

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C08B 37/08 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02108595.1

[45] 授权公告日 2007 年 3 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1304429C

[22] 申请日 2002.4.4 [21] 申请号 02108595.1

[30] 优先权

[32] 2001. 4. 4 [33] JP [31] 106418/01

[73] 专利权人 大日精化工业株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 山南隆德 土田真也 吉永悟

家田和重 关光孝

[56] 参考文献

US3862122A 1975.1.21

CN1085564A 1994.4.20

CN1106820A 1995.8.16

CN1283634A 2001.2.14

CN1187948A 1998.7.22

审查员 白 玉

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 贾静环 宋 莉

权利要求书 3 页 说明书 14 页

[54] 发明名称

纯化的几丁质及其生产方法

[57] 摘要

纯化的几丁质的脂肪酸及其盐的总含量以脂肪酸计不大于 0.2wt. %。通过用至少一种选自有机溶剂和含水有机溶剂的溶剂洗涤几丁质，以便脂肪酸及其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt. % 来生产纯化的几丁质。

1. 纯化的几丁质，其具有脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计不高于0.2wt.%。

2. 权利要求1的纯化的几丁质，其中所述几丁质的来源是选自龙虾、虾、蟹、虾蛄、磷虾和墨鱼中的至少一种来源。

3. 权利要求1的纯化的几丁质，其中所述的脂肪酸及其盐包括选自棕榈酸、油酸、硬脂酸和肉豆蔻酸及其盐中的至少一种脂肪酸或其盐。

4. 权利要求1的纯化的几丁质，其中所述脂肪酸的所述盐包括选自所述脂肪酸的钙盐和所述脂肪酸的镁盐中的至少一种盐。

5. 权利要求1的纯化的几丁质，其中所述几丁质是选自几丁质和脱乙酰壳多糖、几丁质和脱乙酰壳多糖的化学改性产物和几丁质和脱乙酰壳多糖的降解产物中的至少一种几丁质。

6. 权利要求5的纯化的几丁质，其中所述的化学改性产物是乙酰化产物、甲苯磺酰化的产物、烷基化的产物、羧化的产物、硫酸化产物、磷酸化产物、硝化产物、氨基甲酰化产物、硫代氨基甲酰化产物、金属离子络合物、席夫碱络合物、季铵盐、交联产物或黄原酸化产物。

7. 权利要求5的纯化的几丁质，其中所述几丁质是选自葡糖胺、盐酸葡糖胺、硫酸葡糖胺和乙酰氨基葡糖中的至少一种化合物。

8. 权利要求1的纯化的几丁质，其中所述几丁质在其分子中含有选自羟烷基、羧烷基、羧酰基、羟酰基、硫酸根基团、磷酸根基团和季铵基团中的至少一种基团。

9. 权利要求1的纯化的几丁质，其中所述几丁质是具有下述纯度的脱乙酰壳多糖，所述纯度使得脱乙酰壳多糖以0.5wt.%的浓度溶于0.5wt.%醋酸水溶液中所得的脱乙酰壳多糖水溶液的透明度根据在日本工业标准中K0102(1998)规定的工业废水试验方法的“9. Clarity”所描述的方法测定至少是20。

10. 一种生产权利要求1-9中任一项的纯化的几丁质的方法，包括以下步骤：

将几丁质浸在其中包含碱金属的碱性水中，和
收集并洗涤所述几丁质，

其中在所述洗涤步骤中,在其中包含所述碱金属的碱性状态下,用钙螯合剂螯合的水洗涤所述几丁质至少一次,以使在所述几丁质中的脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.%。

11. 权利要求 10 的方法,其中所述钙螯合剂是乙二胺四乙酸二钠。

12. 权利要求 10 的方法,进一步包括用选自蒸馏水、脱盐水和去离子水中的至少一种脱钙水处理。

13. 权利要求 10 的方法,其中所述几丁质的来源是选自龙虾、虾、蟹、虾蛄、磷虾和墨鱼中的至少一种来源。

14. 权利要求 10 的方法,其中所述的脂肪酸及其盐包括选自棕榈酸、油酸、硬脂酸和肉豆蔻酸及其盐中的至少一种脂肪酸或其盐。

15. 权利要求 10 的方法,其中所述脂肪酸的所述盐包括选自所述脂肪酸的钙盐和所述脂肪酸的镁盐中的至少一种盐。

16. 权利要求 10 的方法,其中所述几丁质是选自几丁质和脱乙酰壳多糖、几丁质和脱乙酰壳多糖的化学改性产物和几丁质和脱乙酰壳多糖的降解产物中的至少一种几丁质。

17. 权利要求 16 的方法,其中所述的化学改性产物是乙酰化产物、甲苯磺酰化的产物、烷基化的产物、羧化的产物、硫酸化产物、磷酸化产物、硝化产物、氨基甲酰化产物、硫代氨基甲酰化产物、金属离子络合物、席夫碱络合物、季铵盐、交联产物或黄原酸化产物。

18. 权利要求 16 的方法,其中所述几丁质是选自葡糖胺、盐酸葡糖胺、硫酸葡糖胺和乙酰氨基葡糖中的至少一种化合物。

19. 权利要求 10 的方法,其中所述几丁质在其分子中含有选自羟烷基、羧烷基、羧酰基、羟酰基、硫酸根基团、磷酸根基团和季铵基团中的至少一种基团。

20. 一种生产权利要求 1-9 中任一项的纯化的几丁质的方法,包括以下步骤:

