

Е. И. Кулиш, И. Ф. Туктарова, В. В. Чернова,
Х. С. Абзальдинов, Г. Е. Заиков

МЕТОД ВИСКОЗИМЕТРИИ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ КОНФОРМАЦИОННОГО СОСТОЯНИЯ ХИТОЗАНА В РАСТВОРЕ

Ключевые слова: хитозан, полиэлектролиты, вискозиметрия, конформация.

Проанализированы некоторые подходы к определению значений характеристической вязкости хитозана путем обработки данных вискозиметрии. Показано, что особенностью исследования хитозана является то, что при растворении он становится полиэлектролитом, что приводит к некоторым сложностям при оценке его характеристической вязкости. Утверждается, что используя метод, разработанный Иржаком и Барановым, можно адекватно оценить значения характеристической вязкости, а следовательно и объем, занимаемый макромолекулой хитозана, который, в свою очередь, определяется степенью протонирования макромолекулы хитозана в растворе уксусной кислоты.

Keywords: chitosan, polyelectrolytes, viscometry, conformation.

By viscometry data processing some of the approaches to the determination of the values of the chitosan intrinsic viscosity were analyzed. It is shown that the features of chitosan research are that in the process of dissolution it becomes the polyelectrolyte, that leads to some difficulties in assessing the intrinsic viscosity. It is claimed that by using of Irzhak and Baranov method we can adequately estimate the values of intrinsic viscosity, and, hence, the volume occupied by chitosan macromolecules, which in turn is determined by the degree of protonation of the chitosan macromolecule in a solution of acetic acid.

Введение

Вискозиметрия является одним из наиболее доступных и информативных методов исследования растворов полимеров. Широкое использование этого метода связано, помимо прочего, с тем, что по определяемому из данных вискозиметрии значению характеристической вязкости $[\eta]$, можно оценить как молекулярную массу полимера в растворе, так и его конформационное состояние (объем, занимаемый изолированной макромолекулой).

В случае использования вискозиметрии для исследования растворов полиэлектролитов, достоверное определение характеристической вязкости с целью оценки их конформационного состояния, наталкивается на определенные трудности.

В данной работе сделана попытка анализа некоторых способов оценки значений характеристической вязкости полимера природного происхождения – хитозана, который при растворении в кислых водных средах (например, в уксусной кислоте), приобретает свойства полиэлектролита [1].

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использован образец хитозана ХТЗ (производства ЗАО «Биопрогресс», Щелково), полученный щелочным деацетилизацией крабового хитина (степень деацетилирования ~84%) $M_n = 130000$. Значение M_n было рассчитано по уравнению $[\eta] = 1.38 \cdot 10^{-4} M^{0.85}$ в ацетатном буфере с pH = 4.5 [2]. В качестве растворителя была использована уксусная кислота с концентрацией 1, 5, 15, 50 и 70 г/дл и ацетатный буфер с pH = 4.5. Вискозиметрические исследования проводили согласно стандартной

методике на вискозиметре Уббеллоде при 25 °C [3]. Разбавление исходного раствора полимера при расчете характеристической вязкости по уравнениям Хаггинса, Кремера и Иржака-Баранова проводили растворителем, а при использовании уравнения Фуосса – водой.

Результаты и их обсуждение

Хорошо известно, что связь между вязкостью полимера и его концентрацией в растворе можно представить в виде экстраполяционных формул [4]:

$$\eta_{уд} = [\eta]c + k_1[\eta]^2c^2 + k_2[\eta]^3c^3 + \dots \quad (1)$$

$$(\ln \eta_{отн}) = [\eta]c - K_1[\eta]^2c^2 - K_2[\eta]^3c^3 - \dots \quad (2)$$

здесь c – концентрация полимера в растворе (г/дл); k_1 и k_2 , K_1 и K_2 – константы, отражающие взаимодействие полимера с растворителем; $\eta_{уд}$ – удельная вязкость раствора полимера, равная: $\eta_{уд} = \eta_{отн} - 1$.

Под относительной вязкостью $\eta_{отн}$, в свою очередь, подразумевают отношение вязкости раствора полимера (η_n) к вязкости растворителя (η_0).

Частным случаем уравнения (1), является уравнение Хаггинса (3) [5], а уравнения (2) – уравнение Кремера (4) [6], основным условием применимости которых является сохранение линейной зависимости приведенной ($\eta_{уд}/c$) вязкости или $(\ln \eta_{отн})/c$ от концентрации полимера в растворе и отсутствие сильных межмолекулярных взаимодействий между звеньями макроцепи:

$$\eta_{уд}/c = [\eta] + k_1[\eta]^2c \quad (3)$$

$$(\ln \eta_{отн})/c = [\eta] + K_1[\eta]^2c, \quad (4)$$

В этом случае, путем экстраполяции на нулевую концентрацию рассчитывается значение характеристической вязкости, по которой, используя известное для данной пары полимер-растворитель уравнение Марка-Куна-Хаувинка, определяется молекулярная масса полимера.

