

УДК 541.64:539.199

ГИДРОДИНАМИЧЕСКИЕ И КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ ХИТОЗАНА

*Беркович Л. А., Тимофеева Г. И., Цюрупа М. П.,
Даванков В. А.*

Аномально низкие значения показателя a (0,15–0,30) и высокие значения $[\eta]$ (3,5–7,0) для разбавленных кислых растворов хитозанов с $\bar{M}_w=12-170 \cdot 10^3$ объяснены в рамках предположения о квазиглобулярной структуре макромолекул, уплотненных системой внутримолекулярных водородных связей, и о наличии межмолекулярных водородных мостиков.

Хитозан (аналогичный целлюлозе полимер глюкозамина) и продукты на его основе привлекают к себе внимание многих исследователей [1–4]. Однако лишь единичные публикации посвящены изучению свойств растворов этого полимера и его молекулярно-массовых и конформационных характеристик [1, 4]. К тому же данные этих публикаций весьма противоречивы. Вероятно, это происходит оттого, что хитозан проявляет чрезвычайно сложное поведение в растворе. Способность хитозана образовывать водородные связи различных типов вызывает ассоциацию макромолекул. Кроме того, в разбавленных кислых растворах хитозан проявляет полиэлектролитный эффект, ведущий к аномально высоким значениям характеристической вязкости [1] и молекулярной массы [2], которые резко уменьшаются при добавлении в раствор низкомолекулярного электролита.

Весьма противоречивы данные о полидисперсности хитозанов. По данным работы [2], коэффициент полидисперсности хитозана, определенный в разбавленных кислотах, $\bar{M}_w/\bar{M}_n=2$, что противоречит данным другой работы [4], из которой следует, что хитозан характеризуется узким молекулярно-массовым распределением $\bar{M}_w/\bar{M}_n=1,24$. Исследования в последнем случае проводили в системе уксусная кислота (0,3 M) — NaCl (2 M). Из той же работы [4] можно сделать вывод, что для хитозанов отсутствует зависимость характеристической вязкости от молекулярной массы: в пределах точности эксперимента молекулярные массы оказались одинаковыми для образцов с различной величиной $[\eta]$. В то же время Мазарелли [1] приводит следующие константы уравнения Марка — Куна — Хаувинка для хитозана в системе уксусная кислота (0,2 M) + NaCl (0,1 M) + мочевина (4 M): $K_n=8,93 \cdot 10^{-4}$ и $a=0,71$, т. е. имеет место значительная зависимость вязкости от молекулярной массы.

Столь противоречивые данные свидетельствуют о больших трудностях в интерпретации свойств разбавленных растворов хитозана и обусловливают необходимость новых исследований в этом направлении.

Цель данной работы — разработка надежных способов определения степени дезацетилирования хитозана, определение истинных значений молекулярной массы, характеристической вязкости и конформационных параметров хитозана в различных растворителях.

Исследовали 6 образцов хитозана, полученных методом щелочного гидролиза хитина. Тщательно очищенный по методике работы [5] хитин (полимер N-ацетил-

глюкозамина) был размолот до частиц 10–70 меш и подвергнут щелочному гидролизу в течение 25–120 мин в растворе NaOH при весовом соотношении полимер: жидккая фаза=1:50 в атмосфере аргона при интенсивном перемешивании и температуре $140\pm1^{\circ}$. Реакционную смесь доводили до этой температуры за 40–50 мин. Образцы 1, 2 (табл. 1) получали при концентрации NaOH 47,5%, образцы 3–6 при концентрации 48,3%. Содержание азота в полученных образцах хитозана в пределах точности определения совпадает с теоретическим значением (8,7% N).

Очень важная характеристика хитозана – это степень дезацетилирования, так как она характеризует степень превращения хитина в хитозан, а значит, и чистоту исследуемых образцов. Нами применялась методика определения степени дезацетилирования из кривых потенциометрического титрования растворов хитозана в 0,2 M NaCl раствором соляной кислоты (0,1 н.) с помощью автоматического титра-

