

Влияние природы растворителей на кинетику деполимеризации хитина и хитозана

Е.Н. Чеботок¹, В.Ю. Новиков², И.Н. Коновалова¹

¹ Технологический факультет МГТУ, кафедра химии

² Полярный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича, Мурманск

Аннотация. В работе изучена деполимеризация хитина и хитозана в воде, органических растворителях и воздухе, в присутствии KI, NaI, NaCl, KOH и NaOH. Показано отсутствие влияния щелочи и солей на кинетику расщепления гликозидных связей в течение до 15 суток. Подтверждено существование окислительной деструкции хитина.

Abstract. In the paper chitin and chitosan depolymerization in water, organic solvents and air in the presence of KI, NaI, NaCl, KOH and NaOH has been studied. It has been shown that alkali and salt do not influence on the kinetics of glycoside bonds' decomposition up to 15 days. The presence of chitin oxidative destruction has been proved as well.

1. Введение

Щелочной химический гидролиз хитина и хитозана является одним из основных методов деацетилирования этих природных полисахаридов с целью получения водорастворимых производных. При деацетилировании хитина было показано, что в щелочных условиях происходит не только расщепление амидных, но и гликозидных связей, что приводит к снижению молекулярной массы хитозана и вязкости его растворов. Например, среднечисленные молекулярные массы продуктов, полученных обработкой хитина 50 % NaOH при 100°C за 0.5 и 5 ч, были соответственно равны 322 и 139 кД (*Bough et al.*, 1978).

Деструкция макромолекулы в щелочной среде, хотя и не такая сильная, как при кислотной обработке, зависит от условий деацетилирования. Она увеличивается при повышении температуры, продолжительности обработки, а также, по-видимому, в присутствии кислорода воздуха. Нудьга и др. (*Нудьга и др.*, 1971; *Нудьга*, 1979) наблюдали разложение хитина при деацетилировании в воздухе и атмосфере азота при высокой температуре (140°C). Они сделали вывод, что для приготовления высоковязких (высокомолекулярных) хитозанов требуется комбинация низкой температуры и бескислородной атмосферы.

Одной из возможных причин деполимеризации в щелочной среде считается окислительная деструкция гликозидных связей под действием кислорода воздуха. Влияние кислорода на процесс деструкции отмечается в ряде работ (*Domard, Rinaudo*, 1983; *Focher et al.*, 1990). Авторы работы (*Bough et al.*, 1978) делают вывод о том, что в присутствии кислорода воздуха динамическая вязкость растворов полимера и, следовательно, его молекулярная масса резко уменьшаются.

Нами показано, что в этой работе наблюдается корреляция между молекулярной массой и степенью деацетилирования, т.е. уменьшение вязкости растворов хитозана, по которой авторы работы вычисляли молекулярную массу, вызвано увеличением растворимости вследствие увеличения степени деацетилирования (рис. 1).

Аналогично в работе (*Tolaimate et al.*, 2000) было показано, что использование атмосферы азота не влияет на молекулярную массу, что, по мнению авторов, согласуется с предположением о том, что разрыв гликозидных связей при щелочном гидролизе не является окислительным процессом.

В настоящей работе мы изучили влияние растворителей на щелочную деполимеризацию хитина с целью выяснения механизма расщепления гликозидных связей.

2. Объекты и методы исследования

В работе использовали хитин, полученный из панциря краба по общепринятой методике (*No, Meyers*, 1995). Среднюю молекулярную массу хитина и хитозана определяли с помощью эксклюзионной ВЭЖХ.

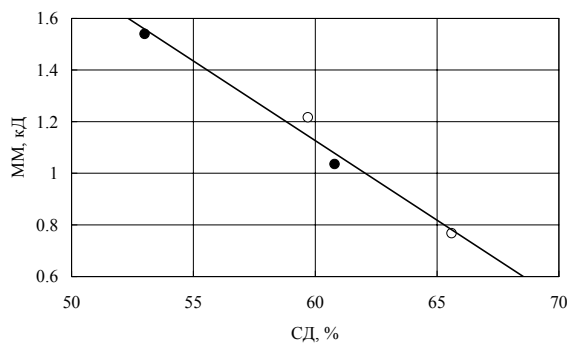


Рис. 1. Зависимость молекулярной массы хитозана, полученного при деацетилировании хитина в 50 % NaOH при 145-150 °C в воздухе (○) и атмосфере азота (●)

