

УДК 541.64:539.26:547.995

РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЛЕНОК ХИТОЗАНА

*Генин Я. В., Скляр А. М., Цванкин Д. Я.,
Гамзазаде А. И., Рогожин С. В., Павлова С. С. А.*

Изучена структура пленок хитозана из растворов в дихлоруксусной и в уксусной кислотах. Пленки в «солевой» форме неориентированы. «Солевая» пленка, полученная из дихлоруксусной кислоты, обладает структурой хитинового типа, а полученная из уксусной кислоты имеет структуру хитозанового типа. Пленки в «щелочной» форме обладают плоскостной ориентацией и структурой хитозанового типа. Оси макромолекул располагаются равновероятно по всем направлениям в плоскости пленок. «Щелочные» пленки, полученные из 2%-ных растворов в 0,22 M дихлоруксусной кислоте, имеют наилучшую ориентацию, наиболее высокую кристалличность и наибольшую прочность. По своей структуре они аналогичны хитозановым слоям, полученным при обработке щелочью природных ориентированных слоев хитина панциря.

В последнее время растет число работ, посвященных структуре хитина и хитозана [1–5]. Это связано с расширением областей применения этих природных биополимеров, в частности с целью получения из них пленок, мембран и волокон с ионообменными свойствами [6]. Основной особенностью структуры этих полимеров является большое разнообразие структурных модификаций, которые образуются в зависимости от условий их обработки и получения. Обнаружено также много комплексов хитина и хитозана с различными низкомолекулярными веществами [1–5].

Как по химическому строению, так и по структурным характеристикам хитин и хитозан весьма близки к целлюлозе. В частности, почти точно совпадают периоды идентичности вдоль оси макромолекулы для всех трех вышеуказанных полимеров. Более подробно изучена структура хитина [2–4]. Наиболее часто встречается α -модификация хитина [2], реже – β -модификация [3, 4], которая лишь незначительно отличается от α -модификации по размерам элементарной ячейки и по расположению макромолекул.

Структурные исследования хитозана были проведены еще в 30-х годах Кларком и Смитом [5], которые изучили волокна и пленки хитозана, выделенные из природных хитиновых слоев обработкой концентрированными растворами NaOH. Были получены рентгенограммы хитозана с различной ориентацией и на их основе определено расположение макромолекул и элементарная ячейка хитозана: $a=8,9$; $b=17,0$; $c=10,25$ Å. Ось макромолекулы совпадает с осью c [5]. Эту структуру хитозана назовем модификация I.

Недавно в работе [1] с помощью комплекса структурных методов подробно изучена кристаллическая и надмолекулярная структура пленок хитозана с различной степенью деацетилирования. Пленки хитозана получены в основном из растворов в муравьиной кислоте с последующим высаджением в 2%-ные растворы NaOH или NH₄OH. При исследовании изотропных и частично ориентированных пленок в работе [1] было обнаружено существование двух структурных модификаций хитозана с различными элементарными ячейками: $a=7,76$; $b=10,91$; $c=10,3$ Å (модификация II) и $a=4,4$; $b=10,5$; $c=10,3$ Å (модификация III). При этом отмечалось, что модификация III определяется менее уверенно, чем модификация II и весьма близка к структуре хитина [1]. Обе структуры явно отличаются от структурной модификации I, найденной Кларком и Смитом [5].

К ст. Волынского А. Л. и др.

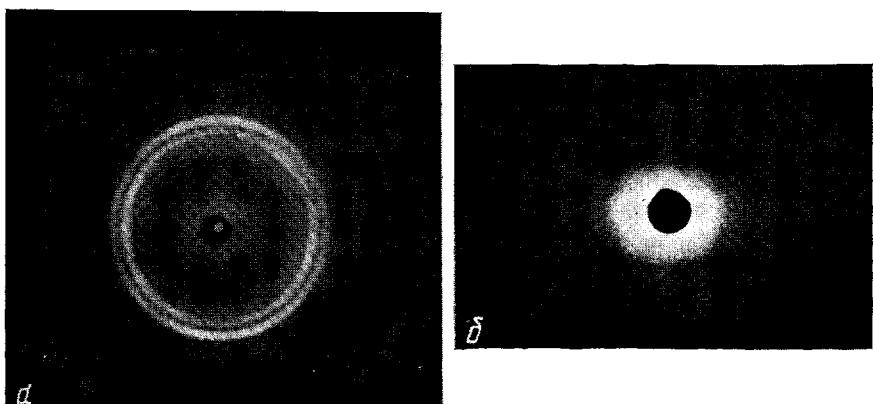


Рис. 6. Рентгенограммы, полученные в больших (а) и малых углах (б) образца композиции ПЭВП – ПММА (степень предварительного растяжения в мономере 300%), подвергнутого отжигу при 150° в течение 1 ч

