

УДК 536.63:543.226:547.995.12

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОГО ГИДРОЛИЗА НА ТЕПЛОЕМКОСТЬ И ФИЗИЧЕСКИЕ ПЕРЕХОДЫ ХИТИНА И ХИТОЗАНА

© 2007 г. *В.Ф. Урьяш*¹, *Н.Ю. Кокурина*¹, *В.Н. Ларина*¹, *В.П. Варламов*², *А.В. Ильина*²,
*Н.В. Гришатова*³, *А.Е. Груздева*³

¹ НИИ химии Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского

² Центр «Биоинженерия» РАН

³ ЗАО «Биофит», Нижний Новгород

itch@ichem.unn.ru

Поступила в редакцию 11.04.2007

Методами калориметрии и дифференциального термического анализа изучена теплоемкость в области 80–330 К и определены температуры физических переходов «кристаллических» и подвергнутых кислотному гидролизу хитина и хитозана из панциря крабов. Определены стандартные энтальпии сгорания и образования указанных образцов хитина.

Введение

На протяжении многих десятилетий хитиновые панцири как отход переработки ракообразных засоряют побережье мирового океана, что создает серьезную экологическую проблему. Между тем панцири ракообразных являются сырьем для получения ценнейших полисахаридов – хитина (ХТ) и хитозана (ХТЗ). В настоящее время во многих странах мира развивается промышленное производство этих полисахаридов. Таким образом, человечество получает ценное органическое сырье и сглаживается проблема загрязнения побережья мирового океана. Поэтому изучение физико-химических, в том числе термодинамических, свойств ХТ и ХТЗ представляет научный интерес и имеет практическое значение. В литературе [1–4] имеются данные о термодинамических характеристиках хитина из грибов «вешенка» и крабового хитозана. Кроме того, показано [5], что ХТ является эффективным энтеросорбентом и способен выводить из организма человека тяжелые металлы. В связи с этим в данной работе мы изучили влияние молекулярной массы на термодинамические характеристики, физические переходы и структуру хитина и хитозана.

Экспериментальная часть

Исследовали «кристаллический» и регенерированный хитин и хитозан из панциря крабов. Образцы были предоставлены центром

«Биоинженерия» РАН. Некоторые характеристики указанных веществ представлены в табл. 1.

Регенерированный ХТ получали, обрабатывая исходный «кристаллический» ХТ (10 г) 80% фосфорной кислотой (100 мл) и выдерживая на холоде 48 ч. Затем смесь разбавляли тремя литрами воды до нейтральной реакции среды. Полученную суспензию пропускали через сито с диаметром ячеек 100 мкм.

Регенерированный ХТЗ получали при гидролизе «кристаллического» ХТЗ. Для этого при комнатной температуре 1 г исходного ХТЗ растворяли в течение 6 ч в смеси, состоящей из 40 мл 1 м. раствора уксусной кислоты, 10 мл 1% раствора NaN_3 и 106 мл воды. Затем смесь подщелачивали 1 м. раствором NaOH , добавляя 44 мл, и доводили pH до 5,2. Смесь нагревали до 328 К.

Так как в воздушно-сухих образцах ХТ и ХТЗ содержалась адсорбционная вода (табл. 1), которая, по нашим данным, испарялась из изученных полисахаридов при 400–407 К, их перед калориметрическими экспериментами сушили в вакууме 0,6 Па при указанной температуре несколько часов до постоянной массы.

Хитин, как и целлюлоза, обладает высокоупорядоченной стереорегулярной структурой [6, 7]. Как отмечается в работе [8], хитин и хитозан, выделенные из панциря криля, имеют степень кристалличности 85 и 73% соответственно, а максимальный размер кристаллитов 13,4 и 5,0 нм. Степень

кристалличности целлюлозы, хитина и хитозана была оценена также по сорбции воды [9]. Она составила, соответственно, 60–70, 60 и 35–40%.

