



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103665190 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 26

(21) 申请号 201310676454. 6

(22) 申请日 2013. 12. 11

(71) 申请人 深圳先进技术研究院

地址 518055 广东省深圳市南山区西丽大学  
城学苑大道 1068 号

(72) 发明人 赵晓丽 黄卓瑶 吴帅 潘浩波

(74) 专利代理机构 广州三环专利代理有限公司  
44202

代理人 郝传鑫 熊永强

(51) Int. Cl.

C08B 37/08 (2006. 01)

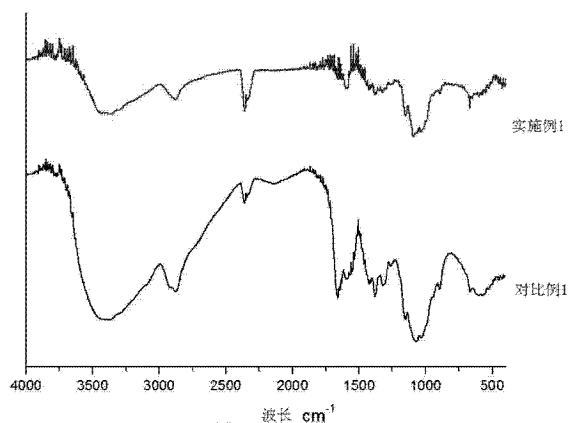
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

### (54) 发明名称

一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法

### (57) 摘要

本发明提供了一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法,依次包括除矿物质、除蛋白及脂类、除矿物质、除蛋白及脂类、脱乙酰和纯化的步骤,该方法采用南极磷虾为原料,制得的壳聚糖杂质少,脱乙酰度高,可以满足壳聚糖在医药和生物领域的应用。



1. 一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1)除矿物质:取干燥南极磷虾壳,置于酸液中浸泡,过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除矿物质后的虾壳;

(2)除蛋白及脂类:将步骤(1)得到的除矿物质后的虾壳置于碱液中加热,然后过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除蛋白及脂类后的虾壳;

(3)除矿物质:将步骤(2)得到的除蛋白及脂类后的虾壳置于酸液中浸泡,过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除矿物质后的虾壳;

(4)除蛋白及脂类:将步骤(3)得到的除矿物质后的虾壳置于碱液中加热,过滤,收集固体,将所述固体水洗至中性,干燥后得到甲壳素;

(5)脱乙酰:将步骤(4)得到的甲壳素加入浓碱中加热回流,冷却后过滤得到固体,将所述固体水洗至中性,干燥后得到粗壳聚糖;

(6)纯化:将步骤(5)得到的粗壳聚糖溶于稀酸中得到混合溶液,用稀碱滴定所述混合溶液 pH 值至 8 ~ 8.5,水洗后干燥得到亮白色粉末,即壳聚糖。

2. 如权利要求 1 所述的壳聚糖的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,所述干燥南极磷虾壳在酸液中的浓度为 0.05g/mL ~ 0.1g/mL。

3. 如权利要求 1 所述的壳聚糖的制备方法,其特征在于,步骤(1)和步骤(3)中,所述酸液为 2mol/L 的盐酸,所述浸泡操作为室温下浸泡 1h。

4. 如权利要求 1 所述的壳聚糖的制备方法,其特征在于,步骤(2)和步骤(4)中,所述碱液为 1mol/L 的氢氧化钠,所述加热操作为加热煮沸 1h。

5. 如权利要求 1 所述的壳聚糖的制备方法,其特征在于,步骤(5)中,将所述甲壳素加入所述浓碱中,在 110℃加热回流 1h,所述浓碱为质量分数为 50% 的氢氧化钠溶液。

6. 如权利要求 1 所述的壳聚糖的制备方法,其特征在于,步骤(5)后,将所述粗壳聚糖采用步骤(5)的方法再次进行脱乙酰。

7. 如权利要求 1 所述的壳聚糖的制备方法,其特征在于,步骤(6)中,将所述粗壳聚糖溶于 0.01g/mL 的醋酸中得到混合溶液,用 0.1mol/L 氢氧化钠滴定所述混合溶液 pH 值至 8.5。

## 一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及高分子聚糖的制备方法,特别涉及一种壳聚糖的制备方法。

### 背景技术

[0002] 壳聚糖(chitosan)是由甲壳素(chitin)经过脱乙酰作用得到的,是天然多糖中唯一的碱性多糖,这种高分子材料由于具有生物相容性好、微生物易降解性等优点,被各行各业广泛关注。