К ст. Генина Я. В. и др., к стр. 2411

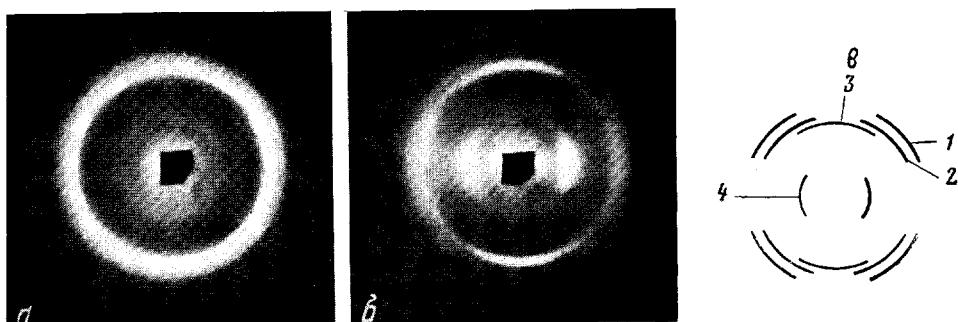


Рис. 5. Рентгенограммы пленок хитозана в щелочной форме из ДХУ: а – первичный пучок перпендикулярен плоскости пленки, б – параллелен. в – схема рентгенограммы рис. 5, б ($d=3,55$ (1); 4,00 (2); 4,50 (3) и 8,5 Å (4))

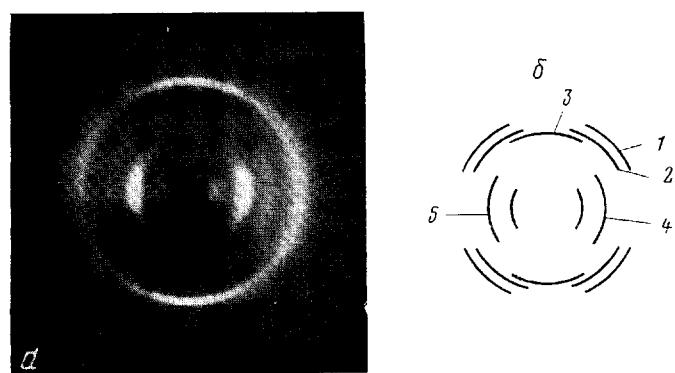


Рис. 7. Рентгенограмма пленки хитозана в щелочной форме из УК (а) и схема рентгенограммы (б). а – первичный пучок параллелен плоскости пленки, б – $d=3,55$ (1); 4,00 (2); 4,50 (3), 5,7 (4) и 8,5 Å (5)

Во всех трех обнаруженных до сих пор кристаллических модификациях хитозана, так же как и у хитина, один и тот же период идентичности вдоль оси макромолекулы, равный 10,3 Å. Поэтому конформации макромолекул хитозана во всех модификациях должны быть примерно одинаковыми. В то же время различные значения параметров a и b в рассматриваемых модификациях означают различную взаимную упаковку цепей в кристаллитах. К настоящему времени для найденных трех модификаций хитозана определены только элементарные ячейки. Полного структурного анализа с использованием интенсивностей рефлексов нет, поэтому точные конформации макромолекул в кристаллитах остаются пока неизвестными.

В нашей работе проведено рентгенографическое исследование ряда пленок хитозана, полученных из растворов полимера в уксусной кислоте (УК) и дихлоруксусной кислоте (ДХУК).