将几丁质浸在浓碱性水溶液中以使所述几丁质脱乙酰化为脱乙酰壳多糖,和

收集并洗涤所述脱乙酰壳多糖,

其中在所述洗涤步骤中,在其中包含碱金属的碱性状态下,用钙螯合剂螯合的水洗涤所述脱乙酰壳多糖至少一次,以使在所述脱乙酰壳多糖中的

脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.%。

21. 权利要求 20 的方法，其中所述钙螯合剂是乙二胺四乙酸二钠。

22. 权利要求 20 的方法，进一步包括用选自蒸馏水、脱盐水和去离子水中的至少一种脱钙水处理。

23. 权利要求 20 的方法，其中所述几丁质的来源是选自龙虾、虾、蟹、虾蛄、磷虾和墨鱼中的至少一种来源。

24. 权利要求 20 的方法，其中所述的脂肪酸及其盐包括选自棕榈酸、油酸、硬脂酸和肉豆蔻酸及其盐中的至少一种脂肪酸或其盐。

25. 权利要求 20 的方法，其中所述脂肪酸的所述盐包括选自所述脂肪酸的钙盐和所述脂肪酸的镁盐中的至少一种盐。

26. 权利要求 20 的方法，其中所述几丁质是选自几丁质和脱乙酰壳多糖、几丁质和脱乙酰壳多糖的化学改性产物和几丁质和脱乙酰壳多糖的降解产物中的至少一种几丁质。

27. 权利要求 26 的方法，其中所述的化学改性产物是乙酰化产物、甲苯磺酰化的产物、烷基化的产物、羧化的产物、硫酸化产物、磷酸化产物、硝化产物、氨基甲酰化产物、硫代氨基甲酰化产物、金属离子络合物、席夫碱络合物、季铵盐、交联产物或黄原酸化产物。

28. 权利要求 26 的方法，其中所述几丁质是选自葡糖胺、盐酸葡糖胺、硫酸葡糖胺和乙酰氨基葡糖中的至少一种化合物。

29. 权利要求 20 的方法，其中所述几丁质在其分子中含有选自羟烷基、羧烷基、羧酰基、羟酰基、硫酸根基团、磷酸根基团和季铵基团中的至少一种基团。

纯化的几丁质及其生产方法

背景技术

a) 发明领域

本发明涉及纯化的几丁质(chitin), 当其溶解于水时, 得到几丁质的水溶液, 所述溶液具有低的浊度和高透明度, 本发明还涉及纯化的几丁质的生产方法。水溶液可以是酸性水溶液。在整个说明书中, 几丁质、脱乙酰壳多糖(chitosan)、其化学改性的产物(衍生物)和其降解产物总称为“几丁质”。然而, 术语“几丁质类的水溶液”不包括“几丁质的水溶液”, 因为几丁质既不溶于水也不溶于稀酸。

b) 现有技术

几丁质是天然高分子物质, 其存在于甲壳纲动物的外骨骼、墨鱼钙化的内壳、真菌和霉菌中。近来几丁质的工业生产比较活跃。其来源的大多数是蟹、龙虾和虾的壳, 虾蛄的壳和钙化的墨鱼的内壳也有一定的应用。在工业来源的意义上, 除了上述的那些, 没有其它来源。

将从这样来源获得的几丁质脱乙酰化获得脱乙酰壳多糖。使用这两者作为原料, 生产其各种的衍生物和它们的寡糖以及单糖。如上所述, 目前的情况是作为几丁质的工业来源, 主要采用蟹、龙虾和虾的壳和利用有限的虾蛄和钙化的墨鱼的内壳。这些海洋生物显然含有脂肪物质。

蟹、龙虾和虾的外骨骼的主要成分是碳酸钙, 蛋白质和几丁质, 每一种还包含作为微量成分的脂肪物质。然而, 在从这些外骨骼分离几丁质时, 不知道有经济且适当的溶解几丁质的溶剂。作为从它们的外骨骼获得几丁质的工业方法, 目前的做法是使外骨骼中的碳酸钙和蛋白质溶于水, 然后从外骨骼除去它们, 获得几丁质。具体地说, 是将蟹、龙虾或虾的外骨骼浸在稀的碱性水溶液中, 随后加热, 用水洗掉降解的蛋白质。将其中包含几丁质的不溶性物质浸在稀盐酸水溶液中以使仍包含在不溶性物质中的碳酸钙转化为溶于水的氯化钙。然后, 用水洗涤不溶性物质以除去氯化钙, 从而获得作为不溶性物质的几丁质。在该方法中, 用稀的碱溶液处理和用稀盐酸进行的处理在顺序上是可逆的。

在干燥后或不进行干燥,通过将几丁质浸在浓的氢氧化钠水溶液中,可将如上获得的几丁质脱乙酰化成为脱乙酰壳多糖,在该反应后,所述溶液的浓度为40wt.%,然后将其在其中加热。当将如上获得的脱乙酰壳多糖溶解于稀的醋酸水溶液并检验得到的溶液的浊度时,浊度实质上随种类、生长区域和其来源等而变动。在此意义上,工业可得的脱乙酰壳多糖在质量方面缺乏一致性,因此在作为工业产品时带来了问题。取决于来源,所得到的脱乙酰壳多糖的水溶液具有相当大的浊度。这样的脱乙酰壳多糖不能用作商业产品,在某些情况下可能不得不丢弃掉。