Чтобы оценить вискозиметрически молекулярную массу в случае растворов полиэлектролитов, измерения нужно проводить в буферном растворе, компенсирующем заряд, имеющийся на макромолекуле (рис. 1, кривая 2).

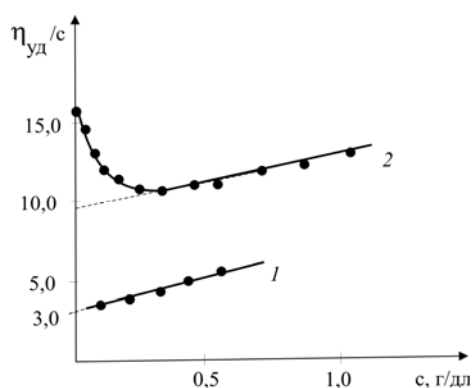


Рис. 1 - Концентрационная зависимость приведенной вязкости раствора ХТЗ в ацетатном буфере (1) и 1% уксусной кислоте (2)

Если же целью вискозиметрических исследований является не определение молекулярной массы, а оценка именно конформационного состояния полиэлектролита в изучаемом (не буферном) растворителе, то определение величины $[\eta]$ становится не однозначным.

Например, при исследовании растворов ХТЗ в уксусной кислоте, экспериментальные данные по вязкости в области разбавленных растворов не подчиняется уравнению Хаггинса (рис. 1, кривая 2).

Как видно из данных рис. 1, в области разбавленных растворов (с концентрацией ХТЗ в растворе менее 0,5 г/дл) приведенная вязкость падает с ростом концентрации полимера, в то время как, согласно уравнению (3), должен был наблюдаться рост приведенной вязкости.

Причина наблюдаемого эффекта в области разбавленных растворов – хорошо известный эффект полиэлектролитного набухания [7]. Вызван этот эффект тем, что при разбавлении раствора полиэлектролита падает концентрация противоионов, что, в свою очередь, вызывает разворачивание макроиона, вследствие отталкивания одноименно заряженных цепей. В этом случае, определение характеристической вязкости по уравнениям (3) и (4) через экстраполяцию на нулевую концентрацию, обычно используемое для нейтральных полимеров, не возможно.

В принципе, можно определить значение характеристической вязкости полиэлектролита ХТЗ, пользуясь уравнениями Хаггинса или Кремера, исследуя растворы более высокой концентрации,

которые с формальной точки зрения этим уравнениям подчиняются (растворы с концентрацией выше 0,5 г/дл).

Однако, в области полуразбавленных растворов, растворы ХТЗ являются ассоциированными [8-10], с сильно выраженным межмолекулярным взаимодействием. Следовательно, определенное в этой области концентраций значение характеристической вязкости (рис. 1, кривая 2), отражает скорее не размер отдельного макромолекулярного клубка, а размер некоторого ассоциата.

Фуоссом и Страусом [11] было обнаружено, что кривую зависимости $\eta_{уд}/с$ от $с$ можно описать уравнением следующего вида:

$$\eta_{уд}/с = [\eta]/(1+B\sqrt{с}), \quad (5)$$

где B – коэффициент, характеризующий электростатическое взаимодействие полииона с простыми ионами.

Это чисто эмпирическое уравнение справедливо вплоть до самой низкой концентрации, которой можно достигнуть, что позволяет оценить значение характеристической вязкости полиэлектролита.

Напомним, однако, что в данном случае, разбавление раствора полимера исходной концентрации производят водой, а не растворителем, как в случае определения характеристической вязкости по уравнениям (3) и (4). В том случае, когда в качестве растворителя используется сильный электролит (например, соляная кислота), то разбавление водой не изменяет степень диссоциации растворителя и не меняет ионную силу раствора. Следовательно, значение характеристической вязкости, определенное при экстраполяции на нулевую концентрацию, действительно, отражает размер клубка в растворителе исследуемой концентрации. Но, в нашем случае, в качестве растворителя применяется уксусная кислота, которая является слабой и разбавление которой сопровождается увеличением степени её диссоциации. Данный факт приводит к дополнительному протонированию макромолекул ХТЗ в растворе и вызывает дополнительное разворачивание макромолекулярного клубка. В результате, определенное по уравнению Фуосса значение характеристической вязкости (таблица 1) отражает не конформацию макромолекулы в 1% уксусной кислоте, которая была использована в качестве растворителя, а конформацию ХТЗ в растворе бесконечно разбавленной уксусной кислоты.