Таблица 1
Молекулярно-массовые характеристики хитозана

Образец, №	Время гидролиза хитозана, мин	Степень дезацетилирования, %	[η], дЛ/г			$S_0 \cdot 10^{13}$ (в ТФК), см/с.днч	$M_w \cdot 10^{-4}$ (в ТФК)	
			ТФК	уксусная кислота (1%) + LiCl (2%)	уксусная кислота (1%) + NaCl (2,76%)		по мениску	по дну
1	25	92	7,00	6,43	6,42	5,00; 4,8 *	17,05; 16,5 *	15,0
2	60	96	5,45	5,80	6,10	3,00	6,7	6,5
3	60	90	3,95	4,95	5,27	1,38	2,6	2,7
4	90	97	3,75	4,65	4,90	1,23; 1,2 *	2,0; 2,0 *	2,1
5	105	97	3,60	4,53	4,70	1,15	1,7	1,9
6	120	100	3,40	4,15	4,55	1,00	1,25	1,6

* Измерены дополнительно в растворе уксусной кислоты (1%) + LiCl (2%).

тора «Radiometer TTT-1». Расчет степени дезацетилирования осуществляли по формуле работы [6]. Исследуемые образцы хитозана имеют $pK_a=6,6$ для аминогрупп (для глюкозамина $pK_a=7,6$).

Вязкость растворов хитозана измеряли в модифицированном вискозиметре Убеледе для пяти концентраций в интервале 0,1–0,5 г/дл при температуре $25\pm0,05^{\circ}$. Двойной графической экстраполяцией η_{sp}/c и $\ln \eta_{sp}/c$ на бесконечное разбавление (рис. 1) находили характеристическую вязкость $[\eta]$. Вязкость измеряли в следующих растворителях: уксусная кислота (1%) + LiCl (2%); уксусная кислота (1%) + NaCl (2,76%) и абсолютная трифтормексанская кислота (ТФК). В этих растворителях хитозан имеет «нормальную» концентрационную зависимость вязкости, характерную для полимеров с подавленным поликонформным эффектом (рис. 1).

Молекулярные массы образцов хитозана были рассчитаны из седиментационных данных по методу неуставновившегося равновесия [7]. Исследования проводили на ультракентрифуге 3170 (фирма «МОМ», Венгрия) в абс. ТФК при температуре ротора $25\pm0,1^{\circ}$. Скорость вращения ротора подбирали таким образом, чтобы градиентная кривая пересекалась с линией мениска под углом порядка 45° . Это условие выполняется при скорости вращения ротора 16 000–22 000 об/мин. Экстраполяцией на бесконечное разбавление величин $1/M_w^{1/2}$, найденных при четырех концентрациях в диапазоне 0,1–0,25 г/дл, находили значение M_w . Кроме того, для образцов 1 и 4 молекулярную массу измеряли дополнительно в растворе уксусной кислоты (1%) + LiCl (2%).

Коэффициенты седиментации S_c определяли из данных скоростной седиментации при скорости вращения ротора 40 000 об/мин и температуре $25\pm0,1^{\circ}$. Измерения проводили для 3–4 концентраций в абс. ТФК в диапазоне 0,1–0,25 г/дл. Графической экстраполяцией $1/S_c$ на бесконечное разбавление находили константы седиментации S_0 . Для образцов 1 и 4 измерения S_0 проводили также в растворе уксусной кислоты (1%) + LiCl (2%).

Удельный парциальный объем V и плотность растворителей ρ_0 определяли пикнометрически при температуре $25\pm0,1^{\circ}$. Для всех образцов хитозана V оказался одинаковым как в абс. ТФК, так и в системе уксусной кислоты (1%) + LiCl (2%) ($V_{cp}=0,390 \text{ см}^3/\text{г}$). Плотность абс. ТФК $\rho_0=1,482 \text{ г}/\text{см}^3$, плотность раствора уксусной кислоты (1%) + LiCl (2%) $\rho_0=1,013 \text{ г}/\text{см}^3$, вязкость абс. ТФК при 25° $\eta_0=0,558 \text{ см}^3/\text{г}$.