使用如上获得的几丁质或脱乙酰壳多糖作为原料,通过常规方法使其经受化学降解如酸水解或氧化降解或通过使其经受用几丁质酶或几丁质酶脱乙酰壳多糖酶的酶降解,可以获得低分子量的几丁质、低分子量的脱乙酰壳多糖、葡糖胺、盐酸葡糖胺、硫酸葡糖胺、乙酰氨基葡糖等。

而且,由几丁质或脱乙酰壳多糖和表氯醇、环氧乙烷、氧化丙烯、缩水甘油等的反应,可以得到相应的羟烷基衍生物;由和一氯醋酸的反应,可以得到羧甲基衍生物;由和琥珀酸酐的反应,可以得到羧酰基衍生物;由和缩水甘油基三甲基氯化铵反应,可以得到季铵衍生物;由和二硫化碳反应,可以得到黄原酸衍生物,所述反应都是采用常规已知的方法进行的。由脱乙酰壳多糖和有机酸如醋酸、乳酸和吡咯烷酮羧酸的反应,可以得到相应的脱乙酰壳多糖的有机酸盐。而且,水解几丁质或脱乙酰壳多糖的黄原酸衍生物,可重新产生几丁质或脱乙酰壳多糖,中和脱乙酰壳多糖的有机酸盐可重新产生脱乙酰壳多糖。

由几丁质或脱乙酰壳多糖(其在配制成含水溶液时产生浊度)作为原料得到的降解产物或水溶性衍生物的水溶液经常是混浊的,并且这些几丁质的混浊水溶液的商业价值显著降低,那些具有相当大的浊度的产物没有商业价值。

迄今为止没有有关上述问题的本质原因的报道,并且没有说明其解决方法。目前的情况是每个几丁质的制造者都试图通过仔细选择在经验上认为形成较少混浊的几丁质来源来克服该混浊的问题。近年来随着几丁质活跃的应用,特别是它们在精细化工中的用途逐渐增长,所以对解决几丁质水溶液的混浊问题的希望也在不断增长。

发明概述

因此本发明的目的是查明上述几丁质水溶液的混浊的原因，并提供能够给予几丁质水溶液的纯化的几丁质并且还提供其制备方法，当这种纯化的几丁质溶解于水或酸性水中时，所述溶液具有低浊度和高透明度。

在试图解决上述问题时，本发明者用异丙醇洗涤脱乙酰壳多糖，脱乙酰壳多糖通过上述常规方法生产制得的。将未洗涤的脱乙酰壳多糖和洗涤的脱乙酰壳多糖分别溶解于等分的稀醋酸溶液中，比较得到的溶液的混浊程度。结果，发现洗涤的脱乙酰壳多糖的水溶液具有非常小的浊度。然后在索格斯利特萃取器中用异丙醇萃取脱乙酰壳多糖，通过红外光谱法、气相色谱法和其它方法分析在异丙醇中萃取的杂质。发现那些萃取的杂质包括作为主要成分的棕榈酸和油酸，并且还包含少量脂肪酸如硬脂酸和肉豆蔻酸，以及/或者它们的盐。

甲壳纲动物的外骨骼即几丁质的工业来源本身固有地含有如上所述的一定含量或较大含量的脂肪物质或脂肪酸。本发明者弄清了当通过常规已知的方法从这样的来源产生几丁质时，脂肪酸和/或其盐以一定量或较大量保留在作为最终产物的几丁质中，并且当脱乙酰壳多糖形成水溶液时，这些保留的脂肪酸和/或其盐是水溶液混浊的主要原因。

在目前每个从甲壳纲动物的外骨骼作为来源获得几丁质和进一步地从几丁质获得脱乙酰壳多糖的工业生产步骤中，仅用氢氧化钠水溶液、盐酸或水进行了处理。迄今为止，据信通过该常规方法，包括在这种来源中的脂肪物质也被降解，并且溶于水的那些被除去了。因此不需要考虑进一步特殊的操作。

然而，通过本发明者详细研究的结果，弄清了脂肪酸和/或其盐、水不溶性物质，存在于几丁质来源或存在于几丁质生产步骤中存在的脂肪物质的降解产物中，并且还弄清了这些脂肪酸和/或其盐大量保留在几丁质或脱乙酰壳多糖中，并且即使在从几丁质来源除去碳酸钙和蛋白质后还是水不溶性的物质。

而且，认为存在于几丁质来源、几丁质或脱乙酰壳多糖中的脂肪酸和/或其盐保留在最终产物中而没有在几丁质的生产步骤中除去。已从对脂肪酸和/或其盐的分析确认它们的主要成分是水不溶性盐如脂肪酸的钙盐和脂肪酸的镁盐。因此，发现是混浊原因的这些脂肪酸和/或其盐可以通过用有

机溶剂或含水的有机溶剂洗涤而从几丁质中除去。

另一方面，上述有机溶剂在许多情况下因为几丁质的生产设备或产物的应用目的而不能使用。下面进行研究以提出不依赖于任何有机溶剂的方法。结果，发现可以通过在包含氨或碱金属(例如，钠或钾)的碱性状态下，用脱钙水和/或钙螯合的水在生产几丁质的多个步骤中的至少一个步骤中洗涤几丁质而除去脂肪酸和/或其盐。即，已发现包含在几丁质中的脂肪酸和/或其盐转化为亲水的氨或其碱金属盐，并且很容易通过用脱钙水或钙螯合的水从几丁质中除去。

