

Введение В последние десятилетия хитин и хитозан являются предметом интенсивных исследований. Это обусловлено комплексом уникальных свойств, присущих данным полисахаридам – способности к биодеструкции, гипоаллергенности, совместимости с тканями живых организмов, высокой хелато- и комплексообразующей способности. Благодаря своим уникальным свойствам хитозан нашел широкое применение в медицине, косметической, текстильной, пищевой и других областях промышленности [1-7]. К неоспоримым достоинствам хитозана относится его безопасность для человека и окружающей среды: он экологически чист и полностью распадается в природных условиях. Как и большинство природных полимеров, хитозан имеет тенденцию к самоассоциации в разбавленных водных растворах. Даже в случае полностью заряженных полимерных цепей он не всегда образует истинные растворы одиночных макромолекул, часто в растворе наряду с отдельными макромолекулами присутствуют ассоциаты [8]. Такие самопроизвольно формирующиеся ассоциаты хитозана исключительно перспективны в качестве носителей лекарственных средств и генов [9]. Зная закономерности формирования ассоциатов хитозана в различных средах и факторы, определяющие их размер, можно направленно получать полимерные носители необходимого размера. В ранее проведенных исследованиях [10-12] методом потенциометрии были изучены закономерности ассоциации хитозана с анионным ПАВ в водно-этанольных растворах и показана возможность регулирования данного процесса путем варьирования состава растворителя. Метод флуоресцентной спектроскопии, основанный на изменении свойств флуоресцентных проб в зависимости от локального микроокружения, позволяет изучать структурные и динамические свойства систем [13]. В настоящей работе данный метод использован для исследования ассоциации хитозана в водно-бутанольных средах. Экспериментальная часть В качестве объекта исследования использовали хитозан (ЗАО «Биопрогресс», Щелково) с молекулярной массой 38700 и степенью деацетилирования 80 %. Для приготовления растворов использовали смеси бидистиллированной воды с бутанолом-1 (марки х.ч.) различного состава, что позволяло варьировать характеристики среды в определенных пределах. Чистоту воды контролировали по величине удельной электропроводимости, которая составляла 3 мкСм/см. В качестве флуоресцентного зонда применяли пирен фирмы «Aldrich» (США). Растворителем для флуоресцентного зонда служил дважды перегнанный ректифицированный этанол. Спектры флуоресценции пирена в растворах хитозана регистрировали при комнатной температуре на люминесцентном спектрофлуориметре Varian Cary Eclips для щелей возбуждения и эмиссии 5 нм. Возбуждение производили при длине волны 335 нм. По спектрам поглощения находили интенсивности флуоресценции при 373 нм (1-ый пик) и 384 нм (3-ий пик). Концентрацию хитозана варьировали в интервале 0,001 – 10 г/л. Серию

растворов готовили путем разбавления исходного раствора (10 г/л) и выдерживали их сутки при комнатной температуре. Добавляли пирен для достижения его концентрации в растворе 2×10^{-6} моль/л, перемешивали и спустя 15-20 мин приступали к измерениям. Результаты и их обсуждение