Более обоснованным приемом определения характеристической вязкости полиэлектролитов с целью оценки конформационного состояния клубка рассматривается прием изоионного разбавления [12]. Однако, этот метод является крайне трудоемким, поскольку требует оптимизации, направленной на избежание «недосаливания» и «пересаливания» раствора.

Таблица 1 - Значения характеристической вязкости хитозана, определенное по анализируемым в работе формулам

Используемое для расчета $[\eta]$ уравнение	Используемый растворитель	$[\eta]$, дл/г
(3)	1% уксусная кислота	-
(3)	Ацетатный буфер	3.06
(4)	1% уксусная кислота	-
(4)	Ацетатный буфер	3.00
(5)	1% уксусная кислота	11.20
(6)	1% уксусная кислота	7.79
(6)	5	7.05
(6)	15	5.52
(6)	50	5.30
(6)	70	5.01
(6)	Ацетатный буфер	3.02

Между тем, в работах [13, 14] было показано, что адекватной альтернативой методу изоонного разбавления является метод оценки текущего значения характеристической вязкости Иржака и Баранова [13]:

$$[\eta] = \partial \ln \eta_{\text{отн}} / \partial c \quad (6)$$

Используя уравнение (6) можно определить характеристическую вязкость по начальному наклону зависимости $\ln \eta_{\text{отн}}$ от c (рис. 2). В этом случае, удастся оценить $[\eta]$ полиэлектролита избежав и экстраполяцию на нулевую концентрацию (определение $[\eta]$ по уравнениям (3) и (4)), и «завышения» значений $[\eta]$, сопутствующих определению характеристической вязкости по уравнению (5).

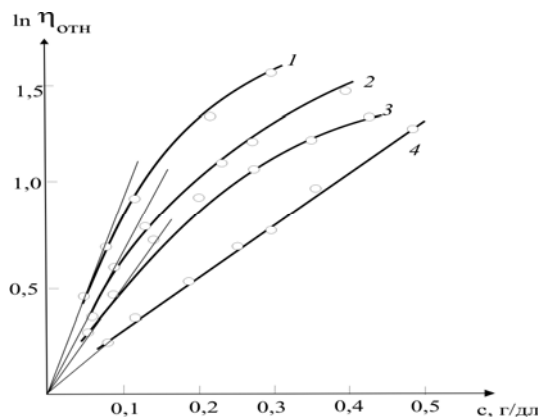


Рис. 2 - Кривая зависимости относительной вязкости от концентрации хитозана в растворе 1 (1), 15 (2), 70 (3) % уксусной кислоты и ацетатного буфера (4)

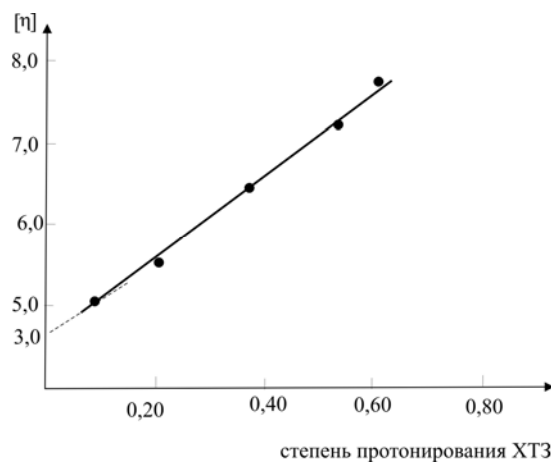


Рис. 3 - Зависимость характеристической вязкости хитозана от степени его протонирования в растворе уксусной кислоты

Пользуясь уравнением (6), были определены значения характеристической вязкости растворов ХТЗ в уксусной кислоте различной концентрации, а также ацетатном буфере (табл. 1).

Обращает на себя внимание тот факт, что значения характеристической вязкости определенные в буферном растворе по уравнениям (3) и (4) совпадают со значением, полученным по уравнению (6), что может служить подтверждением адекватности использования уравнения Иржака-Баранова для исследуемых нами систем.

Между тем, с увеличением концентрации уксусной кислоты, используемой в качестве растворителя, происходит уменьшение значения характеристической вязкости ХТЗ в растворе, свидетельствующее об уменьшении размеров, занимаемого изолированным макро клубком. Данный факт становится понятным, если учесть, что повышение концентрации уксусной кислоты сопровождается уменьшением степени ее диссоциации, что в свою очередь, приводит к уменьшению степени протонирования макромолекул ХТЗ в растворе и закономерному уменьшению размеров клубка. Более того, наблюдается четкая корреляция между значением характеристической вязкости макромолекулярного клубка в изучаемом растворителе и степенью его протонирования, определенной в работе [15, 16] (рис. 3). Важным также представляется тот факт, что при экстраполяции прямой (рис. 3) на нулевое значение степени протонирования, получаемое путем экстраполяции значение характеристической вязкости совпадает со значением $[\eta]$, определенным в ацетатном буфере.

