

N-乙基壳聚糖的针状结晶*

董炎明¹ 樱井谦资² 吴玉松¹ 近藤幸江³

(¹ 厦门大学化学化工学院材料科学与工程系 固体表面物理化学国家重点实验室 厦门 361005)

(² 日本福井大学工学院材料开发工学科 日本福井 910-8507)

(³ 日本福井县工业技术中心 日本福井 910-0102)

摘 要 在 *N*-乙基壳聚糖的甲酸溶液浇铸膜中观察到高分子少有的针状晶体. 从球晶经后结晶得到的针状晶体为长条矩形, 典型尺寸为 $\sim 50\ \mu\text{m} \times 2 \sim 5\ \mu\text{m} \times 1 \sim 2\ \mu\text{m}$, 高分子链平行于晶体长轴. 针状晶体首先出现在球晶的核心处, 继而出现在球晶微纤每个树枝状分叉处, 最后才遍布球晶各处. 针状晶体可以看成是高分子伸直链结晶的一种. 浇铸膜吸潮实际上形成了超浓溶液(浓度 $> 80\ \text{wt}\%$), 从而分子链可以运动而后结晶成针状晶体.

关键词 甲壳素, 壳聚糖, *N*-乙基壳聚糖, 结晶形态, 针状结晶

甲壳素和壳聚糖是结晶性高分子. 在生物活体中, 甲壳素是以微纤的形式存在的, 而这种微纤是由微晶粒(Crystallites)组成的^[1]. 微纤核心中的甲壳素分子常排列成三维的晶格结构, 微纤核心晶格结构之外的甲壳素分子大致上仍然处于平行排列的构象, 但未形成完善的三维晶格, 称为亚结晶结构^[2]. 人们对甲壳素和壳聚糖的晶格结构已有了许多研究^[3-10], 主要采用 X 光衍射技术, 提出了甲壳素存在 α, β, γ 3 种晶型, 壳聚糖由于合成方法及其样品的制备方法多样而出现了更多不同的晶型. 这些研究大多集中在晶格结构方面, 对结晶形态的研究则只有很少量的报道, 如 Cartier 等报道了低聚壳聚糖的单晶^[11,12], 以及本作者观察到衍生物氰乙基壳聚糖的球晶等结晶形态^[13]. 本文研究的是另一类衍生物 *N*-烷基壳聚糖的结晶形态.

众所周知, 高分子化合物的主要结晶形态有球晶、单晶、树枝状晶、孪晶、伸直链片晶、纤维状晶和串晶等^[14]. 针状晶体在小分子化合物是常见的形态, 但在高分子化合物中却非常少见. 本文在 *N*-乙基壳聚糖这一天然高分子的衍生物中观察到了这一结晶形态.

1 实验部分

1.1 *N*-乙基壳聚糖的合成

壳聚糖原料为厦门第二制药厂产品, 脱乙酰

度为 84% (酸碱滴定法), 分子量为 7.4×10^5 (粘度法). 壳聚糖原料首先用非均相间歇法^[15] 处理得到全脱乙酰壳聚糖. 然后参考文献[16,17]方法将 2.0 g 全脱乙酰壳聚糖溶于 200 mL 15% 乙酸水溶液中, 加入过量乙醛(壳聚糖与醛的摩尔比为 1:10), 室温搅拌反应 2 h. 产生的西佛碱进一步用 1.7 g NaBH_4 (先配成 15% 水溶液) 于室温下还原 0.5 h. 接着依次用乙醇、乙醚和蒸馏水洗涤, 40℃ 真空干燥得白色粉末. *N*-乙基壳聚糖的化学结构如图 1 所示. 根据反应机理和红外测定结果, 取代只发生在 *N* 上, O 上没有反应. 取代度用 Varian Unity 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ 测得为 0.84.