Теплоемкость (C_p°) в области 80–330 К измеряли в вакуумном адиабатическом калориметре, особенности конструкции

кислоты при давлении кислорода $3 \cdot 10^6$ Па. По данным хроматографического анализа, используемый кислород содержал примеси, мол. %: N_2 – 0,8; CO и CO_2 – 0,002; углеводородов – 0,001. Вещество в кварцевом тигле поджигали путем разряда конденсатора

Таблица 1

Некоторые характеристики хитина и хитозана

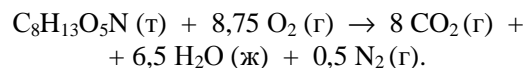
Образец	Вязкость*, сП	Мол. масса, D	Степень деацетилирования	Содерж. адсорбц. воды, мас. %
Хитин «кристаллический»	–	$1,4 \cdot 10^6$	2–4	5,5
Хитин регенерированный	–	$1,0 \cdot 10^6$	2–4	4,0
Хитозан «кристаллический»	92 (0,5%) 10,5 (0,1%)	$8,3 \cdot 10^5$	85	10,2
Хитозан регенерированный	75 (0,5%) 8,9 (0,1%)	$6,0 \cdot 10^5$	84	8,0

* Динамическую вязкость определяли для 0,1 и 0,5% растворов в 1% растворе уксусной кислоты.

которого описаны в работе [10]. Обезвоженные образцы ХТ и ХТЗ прессовали в таблетки и помещали в платиновую ампулу объемом 7 см^3 . Температуру измеряли платиновым термометром сопротивления. Энергетический эквивалент калориметра определяли путем измерения теплоемкости калориметрической ампулы, заполненной гелием до давления 8,5 кПа. Он не превышал 40% от C_p° калориметра с веществом в изученном интервале температур. Для проверки методики на отсутствие систематической ошибки была определена теплоемкость эталонной бензойной кислоты марки К-1. Полученные результаты совпадают с литературными данными [11] с погрешностью 0,3% в области 80–320 К. Подъем температуры в опытах по измерению теплоемкости составлял 1,0–3,0 К, поэтому поправка на кривизну функции $C_p^\circ = f(T)$ не вводилась. Отклонения экспериментальных данных от усредняющих кривых в пределах 0,2%. Теплоемкость рассчитывали на молярную массу повторяющегося звена ХТ (203,19 г/моль) и ХТЗ (161,16 г/моль).

Энтальпию сгорания ХТ определяли в усовершенствованном калориметре в –08 мА со статической калориметрической бомбой [12]. Калибровку калориметрической системы проводили по эталонной бензойной кислоте марки к-2 ($\Delta U_c = -26460,0$ Дж/г при взвешивании в воздухе). Энергетический эквивалент системы $W = 14847 \pm 3$ Дж/К с удвоенным квадратичным отклонением от среднего результата 0,02%. ХТ сжигали в виде таблеток вместе с таблетками бензойной

на платиновую проволоку, соединенную с веществом посредством хлопчатобумажной нити. Для измерения подъема температуры использовали два платиновых термометра сопротивления и цифровой вольтметр 1516, включенные в мостовую схему. Массу образца исследуемого соединения определяли по количеству CO_2 , образующегося при его сгорании. Расчеты проведены для следующей реакции сгорания:



В условиях калориметрической бомбы определяли энергию сгорания исследуемого вещества $\Delta_c U$. Исходя из среднего значения $\Delta_c U$, молекулярной массы m , с учетом поправки Уошберна и поправки, обусловленной изменением числа молей газов, рассчитали стандартные величины $\Delta_c U^\circ$ и $\Delta_c H^\circ$ для реакции сгорания хитина. По полученным $\Delta_c H^\circ$ рассчитаны энтальпии образования $\Delta_f H^\circ$ хитина разной степени кристалличности в твердом состоянии при 298,15 К с использованием $\Delta_f H^\circ (H_2O, ж) = -285,830 \pm 0,042$ Дж/моль и $\Delta_f H^\circ (CO_2, г) = -393,51 \pm 0,13$ Дж/моль [13].

Дифференциальный термический анализ (ДТА) проводили на установке, конструкция которой и методика работы описаны в работе [14]. Образец массой ~0,5 г прессовали и помещали в открытый алюминиевый тигель. Эталоном служил кварц. Температуру измеряли хромель-копелевой термопарой с погрешностью 0,5 К. Скорость нагрева в опытах составляла 5 К/мин. Эксперимент проводили в атмосфере гелия.

Результаты и их обсуждение

Экспериментальные данные о теплоемкости изученных обезвоженных образцов ХТ и ХТЗ представлены на рис. 1 и 2, а усредненные значения теплоемкости – в табл. 2.