[0003] 目前,生产壳聚糖主要是以近海虾、蟹壳为原料,采用稀酸稀碱处理法从中提取壳聚糖,但是该方法存在以下问题:

[0004] (1)近海甲壳类动物生活的水域受化工厂、农药和生活污水等污染,海虾、蟹壳中含有大量有害元素,制得的壳聚糖中杂质较多,对工业应用和人体健康造成极大的影响;(2)近海的虾、蟹种类繁多,虾、蟹壳中甲壳素含量相差很大,甲壳素最少时质量仅为8%,高的可达30%左右,导致最后制得的壳聚糖产品重复性差,质量相差悬殊,难以满足对高品质壳聚糖的需求;(3)制备得到的壳聚糖的脱乙酰度为55%~85%,脱乙酰度不高,这大大限制了壳聚糖在医药和生物领域的应用;(4)制备过程中需要对甲壳素脱色,过程繁琐。

[0005] 因此,如何制备杂质少、产品重复性良好和脱乙酰度高的壳聚糖成为研究的重点。

### 发明内容

[0006] 为解决上述问题,本发明提供了一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法,该方法采用南极磷虾为原料,制得的壳聚糖杂质少,产品重复性良好,脱乙酰度高,可以满足壳聚糖在医药和生物领域的应用。

[0007] 本发明提供的一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法,包括以下步骤:

[0008] (1)除矿物质:取干燥南极磷虾壳,置于酸液中浸泡,过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除矿物质后的虾壳;

[0009] (2)除蛋白及脂类:将步骤(1)得到的除矿物质后的虾壳置于碱液中加热,然后过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除蛋白及脂类后的虾壳;

[0010] (3)除矿物质:将步骤(2)得到的除蛋白及脂类后的虾壳置于酸液中浸泡,过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除矿物质后的虾壳;

[0011] (4)除蛋白及脂类:将步骤(3)得到的除矿物质后的虾壳置于碱液中加热,过滤,收集固体,将所述固体水洗至中性,干燥后得到甲壳素;

[0012] (5)脱乙酰:将步骤(4)得到的甲壳素加入浓碱中加热回流,冷却后过滤得到固体,将所述固体水洗至中性,干燥后得到粗壳聚糖;

[0013] (6)纯化:将步骤(5)得到的粗壳聚糖溶于稀酸中得到混合溶液,用稀碱滴定所述混合溶液pH值至8~8.5,水洗后干燥得到亮白色粉末,即壳聚糖。

[0014] 优选地,所述干燥南极磷虾壳在酸液中的浓度为0.05g/mL~0.1g/mL。

[0015] 优选地,步骤(1)和步骤(3)中,所述酸液为 2mol/L 的盐酸,所述浸泡操作为室温下浸泡 1h。

[0016] 优选地,步骤(2)和步骤(4)中,所述碱液为 1mol/L 的氢氧化钠,所述加热操作为加热煮沸 1h。

[0017] 优选地,步骤(5)中,将所述甲壳素加入所述浓碱中,在 110℃加热回流 1h,所述浓碱为质量分数为 50% 的氢氧化钠溶液。

[0018] 优选地,步骤(5)后,将所述粗壳聚糖采用步骤(5)的方法再次进行脱乙酰的操作。

[0019] 优选地,步骤(6)中,将粗壳聚糖溶于浓度为 0.01g/mL 的稀醋酸中得到混合溶液,用 0.1mol/L 氢氧化钠滴定混合溶液 pH 值至 8.5,水洗后干燥得到亮白色粉末,即壳聚糖。

[0020] 南极磷虾作为一种深海生物资源,生活的水域基本上不受污染。其虾壳中有 害元素含量极少,制得的壳聚糖中杂质少,产物纯。

[0021] 南极磷虾个体小、虾壳薄,虾壳中甲壳素含量比其他的蟹类和虾类高,在碱处理、酸处理操作中所采用的碱、酸浓度小,处理时间要比一般的虾、蟹等原料所需要的时间短,节约了成本,且不同批次制备的壳聚糖质量重复性好。

[0022] 制得的壳聚糖的脱乙酰度达到 95% 以上,为超高脱乙酰度壳聚糖,满足了壳聚糖在医药和生物领域的应用。

[0023] 本发明制得的壳聚糖颜色为亮白色,免去了传统的壳聚糖制备工艺过程中的脱色步骤,制备过程更加简单。

[0024] 综上,本发明有益效果包括以下几个方面:

[0025] (1) 壳聚糖中杂质少,产物纯;

[0026] (2) 制得的壳聚糖重复性好,不同批次制备的壳聚糖质量均一性好;