Хитин выделяли из панциря антарктического криля *Euphausia Superba* Dana. Хитозан получали по методике [7]. Пленки готовили методом полива из растворов на тефлоновую подложку. В качестве растворителя использовали 2%-ный водный раствор CH_3COOH и водный раствор CHCl_2COOH различной концентрации (0,08–0,67 моль/л). Пленки получали в двух формах: в случае «солевой» формы пленку, сформированную непосредственно из растворов хитозана в соответствующих растворителях, в последующем сушили в вакууме; в случае «щелочной» формы – «солевую» пленку перед сушкой помешали в 10%-ный водный раствор NaOH на 8 ч, затем тщательно промывали водой и сушили внатянутом состоянии на воздухе, а затем в вакууме.

Все рентгеновские исследования проводили на медном излучении с никелевым фильтром. Для каждого образца были получены как рентгенограммы, так и дифрактограммы. Для ряда образцов были сняты малоугловые рентгенограммы, однако никаких рентгеновских рефлексов в области малых углов не обнаружено.

Хитин и исходный хитозан. Дифрактограмма использованного в работе хитина приведена на рис. 1. Структура хитина почти не изменяется в процессе его выделения из панциря, когда он находится в комплексе с белком или карбонатом кальция – основными со существующими ему компонентами наружного скелета ракообразных. В результате очистки на рентгенограммах хитина лишь несколько увеличивается интенсивность отдельных максимумов и повышается степень кристалличности. Кривые термогравиметрического анализа хитина (рис. 2) также свидетельствуют о постоянстве его структуры в процессе очистки. Величины d отдельных рефлексов, а также основных максимумов примерно соответствуют структуре α -хитина [2]. В частности, у α -хитина в отличие от β -хитина имеются рефлексы в области $d=6,8–7,0$ Å. Это свидетельствует в пользу того, что использованный комплекс обладает структурой α -модификации.

На дифрактограмме исходного порошкообразного хитозана имеется всего два весьма широких максимума – $d_1=8,2$, $d_2=4,5$ Å, отмеченных на рис. 3. Такого рода дифрактограмма с небольшим количеством широких рефлексов характерна для малоупорядоченной структуры с небольшой степенью кристалличности. Максимум в области $d \sim 4,4–4,7$ Å встречается на дифрактограммах практических всех модификаций хитозана и хитина и по нему трудно судить, к какой именно модификации относится структура данного образца. В области меньших углов и больших величин d у хитина встречаются рефлексы только в диапазоне $d \approx 9,2–9,6$ Å [2–4]. У хитозана модификации I максимальное значение $d=8,5$ Å [5], в модификации II $d=10,9$ и 7,76 Å, в модификации III, которая весьма близка к структуре хитина [1], $d=10,0$ Å. Следовательно, в структурах хитинового типа (включая и модификацию III хитозана) максимальные величины d составляют 9,2–10,0 Å. В структурах хитозана наиболее характерные рефлексы имеют $d=8,5$ и 7,8 Å. Поэтому рефлексы в области $d \sim 8,0–11,0$ Å могут быть более уверенно использованы для разделения структур I и II хитозана. Судя по двум максимумам на дифрактограмме исходного порошка хитозана (рис. 3), его структура ближе всего к модификации I хитозана [5], для которой характерен рефлекс с $d=8,5$ Å. Степень кристалличности исходного порошка хитозана не превышает 20–30%.

Пленка хитозана из ДХУК. Пленки, полученные из 2%-ных растворов полимера в 0,22 M ДХУК, обладали толщиной 100 мкм. Пленки в солевой

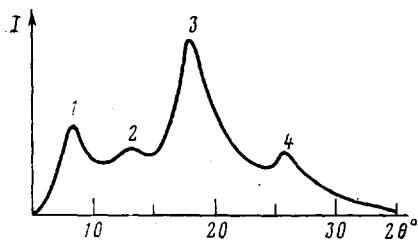


Рис. 1

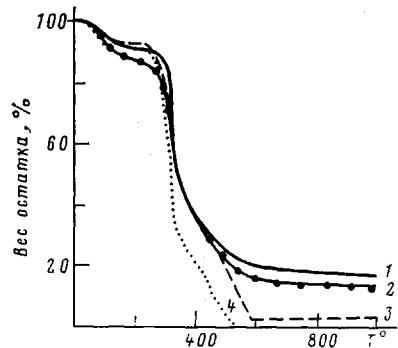


Рис. 2

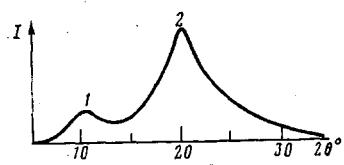


Рис. 3

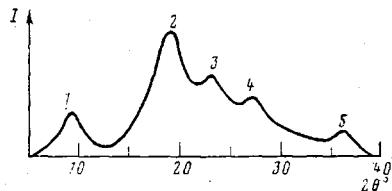


Рис. 4

Рис. 1. Дирактограмма исходного хитина. $d=9,6$ (1); $6,8$ (2); $4,57$ (3) и $3,39 \text{ \AA}$ (4)