Как видно из рис. 1 и 2, молярная теплоемкость хитинов выше теплоемкости хитозанов во всей изученной области температур, что соответствует более высокой молярной массе повторяющегося звена ХТ по сравнению с ХТЗ. Сопоставление теплоемкостей «кристаллического» и регенерированного ХТ (табл. 2) показывает, что у первого она ниже, чем у второго. Это указывает на то, что «кристаллический» ХТ имеет более упорядоченную структуру по сравнению с регенерированным.

На кривых $C_p^\circ=f(T)$ крабовых регенерированных хитина и хитозана (рис. 2) в интервале 230–250 К проявляются аномалии эндотермического характера. Они могут быть связаны с возбуждением колебаний небольших боковых привесков в макромолекулах ХТ и ХТЗ, а также с присутствием олигомерных молекул, появляющихся в результате обработок, которым подвергались образцы. Их можно классифицировать как γ -переход [15–17]. В качестве таких групп выступают аминные или ацетамидные. Температуру этих переходов [$T_\gamma(\text{ХТ}) = 246$ К, $T_\gamma(\text{ХТЗ}) = 240$ К] определили по кривым температурной зависимости приведенной теплоемкости (C_p°/T) (рис. 3). У «кристаллических» ХТ и ХТЗ указанный переход отсутствует. Это может указывать на то, что при регенерировании структура ХТ и ХТЗ становится менее упорядоченной.

Кроме того, на кривой $C_p^\circ=f(T)$ крабового регенерированного ХТЗ наблюдается еще один релаксационный переход в интервале 315–325 К (рис. 2, кривая 2). Указанный релаксационный процесс можно трактовать как β -переход [15–17], который обусловлен либрацией пиранозных колец вокруг глюкозидной связи. Начало этого перехода при 310 К регистрируется у регенерированного ХТ (рис. 2, кривая 1), а также у «кристаллических» ХТ и ХТЗ (рис. 1). $T_\beta(\text{ХТЗ})=322$ К определена по графику $C_p^\circ/T = f(T)$ (рис. 3 б). Аналогичные переходы мы наблюдали у таких полисахаридов, как пектин, амилоза, амилопектин, крахмал, инулин, агар и агароза [18].

Более подробно переходы в ХТ и ХТЗ при температурах выше 300 К изучили методом ДТА. В качестве примера на рис. 4, 5 приведены термограммы регенерированных ХТ и ХТЗ. Как видно из рис. 4 (кривая 2), на термограмме безводного крабового регенерированного ХТ проявляется β -переход ($T_\beta = 338$ К) и два температурных интервала расстеклования ($T_{c1} = 403$ К, $T_{c2} = 432$ К). Разложение ХТ (в атмосфере гелия)

Таблица 2

Усредненные значения теплоемкости крабовых «кристаллических» ХТ (1) и ХТЗ (2), а также регенерированных ХТ (3) и ХТЗ (4)

T, K	C_p° , Дж/моль К			
	1	2	3	4
80	76,30	55,00	78,30	56,00
100	93,20	69,20	95,00	69,50
120	109,0	83,50	110,9	82,70
140	124,0	97,10	126,0	96,10
160	138,6	110,6	141,8	110,0
180	152,5	123,7	157,4	123,0
200	165,3	136,2	171,1	135,4
220	179,7	150,8	184,5	148,8
240	195,1	164,4	199,9	164,0
260	209,2	178,5	216,2	177,8
280	223,0	192,3	229,8	188,8
300	238,7	206,8	246,3	203,7
320	259,0	223,0	270,0	223,1
330	275,9	232,7	285,3	238,5

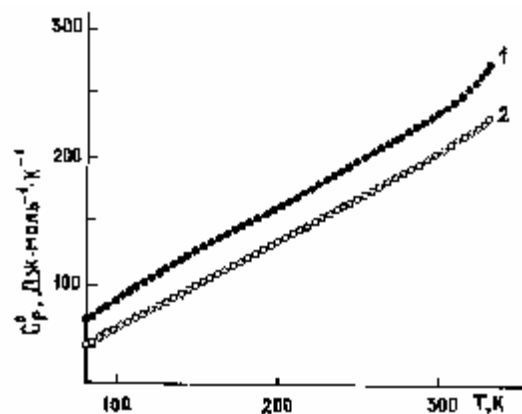


Рис. 1. Теплоемкость крабовых «кристаллических» ХТ (1) и ХТЗ (2)