[0027] (3) 制得的壳聚糖的脱乙酰度达到 95% 以上,为超高脱乙酰度壳聚糖,满足了壳聚糖在医药和生物领域的应用;

[0028] (4) 制备方法简单,成本较低。

#### 附图说明

[0029] 图 1 为实施例 1 制备的壳聚糖的傅里叶红外图谱;

[0030] 图 2 为实施例 1 制备的壳聚糖的核磁共振图像;

[0031] 图 3 为对比例 1 的壳聚糖的核磁共振图像;

[0032] 图 4 为对比例 2 的壳聚糖的核磁共振图像。

#### 具体实施方式

[0033] 以下所述是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也视为本发明的保护范围。

[0034] 本发明提供一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法,包括以下步骤:

[0035] (1)除矿物质:取干燥南极磷虾壳,置于酸液中浸泡,过滤,收集虾壳,水洗至中性,

得到除矿物质后的虾壳；

[0036] (2) 除蛋白及脂类：将步骤(1)得到的除矿物质后的虾壳置于碱液中加热，然后过滤，收集虾壳，水洗至中性，得到除蛋白及脂类后的虾壳；

[0037] (3) 除矿物质：将步骤(2)得到的除蛋白及脂类后的虾壳置于酸液中浸泡，过滤，收集虾壳，水洗至中性，得到除矿物质后的虾壳；

[0038] (4) 除蛋白及脂类：将步骤(3)得到的除矿物质后的虾壳置于碱液中加热，过滤，收集固体，将所述固体水洗至中性，干燥后得到甲壳素；

[0039] (5) 脱乙酰：将步骤(4)得到的甲壳素加入浓碱中加热回流，冷却后过滤得到固体，将所述固体水洗至中性，干燥后得到粗壳聚糖；

[0040] (6) 纯化：将步骤(5)得到的粗壳聚糖溶于稀酸中得到混合溶液，用稀碱滴定所述混合溶液 pH 值至 8 ~ 8.5，水洗后干燥得到亮白色粉末，即壳聚糖。

[0041] 优选地，所述干燥南极磷虾壳在酸液中的浓度为 0.05g/mL ~ 0.1g/mL。

[0042] 优选地，步骤(1)和步骤(3)中，所述酸液为 2mol/L 的盐酸，所述浸泡操作为室温下浸泡 1h。

[0043] 随着盐酸处理时间增加，壳聚糖的粘度下降，即分子量下降，处理时间为 1h 时能除尽矿物质并且对分子量影响不大，因此本发明用稀酸处理 1h 以除去矿物质。

[0044] 优选地，步骤(2)和步骤(4)中，所述碱液为 1mol/L 的氢氧化钠，所述加热操作为加热煮沸 1h。

[0045] 用 1mol/L 氢氧化钠处理不会影响壳聚糖粘度，即壳聚糖的相对分子质量不受影响，为了减少生产周期，本发明用氢氧化钠处理 1h 以除去蛋白及脂类。

[0046] 优选地，步骤(5)中，所述甲壳素在所述浓碱中 110℃ 下加热回流 1h，冷却后过滤，水洗至中性，所述浓碱为质量分数为 50% 的氢氧化钠溶液。

[0047] 优选地，步骤(5)后，将所述粗壳聚糖采用步骤(5)的方法再次进行脱乙酰操作。

[0048] 优选地，步骤(6)中，将粗壳聚糖溶于 0.01g/mL 稀醋酸中得到混合溶液，用 0.1mol/L 氢氧化钠滴定混合溶液 pH 值至 8.5，水洗后干燥得到亮白色粉末，即壳聚糖。

[0049] 南极磷虾作为一种深海生物资源，生活的水域基本上不受污染。其磷虾虾壳有害元素含量极少，制得的壳聚糖中杂质少，产物纯。

[0050] 南极磷虾个体小、虾壳薄，虾壳中甲壳素含量比其他的蟹类和虾类高，在碱处理、酸处理操作中所采用的碱、酸浓度小，处理时间要比一般的虾、蟹等原料所需要的时间短，节约了成本，且不同批次制备的壳聚糖质量重复性好。

[0051] 制得的壳聚糖的脱乙酰度达到 95% 以上，为超高脱乙酰度壳聚糖，满足了壳聚糖在医药和生物领域的应用。

[0052] 本发明制得的壳聚糖颜色为亮白色，免去了传统的壳聚糖制备工艺过程中的脱色步骤，制备过程更加简单。

[0053] 实施例一

[0054] 一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法，包括以下步骤：

[0055] (1) 除矿物质：取 10g 干燥南极磷虾壳，置于 100mL 2mol/L 稀盐酸中室温下浸泡 1h，过滤，收集虾壳，水洗至中性，得到除矿物质后的虾壳；