Нами была модифицирована методика получения карбоксиметилированных производных хитинов (Chen, Park, 2003) для использования этих производных с целью определения молекулярной массы и молекулярно-массового распределения методом эксклюзионной хроматографии. Предварительно образцы хитинов и хитозанов с различными степенями деацетилирования были ацетилированы 20 % раствором уксусного ангидрида в этаноле при 4°C в течение 24 часов. Затем из полностью ацетилированных хитинов были получены карбоксиметилированные производные взаимодействием с монохлоруксусной кислотой в щелочной среде. Карбоксиметилирование проводили в изопропиловом спирте при 4°C в течение 3 суток. После окончания реакции образцы промывали два раза этанолом и один раз ацетоном. В результате такой модификации мы получали производные, имеющие высокие коэффициенты экстинкции в УФ области спектра (205-210 нм) за счет ацетильных групп, хорошо растворимые в воде. Полученные образцы имеют практически одинаковый химический состав мономерного звена, что позволяет сравнивать их хроматограммы.

Для хроматографии использовали 0.1 % растворы карбоксиметилхитина. Элюировали образцы 0.3 М NaCl при pH 6.5-7.5 и 25°C, скорость потока 1 мл/мин. Калибровку колонки проводили по образцам хитозана с известными средневязкостными молекулярными массами.

3. Обсуждение результатов

Мы попытались выяснить вклад окислительной деполимеризации, и деполимеризации, вызванной собственно действием горячего раствора щелочи, в процесс деструкции полимерных макромолекул хитина и хитозана.

Как следует из распределения электронной плотности во фрагменте гликозидной связи молекулы хитина, на гликозидной связи находится избыточный отрицательный заряд. Таким образом, следует ожидать, что из-за электростатического отталкивания атака гликозидной связи гидроксил-анионами будет подавлена, и, следовательно, в щелочной среде гидролиз гликозидной связи происходить не будет (или будет протекать с малой скоростью).

Нами было показано отсутствие заметного влияния деацетилирования в обычных условиях, а именно, в течение 30 мин при 98°C в 50 % NaOH, на изменение молекулярной массы (табл. 1, образцы 3 и 4, 5 и 6).

Обработка хитина в течение 2 суток при 95°C в воде, 25 %-ном NaCl и 50 %-ном NaOH в атмосфере кислорода и атмосфере азота показала практически одинаковое снижение молекулярной массы карбоксиметилхитинов (КМХТН). Отмечается незначительно большая ММ для образцов, обработанных 50 % NaOH. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что растворенный кислород и гидроксил-ион не являются инициаторами расщепления гликозидной связи. По всей видимости, эту роль выполняет вода, которая присутствует во всех рассмотренных системах в избытке. Меньшая деполимеризация в растворах NaOH объясняется, по-видимому, меньшей концентрацией воды (50 %), по сравнению с чистой водой (100 %) и раствором NaCl (75 %).

Таблица 1. Относительные молекулярные массы (ММ/ММ₀, %) карбоксиметилхитинов, полученных из хитинов и хитозанов, обработанных в разных условиях. ММ₀ – молекулярная масса карбоксиметильного производного исходного хитина, 120 кД

№	Условия обработки	Воздух		Кислород		Азот	
		90 мин	96 ч	48 ч	72 ч	48 ч	72 ч
1	Исходный ХТН	100.0					
2	ХТН + 0.5 М HCl, 50 °С	87.1					
3	ХТЗ из образца № 2	86.6					
4	ХТН + 5.0 М HCl, 50 °С	70.6					
5	ХТЗ из образца № 4	71.3					
6	ХТН + H ₂ O, 90 °С			89.3	80.0	91.4	77.9
7	ХТН + 50 % NaOH, 98 °С			89.3	88.5	93.1	85.9
8	ХТН + 25 % NaCl, 98 °С			94.0	89.7	93.6	90.2
9	ХТН + 50 % NaOH, 98 °С		91.0				
10	ХТН + 50 % NaI, 98 °С		88.5				
11	ХТН + 50 % KOH, 98 °С		92.3				
12	ХТН + 50 % KI, 98 °С		91.4				

Нами было изучено влияние природы катиона и аниона соли и щелочи, как нуклеофильных и электрофильных реагентов, которые могут оказывать влияние на скорость гидролиза гликозидной связи. Для этого проводили гидролиз в 50%-ных растворах KI, NaI, KOH и NaOH при температуре 98°C в

течение 4 суток. Как видно из результатов, приведенных в табл. 1, молекулярные массы образцов хитина после проведения гидролиза в этих растворах практически одинаковы.