通过下面要描述的本发明，可以达到上述目的。

由此，本发明的一个方面是提供脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计不大于 0.2wt.% 的纯化的几丁质。当溶于水时，纯化的几丁质不产生混浊，并且质量高。

优选，几丁质的来源是至少选自龙虾、虾、蟹、虾蛄、磷虾和墨鱼的一种。脂肪酸及其盐可包括例如，至少一种选自棕榈酸、油酸、硬脂酸和肉豆蔻酸及其盐的脂肪酸或其盐。脂肪酸的盐可包括，例如，至少一种选自脂肪酸的钙盐和脂肪酸的镁盐的盐。几丁质可以是，例如，至少一种选自几丁质和脱乙酰壳多糖、其化学改性的产物和降解产物的几丁质。

化学改性的产物可优选是乙酰化的产物、甲苯磺酰化的产物、烷基化的产物、羧化的产物、硫酸化产物、磷酸化产物、硝化产物、氨基甲酰化产物、硫代氨基甲酰化产物、金属离子络合物、席夫碱络合物、季铵盐、交联产物、黄原酸化产物、成盐的衍生物和黄原酸化产物的再生产物。

优选几丁质可以是至少一种选自葡糖胺、盐酸葡糖胺、硫酸葡糖胺、乙酰氨基葡糖及其寡糖。

优选几丁质可以在其分子中含有至少一种选自羟烷基、羧烷基、羧酰基、羟酰基、硫酸根基团、磷酸根基团和季铵基团的基团。

优选几丁质可以是具有纯度的脱乙酰壳多糖，以便脱乙酰壳多糖以 0.5wt.% 的浓度溶于 0.5wt.% 醋酸水溶液中的脱乙酰壳多糖水溶液的透明度至少是 20，根据在日本工业标准(JIS)中 K 0102 (1998) 规定的工业废水试验方法的“9. Clarity”所描述的方法测定的。

本发明另一个方面是提供生产纯化的几丁质的方法，包括用至少一种选自有机溶剂和含水有机溶剂的溶剂洗涤几丁质，以便脂肪酸和其盐的总

含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.%。优选可以用至少一种选自乙醇和异丙醇的溶剂洗涤几丁质。该方法是优异的，因为其操作简单，可广泛应用并且除去几丁质中的脂肪酸和/其盐的能力高。根据对按照上述方法产生的几丁质进行分析的结果，发现在几丁质中脂肪酸和其盐的总含量是 0.2wt.% 或更低。几丁质的水溶液作为工业产品具有高的透明度和非常高的商业价值。其证实了在几丁质水溶液中的混浊的主要原因是脂肪酸和/或其盐，特别是水不溶性盐如脂肪酸的钙盐和脂肪酸的镁盐的发现。另一方面，通过现有技术，从不是仔细选择的来源获得的几丁质含有大约 0.5wt.% 或更多的脂肪酸和/或其盐。即使在从仔细选择的来源获得几丁质的情况下，其含有的脂肪酸和/或其盐的量以脂肪酸计也大于 0.2wt.%。不考虑来源，从现有技术获得的几丁质不能避免形成水溶液时产生混浊的问题。

本发明进一步的方面是提供通过以下步骤生产纯化的几丁质的方法，所述步骤包括在至少一个步骤中用脱钙水和用钙螯合剂螯合的水中的至少一种进行处理以便使在几丁质中的脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.%。钙螯合剂可优选是乙二胺四乙酸二钠。

本发明再一个方面是提供生产纯化几丁质的方法，包括下面的步骤：

将几丁质浸在其中包含氨或碱金属的碱性水中，和
收集并洗涤几丁质，

其中在洗涤步骤中，在其中包含氨(ammonia)或碱金属的碱性状态下，用脱钙水和用钙螯合剂螯合的水中的至少一种洗涤几丁质至少一次，从而使得在几丁质中的脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.%。

本发明再一个目的是提供生产纯化几丁质的方法，包括下面的步骤：

将几丁质浸在浓的碱性水溶液中以使几丁质脱乙酰化为脱乙酰壳多糖，和

收集并洗涤脱乙酰壳多糖，

其中在洗涤步骤中，在其中包含氨或碱金属的碱性状态下，用脱钙水和用钙螯合剂螯合的水中的至少一种洗涤脱乙酰壳多糖至少一次，从而使得在脱乙酰壳多糖中的脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.%。

优选脱钙水可以是至少一种选自蒸馏水、脱盐水和去离子水中的脱钙水。

使用脱钙水的最大优势不同于使用有机溶剂或钙螯合的水，绝对不用担心保留在得到的几丁质中的有机溶剂或钙螯合剂。另一方面，使用钙螯合的水的优势不同于使用脱钙水，不需要获得脱钙水的特殊设备，例如脱盐设备或生产去离子水的设备，可以使用常规的几丁质生产设备。

发明的详细描述和优选实施方案

下面将基于优选实施方案进一步详细描述本发明。首先对通过使用可以包含水的有机溶剂从几丁质萃取和除去脂肪酸和/或其盐进行描述。本发明的目的可通过用有机溶剂洗涤几丁质很容易达到。