В табл. 1 приведены найденные характеристики шести образцов хитозана. Из таблицы видно, что степень дезацетилирования хитозана очень высока и в зависимости от времени выдержки хитина в концентрированной NaOH находится в пределах 90–100%, т. е. увеличивая время гидролиза,

можно добиться практически 100%-ной степени дезацетилирования. Кроме того, из табл. 1 следует, что увеличение времени воздействия концентрированной щелочи на хитин приводит к снижению молекулярно-массовых характеристик хитозана $[\eta]$, \bar{M}_w и S_0 . Это означает, что метод щелочного гидролиза достаточно эффективен для получения образцов хитозана с различным молекулярным весом. Примечательно, что при щелочной обработке хитина наибольшее снижение $[\eta]$ наблюдается при измерении вязкости хитозана в абс. ТФК. Работая с растворами хитозана в ТФК, необходимо учитывать возможность протекания деструктивных

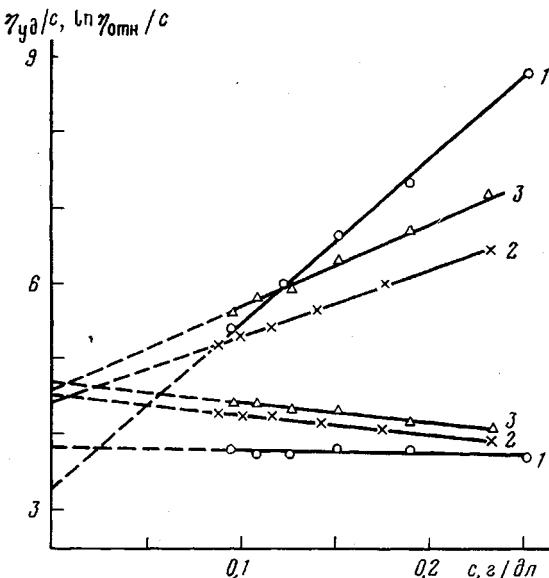


Рис. 1. Концентрационная зависимость вязкости в ацет. ТФК (1), в растворе уксусная кислота (1%) + LiCl (2%) (2) и в растворе уксусная кислота (1%) + NaCl (2,76%) (3) для образца 4 (табл. 1)

процессов, приводящих к снижению молекулярно-массовых характеристик полимера. Избежать этого процесса деструкции нам удалось тщательным абсолютированием ТФК путем сушки и перегонки над пятиокисью фосфора. При измерении вязкости в такой ацет. ТФК время истечения раствора не меняется при выдержке его в вискозиметре в течение 10 час, что свидетельствует об отсутствии гидролиза молекул хитозана в процессе измерения вязкости. Процесс измерения молекулярных масс в ультракентрифуге занимает гораздо меньший промежуток времени, поэтому есть основания полагать, что и в процессе измерения молекулярных масс в ацет. ТФК гидролиз полимера не идет. Действительно, об отсутствии гидролиза свидетельствуют результаты параллельных измерений молекулярных масс и констант седиментации двух образцов в ацет. ТФК и в растворе уксусной кислоты (1%) + LiCl (2%): расчет S_0 и \bar{M}_w по мениску (по дну в растворе уксусной кислоты — LiCl считать трудно вследствие нелинейности базальной линии) в этих двух растворителях привел к практически одинаковым значениям (табл. 1).

Несмотря на значительное снижение $[\eta]$ в ряду образцов 1—6 абсолютные значения вязкости остаются весьма высокими, примерно на порядок выше, чем для обычных алифатических или циклоцепных полимеров в том же диапазоне молекулярных масс. Это может быть связано либо с высокой термодинамической жесткостью хитозановой цепи, либо с

ассоциацией молекул, которой должна способствовать большая склонность хитозана к образованию водородных связей различных типов.

Для полимеров, склонных к образованию водородных связей, вопрос о термодинамическом качестве растворителей теряет свой смысл, и речь в этом случае может идти лишь о различной способности растворителей участвовать в образовании водородных связей с полимером и тем самым снижать вероятность образования внутрицепных и межцепных водородных связей. Из сравнения $[\eta]$ в разных растворителях (табл. 1) следует, что наиболее сильным в этом отношении растворителем является абс. ТФК, $[\eta]$ в ней минимальна (кроме образца 1). Более низкие значения

Рис. 2. Зависимость характеристической вязкости от концентрации LiCl в разбавленной уксусной кислоте для образца 4

Рис. 3. Концентрационная зависимость кажущейся молекулярной массы хитозанов (номера прямых соответствуют номерам образцов в табл. 1); I — в абс. ТФК, II — в растворе уксусная кислота (1%) + LiCl (2%)