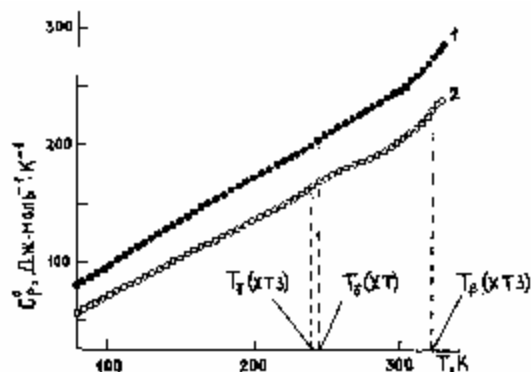


Рис.2. Теплоемкость крабовых регенерированных ХТ (1) и ХТЗ (2)

сопровождается эндотермическим эффектом и протекает в две стадии ($T_{\text{разл1}} = 485 \text{ K}$, $T_{\text{разл2}} = 556.5 \text{ K}$). Когда в воздушно-сухом ХТ содержится 4.0 мас.% воды (рис. 4, кривая 1), температуры физических переходов понижаются ($T_{\beta} = 310 \text{ K}$, $T_{\text{с1}} = 344 \text{ K}$). Это указывает на пластифицирующее действие, которое оказывает вода на ХТ. При 406,5 К (рис. 4, кривая 1) проявляется эндотермический пик испарения сорбционной воды.

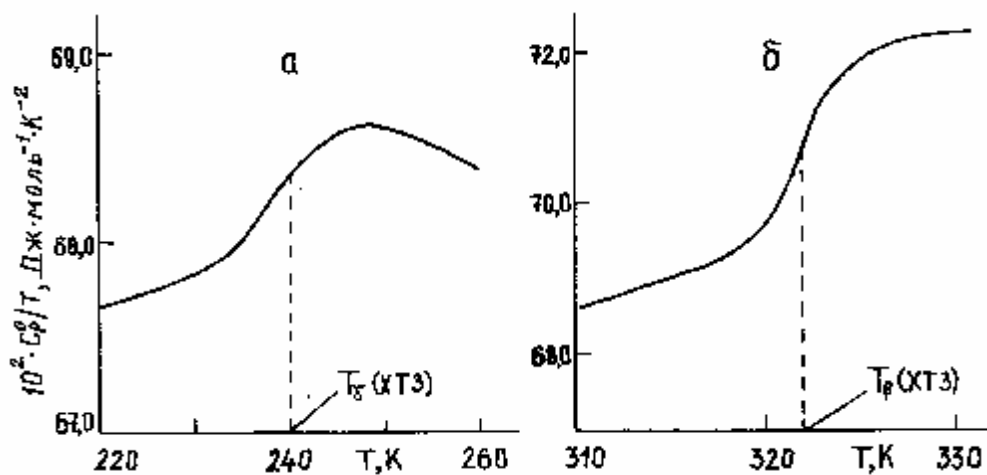


Рис. 3. Приведенная молярная теплоемкость крабового регенерированного ХТЗ в интервалах 230–250 К (а) и 315–325 К (б)

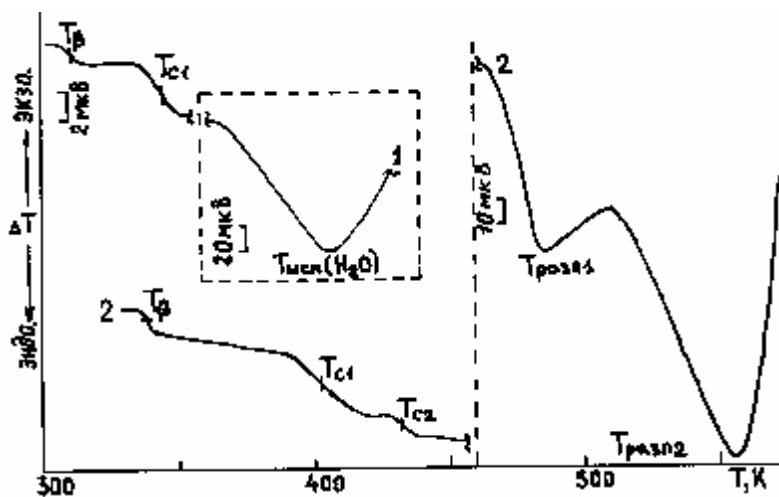


Рис. 4. Термограммы крабового регенерированного хитина, содержащего H_2O , мас. %: 1 – 4,0; 2 – 0