该用有机溶剂的洗涤可以施用到任何常规已知的生产几丁质的步骤中。对洗涤方法等没有特别的限定条件。例如，可以通过索格斯利特(S Soxhlet)萃取器从几丁质萃取脂肪酸和/或其盐并除去进入有机溶剂中。作为一个较简单的步骤，因此通过简单地将几丁质浸在有机溶剂中，使脂肪酸和/或其盐溶解出来进入有机溶剂并通过过滤收集几丁质，可以完全从几丁质中除去脂肪酸和/或其盐。根据该用有机溶剂的洗涤，脂肪酸和/或其盐全部溶解进有机溶剂中，容易从几丁质中萃取并除去。

用于上述步骤中的有机溶剂的实例是醇例如甲醇、乙醇和 2-丙醇；酮例如丙酮和甲基乙基酮；酯例如乙酸乙酯和乙酸甲酯；烃例如己烷、庚烷、苯和甲苯；卤代烃例如二氯乙烷、二氯甲烷和三氯乙烯；醚例如二乙醚、二氧六环和四氢呋喃；甘醇二甲醚例如乙二醇一甲醚和乙二醇一甲醚乙酸酯；二甘醇二甲醚例如二甘醇一甲醚；以及无质子极性溶剂例如二甲基甲酰胺和二甲基乙酰胺。

在选择有机溶剂时，可以选择任何溶剂，只要其不溶解要洗涤的几丁质。然而，对于它们的易操作性和经济性，醇是优选的。特别是从安全和经济的观点看，优选含 30wt.%或更多的乙醇或 2-丙醇的水溶液。作为该水溶液的水，可以使用普通的自来水、工业用水或地下水。

在每个不利用有机溶剂的本发明方法中，在生产几丁质的至少一个步骤中，在其中包含氨或含碱金属的碱性物质的碱性状态下，用脱钙水和/或钙螯合的水洗涤几丁质至少一次。脱钙水的实例包括蒸馏水、去离子水和脱盐水。在碱性状态下用氨或含碱金属的碱性物质调理几丁质使包含在几丁质中的脂肪酸和/或其盐转化为具有高亲水性的铵盐或碱金属盐，以便当用脱钙水和/或钙螯合的水洗涤时，能容易地除去该铵盐或碱金属盐。

可以在整个几丁质的生产步骤中使用脱钙水作为水。然而，如果在通过常规方法从几丁质来源除去蛋白质和碳酸钙之后，脱钙水仅用于在带有氨或含碱金属的碱性物质的状态下洗涤湿的几丁质是足够的。洗涤时，如果需要，钙螯合剂也可和脱钙水结合使用。将几丁质浸在其中包含氨或碱金属的碱性水中，以使几丁质存在于碱性状态下时，碱性水可以所需的将几丁质全部浸没在碱性水中的量来使用，或优选按照可以进行搅拌所需的量来使用。另一方面，当洗涤处于碱性状态下的几丁质时，用限于所需最小量的脱钙水重复洗涤湿几丁质至少两次是有效的。对洗涤温度没有特别的限制。

通过在如上所述的几丁质生产步骤中将其浸在浓碱性水溶液中，将从中除去脂肪酸和/或其盐之后的几丁质脱乙酰化为脱乙酰壳多糖，之后不必使用脱钙水洗涤脱乙酰壳多糖。可以使用普通的自来水、工业用水或地下水。当从供应商等处购得几丁质时，可能需要用稀盐酸使几丁质再次经受脱钙化处理，然后用和上述湿几丁质的情况相类似的方式进行处理。在此情况下，用稀盐酸进行脱钙化处理不是完全需要的。然而，进行脱钙化处理是更有效的。顺便提一下，对浓碱性水溶液没有特别的限制，只要脱乙酰化处理是可行的即可。浓碱性水溶液的实例是45wt.%氢氧化钠水溶液。优选可在加热下进行脱乙酰化，例如在60℃。

在本发明中，钙螯合的水可代替上述脱钙水来使用。当使用钙螯合的水时，在处理之前使几丁质处于碱性水带来的碱性状态下不是关键，该碱性水包含氨或含碱金属的碱性物质，尽管优选如上所述使几丁质处于碱性状态。用于钙螯合的水的钙螯合剂的实例包括氨基酸型螯合剂，例如乙二胺四乙酸、羟乙基乙二胺三乙酸、二羟乙基乙二胺二乙酸、1,3-丙二胺四乙酸、二亚乙基三胺五乙酸、三亚乙基四胺六乙酸、次氨基三乙酸、羟乙基亚氨基二乙酸，以及它们的盐；羟氨基酸型螯合剂，例如通过往 α -(羟甲基)丙烯酸乙酯中添加氨基酸而获得的那些；氨基酸型螯合剂，例如甲基甘氨酸二乙酸、L-谷氨酸二乙酸、L-天门冬氨酸二乙酸，以及它们的盐；缩合磷酸型的螯合剂，例如焦磷酸、偏磷酸、多磷酸、三聚磷酸，以及它们的盐；羟基羧酸型(oxy-carboxylic acid type)螯合剂，例如柠檬酸、酒石酸、葡糖酸，以及它们的盐；乙酰丙酮；酸性沸石和钠沸石。不用说，钙螯合剂不限于上述所列举的钙螯合剂，只要可以抑制脂肪酸不形成水不溶性盐

