH 中的吸收; 2, 原壳聚糖在 4.8% LiOH 中经冻融处理后的样品; 3, 球磨壳聚糖在 25 °C、4.8% LiOH 中的吸收; 4, 球磨壳聚糖在 4.8% LiOH 中经冻融处理后的样品; 5, 球磨壳聚糖在 5 °C、4.8% LiOH 溶液中的吸收; 6, 球磨壳聚糖; 7, 原壳聚糖。

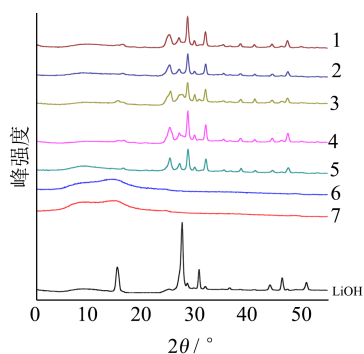


图2 LiOH、壳聚糖和在 4.8% LiOH 溶液中的溶胀样品的 XRPD 图谱

Fig.2 XRPD spectra of LiOH, chitosan and swollen chitosan in 4.8% LiOH aqueous solution

注: 1, 球磨壳聚糖在 25 °C、4.8% LiOH 中的吸收; 2, 原壳聚糖在 5 °C、LiOH 中的吸收; 3, 原壳聚糖在 4.8% LiOH 中经冻融处理后的样品; 4, 球磨壳聚糖在 4.8% LiOH 中经冻融处理后的样品; 5, 球磨壳聚糖在 5 °C、4.8% LiOH 溶液中的吸收; 6, 球磨壳聚糖; 7, 原壳聚糖。

图 2 所示的是原壳聚糖、球磨壳聚糖和球磨壳聚糖在 LiOH 溶液中溶胀后的冻干样品的 X 射线衍射图谱。由图 2 可知, 壳聚糖在氢氧化锂溶液中溶胀后的冷冻干燥样品的衍射图谱都是相似的, 峰的位置与个数相同, 说明他们的结晶结构是一样的, 而与壳聚糖和 LiOH 的衍射图谱均不同, 说明壳聚糖溶解在 LiOH 溶液中形成了新的结晶结构。

由图 2 可以看出, LiOH 水溶液的主要峰值出现

在 $2\theta=15.5^\circ, 27.5^\circ, 30.7^\circ$ 和 31.9° 时。原料壳聚糖没有明显的结晶衍射峰, 表明壳聚糖属于无定形结构聚多糖。在壳聚糖溶胀样品的衍射图谱中, 存在明显的结晶衍射峰且峰形与 LiOH 和壳聚糖均存在较大区别, 说明复合物不是单纯由其中某一组分主导, 而是 LiOH 和壳聚糖发生了聚合反应, 两组分间相互作用的结果, 与红外分析结果一致。

3 结论

3.1 球磨处理对壳聚糖的脱乙酰度没有影响, 而使壳聚糖的粘度均分子量逐渐减小。通过 X-射线衍射图谱可知球磨破坏了壳聚糖的结晶结构。

3.2 球磨处理可以促进壳聚糖在 LiOH 溶液中的溶胀, 其中在 5 °C 4.8wt% LiOH 水溶液中的膨胀度最高, 与壳聚糖溶胀于氢氧化锂经冻融处理后的膨胀度无显著性差异。由此可见, 壳聚糖经过球磨处理后, 不需要经过繁琐的冷冻-解冻过程, 在低温氢氧化锂溶液也可以达到相同的溶解效果。

3.3 通过红外和 X-衍射证实在壳聚糖溶胀过程中, LiOH 不仅与壳聚糖的羟基基团发生反应, 而且与壳聚糖的乙酰氨基基团发生反应。

参考文献

- [1] Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications [J]. Prog. Polymer. Science, 2006, 38(27): 603-632
- [2] Muzzarelli R A A, Muzzarelli C. Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences [J]. Advanced Polymer Science, 2005, 186: 151-209
- [3] 杨俊杰,胡广敏,相恒学,等.壳聚糖的溶解行为及其纤维研究进展[J].中国材料进展,2014,33(11):641-648
YANG Jun-jie, HU Guang-min, XIANG Heng-xue, et al. Progress in the research of chitosan dissolution behavior and its fibers [J]. Materials China, 2014, 33(11): 641-648
- [4] 张威.纳米壳聚糖的制备及降脂活性研究[D].无锡:江南大学,2013
ZHANG Wei. The preparation of nanosized chitosan and its hypolipidemic activity [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013
- [5] Fan M, Hu Q L. Chitosan-LiOH-urea aqueous solution-a novel water-based system for chitosan processing [J]. Carbohydrate Research, 2009, 344(7): 944-947
- [6] Fan M, Hu Q L. Superadsorption of LiOH solution on chitosan as a new type of solvent for chitosan by freezing/blasting [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94: 430-435

(下转第 15 页)

现代食品科技