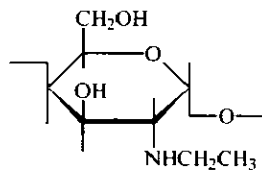


Fig. 1 The schematic illustration of chemical structure of *N*-ethyl chitosan

1.2 溶液浇铸膜的制备和结晶形态观察方法

将 *N*-乙基壳聚糖粉末与甲酸混合配制 1.5 wt% 的溶液, 在小瓶中密封并静置过夜. 然后在 50℃ 热台上加热蒸发甲酸, 通过控制重量使之成为 35 wt% 的浓溶液. 浓溶液在室温放置 1 天后分别在玻片上或 Teflon 片上浇铸成膜, 铸膜温度

* 2001-11-14 收稿, 2002-01-23 修稿; 国家自然科学基金(基金号 29974023)和福建省自然科学基金(基金号 E9910006)资助项目

为 25℃, 相对湿度为 65%。玻片上的浇铸膜用于显微镜和电镜观察, 而 Teflon 片上的浇铸膜剥离下来后用于 X 光测定。所用测试仪器为 Olympus 偏光显微镜(日本); Jeol JSM-6320F 扫描电镜(日本); Keyence VH-6300C 反射式显微镜(日本)和 Rigaku Rint-2100 X 光衍射仪(日本)。电镜样品预先溅射 Pt(约 50 nm 厚), 为避免电子损伤, 电镜采用 5 kV 的低加速电压。X 光源为 CuK α , 40 kV, 20 mA。

2 结果与讨论

2.1 从球晶发展得到的针状晶体

在 *N*-乙基壳聚糖的溶液浇铸膜中, 球晶是经常能观察到的结晶形态。球晶形态与普通合成高分子相同, 由辐射状的微纤形成, 微纤中晶片呈树枝状生长, 球晶最后互相截顶(图 2)。球晶常常很大, 直径可以达到数毫米甚至用肉眼都可以看见。有趣的是, 这些球晶并不是 *N*-乙基壳聚糖结晶的最终形态。在球晶形成的 3 天后, 发现在原球晶位置的膜表面上会长出成千上万的针状晶体。这些针状晶装饰着原球晶, 当用显微镜观察时, 虽然聚焦在这些针状结晶上, 也仍能分辨出球晶的总的形貌(图 3)。

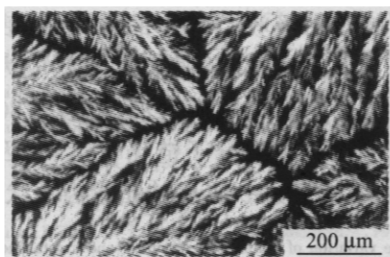


Fig. 2 POM photograph of spherulites in *N*-ethyl chitosan-formic acid solution cast film

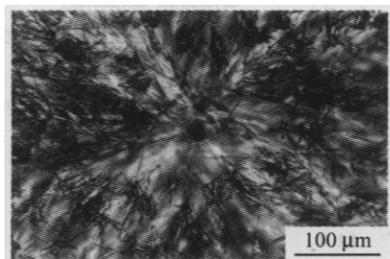


Fig. 3 POM photograph of needle-like crystals on the surface of spherulites

针状结晶首先出现在每个球晶的中心处(图 4a), 然后进一步在每个树枝状分支的分叉点处长出了针状结晶(图 4b)。针状结晶优先在这些地方

生长可能使这些地方更易作为晶核。用反射式显微镜避免了原球晶图象的干扰, 可以看到膜表面上针状晶体此时是成堆聚集的(图 5)。图 5 中的箭头表明了原球晶中微纤的方向, 可见这些针状晶体的聚集体基本上沿此方向排列。

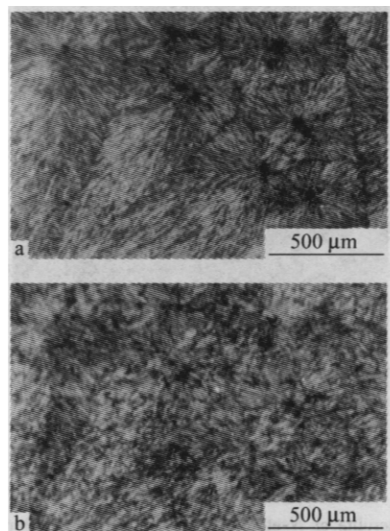


Fig. 4 POM photograph showing the growth process of needle-like crystals

a) Needle-like crystal aggregates appeared at the center of every spherulite after 2 days from casting; b) Needle-like crystal aggregates can be observed at the dendritic joints inside spherulites after 5 days from casting