Рис. 2. Термогравиметрический анализ (в динамическом режиме, скорость нагревания 5 град/мин) различных хитиносодержащих образцов: 1 — панцирь без белка, 2 — панцирь с золой и белком, 3 — панцирь без золы, 4 — хитин

Рис. 3. Дирактограмма исходного хитозана $d=8,0-8,3$ (1) и $4,4-4,5 \text{ \AA}$ (2)

Рис. 4. Дирактограмма пленки хитозана в солевой форме из ДХУК. $d=9,8$ (1); $4,6$ (2); $3,87$ (3); $3,30$ (4) и $2,49 \text{ \AA}$ (5)

форме имели небольшую ориентацию, так что при съемках пленок в двух положениях, когда первичный пучок рентгеновых лучей параллелен и перпендикулярен плоскости пленки, полученные рентгенограммы почти не отличались друг от друга. Основные рефлексы отмечены на дифрактограмме, снятой с поверхности образца (рис. 4), однако весь набор рефлексов с этой дифрактограммы близок рефлексам исходного хитина и примерно соответствует его α -модификации [2]. Возможно также, что присутствует и модификация III хитозана [1]. На дифрактограмме рис. 4 в области больших d имеется рефлекс $\sim 9,8 \text{ \AA}$, который характерен, как отмечалось выше, именно для структур хитинового типа. Очевидно, что при растворении порошка хитозана и получении пленок из ДХУК происходит структурный переход. Для подтверждения этого достаточно сравнить дифрактограммы на рис. 3 и 4, которые резко отличаются друг от друга. Своевобразие этого структурного перехода состоит в том, что из макромолекул хитозана образуется структура, характерная для хитина.

Рассмотрим теперь структуру пленок из ДХУК после обработки щелочью. На рис. 5, а, б приведены две рентгенограммы от щелочных пленок, снятые с первичными пучками рентгеновых лучей, направленными параллельно и перпендикулярно поверхности пленки. Как видно из приведенных рентгенограмм щелочные пленки в отличие от солевых обладают высокой степенью ориентации. Величины d основных рефлексов приведены на схемах рентгенограмм на рис. 5, в, г. При обработке щелочью и при переходе от солевых пленок к щелочным вновь происходит явный структурный переход, что хорошо видно при сравнении величин d на рис. 5 и дифрактограммы на рис. 4. Величины d , полученные от щелочных пленок, не плохо согласуются с величинами, характерными для исходного порошка хитозана (рис. 3). Один из наиболее сильных рефлексов $d=8,5 \text{ \AA}$, появив-

шихся после щелочной обработки, характерен для структур хитозанового типа (рис. 5, а, б и рис. 7 см. вкл. к стр. 2377).

Как отмечалось выше, солевые пленки, полученные непосредственно из ДХУК, обладают структурой хитинового типа. Следовательно, при обработке щелочью происходит переход от структуры хитинового типа, которая характерна для солевых пленок, к структуре, характерной для хитозана, которой обладают щелочные пленки. Подтверждение для такого заключения получено при сравнении рентгенограмм, приведенных на рис. 5, с фотографиями рентгенограмм из работы Кларка и Смита [5]. Оказалось, что рентгенограммы одного из образцов хитозана (рентгенограммы 23 и 24 из работы [5]) почти полностью аналогичны полученным нами рентгенограммам на рис. 5, б. Насколько можно судить по фотографиям, приведенным в работе [5], характер текстуры и степень ориентации одинаковы в обоих случаях. Совпадают и величины d рефлексов. Пленки хитозана в работе [5] (рентгенограммы 23 и 24) были получены непосредственно щелочной обработкой хитиновых панцирных слоев. Кларк и Смит отмечают [5], что исходные панцирные хитиновые слои обладали небольшой ориентацией. После обработки щелочью и образования хитозановых слоев ориентация резко улучшилась. В нашем случае солевые пленки из ДХУК имеют также слабо выраженную ориентацию и структуру хитинового типа. После щелочной обработки из них получаются высокоориентированные образцы со структурой хитозана. Таким образом, по целому ряду структурных признаков наблюдается аналогия между солевыми и щелочными пленками из ДХУК, а также между природными образцами слоев хитина и полученным из них хитозаном. Такая аналогия подтверждает предположение о том, что в солевых пленках из ДХУК образуется структура типа хитина, которая после обработки щелочью переходит в хитозановую структуру.