Выводы

1. Особенности исследования растворов хитозана методом вискозиметрии вызваны тем, что при растворении приобретает свойства полиэлектролита, что приводит к некоторым сложностям при определении значений характеристической вязкости.

2. Предлагается определять значения характеристической вязкости хитозана в растворе методом Иржака и Баранова. Полученные с использованием данного метода значения характеристической вязкости хитозана в ацетатном буфере, совпадают со значениями, определенными по методу Хаггинса и Кремера в аналогичных условиях, что свидетельствует об адекватности подхода Иржака и Баранова для анализируемой нами системы.

3. Установлена корреляция между значениями характеристической вязкости хитозана в растворах уксусной кислоты и степенью его протонирования в растворе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и республики Башкортостан (грант р_поволжье_а № 11-03-97016).

Литература

- Куликов С.Н., Хайруллин Р.З. Активация лизостафина как инструмент оценки антибактериального потенциала хитозана / Вестник Казанского технологического университета. 2013. № 7. С. 155-158.
- Вихорева Г.А., Роговина С.З., Пчелко О.М., Гальбрайт Л.С. Фазовое состояние и реологические свойства системы хитозан–уксусная кислота–вода. Высокомолекулярные соединения. 2001. Т.43. №6. С.1079-1084.
- Рафиков С.Р., Будтов В.П., Монаков Ю.Б. Введение в физико-химию растворов полимеров. М.: Химия. 1978. 320с.
- Твердохлебова И.И. Конформация макромолекул (вискозиметрический метод оценки). М.: Химия. 1981. 284с.
- M.L. Huggins. The viscosity of dilute solutions of long chain molecules. Journal of the American Chemical Society. 1942. Vol. 64. P.2716-2718.
- F.O. Kraemer. Molecular Weights of Celluloses and Cellulose Derivates. Industrial & Engineering Chemistry Research. 1938. Vol.30. P.1200-1204.
- Цветков В.Н., Эскин В.Е., Френкель С.Я. Структура макромолекул в растворах. М.: Наука. 1964. 720с.
- Нудьга Л.А., Петрова В.А., Бочек А.М., Каллистов О.В., Петрова С.Ф., Петропавловский Г.А. Молекулярные и надмолекулярные превращения в растворах хитозана и аллилхитозана. Высокомолекулярные соединения. 1997. Т.39. №7. С.1232-1239.
- Гамзазаде А.Н., Скляр А.М., Павлова С.А., Рогожин С.В. О вязкостных свойствах растворов хитозана. Высокомолекулярные соединения. 1981. Т.23. №3. С.594-597.
- Кулиш Е.И., Чернова В.В., Вильданова Р.Ф., Володина В.П., Колесов С.В. Влияние предыстории формирования пленочных образцов хитозана на процесс их ферментативного разложения. Вестник Башкирского государственного университета. 2011. Т.16. №2.
- R.M. Fuoss. Viscosity function of polyelectrolytes. Journal of Polymer Science. 1948. Vol.3. P.603-604.
- Тенфорд Ч. Физическая химия полимеров. М.: Химия. 1965. 772с.
- Баранов В.Г., Бресткин Ю.В., Агранова С.А. Пинкевич В.Н. Поведение макромолекул полистирола в «загущенном» хорошем растворителе. Высокомолекулярные соединения. 1986. Т.28Б. №10. С.841-843.
- Павлов Г.М., Губарев А.С., Зайцева И.И., Сибилева М.А. К определению величины характеристической вязкости полиэлектролитов в бессолевых растворах. Журнал прикладной химии. 2007. Т.79. Вып.9. С.1423-1428.
- Кузина Л.Г., Мурзагильдина А.С., Чернова В.В., Кулиш Е.И. Влияние степени протонирования хитозана на некоторые его свойства. Вестник башкирского университета. 2012. Т.17. №2. С.902-905.
- Кулиш Е.И. Мурзагильдина А.С., Мударисова Р.Х., Кузина Л.Г., Колесов С.В. Об особенностях взаимодействия хитозана с антибиотиком гентамицином в уксусно-кислых растворах. Вестник башкирского университета. 2012. Т.17. №1. С.25-28.

© **Е. И. Кулиш** - д.х.н., проф. Башкирского госуд. ун-та; **И. Ф. Туктарова** - сотр. Башкирского госуд. ун-та; **В. В. Чернова** - сотр. Башкирского госуд. ун-та; **Х. С. Абзальдинов** – к.т.н., доц. каф. технологии пластических масс КНИТУ, ov_stoyanov@mail.ru; **Г. Е. Заиков** - д.х.н., проф. той же кафедры.