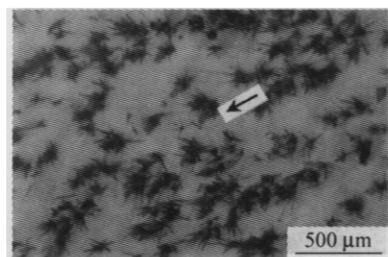


Fig. 5 Reflection optical microscope photograph of the needle-like crystal aggregates growing on the surface of spherulites in film prepared after 5 days from casting

针状晶体经过约 1 周的生长后最终会布满整个球晶表面, 从 SEM 照片(图 6a)不难看出, 几乎所有针状晶体都躺在膜表面的平面上, 而且长轴基本上指向半径方向。从而仍然可以分辨出原球晶的形貌。针状晶体的长度大多为几十微米, 长的可以达到 100 多微米。从图 6(b)中一根针状晶体头部的细节可以看到, 所谓针状晶体实际上是扁平的长矩形体, 典型的尺寸为 $\sim 50 \mu\text{m} \times 2 \sim 5 \mu\text{m} \times 1 \sim 2 \mu\text{m}$ 。X 光衍射图(图 7)上出现十多个锐利衍射环, 说明其结晶有序性很高。最内环所对应的

晶面间距为 1.08 nm,相当于 2 个葡萄糖残基的长度.证明了针状晶体是 *N*-乙基壳聚糖的晶体而不是其他小分子杂质的晶体.

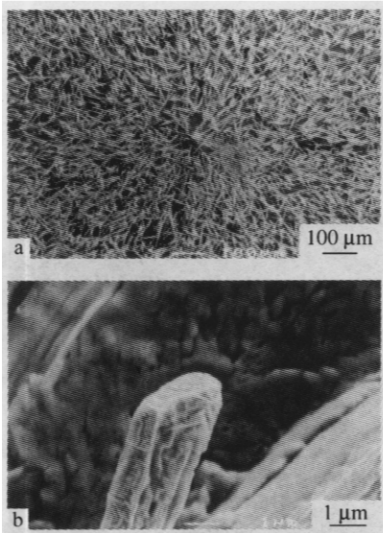


Fig. 6 SEM photographs of needle-like crystals on the surface of a spherulite of *N*-ethyl chitosan film prepared after 7 days from casting
a) Needle-like crystals decorated a spherulite; b) Detail of the section of a needle-like crystal

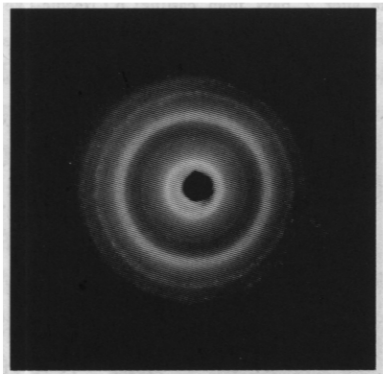


Fig. 7 The X-ray diffraction pattern of the needle-like crystals of *N*-ethyl chitosan (working distance was 4 cm, exposure time was 8 h.)

2.2 针状晶体的结构与生成机理

由于晶体太厚,不能用电子衍射直接测定晶体内的分子取向.但在偏光显微镜中插入石膏一级红波片后的观察结果表明,针状晶体为光学正性的,即沿长轴方向的折射率较大.可以推断在针状晶体中高分子链是沿着晶体的长轴方向排列的.壳聚糖是刚性较大的棒状分子链,*N*-乙基壳聚糖也可同样看作是棒状分子.*N*-乙基壳聚糖在甲酸、二氯乙酸等溶剂的高浓度溶液中出现溶致液晶性说明了这一点.于是 *N*-乙基壳聚糖分子链在针状晶体中

应是以伸直链形式沿统一方向排列.另外,根据分子量可以计算出分子链平均长度约 2 μm,所以针状晶体的长度远大于分子链长度.这种晶体实际上可以看成是高分子伸直链结晶的一种.Persson^[18]等曾报道了低分子量甲壳素从 LiSCN 的稀溶液得到的针状晶体,长约数微米,宽与厚约 01 ~ 20 nm,也是聚集成束状或堆状,并称这种晶体为单晶.然而本文得到的针状晶体尺寸较大,这一差别可能主要是由于分子量较大的缘故.