Мы изучили влияние природы растворителей на деполимеризацию хитина. Для получения более заметного изменения ММ обработку хитина проводили в запаянных ампулах при 100°C в течение месяца. Результаты приведены на рис. 2.

Результаты позволяют сделать предположение о существовании окислительной деполимеризации за счет кислорода воздуха. В пользу этого предположения говорит различие кинетических кривых деполимеризации в водных суспензиях (кривые 1, 2 и 3), в суспензиях в органических растворителях (кривые 4, 5 и 6) и в воздухе (кривая 7). Растворимость кислорода в воде составляет 0.031 мл/мл жидкости при 20°C. В органических растворителях растворимость кислорода выше, например, в ацетоне – 0.22 мл/мл при 20°C. При контакте сухого хитина с воздухом деструкция еще больше.

Практически одинаковая деструкция в атмосфере азота и воздухе, а также в 50 % NaOH в первые 5-7 суток свидетельствует, по-видимому, о том, что на этом этапе над окислительной деполимеризацией преобладает гидролиз гликозидных связей.

При длительной обработке форма кинетической кривой деполимеризации в 50 % NaOH отличается от таковой в воде. Вначале кинетические кривые совпадают, что говорит об отсутствии влияния щелочи на гидролиз гликозидных связей. Но после 15 суток наблюдается ускорение реакции деполимеризации в щелочи. Мы предполагаем, что изменение характера кинетической кривой объясняется изменением структуры хитозана в результате глубокого деацетилирования. По-видимому, гликозидные связи в высокодеацетилированном хитозане легче подвергаются щелочному гидролизу.

4. Выводы

При щелочном гидролизе хитина и хитозана гидроксил-ион не является инициатором расщепления гликозидной связи. По всей видимости, эту роль выполняет вода, которая присутствует во всех рассмотренных системах в избытке, и растворенный кислород. Влияние кислорода начинает заметно проявляться при длительной обработке.

Установлены практически одинаковые закономерности в изменении молекулярной массы хитина при его гидролизе в растворах NaOH, KOH, NaCl, NaI, KI.

В органических растворителях скорость деполимеризации хитина выше, чем в воде, приближаясь к скорости деполимеризации сухого хитина в воздухе, что объясняется, вероятно, большей растворимостью кислорода.

Литература

- Bough W.A., Salter W.L., Wu A.C.M., Perkins B.E.** Influence of manufacturing variables on the characteristics effectiveness of chitosan products. *Biotechnology and Bioengineering*, v.20, N 12, p.1931-1943, 1978.
- Chen X.-G., Park H.-J.** Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions. *Carbohydrate Polymers*, v.53, N 4, p.355-359, 2003.
- Domard A., Rinaudo M.** Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.5, N 1, p.49-52, 1983.
- Focher B., Beltrame P.L., Naggi A., Torri G.** Alkaline N-deacetylation of chitin enhanced by flash treatments. Reaction kinetics and structure modifications. *Carbohydrate Polymers*, v.12, N 4, p.405-418, 1990.
- No H.K., Meyers S.P.** Preparation and characterization of chitin and chitosan: A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, v.4, N 2, p.27-52, 1995.
- Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazi M., Alagui A., Vincendon M., Vottero P.** On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, v.41, N 7, p.2463-2469, 2000.
- Нудьга Л.А.** Получение хитозана и его производных и исследование их свойств. *Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. хим. наук*, 21 с., 1979.
- Нудьга Л.А., Плиско Е.А., Данилов С.Н.** Получение хитозана и изучение его фракционного состава. *Журнал общей химии*, т.41, № 11, с.255-259, 1971.

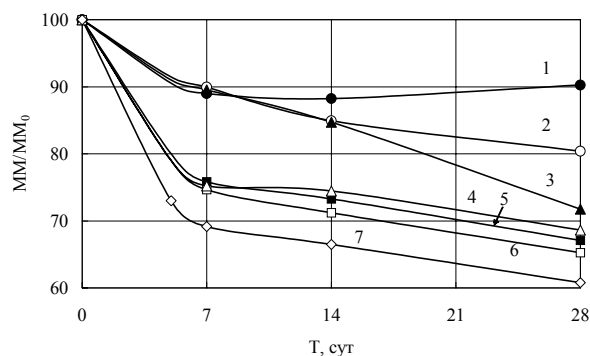


Рис. 2. Кинетика изменения относительной молекулярной массы хитина при 100°C в воде, насыщенном азотом (1) и насыщенном воздухом (2), в 50 % NaOH (3), в насыщенном воздухом ацетоне (4), тетрагидрофуране (5), ацетонитриле (6) и сухой образец в воздухе (7)