[0056] (2) 除蛋白及脂类：取步骤(1)得到的除矿物质后的虾壳置于 150mL 1mol/L 氢氧化

钠溶液中加热煮沸 1h, 然后过滤, 收集虾壳, 水洗至中性, 得到除蛋白及脂类后的虾壳;

[0057] (3)除矿物质: 将步骤(2)得到的除蛋白及脂类后的虾壳置于 100mL2mol/L 稀盐酸中室温下浸泡 1h, 然后过滤, 收集虾壳, 水洗至中性, 得到除矿物质后的虾壳;

[0058] (4)除蛋白及脂类: 将步骤(3)得到的除矿物质后的虾壳置于 100mL1mol/L 氢氧化钠溶液中加热煮沸 1h, 过滤得到固体, 将固体水洗至中性, 干燥后得到甲壳素;

[0059] (5)脱乙酰: 将步骤(4)得到的甲壳素加入质量分数为 50% 的氢氧化钠溶液中, 110℃下加热回流 1h, 冷却后过滤得到固体, 将固体水洗至中性, 干燥后 得到粗壳聚糖;

[0060] (6)纯化: 将步骤(5)得到的粗壳聚糖溶于 0.01g/mL 稀醋酸中得到混合溶液, 用 0.1mol/L 的氢氧化钠滴定混合溶液 pH 值至 8.5, 水洗后干燥得到亮白色的壳聚糖。

[0061] 将本实施例制得的壳聚糖、购买的一种进口壳聚糖(对比例 1)和一种国产壳聚糖(对比例 2)的外观进行对比, 可以看出, 本发明制得的壳聚糖为亮白色粉末, 而对比例 1 和对比例 1 制得的壳聚糖颜色为淡黄色, 说明本发明方法制得的壳聚糖杂质少、纯度高、不需要进行脱色处理就可得到亮白色的壳聚糖。

[0062] 将本实施例制得的壳聚糖、对比例 1 和对比例 2 的壳聚糖用 NDJ-1 型旋转粘度仪测定粘度, 测试结果见表 1。

[0063] 表 1

[0064] 样品名称 实施例 1 对比例 1 对比例 2

[0065] 粘度 /cps 505±8.66325±7.2254±0.96

[0066] 本实施例制得的壳聚糖的粘度为 505cps 左右, 对比例 1 和对比例 2 的粘度分别为 325cps 和 54cps 左右, 说明本发明制得的壳聚糖相对分子质量高。

[0067] 将本实施例制得的壳聚糖和对比例 1 的壳聚糖进行傅里叶红外测试, 测试结果参阅图 1, 从图 1 中可以看出, 实施例 1 在 3400cm<sup>-1</sup> 处出现 H-O 的伸缩振动峰, 在 2960cm<sup>-1</sup> ~ 2840cm<sup>-1</sup> 处出现甲基、次甲基 C-H 伸缩振动峰, 在 1655cm<sup>-1</sup> 处出现 C=O 的伸缩振动峰, 在 1604cm<sup>-1</sup> 处出现 N-H 弯曲振动峰, 在 1379cm<sup>-1</sup> 处出现 C-H 弯曲和 CH<sub>3</sub> 对称变形振动峰, 在 1323cm<sup>-1</sup> 处出现 C-N 伸缩振动峰, 在 1260cm<sup>-1</sup> ~ 1000cm<sup>-1</sup> 处出现 C-O 伸缩振动峰, 傅里叶红外测试结果表明实施例 1 制得的产物为壳聚糖。

[0068] 将本实施例制得的壳聚糖、对比例 1 和对比例 2 的壳聚糖进行核磁共振测试, 测试结果参见图 2、图 3 和图 4, 横坐标为化学位移(单位为 ppm), 利用图 2 ~ 4 中核磁共振数据, 可以计算出本实施例制得的壳聚糖、对比例 1 和对比例 2 的壳聚糖的脱乙酰度, 计算公式为:

[0069]

$$\text{脱乙酰度}(\%) = \left( 1 - \left( \frac{1}{3} I_{\text{CH}_3} / \frac{1}{6} I_{\text{H}_2-\text{H}_6} \right) \right) \times 100$$

[0070]  $I_{\text{CH}_3}$  为甲基的峰面积,  $I_{\text{H}_2-\text{H}_6}$  为 H<sub>2</sub>、H<sub>3</sub>、H<sub>4</sub>、H<sub>5</sub> 和 H<sub>6</sub> 质子的峰面积之和。