原球晶的光学双折射为正光性的,即分子链是沿着半径方向的.而针状晶体也是基本上沿着半径方向的(见图 6a),这意味着在针状晶体从球晶中生长时分子链并不需要改变取向.

对一般高分子,球晶生长到截顶就已经完成了全部结晶生长过程,除非升温到较高的温度下退火,结晶经熔融后再结晶才会有形态的改变,然而不同寻常的是 *N*-烷基壳聚糖不能熔融,是什么原因使它能有再结晶的可能.为了探明这个机理,我们用称重法测量了浇铸后溶液的实际浓度随时间的变化,同时观察出现的结晶形态变化.从表 1 可见实际上针状晶体生长时浇铸膜并没有干燥,而是一个超高浓度的溶液.这是由于 *N*-乙基壳聚糖与壳聚糖一样,极易吸潮.溶剂甲酸尚未完全挥发时薄膜就开始吸收空气中的水汽,最后与空气湿气达到了平衡,而浇铸膜实际上就成为以甲酸水溶液为溶剂的超高浓度溶液(浓度 > 80 wt %).由于在这种浓溶液下分子链仍可运动,因而能先形成球晶,并继而进一步后结晶成为针状晶体.

Table 1 The variation of actual concentration and crystalline morphology of 35% *N*-ethyl chitosan-formic acid solution after casting in 25℃ and relative humidity 65%

Time	Actual concentration (wt %)	Crystalline morphology
0 h	35.0	No
1 h	62.4	No
2 h	72.6	No
3 h	75.5	No
4 h	77.3	No
5 h	79.2	No
6 h	80.0	No
24 h	82.4	Spherulites
2 d	84.8	Needle-like crystals appeared at the center of spherulites
5 d	87.9	Needle-like crystals appeared at both the center and the dendritic joints of fibrils of spherulites
10 d	88.2	Needle-like crystals filled up all of the spherulites

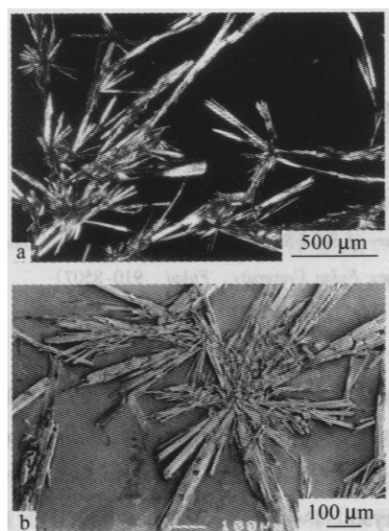


Fig. 8 The microstructures of "dendritic crystals" consisted of needle-like crystals, which were measured by (a) POM and (b) SEM

2.3 由针状晶体组成的“树枝晶”

在 *N*-乙基壳聚糖浇铸膜中有时并没有球晶, 却能观察到与合成高分子中偶尔出现的树枝晶非常相似的形态(图 8a). 但不同的是这种“树枝晶”不仅偏光显微镜看得见, 而且 SEM 也观察得到, 说明结晶在表面上. 其晶片明显比较细长, 特别是在树枝分叉点上有细长晶片组成的晶片聚集体, 其中晶片指向四面八方. 这种情况与前述的球晶中每个树枝分叉点处出现的针状结晶非常相似(见图 4b). SEM 观察(图 8b)表明其实这里树枝晶的晶片也是伸直链针状晶体, 只不过不如前述的针状晶体规则, 可以视为一种未发育好的针状晶体. 这些针状晶体常集成一束, 可以观察到其中有许多裂纹.

致谢 作者感谢小川拓也先生协助进行 X 光衍射测定.