例如钙盐或镁盐即可。在这些例举的钙螯合剂当中，从钙螯合能力来看，优选乙二胺四乙酸二钠。

在此，钙螯合的水可再次用作整个生产几丁质的步骤中的水。然而，如果在从几丁质来源除去蛋白质和碳酸钙之后，钙螯合的水仅用于洗涤湿几丁质，则能充分达到本发明的目的。在洗涤时，如果需要，脱钙水也可以和钙螯合的水结合使用。

所用钙螯合剂的量随仍保留在几丁质中的脂肪酸的钙盐的数量而变动。然而，一般来说，作为标准，钙螯合剂的使用量可以高达相当于包含在钙螯合剂将被溶解的水中的钙离子数量的 1.2 倍或更大，优选约 2.0 倍。

当用钙螯合的水洗涤几丁质时，事先可以制备水和溶解在其中的钙螯合剂；或者以所需的量往几丁质中添加无钙螯合剂的水，接着以所需的量添加钙螯合剂，反之亦然。以这样的量使用钙螯合的水或无钙螯合剂的水是有效的，即让全部几丁质浸没在水中，或优选，按照需要，可以搅拌和用限于所需最小量的钙螯合的水重复洗涤几丁质至少两次。对洗涤温度没有特别的限制。

当从供应商等处购得几丁质时，可能需要用稀盐酸再次对几丁质进行脱钙化处理，然后按照和上述湿几丁质相类似的方式用钙螯合的水对其进行处理。在此情况下，用稀盐酸进行脱钙化处理不是完全需要的。然而，进行脱钙化处理更有效。当从供应商等处购得几丁质并转化为脱乙酰壳多糖时，在将几丁质脱乙酰化之后，用钙螯合的水洗涤脱乙酰壳多糖是有效的。在此情况下，以和上述相类似的方式进行脱乙酰化。

当用钙螯合的水洗涤脱乙酰壳多糖时，事先可以制备水和溶解在其中的钙螯合剂；或者以所需的量往脱乙酰壳多糖中添加无钙螯合剂的水，接着以所需的量添加钙螯合剂，反之亦然。以这样的量使用钙螯合的水或无水钙螯合剂是有效的，即让全部脱乙酰壳多糖浸没在水中，或优选以搅拌和用限于最小所需量的钙螯合的水重复洗涤脱乙酰壳多糖至少两次。对洗涤温度没有特别的限制。

上述方法无论使用哪个，本发明都能获得脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计至少降低到 0.2wt.% 的几丁质。每种脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计不大于 0.2wt.% 的几丁质都溶于水，每种几丁质可以提供其透明度高到能允许其使用或作为工业产品来供给的水溶液，这样可以得到具有显著改进

的商业价值的水溶液。几丁质不仅以水溶液的形式使用而且还大量地以其它形式使用。以其它形式使用时，脂肪酸和其盐的总含量以脂肪酸计不大于 0.2wt.% 的每种几丁质显然具有很高的商业价值。

下面基于参考实施例和实施例更具体地描述本发明。

参考实施例 1

在 4wt.% 盐酸水溶液（800 重量份）中，在 30℃ 下搅拌来自东南亚的梭子蟹干燥的壳（100 重量份）2 小时以使蟹壳中的碳酸钙溶解成为氯化钙。通过过滤收集固形物，用地下水洗涤以进行脱钙化处理。然后在 2wt.% 氢氧化钠水溶液（800 重量份）中，在 75℃ 下搅拌包含几丁质的过滤残余物 2 小时以进行脱蛋白处理。通过过滤收集残余物，用地下水洗涤以获得作为过滤残余物的几丁质。然后将几丁质放在 45wt.% 氢氧化钠水溶液（600 重量份）中，在 60℃ 下加热搅拌 16 小时以进行脱乙酰化处理。通过过滤收集固形物，用地下水洗涤，然后干燥，获得脱乙酰壳多糖（25 重量份）。

实施例 1

按照和参考实施例 1 类似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了用 0.1wt.% EDTA 水溶液洗涤脱乙酰壳多糖三次代替对用氢氧化钠碱化的几丁质进行脱乙酰化处理后用地下水洗涤。

实施例 2

按照和参考实施例 1 类似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了用 0.1wt.% EDTA 水溶液洗涤几丁质三次代替对用氢氧化钠碱化的蟹壳进行脱蛋白处理后用地下水洗涤。

实施例 3

按照和参考实施例 1 类似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了用 0.1wt.% EDTA 水溶液洗涤几丁质一次代替对用氢氧化钠碱化的蟹壳进行脱蛋白处理后用地下水洗涤。

实施例 4

按照和参考实施例 1 类似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了用去离子水洗涤几丁质三次来代替对用氢氧化钠碱化的蟹壳进行脱蛋白处理后用地下水洗涤和除了用去离子水洗涤脱乙酰壳多糖四次来代替对用氢氧化钠碱化的蟹壳进行脱乙酰化处理后用地下水洗涤。

实施例 5

按照和参考实施例 1 类似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖,除了用去离子水洗涤几丁质三次来代替对用氢氧化钠碱化的蟹壳进行脱蛋白处理后用地下水洗涤。

实施例 6

按照和参考实施例 1 类似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖,除了用 30wt.% 异丙醇水溶液洗涤干燥的脱乙酰壳多糖一次之外。