[0071] 实施例 1 的图谱中,  $I_{\text{CH}_3}$  为 3.00,  $I_{\text{H}_2-\text{H}_6}$  为 180.13 (37.25+142.88); 对比例 1 的图谱中,  $I_{\text{CH}_3}$  为 3.00,  $I_{\text{H}_2-\text{H}_6}$  为 23.09 (5.03+18.06); 对比例 2 的图谱中,  $I_{\text{CH}_3}$  为 3.00,  $I_{\text{H}_2-\text{H}_6}$  为 41.71 (9.15+32.56); 计算得出壳聚糖、对比例 1 和对比例 2 的壳聚糖的脱乙酰度, 结果请见表 2。

[0072] 表 2

[0073]

| 样品名称    | 实施例 1 | 对比例 1 | 对比例 2 |
|---------|-------|-------|-------|
| 脱乙酰度 /% | 96.67 | 74.01 | 84.58 |

[0074] 从表 2 中可以看出,本实施例制得的壳聚糖的脱乙酰度为 96.67%,而对比例 1 和对比例 2 的脱乙酰度分别为 74.01% 和 84.58%,本实施例制备的壳聚糖和现有技术制备的壳聚糖相比,脱乙酰度较高,达到 95% 以上,为超高脱乙酰度壳聚糖,本发明制备的壳聚糖满足了壳聚糖在医药和生物领域的应用。

[0075] 实施例二

[0076] 一种以南极磷虾为原料的超高脱乙酰度壳聚糖的制备方法,包括以下步骤:

[0077] (1) 除矿物质:取 10g 干燥南极磷虾壳,置于 100mL2mol/L 稀盐酸中室温下浸泡 1h,过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除矿物质后的虾壳;

[0078] (2) 除蛋白及脂类:取步骤(1)得到的除矿物质后的虾壳置于 150mL1mol/L 氢氧化钠溶液中加热煮沸 1h,然后过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除蛋白及脂类后的虾壳;

[0079] (3) 除矿物质:将步骤(2)得到的除蛋白及脂类后的虾壳置于 100mL2mol/L 稀盐酸中室温下浸泡 1h,然后过滤,收集虾壳,水洗至中性,得到除矿物质后的虾壳;

[0080] (4) 除蛋白及脂类:将步骤(3)得到的除矿物质后的虾壳置于 100mL1mol/L 氢氧化钠溶液中加热煮沸 1h,过滤得到固体,将固体水洗至中性,干燥后得到甲壳素;

[0081] (5) 脱乙酰:将步骤(4)得到的甲壳素加入质量分数为 50% 的氢氧化钠溶液中,110℃ 下加热回流 1h,冷却后过滤得到固体,将固体水洗至中性,干燥后得到粗壳聚糖,再将该粗壳聚糖加入质量分数为 50% 的氢氧化钠溶液中,110℃ 下加热回流 1h,冷却后过滤,水洗至中性,得到二次脱乙酰的粗壳聚糖;

[0082] (6) 纯化:将步骤(5)得到的二次脱乙酰的粗壳聚糖溶于 0.01g/mL 稀醋酸中得到混合溶液,用 0.1mol/L 的氢氧化钠滴定混合溶液 pH 值至 8.5,水洗后干燥得到亮白色的壳聚糖。