Хитозан получают дезацетилированием хитина. Полученный полимер помимо звеньев D-глюкозамина содержит звенья N-ацетил-D-глюкозамина, оставшиеся от хитина [1]. Хитозан ведет себя как ассоциирующий полиэлектролит: самопроизвольно формирует агрегаты макромолекул, размеры которых определяются конкуренцией притяжения ассоциирующих групп, вызывающих агрегацию, и отталкивания из-за наличия заряженных звеньев и противоионов, препятствующего агрегации [8]. На рис. 1 представлены спектры флуоресценции пирена в водном растворе хитозана. При переходе от воды (спектр а) к растворам хитозана с увеличивающейся концентрацией отмечается существенное снижение интенсивности пиков. Спектр (а) характерен для гидрофильного окружения пирена, тогда как спектр (б) указывает на то, что пирен находится в сильно гидрофобном окружении. Рис. 1 – Спектры флуоресценции пирена в водном растворе хитозана. Спектр (а) $C_x = 0$; спектр (б) $C_x = 10$ г/л. Наряду с изменением формы спектра с увеличением концентрации хитозана наблюдается изменение отношения интенсивностей первого (373 нм) и третьего (384 нм) пиков пирена. Известно, что отношение интенсивности первого и третьего пиков I_1/I_3 в спектре флуоресценции пирена чрезвычайно чувствительно к диэлектрической проницаемости среды в микроокружении зонда [12]. В полярной среде (в воде) «параметр полярности» $I_1/I_3 = 1,4-1,6$, в неполярной среде (например, в гексане) – 0,6. На рис. 2 приведены зависимости параметра полярности микроокружения пирена I_1/I_3 от концентрации водно-бутанольных растворов хитозана. Из рисунка видно, что при низких концентрациях хитозана параметр полярности микроокружения пирена не изменяется, оставаясь в пределах 1,4-1,6. Это указывает на то, что молекулы пирена окружены водой. Затем в некотором диапазоне концентраций хитозана параметр полярности уменьшается, что свидетельствует о формировании хитозаном гидрофобных областей, в которых могут располагаться молекулы пирена. Резкое снижение параметра I_1/I_3 связано, по-видимому, с ассоциацией полимерных цепей хитозана при некоторой концентрации в растворе, превышающей критическую (C_k). Пирен воспринимает как гидрофобные домены гидрофильные участки цепи, вовлеченные в образование водородных связей. Взаимодействующие гидрофильные группы оказываются скрытыми от растворителя, что существенно повышает гидрофобность хитозана [8, 14]. Рис. 2 – Зависимость отношения I_1/I_3 пирена от логарифма концентрации раствора хитозана при содержании бутанола в растворителе: 0 (1), 1 (2), 3 (3) и 5 об. % (4). Обращает на себя внимание тот факт, что параметр полярности микроокружения пирена в водно-бутанольных растворах хитозана снижается до

значений более низких (см. кривые 1, 4 на рис. 2), чем у пирена, солюбилизированного в мицеллах низкомолекулярных ПАВ ($I_1/I_3 = 0,9 - 1$ [15]). Ранее в ряде работ по исследованию агрегации хитозана в разбавленных водных растворах также было обнаружено снижение параметра полярности пирена до значений 0,5-0,6, однако причины данного факта остаются невыявленными. Критическую концентрацию хитозана, при которой начинаются ассоциативные взаимодействия макромолекул в водно-бутанольных растворах, определяли по методу, предложенному в работе [16]. В основе метода лежит нахождение точки пересечения двух прямых: наклона кривых отношения I_1/I_3 при $C_x \rightarrow 0$ () и экстраполяции I_1/I_3 при высоких концентрациях хитозана (). Тогда C_k можно найти по формуле [16]: На рис. 3 представлены зависимости отношения I_1/I_3 пирена от концентрации хитозана в области низких значений и показан пример определения C_k полимера для одного из составов водно-бутанольного растворителя. Рис. 3 – Зависимость отношения I_1/I_3 пирена от концентрации раствора хитозана при содержании бутанола в растворителе: 0 (1), 1 (2), 3 (3) и 5 об. % (4). \ Найденные по графику значения C_k хитозана в присутствии в растворителе добавок бутанола приведены в табл. 1. Таблица 1 – Зависимость критической концентрации ассоциации хитозана от состава водно-бутанольного растворителя X, об. % BuOH A* B** C_k , г/л 0 -1,35 0,50 1,35 1 -1,08 0,70 1,10 3 - 0,83 0,54 1,09 5 -0,79 0,62 0,99 * ; ** Как видно из табл. 1, при переходе от водного раствора хитозана к водно-бутанольным отмечается снижение C_k , свидетельствующее об усилении склонности полимера к ассоциации. Для всех исследованных концентраций бутанола в растворителе критическая концентрация ассоциации хитозана составляет около 1 г/л. Таким образом, показано что в водно-бутанольных растворах макромолекулы хитозана ассоциируют при достижении критической концентрации, формируя при этом гидрофобные области, в которых может находиться пирен. Введение в водный раствор хитозана добавок бутанола способствует снижению критической концентрации и, следовательно, усилению склонности полимера к ассоциации.