Щелочные пленки из ДХУК, так же как и хитозановые слои [5], обладают структурой типа модификации I хитозана. Ось текстуры является ось b элементарной ячейки или направление [010]. Она перпендикулярна поверхности пленки. Оси макромолекул направлены вдоль оси c ячейки и располагаются по всем направлениям в плоскости пленки. Степень ориентации макромолекул в солевых пленках ДХУК невелика. В щелочных пленках ДХУК наблюдается высокая степень ориентации и число макромолекул, оси которых выходят из плоскости пленки, относительно невелико. Кристалличность щелочных пленок со структурой хитозана достигает 50–60%.

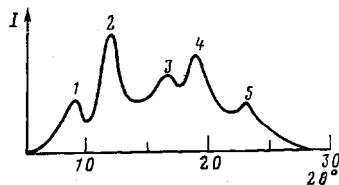
Пленки, полученные из растворов другой концентрации в 0,08 M ДХУК, обладают примерно теми же структурными характеристиками, что и пленки из растворов в 0,22 M ДХУК, которые описаны выше. В пленках, полученных из растворов в 0,67 M ДХУК, структура хитозана также не меняется, однако степень ориентации макромолекул меньше, чем у пленок из растворов в 0,22 M ДХУК. Отличаются также и механические свойства пленок. Так, пленки из 0,22 M ДХУК в солевой и щелочной формах имеют прочность 60 и 160 МПа соответственно. Для пленок из 0,67 M ДХУК значения прочности составляют 40 и 110 МПа. Различие в величинах прочности пленок связано в основном с разной степенью ориентации макромолекул. Наилучшей степенью ориентации, высокой кристалличностью и наибольшей прочностью обладают пленки в щелочной форме из 0,22 или 0,08 M раствора ДХУК.

Пленки хитозана из УК. Пленки из УК являются более прозрачными, они обладают небольшой степенью ориентации. Дифрактограмма этих пленок, в солевой форме содержащая все наиболее заметные рефлексы, приведена на рис. 6. Сравнение с рис. 3 и 4 показывает, что дифрактограммы солевых пленок из УК отличаются от всех приведенных выше дифрактограмм. В частности, структура солевых пленок из УК в общем не похожа на структуру хитинового типа, которой обладают солевые пленки из ДХУК. Все рефлексы на рис. 6, кроме первого максимума $d = 9,8 \text{ \AA}$, отмечены в работе [1] как принадлежащие к модификации II хитозана. Рефлекс $9,8 \text{ \AA}$ принадлежит структуре хитинового типа. Возмож-

но, что в данном случае имеется смесь структур. Основная часть структуры – это модификация II хитозана и небольшая часть – структура хитинового типа, такая же как в солевых пленках из ДХУК.

В результате щелочной обработки, так же как и в предыдущем случае, структура пленок из УК полностью изменяется. Как видно из схемы рентгенограммы щелочных пленок УК на рис. 7, все имевшиеся ранее рефлексы на дифрактограммах пленок из УК в результате щелочной обработки исчезли. Рентгенограммы щелочных пленок из УК почти полностью аналогичны рентгенограммам щелочных пленок ДХУК. На рис. 7 (по срав-

Рис. 6. Дифрактограмма пленки хитозана в солевой форме из УК. $d = 9,8$ (1); 7,37 (2); 5,4 (3); 4,7 (4) и 3,87 Å (5)