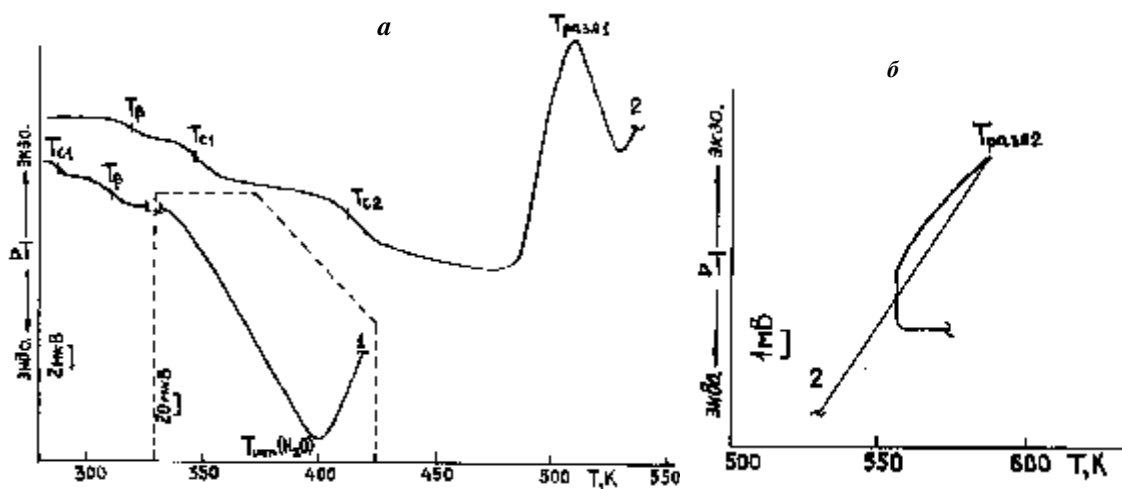


Рис. 5. Термограммы в интервалах 250–540 К (а) и 540–600 К (б) крабового регенерированного хитозана, содержащего H_2O , мас. %: 1 – 8,0; 2 – 0

Таблица 3

Температуры физических переходов в изученных образцах хитина и хитозана из панциря крабов, определенные калориметрически и методом ДТА

Образец	Калориметрия		ДТА		
	T_{γ} , К	T_{β} , К	T_{β} , К	T_{c1} , К	T_{c2} , К
ХТ «кристаллический»	–	Начало при 310 К	365	428	В области разложения
ХТ регенерированный	246	Начало при 310 К	338	403	432
ХТЗ «кристаллический»	–	Начало при 310 К	326	361	417,5
ХТЗ регенерированный	240	322	320	347	413

Таблица 4

Результаты опытов по определению энергии сгорания «кристаллического» и регенерированного хитина при 298,15 К

Величина	ХТ «кристаллический»	ХТ регенерированный
$m(x)$, г	0,2829	0,2610
	0,2313 ₅	0,2754
	0,1973 ₉	0,2516 ₂
	0,3101	0,2246 ₆
	0,2100 ₂	0,2308
	0,2167 ₇	–
ΔT , К	2,43867	2,35585 ₄
	2,26303 ₉	2,12602 ₉
	2,27365 ₅	2,27709 ₉
	2,37095 ₉	2,26160 ₄
	1,96429 ₉	2,23649 ₆
	2,24117 ₉	–
$q(\text{б.к.})$, Дж	30896,9	30015,0
	–	26333,4
	–	29028,8
	–	29312,9
	25171,0	28817,6
	–	–
$q(\text{н.})$, Дж	34,3	36,8
	45,3	34,3
	46,2	31,3
	35,1	45,2
	34,8	36,8
	37,0	–
$q(\text{HNO}_3)$, Дж	15,2	28,1
	22,8	26,9
	24,6	28,1
	24,6	25,2
	24,6	26,6
	23,4	–
$-\Delta_c U$, Дж/г	18906,7	19077,4
	18844,7	19094,9
	18922,1	19089,1
	18900,4	19108,3
	18861,1	19090,8
	18835,1	–
Среднее значение	18878,2±27,0	19092,1±10,0
$-\Delta_c U$, кДж/моль (ср.)	3835,9±5,4	3879,4±2,0
$-\Delta_c U^0$, кДж/моль	3833,8±5,4	3877,3±2,0
$-\Delta_c H^0$ (г), кДж/моль	3334,4±5,4	3377,9±2,0