[测量脱乙酰壳多糖样品的水溶液的透明度和在脱乙酰壳多糖样品中的脂肪酸的含量]

通过下述方法测量参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖样品和实施例 1-6 的纯化的脱乙酰壳多糖的 6 个样品的水溶液的透明度和在脱乙酰壳多糖样品中以及纯化的脱乙酰壳多糖样品中的脂肪酸的含量。结果显示在表 1 中。

<透明度的测量方法>

(1) 样品溶液的制备

将参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖样品和实施例 1-6 的纯化的脱乙酰壳多糖的 6 个样品分别以 0.5wt.% 的浓度溶解在等分的 0.5wt.% 乙酸水溶液中以获得 7 个脱乙酰壳多糖水溶液。将 7 个脱乙酰壳多糖水溶液静置 24 小时后,测量它们的透明度。

(2) 测量方法

根据在日本工业标准(JIS)中 K 0102 (1998)规定的工业废水试验方法的“9. Clarity”所描述的方法测定 7 个脱乙酰壳多糖水溶液的透明度。

<脂肪酸含量的测量方法>

(1) 制备分析样品

将参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖样品和实施例 1-6 的纯化的脱乙酰壳多糖的 6 个样品用作分析样品。在 7 个萃取套管中分别对 7 个样品(鉴于包含的水,以纯脱乙酰壳多糖计 5.0g)的等分试样(5.0g)进行称重。7 个萃取套管都塞有吸收棉。

(2) 测量方法

将其中装有 5.0g 称重的参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖样品的堵塞的萃取套管固定在索格斯利特萃取器的萃取区域。将蒸馏水(50mL)倒入萃取区域。将萃取套管静置 30 分钟以在水中浸泡样品使样品溶胀。将异丙醇(65mL)、蒸馏水(15mL)和 5 个沸泡石放在位于索格斯利特萃取器底部

的平底烧瓶中。30 分钟后，将索格斯利特萃取器萃取区域的水转移至底部的平底烧瓶中，在索格斯利特萃取器中进行 2 小时的萃取。萃取后，将保留在索格斯利特萃取器的萃取区域的溶液转移至底部的平底烧瓶中以合并平底烧瓶中的所有萃取物。将如此合并的萃取物转移至圆底烧瓶中。为了抑制溶液起泡，按照需要往烧瓶中添加乙酸（3-4 滴），将烧瓶和蒸发器连接以浓缩萃取物至约 1-2mL。往浓缩物中添加 5% 乙酸溶液（50mL）。在烧瓶的内壁上产生沉积物，在超声波浴中分离，在乙酸水溶液中分散并去絮凝。往烧瓶中添加己烷（50mL），在震动器上充分摇动得到的混合物以从萃取物中将脂肪酸萃取到己烷层中，分离己烷层。得到分离的己烷层作为气相色谱分析的样品溶液，使用下面（3）中描述的标准脂肪酸溶液和下面（4）中描述的系统 and 条件来测量脱乙酰壳多糖中的脂肪酸的量。同样也类似地测量实施例 1-6 的纯化的脱乙酰壳多糖样品中的脂肪酸含量。

（3）制备标准脂肪酸溶液

对于肉豆蔻酸、棕榈酸、油酸和硬脂酸，分别使用试剂物（纯度：98% 或更高）。将它们分别溶解在等分的己烷中以制备 4 个 0.1W/V% 溶液。使用那些溶液作为原料，将它们逐步稀释以制备 5-200ppm 浓度的标准溶液。将那些标准溶液以 2 μ L/溶液的速度注射进气相色谱分析系统中以制得校准线。将上面（1）中制备的用于测量透明度的分析样品溶液分别注射进气相色谱分析系统并进行分析。基于校准线，计算各个样品中的脂肪酸的浓度。

（4）气相色谱分析系统和操作条件

主系统：“GC-14A”，商品名，由 Shimadzu 公司制造

柱：“G-100”，Chemicals Inspection and Testing Institute，日本

检测器：FID

载气：氮，30mL/min

柱温：120 $^{\circ}$ C - 280 $^{\circ}$ C，6 $^{\circ}$ C/min

注射温度：280 $^{\circ}$ C

检测器温度：280 $^{\circ}$ C

样本量：2.0 μ L

表 1

		参考实施例	实施例					
		1	1	2	3	4	5	6
透明度		5	23	>50	33	22	21	21
脂肪酸 含量 (%)	MA	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.0	<0.01	<0.01
	PA	0.20	0.08	0.01	0.02	0.09	0.08	0.07
	OA	0.26	0.08	0.01	0.05	0.05	0.08	0.07
	SA	0.04	0.02	0.01	0.03	0.03	0.02	0.02
	总计	0.53	0.18	0.03	0.10	0.17	0.18	0.17

MA: 肉豆蔻酸; PA: 棕榈酸; OA: 油酸; SA: 硬脂酸

从表 1 可以看出, 参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖水溶液的透明度是 5, 参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖中的脂肪酸总含量以脂肪酸计是 0.53wt.%, 而实施例 1-6 的纯化的脱乙酰壳多糖样品的水溶液的透明度都大于 20, 且实施例 1-6 的脱乙酰壳多糖样品中的脂肪酸总含量以脂肪酸计都低于 0.20wt.%. 通过相同的方法测量显示在表 2 和表 3 中的透明度和脂肪酸含量。