нению с рис. 4) имеется лишь один дополнительный рефлекс $d=5,7$ Å; вероятно, это рефлекс типа (030), его появление может быть связано с небольшим изменением поворота макромолекул относительно осей элементарной ячейки. Следовательно, щелочные пленки из УК также обладают структурой хитозановой модификации I. При обработке щелочью солевых пленок из УК также происходит структурный переход, но не от структуры хитинового типа к структуре хитозана, как это было в случае пленок из ДХУК, а между двумя модификациями структуры хитозана. Характер ориентации в щелочных пленках из УК тот же, что и в щелочных пленках ДХУК. Ось текстуры является ось [010], направленная перпендикулярно поверхности пленки. В то же время степень совершенства текстуры у щелочных пленок из УК меньше, чем у щелочных пленок из ДХУК. Так же как и в щелочных пленках из ДХУК, среднее положение осей макромолекул совпадает с плоскостью пленки, однако в отличие от ДХУК в щелочных пленках из УК значительное количество осей макромолекул выходит из этой плоскости. Степень кристалличности в щелочных пленках из УК также меньше, чем в щелочных пленках из ДХУК, и составляет $\sim 30\%$. Прочность пленок, полученных из 2%-ного раствора в УК, составляет для солевой и щелочной форм 50 и 100 МПа соответственно.

Помимо рентгенограмм пленок из ДХУК и УК были получены рентгенограммы пленок изmonoхлоруксусной и трихлоруксусной кислот. Эти пленки обладали низкой степенью ориентации и малой кристалличностью и поэтому характер кристаллической структуры в этих пленках определить пока не удалось.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что пленки из растворов хитозана в дихлоруксусной и уксусной кислотах в солевой форме являются практически неориентированными и обладают различными структурами. В солевой пленке из ДХУК образуется структура хитинового типа. В солевой пленке из уксусной кислоты имеется структура хитозана модификации II. Пленки в щелочной форме из растворов полимеров в обеих кислотах обладают одинаковой структурой хитозана модификации I. При этом пленки в щелочной форме ориентированы таким образом, что оси макромолекул располагаются в основном в плоскости пленок. Наиболее высокой степенью ориентации и степенью кристалличности обладают пленки в щелочной форме из дихлоруксусной кислоты. Эти пленки по своей структуре аналогичны хитозановым образцам, полученным при обработке щелочью природных ориентированных слоев хитина панциря. Пленки с более высокой ориентацией имеют большую прочность. Результаты исследований показывают, что при изменении природы растворителя и условий получения пленок хитозана можно целенаправленно изменять их структуру и свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Samuels R. J. J. Polymer Sci. Polymer Phys. Ed., 1981, v. 19, № 7, p. 1081.
2. Minke R., Blackwell J. J. Molec. Biol., 1978, v. 120, № 2, p. 167.
3. Gardner K. H., Blackwell J. Biopolymers, 1975, v. 14, № 8, p. 1581.
4. Blackwell J. Biopolymers, 1969, v. 7, № 3, p. 281.
5. Clark G. L., Smith A. F. J. Phys. Chem., 1936, v. 40, № 7, p. 863.
6. Muzzarelli R. A. A. Chitin. L.: Pergamon Press, 1977, p. 309.
7. Нудьга А. А., Плиско Е. А., Данилов С. Н. Ж. общ. химии, 1971, т. 41, № 11, с. 2555.

Институт элементоорганической
химии им. А. Н. Несмеянова АН СССР

Поступила в редакцию
13.VI.1983

X-RAY STUDY OF CHITOZANE FILMS

*Genin Ya. V., Sklyar A. M., Tsvankin D. Ya., Gamzazade A. I.,
Rogozhin S. V., Pavlova S.-S. A.*

Summary

The structure of chitozane films obtained from solutions in dichloracetic and acetic acids has been studied. The films in the «salt» form are obtained immediately from solutions, the films in «alkali» form are obtained by their treatment with NaOH. The films in the «salt» form are not oriented. The «salt» film obtained from dichloracetic acid has the structure of chitine type, while the «salt» film obtained from acetic acid has the structure of chitozane type. The films in «alkali» form has the plane orientation and structure of chitozane type. Disposition of axes of macromolecules in any direction in the films plane has the equal probability. The «alkali» films obtained from 2% solutions in 0.22 M dichloracetic acid have the best orientation, the highest crystallinity and the highest strength. Their structure is analogous to chitozane layers obtained after treatment of natural oriented layers of shell chitine by alkali.