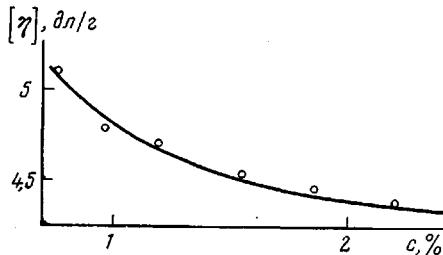


Рис. 2

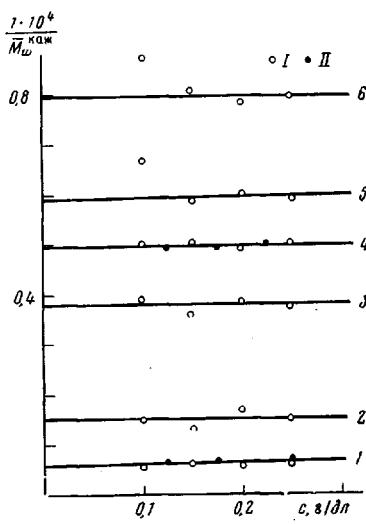


Рис. 3

$[\eta]$ раствора хитозана в системе уксусная кислота (1%) + LiCl (2%) по сравнению с раствором, содержащим эквимольное количество NaCl и, следовательно, имеющим такую же ионную силу, позволяет предположить, что высокая вязкость растворов хитозана в разбавленных кислотах объясняется кроме полиэлектролитного эффекта еще и водородными связями между молекулами полимера, поскольку радиус иона лития (0,69 Å) значительно меньше радиуса иона натрия (0,98 Å) и ион лития более эффективно вытесняет протон из участия в водородных связях. О наличии водородного связывания макромолекул хитозана в лабильные ассоциаты свидетельствует, на наш взгляд, и изменение $[\eta]$ в растворе уксусная кислота (1%) с увеличением концентрации LiCl (рис. 2). После подавления полиэлектролитного эффекта добавлением 1,5% LiCl (о чем можно было судить по появлению «нормальной» концентрационной зависимости вязкости) $[\eta]$ продолжала уменьшаться с увеличением концентрации соли, причем по мере насыщения раствора солью скорость падения $[\eta]$ замедляется. К сожалению, увеличение концентрации LiCl в смеси свыше 2,2% невозможно вследствие насыщения, поэтому нет уверенности в том, что приведенные в табл. 1 значения $[\eta]$ отвечают ее предельным значениям. Скорее всего в исследованных системах кратковременное образование межмолекулярных водородных связей еще не подавлено, чем и могут быть обусловлены высокие значения вязкостей растворов хитозана.

Ответ на вопрос об образовании стабильных ассоциатов дают измерения молекулярных масс полимера. Если в использованных нами растворителях молекулы хитозана находятся в ассоциированном состоянии и

различия в $[\eta]$ для одного и того же образца отвечают различной степени ассоциации, то молекулярные массы, измеренные в растворе уксусная кислота (1%) + LiCl (2%), должны быть больше по величине, чем измеренные в ТФК. Однако, как видно из данных табл. 1, значения \bar{M}_w , полученные в обоих растворителях, практически совпадают.

Вследствие того что в центробежном поле концентрация макромолекул у дна кюветы повышается, а у мениска снижается, то рассчитанная по дну в методе неустановившегося равновесия величина \bar{M}_w должна быть при наличии ассоциации гораздо больше, чем рассчитанная по мениску. Из табл. 1 видно, что обе молекулярные массы совпадают в разумных пределах.

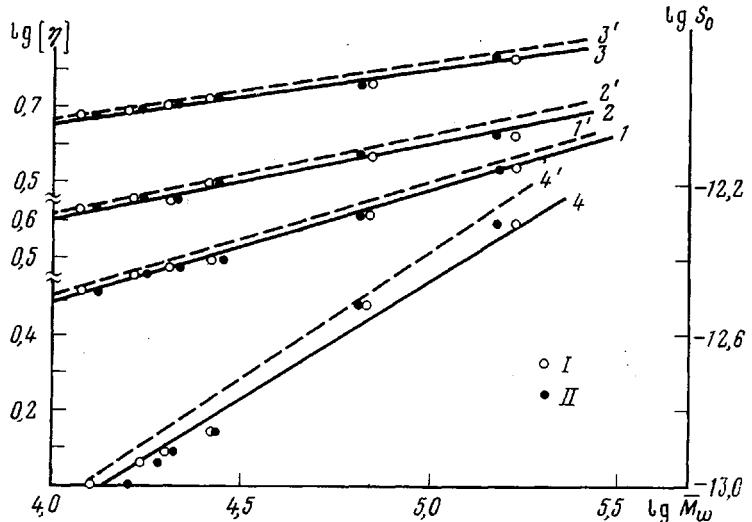


Рис. 4. Зависимость $[\eta]$ и S_0 от молекулярной массы хитозанов:

1—3 — вязкости измерены в ТФК, в растворе уксусная кислота (1%) + LiCl (2%), уксусная кислота (1%) + NaCl (2,76%) соответственно; 4 — S_0 в ТФК; 1'—4' — молекулярные массы образцов рассчитаны с поправкой на полидисперсность, согласно работе [8]; молекулярные массы рассчитаны по мениску (I) и дну (II)

Еще одним самостоятельным доказательством отсутствия ассоциации макромолекул в использованных нами растворителях является практическое отсутствие концентрационной зависимости молекулярных масс (рис. 3). Для ассоциированных макромолекул следовало бы ожидать резкое снижение молекулярных масс с разбавлением. Очевидно, в изученных нами системах макромолекулы хитозана ведут себя как самостоятельные, кинетически независимые частицы.

Приведенные выше данные в совокупности позволяют считать, что значения $[\eta]$, S_0 и \bar{M}_w , приведенные в табл. 1, истинны, т. е. отвечают неассоциированным молекулам хитозана. Это в свою очередь делает правомочным построение зависимости между этими величинами (рис. 4). Найденные параметры уравнения Марка — Куна — Хаувинка приведены в табл. 2. Так как мы не располагаем в настоящее время достаточно узкими фракциями хитозана, то при построении зависимостей $[\eta] = KM^a$ и $S_0 = KM^{1-b}$ мы ввели поправку на полидисперсность образцов согласно работе [8]. При этом мы ориентировались на имеющееся в литературе максимальное значение коэффициента полидисперсности $\bar{M}_w/\bar{M}_n = 2$ [3], которое нам кажется вполне реальным результатом статистической деструкции макромолекул, протекающей при щелочном выделении хитозана.

Обращают на себя внимание аномально низкие значения a во всех использованных нами растворителях и высокое значение $(1-b)$ в ТФК, которые обычно характерны для сильно разветвленных полимеров.

Щелочной гидролиз, выбранный нами как метод получения хитозана из хитина, может приводить к деструкции основной цепи макромолекулы, но не к образованию центров ветвления. Против предположения о разветвленности макромолекул свидетельствуют также высокие значения $[\eta]$ во всех использованных растворителях и уменьшение величины a с увеличением $[\eta]$ при переходе от ТФК к раствору уксусной кислоты (1%) + NaCl (2,76%). Низкие значения величин a могут быть объяснены тем, что макромолекулы хитозана находятся в растворе в виде уплотненных внутримолекулярными водородными связями глобул, плотность которых выше плотности непроницаемого гауссова клубка. Для нативных глобулярных белков, например, $[\eta]$ практически не зависит от молеку-

Таблица 2
Параметры уравнения Марка – Куна – Хаувинка и конформационные параметры хитозана

Растворитель	$K_{\eta} \cdot 10^2$	a	$K_S \cdot 10^{15}$	$(1-b)$ θ	$(h^2/M)^{1/2}$, Å	A , Å
Абс. ТФК	20,0	0,296	0,138	0,685	1,72; 1,82 *	90; 100 *
Уксусная кислота (1%) + + LiCl (2%)	72,8	0,186	—	—	1,69	86
Уксусная кислота (1%) + + NaCl (2,76%)	111,5	0,147	—	—	1,62	80

* Рассчитано из данных по седиментации.

лярной массы. По-видимому, высокая вероятность образования внутримолекулярных водородных связей в молекуле хитозана, являющаяся следствием высокой концентрации гидроксильных и аминных групп, обуславливает жестко свернутые, приближающиеся к глобулярным, конформации макромолекул. Такая форма макромолекулы и ее жесткость не благоприятствуют образованию стабильных ассоциатов.

В то же время неизбежное, хотя и кратковременное, образование межмолекулярных водородных связей должно приводить к высоким значениям вязкости растворов, так как в условиях градиента сдвига макромолекулы перемещаются друг относительно друга и возникающие между ними водородные связи затрудняют это перемещение, повышают общее трение в системе. В противоположность этому в центробежном поле центрифуги все макромолекулы перемещаются единым фронтом и вращательное движение глобул отсутствует. Межглобулярные водородные связи здесь не могут повлиять ни на скорость седиментации макромолекул, ни на распределение их в центробежном поле. В данных условиях на результаты измерения могли бы повлиять только стабильные ассоциаты, образованные слиянием нескольких макромолекул в единый клубок или глобулу.