参考实施例 2

如参考实施例 1 进行脱钙化处理和脱蛋白质处理。通过过滤收集得到的几丁质, 用地下水洗涤, 然后干燥以获得干燥的几丁质 (100 重量份)。然后将几丁质放在 45wt.% 氢氧化钠水溶液 (300 重量份) 中, 在 60℃ 下加热搅拌 16 小时以进行脱乙酰化处理。通过过滤收集固形物, 用地下水洗涤, 然后干燥以获得干燥的脱乙酰壳多糖 (90 重量份)。

实施例 7

以和参考实施例 2 相似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖, 除了用 0.1wt.% EDTA 水溶液洗涤脱乙酰壳多糖三次来代替对用氢氧化钠碱化的干燥的几丁质进行脱乙酰化处理后用地下水洗涤。

实施例 8

以和参考实施例 2 相似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖, 除了用去离子水洗涤脱乙酰壳多糖三次来代替对用氢氧化钠碱化的干燥的几丁质进行

脱乙酰化处理后用地下水洗涤。

实施例 9

以和参考实施例 2 相似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了在脱乙酰化之前，用 0.1wt.% EDTA 水溶液洗涤干燥的几丁质三次。

实施例 10

以和参考实施例 2 相似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了在脱乙酰化之前，用 30wt.% 异丙醇水溶液洗涤用氢氧化钠碱化的干燥的几丁质一次。

实施例 11

以和参考实施例 2 相似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了用 0.1wt.% EDTA 水溶液洗涤用氢氧化钠碱化的干燥的脱乙酰壳多糖三次。

实施例 12

以和参考实施例 2 相似的方式获得纯化的脱乙酰壳多糖，除了用 30wt.% 异丙醇水溶液洗涤干燥的脱乙酰壳多糖一次。

表 2

		参考实施例	实施例					
		2	7	8	9	10	11	12
透明度		5	22	20	22	21	20	21
脂肪酸 含量 (%)	MA	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.0
	PA	0.20	0.09	0.09	0.08	0.09	0.09	0.09
	OA	0.26	0.05	0.06	0.08	0.06	0.06	0.06
	SA	0.04	0.03	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03
	总计	0.53	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	0.18

从表 2 可以看出，参考实施例 2 的脱乙酰壳多糖水溶液的透明度是 5，参考实施例 2 的脱乙酰壳多糖中的脂肪酸总含量以脂肪酸计是 0.53wt.%，而实施例 7-12 的纯化的脱乙酰壳多糖样品的水溶液的透明度是 20 或更高，且实施例 7-12 的脱乙酰壳多糖样品中的脂肪酸总含量以脂肪酸计都低于 0.20wt.%。

参考实施例 13

将参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖(100 重量份)和自来水(900 重量份)放入高压釜中。加入氧化丙烯(200 重量份)，接着进一步添加 48wt.% 氢氧

化钠水溶液。在 70°C 和 $3\text{kg}/\text{cm}^2$ 下搅拌得到的混合物 2 小时后，添加氧化丙烯（200 重量份），进一步添加 48wt.% 氢氧化钠水溶液（0.5 重量份）。在 70°C 和 $3\text{kg}/\text{cm}^2$ 下搅拌得到的混合物 2 小时。

将由此获得的水溶液滴入大过量的沸水中以沉淀羟丙基脱乙酰壳多糖。使沉淀物重复进行热过滤和热水洗涤，冷冻干燥最终获得的羟丙基脱乙酰壳多糖。将得到的冷冻干燥的产物溶于纯净水中以获得 0.7wt.% 水溶液（A）。对实施例 1 纯化的脱乙酰壳多糖进行类似的处理，将冷冻干燥的产物溶于纯净水中以获得 0.7wt.% 水溶液（B）。此外，用丙酮洗涤从参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖获得的羟丙基脱乙酰壳多糖的冷冻干燥产物，并再次干燥。使用如此获得的羟丙基脱乙酰壳多糖，还获得 0.7wt.% 水溶液（C）。24 小时后，测量各个水溶液的透明度，也测量各个冷冻干燥的羟丙基脱乙酰壳多糖产物中的脂肪酸含量。结果示于表 3 中

表 3

溶液		A	B	C
透明度		10	40	>50
脂肪酸含量 (%)	MA	0.02	<0.01	<0.01
	PA	0.20	0.05	<0.01
	OA	0.20	0.03	<0.01
	SA	0.03	<0.01	<0.01
	总计	0.45	0.08	0.01

从表 3 可以看出，从参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖制备的羟丙基脱乙酰壳多糖的脂肪酸的总含量以脂肪酸计高达 0.45wt.%，因此水溶液（A）的透明度低达 10。与之相反，从实施例 1 的纯化脱乙酰壳多糖制备的羟丙基脱乙酰壳多糖的脂肪酸的总含量以脂肪酸计低达 0.08wt.%，因此水溶液（B）的透明度高达 40 并且商业价值提高了。而且，通过用丙酮洗涤获得的纯化的羟丙基脱乙酰壳多糖的总脂肪酸含量最低为 0.1wt.%，其水溶液（C）的透明度大于 50 且是非常清澈的水溶液，所述羟丙基脱乙酰壳多糖是从参考实施例 1 的脱乙酰壳多糖制备的。

本申请要求以申请日为 2001 年 4 月 4 日的日本专利申请 2001-106418 作为优先权，在此引入作为参考。