В безводном регенерированном крабовом ХТЗ (рис. 5а, кривая 2) наблюдаются те же переходы, что и в хитине, только при более низких температурах ($T_{\beta} = 320$ К, $T_{c1} = 347$ К, $T_{c2} = 413$ К). Это может свидетельствовать о меньшей упорядоченности структуры

регенерированного ХТЗ по сравнению с регенерированным ХТ. У ХТЗ проявляется еще одно отличие – его разложение (в атмосфере гелия) экзотермично. Первый пик наблюдается при $T_{\text{разл1}} = 510$ К (рис. 5а, кривая 2). В температурном интервале второго пика (рис. 5б) выделяется настолько большая энергия в

форме теплоты, что происходит разогрев образца от 540 до 590 К, а затем он охлаждается до 557 К. Вода (8,0 мас.%), содержащаяся в воздушно-сухом ХТЗ, также оказывает на него пластифицирующее действие, понижая температуры физических переходов ($T_{\beta} = 311$ К, $T_{c1} = 288$ К). Температура второго стеклования попадает, по-видимому, в температурный интервал испарения сорбционной воды, которое происходит при 400 К.

Полученные значения температур релаксационных переходов в изученных образцах ХТ и ХТЗ представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, температура β -перехода повышается при переходе от регенерированного ХТЗ к «кристаллическому» ХТ. В том же направлении изменяются их T_{c1} и T_{c2} . Причем температура второго стеклования у «кристаллического» ХТ попадает в температурную область его разложения. Из полученных результатов можно сделать вывод, что «кристаллический» ХТ имеет более упорядоченную структуру, чем регенерированный ХТ. То же самое можно сказать и о ХТЗ. Т.о., упорядоченность хитина уменьшается при его деацетиляции и регенерации.

В табл. 4 приведены результаты опытов по определению энергии сгорания изученных нами «кристаллического» и регенерированного ХТ. В ней использованы следующие обозначения: $m(x)$ – масса сгоревшего вещества; ΔT – подъем температуры с поправкой на теплообмен; $q(\text{б.к.})$ и $q(\text{н.})$ – поправка, соответственно, на сгорание бензойной кислоты и нити; $q(\text{HNO}_3)$ – поправка на образование водного раствора азотной кислоты; $\Delta_c U$ и $\Delta_c U^0$ – энергия сгорания исследуемого вещества в условиях калориметрической бомбы и при стандартном давлении; $\Delta_c H^0(\text{т})$ – молярная энтальпия сгорания исследуемого полисахарида при стандартном давлении и $T = 298,15$ К.

Рассчитанные энтальпии образования «кристаллического» и регенерированного ХТ в твердом состоянии при 298,15 К равны: $\Delta_f H^0(\text{ХТ «крист.»}, \text{т}) = -1171,5 \pm 5,4$ КДж/моль; $\Delta_f H^0(\text{ХТ регенер.}, \text{т}) = -1128,0 \pm 2,0$ КДж/моль.

Как видно из табл. 4, стандартная энтальпия образования хитина возрастает по абсолютной величине при увеличении степени упорядоченности указанного полисахарида. Нами получены более экзотермические значения $\Delta_f H^0$ крабовых хитинов, по сравнению с хитином из грибов «вешенка» [2] ($\Delta_f H^0 = 999,6 \pm 16,7$ КДж/моль).

Таким образом, изучение термодинамических характеристик и температур физических переходов ХТ и ХТЗ позволяет судить об изменении структуры данных полисахаридов при деацетиляции и кислотном гидролизе.