[0083] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

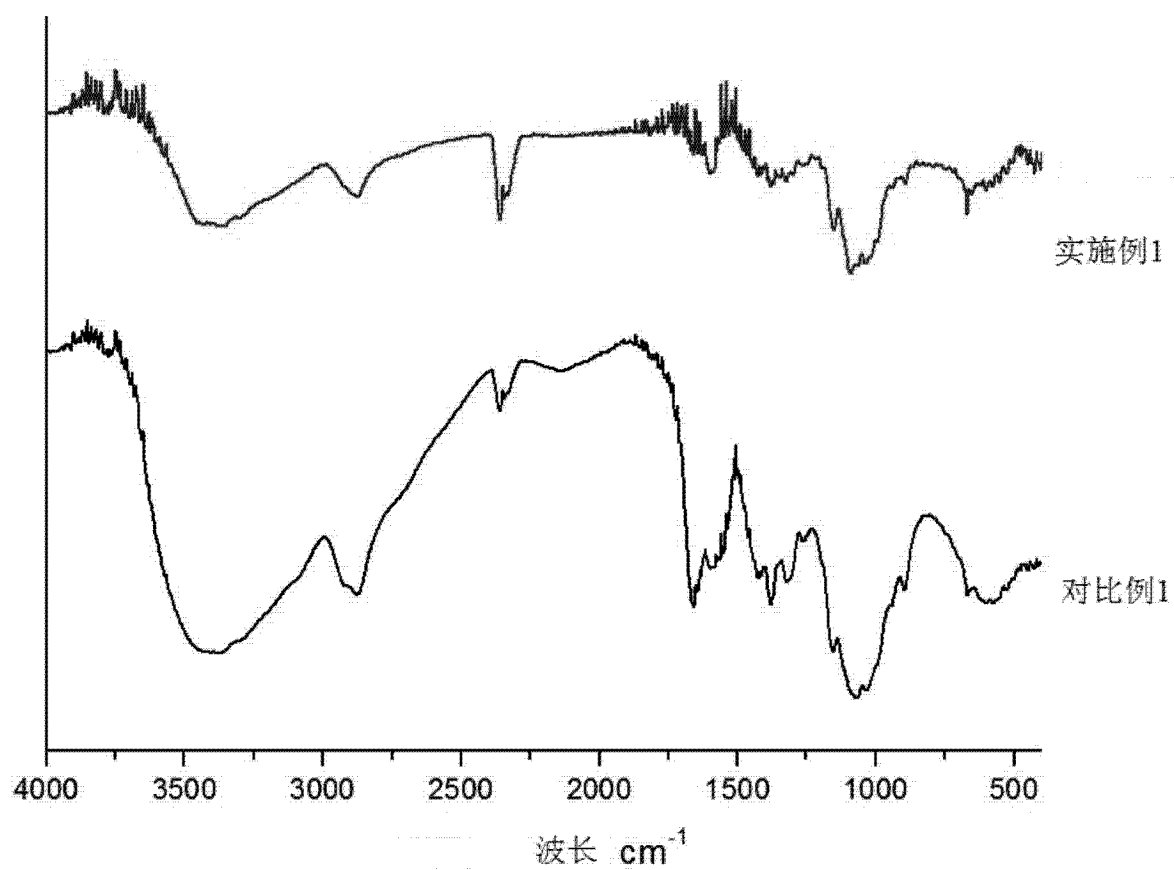