REFERENCES

- 1 Muzzarelli R A A. Chitin. Oxford: Pergamon Press, 1977. 51
- 2 Jiang Tingda(蒋挺大). Chitin(甲壳素). Beijing(北京): Chinese Environmental Science Press(中国环境科学出版社), 1999. 64
- 3 Clark G L, Sith A F. J Phys Chem, 1937, 40: 836 ~ 879
- 4 Gardner K H, Blackwell J. Biopolymers, 1975, 14: 1581 ~ 1595
- 5 Minke R, Blackwell J. J Mol Biol, 1978, 120: 167 ~ 181
- 6 Samuels R J. J Polym Sci Polym Phys Ed, 1981, 19: 1081 ~ 1105
- 7 Sakurai K, Takagi M, Takahashi T. Sen-i Gakkaishi, 1984, 40: T246 ~ T253
- 8 Sakurai K, Shibano T, Kimura T, Takahashi T. Sen-i Gakkaishi, 1985, 41: T361-T367
- 9 Sakurai K, Shibano T, Takahashi T. Membrane, 1985, 33: 71 ~ 79
- 10 Ogawa K S, Hirano T, Miyashita T Y, Watanabe T. Macromolecules, 1984, 17: 972 ~ 975
- 11 Cartier N, Domard A, Chanzy H. Int J Biol Macromol, 1990, 12: 289 ~ 294
- 12 Mazeau K, Winter W T, Chanzy H. Macromolecules, 1994, 27: 7606 ~ 7612
- 13 Dong Y, Yuan Q, Wu Y, Wang J, Wang M. Polym J, 2000, 32: 326 ~ 329
- 14 He Manjun(何曼君), Chen Weixiao(陈维孝), Dong Xixia(董西侠). Polymer Physics(高分子物理). Shanghai(上海): Fudan University Press(复旦大学出版社), 1990, 38
- 15 Shigehiro H, Akinhiro U, Min Z. Carbohydrate Research, 1994, 356: 331 ~ 336
- 16 Muzzarelli R A A, Tanfani F, Emanuelli E, Marrotti S. J Membr Sci, 1983, 16: 295 ~ 308
- 17 Kim C H, Choi J W, Chun H J, Choi K S. Polym Bull, 1987, 38: 387 ~ 393
- 18 Persson J E, Domard A, Chanzy H. Int J Biol Macromol, 1992, 14: 221 ~ 224

NEEDLE-LIKE CRYSTALS OF *N*-ETHYL CHITOSANDONG Yanming¹, SAKURAI Kensuke², WU Yusong¹, KONDO Yukie³⁽¹⁾ Department of Materials Science and Engineering, State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surfaces, Xiamen University, Xiamen 361005)⁽²⁾ Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Fukui University, Fukui 910-8507)⁽³⁾ Industrial Technology Center of Fukui Prefecture, Fukui 910-0102)

Abstract *N*-Ethyl chitosan (NECS) with degree of substitution 0.94 was prepared from chitosan and acetaldehyde. The films of NECS were prepared via the solution casting technique using formic acid as solvent. The crystalline structure and crystallization process were investigated by means of polarized optical microscopy, scanning electron microscopy and X-ray diffraction. Thousands of needle-like crystals, which are seldom found in polymers, were observed in NECS cast films after few days casting. The needle-like crystals were formed from spherulites through a post-crystallization process. The shape of needle-like crystals was long rectangle with a typical size of $\sim 50 \mu\text{m}(\text{length}) \times 2 \sim 5 \mu\text{m}(\text{width}) \times 1 \sim 2 \mu\text{m}(\text{height})$, and molecular chains are parallel to the long axis of the needles. The needle-like crystals were first found on the centers of the spherulites, and then on every joint of dendritic fibrils of spherulites, at last on everywhere of spherulites. Generally speaking, the needle-like crystals basically oriented at the direction of radius of spherulites (also the direction of molecular chains) and decorated the spherulites. The possibility of post-crystallization was explained by the results that the cast films became super-concentrated solutions ($> 80\%$) after the adsorption of moisture because of the hydrophilic properties of NECS. The remained solvent and absorbed water were used as plasticizers, which increase the mobility of polymer chains. The dendritic crystals consisted of needle-like crystals were also found in the systems.

Key words Chitin, Chitosan, *N*-Ethyl chitosan, Crystalline morphology, Needle-like crystals