В рамках данных представлений становится понятным и тот факт, что при переходе от абс. ТФК к раствору уксусной кислоты (1%) + NaCl (2,76%) наблюдается снижение величин a и увеличение характеристической вязкости полимеров. Очевидно, в этом ряду растворителей падает способность разрушать водородные связи и, следовательно, возрастают как плотность глобул макромолекул, так и вероятность межмолекулярных взаимодействий.

Естественно, что размеры уплотненного клубка хитозана должны быть намного меньше, чем для гауссовых клубков или тем более для персистентных цепей. Вообще, для случая, когда $a < 0,5$, выбор модели для аппроксимации поведения макромолекулярного клубка в растворе затруднен. Мы сделали попытку оценить величину статистического сегмента для хитозана по гидродинамическим свойствам, но графические построения в рамках модели гауссова непроницаемого клубка [9] и гауссова

полупроницаемого клубка [10] дают аномальные зависимости. И только построение с использованием модели гауссова клубка, образованного цепью конечной длины [11, 12] (рис. 5), дало положительный наклон, из которого и были рассчитаны величины статистического сегмента (табл. 2).

Повторяющаяся структурная единица макромолекулы хитозана приведена на рис. 6, химическое строение ее близко к строению элементарного

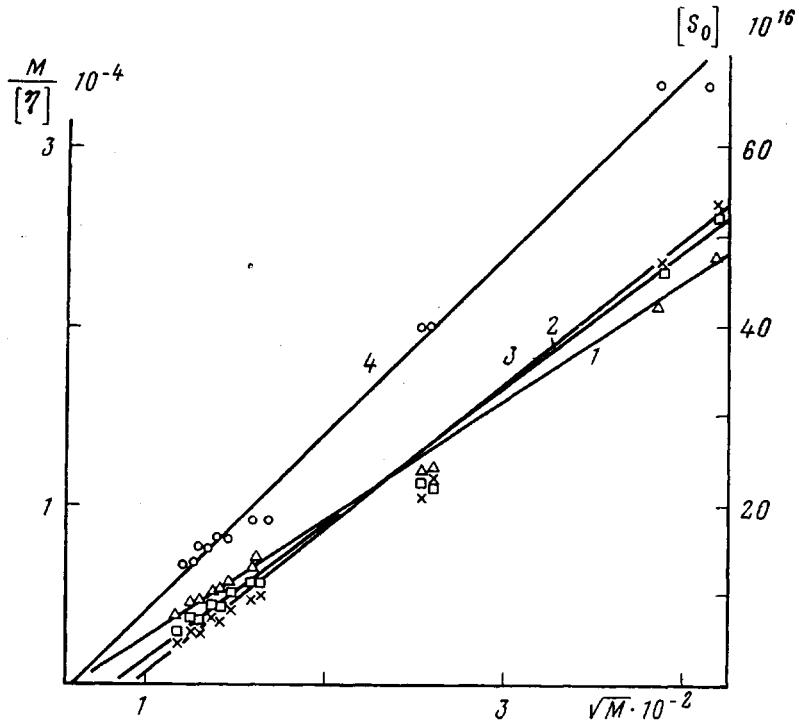


Рис. 5. Расчет конформационных параметров хитозанов по модели гауссова клубка, образованного цепью конечной длины [11, 12]: 1–3 – из данных по вязкости в ТФК; в растворе уксусная кислота (1%) + LiCl (2%) и уксусная кислота (1%) + NaCl (2,76%) соответственно; 4 – из данных по седиментации в ТФК