图 1



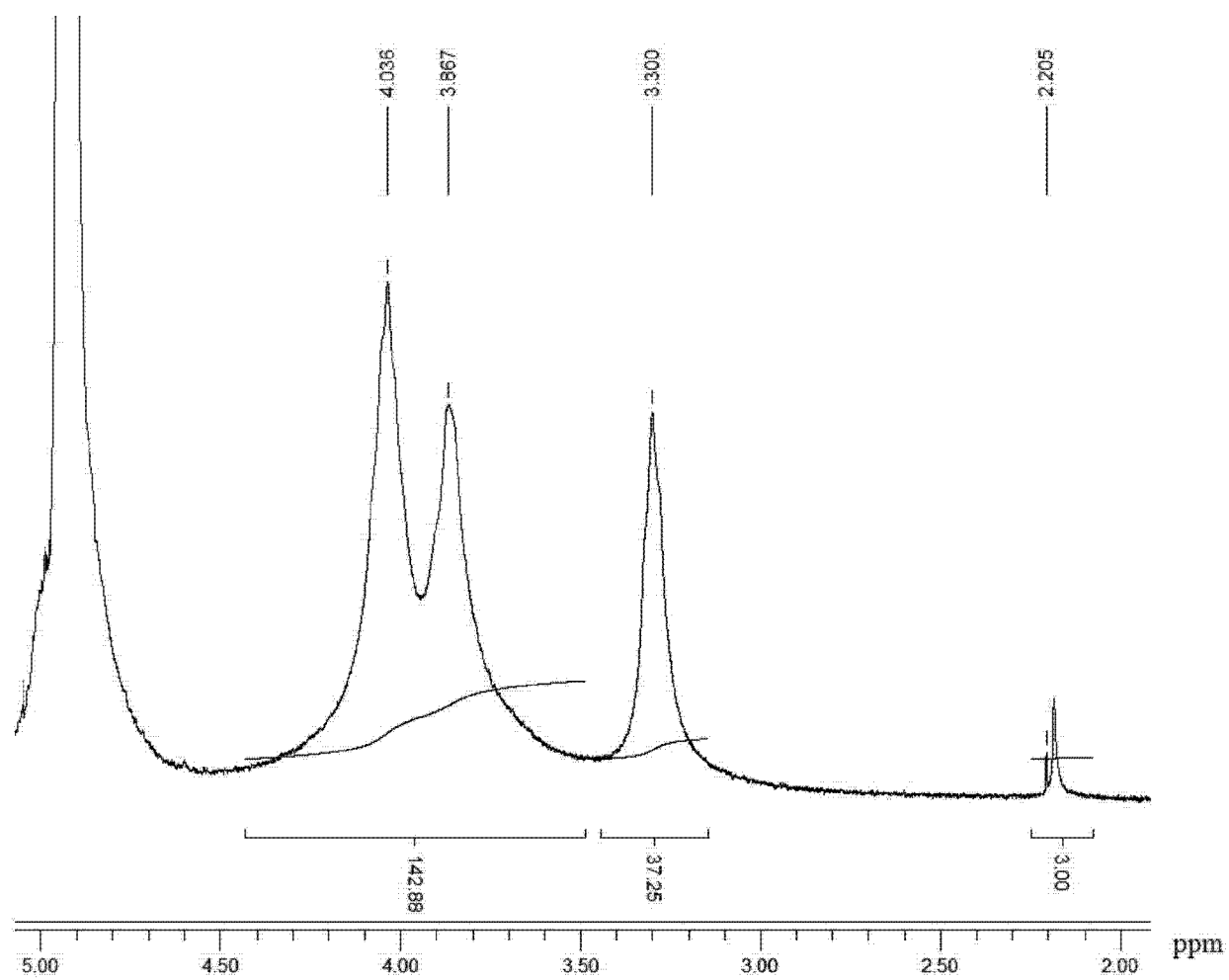


图 2