Список литературы

1. Цветкова, Л.Я. // Журн. химической термодинамики и термохимии / Л.Я. Цветкова, Н.В. Новоселова, В.П. Голицин, А.В. Иванов, Т.Б. Хлюстова, В.Ф. Урьяш. – 1993. – Т. 2, № 1. – С. 88–93.
2. Урьяш, В.Ф. // Вестн. ННГУ. Серия Химия / В.Ф. Урьяш, Н.Ю. Кокурина, В.А., Маслова В.Н. Ларина, И.Н. Иосилевич. – Н. Новгород: ННГУ, 1998. Вып. 1. – С. 165–170.
3. Урьяш, В.Ф. // Тез. докл. V Всерос. конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана» / В.Ф. Урьяш, Н.Ю. Кокурина, И.Н. Иосилевич. – М., 1999. – С. 257–260.
4. Груздева, А.Е. Автореф. дис. ... канд. хим. наук / А.Е. Груздева. – Н. Новгород, 2000. – 24 с.
5. Урьяш, В.Ф. // Тез. докл. V Всерос. конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана» / В.Ф. Урьяш, В.А. Маслова, А.Н. Туманова, В.Т. Демарин, Н.Н. Кралина, П.Т. Гриб. – М., 1999. – С. 260–262.
6. Генин, Я.В. // Высокомолек. соедин. / Я.В. Генин, А.М. Скляр, Д.Я. Цванкин, А.К. Гамзаде, С.В. Рогожин, С.А. Павлова. – 1984. – Т. А26, № 11. – С. 2411–2416.
7. Новоселов, Н.П. // Биологически активные вещества в растворах: структура, термодинамика, реакционная способность / Н.П. Новоселов, Е.С. Сашина / Под ред. А.М. Кутепова. – М.: Наука, 2001. – С. 336–397.
8. Вихорева, Г.А. // Химич. волокна / Г.А. Вихорева, И.Н. Горбачева, Л.С. Гальбрайт. – 1994. – № 5. – С. 37–45.
9. Марьин, А.П. // Высокомолекулярные соединения / А.П. Марьин, Е.П. Фефилова, Я.В. Генин, Ю.А. Шляпников, И.В. Писаревская. – 1982. – Т. Б24, № 9. – С. 658–662.
10. Рабинович, И.Б. // ЖФХ / И.Б. Рабинович, М.С. Шейман, В.П. Нистратов, Г.П. Камелова, А.Д. Зорин. – 1985. – Т. 59, № 10. – С. 2414–2417.
11. Рыбкин, Н.Г. // Изм. техн. / Н.Г. Рыбкин, М.П. Орлова, А.К. Баранок, Н.Г. Нуруллаев, Л.Н. Рожновская. – 1974. – № 7. – С. 29–32.
12. Кирьянов, К.В. // Тр. по химии и хим. технологии: Межвуз. сб. / К.В. Кирьянов, В.И. Тельной. – Горький: ГГУ, 1975. Вып. 4. – С. 109–110.
13. Термические константы веществ: справочник / Под ред. В.П. Глушко. – М.: ВИНТИ, 1965. Вып. 1; 1966. Вып. 2; 1970. Вып. 4. Ч. 1.
14. Урьяш, В.Ф. // Термодинамика органич. соедин.: Межвуз. сб. / В.Ф. Урьяш, А.Н. Мочалов, В.А. Покровский. – Горький: ГГУ, 1978. Вып. 7. – С. 88–92.

15. Бартнев, Г.М. Релаксационные процессы в стеклообразных системах / Г.М. Бартнев, Д.С. Сандитов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 238 с.
16. Гофман, Дж.Д. // Переходы и релаксационные явления в полимерах / Дж.Д. Гофман, Г. Вильямс, Е. Пассаглия / Под ред. Р. Бойера. – М.: Мир, 1968. – 384 с.
17. Perez, J. // Высокомолек. соедин. / J. Perez. – 1998. – Т. Б40, № 1. – С. 102–135.
18. Урьяш, В.Ф. Автореф. дис. ... доктора хим. наук / В.Ф. Урьяш. – Н. Новгород, 2005. – 49 с.

EFFECT OF ACIDOLYSIS ON THE HEAT CAPACITY AND PHYSICAL TRANSFORMATIONS OF CHITIN AND CHITOSAN

V.F. Ur'yash, N.Yu. Kokurina, V.N. Larina, V.P. Varlamov, N.V. Grishatova, A.E. Gruzdeva

Using the calorimetry and differential thermal analysis, we study the heat capacities at temperatures 80–330 K and determine the physical-transformation temperatures of the «crystalline» and acidolysed hard-shell chitin and chitosan. The standard enthalpies of combustion and formation of these chitin samples are determined.