звена целлюлозы. Поэтому для расчетов контурной длины звена l_0 мы взяли величину связей и углов звена макромолекулы целлюлозы [13]. Контурная длина l_0 одного звена хитозана, т. е. проекция длин связей на ось цепи, равна 5,33 Å. Молекулярная масса звена $M_0=161$ (при условии 100%-ного дезацетилирования). Полученные величины среднеквадратичного расстояния между концами цепи и сегмента Куна приведены в табл. 2. Как видно из таблицы, величины сегмента Куна находятся в пределах 80–100 Å, несколько понижаясь при переходе от ТФК к системе уксусная кислота+NaCl, что согласуется с представлениями об уплотнении глобул хитозана в данном ряду растворителей. Следует отметить, что сегмент Куна для производных целлюлозы лежит в пределах 200–300 Å, что существенно выше найденных для хитозана величин. Надо иметь, однако, в виду, что литературные данные относятся к производным целлюлозы, например трикарбонилату целлюлозы [13], а любые заместители в звене полимера в большей или меньшей степени повышают барьер вращения звеньев и, кроме того, создают стерические препятствия для образования водородных связей. Поэтому в отличие от хитозана, макромолекулы про-

изводных целлюлозы не склонны к свертыванию в плотные глобулы (для них $a > 0,5$, сегмент Куна увеличен).

Таким образом, проведенное исследование свойств разбавленных растворов хитозана в различных растворителях подтвердило большую сложность интерпретации гидродинамических свойств этого полимера. Можно считать доказанным, что в использованных растворителях молекулы хитозана находятся в неассоциированном состоянии. Низкие зна-

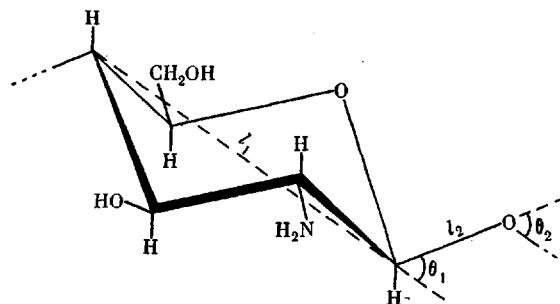


Рис. 6. Строение повторяющейся структурной единицы хитозана: $l_1=2,97 \text{ \AA}$, $l_2=1,40 \text{ \AA}$; $\theta_1=73,8^\circ$, $\theta_2=60^\circ$

чения показателя степени a в уравнении Марка — Куна — Хаувинка, по-видимому, связаны с конформацией уплотненного (за счет внутримолекулярных водородных связей) клубка, а высокие значения вязкости — с кратковременным образованием водородных связей между жесткими клубками макромолекул.

Институт элементоорганических соединений АН СССР

Поступила в редакцию
17 VII 1979

ЛИТЕРАТУРА

1. R. A. A. Muzzarelli, Pergamon Press Ltd, New — York, 1977, p. 62.
2. P. J. Van Duin, J. J. Hermans, J. Polymer Sci., 36, 295, 1959.
3. A. C. M. Wu, W. A. Bough, J. Chromatography, 128, 87, 1976.
4. И. А. Стрелина, Л. А. Нудьга, Е. А. Плиско, С. Я. Любина, Тезисы докладов 19 научной конференции ИВС АН СССР «Химия и физика высокомолекулярных соединений», Ленинград, 1979, стр. 92.
5. Л. А. Нудьга, Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Ж. общей химии, 41, 2555, 1971.
6. T. Sannan, K. Kurita, Y. Iwakura, Makromolec. Chem., 177, 3589, 1976.
7. W. J. Archibald, J. Appl. Phys., 18, 362, 1947.
8. С. Я. Френкель, Введение в статистическую теорию полимеризации, «Наука», 1965.
9. W. H. Stockmayer, M. Fixman, J. Polymer Sci., C 4, 137, 1963.
10. J. G. Kirkwood, J. Riseman, J. Chem. Phys., 23, 1545, 1955.
11. J. Hearst, J. Chem. Phys., 38, 1062, 1963.
12. J. Hearst, W. Stockmayer, J. Chem. Phys., 37, 1425, 1962.
13. V. P. Shanbhag, Arkiv för Kemi, 29, 1, 1968.

HYDRODYNAMIC AND CONFORMATIONAL PARAMETERS OF CHITOSANE

Berkovich L. A., Timofeyeva G. I., Tsyrurpa M. P., Davankov V. A.

Summary

The anomalous low values of the index α (0,15—0,30) and the high values of $[\eta]$ (3,5—7,0) for dilute acid chitosane solutions with $M_w=12-170 \cdot 10^3$ have been explained within the frameworks of the assumption about a quasiglobular structure of macromolecules densified by the system of intramolecular hydrogen bonds and about the presence of intermolecular hydrogen bridges.