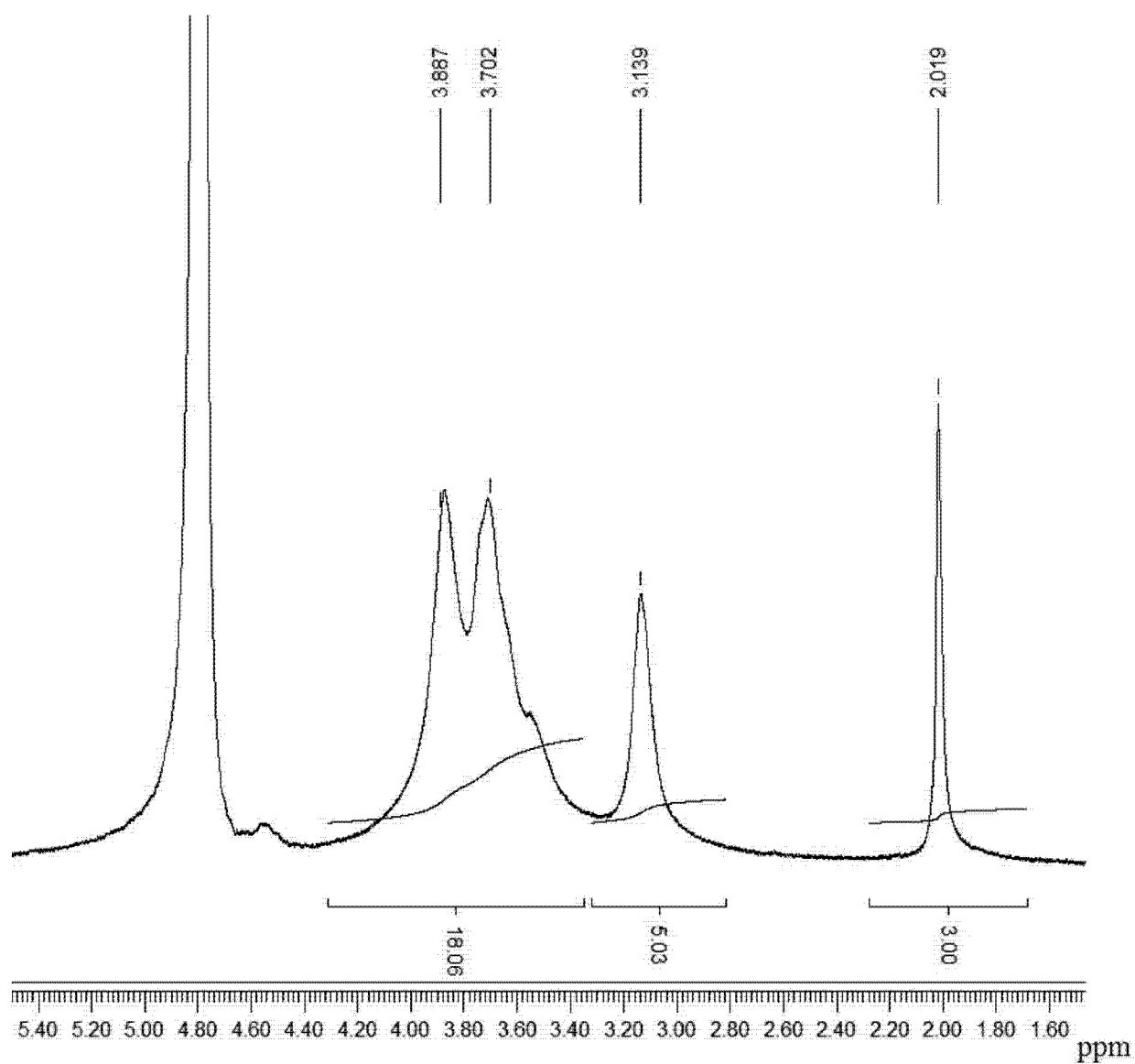


图 3

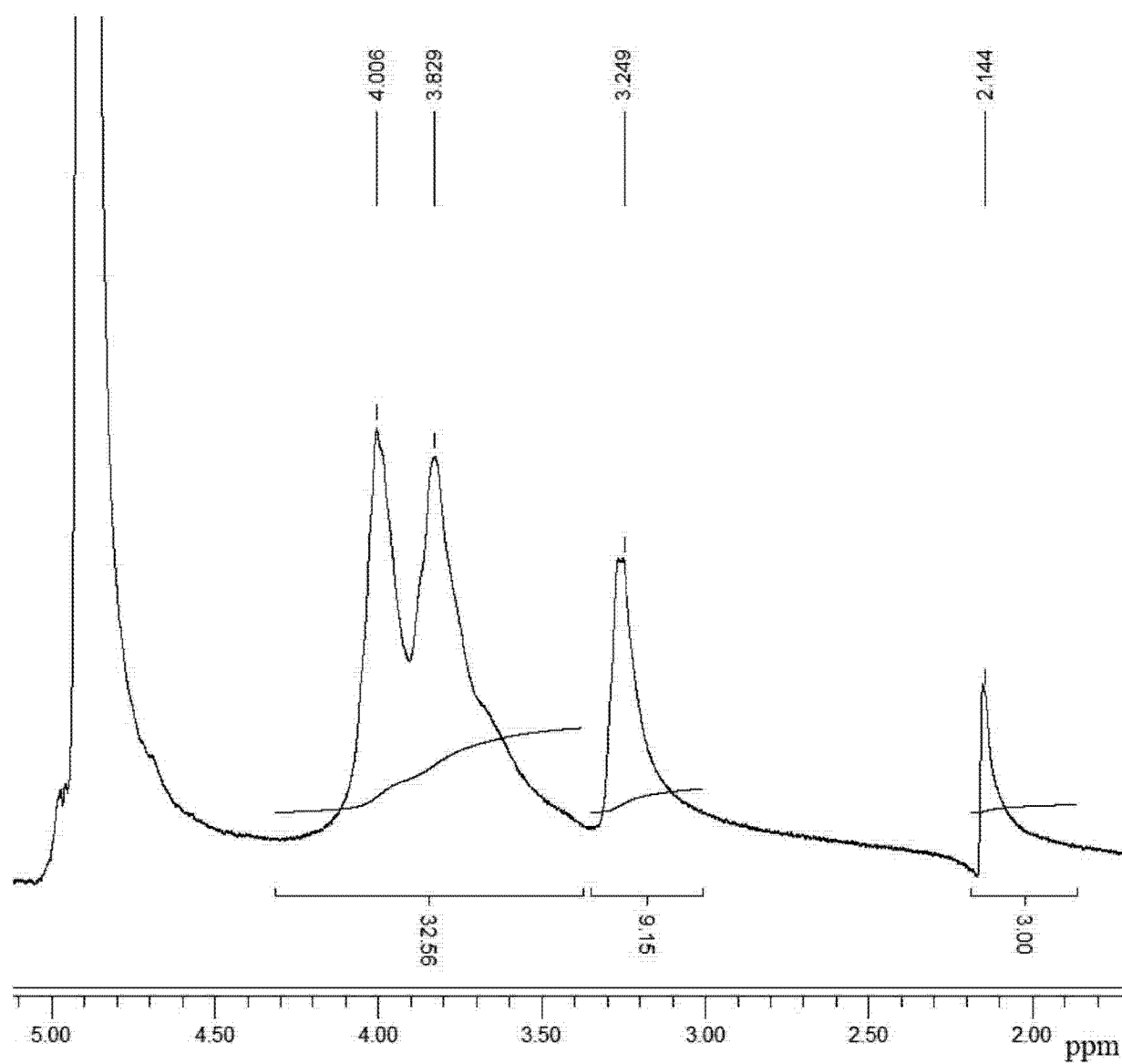


图 4