

УДК 541.64.532(135+77)

## ИССЛЕДОВАНИЯ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ФУКОИДАНОВ

© 2000 г. Ю. А. Щипунов\*, О. Г. Муханева\*, Т. Н. Звягинцева\*\*,  
И. Б. Попивнич\*\*, Н. М. Шевченко\*\*

\*Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук  
690022 Владивосток, пр. 100-летия Владивостоку, 159

\*\*Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточного отделения Российской академии наук  
690022 Владивосток, пр. 100-летия Владивостоку, 159

Поступила в редакцию 26.01.99 г.  
Принята в печать 25.05.99 г.

Проведено изучение реологических свойств растворов природных фукоиданов бурых водорослей, собранных в разных районах Дальневосточного побережья Тихого океана. Широкий набор веществ позволил проследить за изменением свойств растворов полисахаридов в зависимости от их углеводного состава и степени сульфатирования. Исследование проводили с использованием трех различных систем: водных растворов, растворов на основе смесей воды с глицерином и диолами, а также смесей фукоиданов с альбумином. Растворение полисахаридов в воде вызывает значительное повышение вязкости, но гель не образуется вплоть до концентрации 25 мас. %. Фукоиданы с большими ММ и степенью сульфатирования образуют более вязкие растворы. Добавление глицерина и диолов приводит к существенному росту вязкости, а в случае высокомолекулярного фукоидана и к золь-гель-переходу, индуцируемого глицерином и 1,4-бутандиолом. Этот эффект объясняется ухудшением качества растворителя и сшивкой соседних молекул полисахарида водородными связями. Обнаружено, что фукоиданы формируют комплексы с альбумином, что регулируется электростатическими взаимодействиями между заряженными группами обеих молекул. Предполагается, что сорбированные молекулы фукоидана вызывают развертывание глобулы белка вследствие электростатических отталкиваний, что обусловливает рост вязкости растворов.

### ВВЕДЕНИЕ

Природные полисахариды широко применяют в различных областях, включая фармакологию, пищевую промышленность и косметику. В большинстве случаев их вводят как добавки, определяющие текстуру и механические свойства материалов, а также регулирующие их реологические характеристики [1–3]. Такое применение объясняется способностью полисахаридов формировать в водных растворах сеточные структуры, составляющие основу гелей. Поэтому изучению их гелеобразующих свойств уделяется большое внимание.

Фукоиданы наряду с ламинаранами и альгиновой кислотой относятся к основным полисахаридам бурых водорослей, суммарное содержание которых варьируется от 20 до 50% в расчете на сухое вещество. Их выделяют в отдельную группу, поскольку они образованы преимущественно

из остатков L-фукозы. Последние соединены друг с другом  $\alpha$ -1,2-и(или) $\alpha$ -1,3-гликозидными связями [4, 5]. Кроме того, фукоиданы содержат сульфогруппы. Сульфатированные полисахариды в последнее время привлекают повышенное внимание из-за высокой физиологической и антимикробной активности. В частности, они являются эффективными иммуностимуляторами и антикоагулянтами, обладают противоопухолевым и антивирусным действием, включая воздействие на вирусы иммунодефицита человека, гепатита и герпеса [6–9].

Выделению из природных объектов и изучению фукоиданов посвящено значительное количество работ. Тем не менее основное внимание прежде всего обращается на биологическую активность полисахаридов [8, 10–12]. Поэтому достаточно ясных представлений об их структуре до настоящего времени не сформировалось.

Насколько нам известно, отсутствуют также публикации, в которых бы рассматривались физико-химические свойства растворов фукоиданов. В ходе выделения полисахаридов мы наблюдали значительное повышение вязкости растворов, но соответствующих измерений проведено не было.

В настоящей работе исследованы реологические свойства растворов фукоиданов бурых водорослей, собранных в разных районах Дальневосточного побережья Тихого океана. Состав полисахаридов (соотношение в молекуле остатков сахаров и степени сульфатирования) варьируется в зависимости от источника выделения. Широкий круг образцов позволяет рассмотреть взаимосвязь между составом природных фукоиданов и их свойствами. Работа является начальной в серии публикаций, поэтому в ней дается общая характеристика реологический свойств растворов природных фукоиданов. Основное внимание уделяется гелеобразованию в водных растворах и влиянию на него различных факторов. В частности, подробно рассмотрены смеси фукоиданов с глицерином и рядом диолов, поскольку в них обнаружен золь-гель-переход. Кроме того, на примере сывороточного бычьего альбумина изучены взаимодействия с глобулярными белками.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Глицерин, этиленгликоль и 1,4-бутандиол имели квалификацию х.ч. 1,3-Пропандиол получен от фирмы "Merck". Все органические растворители осушали над предварительно прокаленным сульфатом натрия. Фукоза, манноза, галлактоза, ксилоза, рибоза, арабиноза и глюкоза были предоставлены фирмой "Merck". Декстраны, бычий сывороточный альбумин (БСА) и цетавлон (цетилтриметиламмоний бромистый) были предоставлены фирмой "Sigma". Соляная кислота имела квалификацию х.ч. Дистиллированную воду готовили стандартным методом.

Водорастворимые фукоиданы выделяли из двух видов бурых водорослей *Laminaria cichorioides* и *Fucus evanescens*. *L. cichorioides* собирали на морской станции Тихоокеанского института био-органической химии Дальневосточного отделения РАН в бухте Троица залива Посып в августе 1997 г. *F. evanescens* заготавливали на острове Итуруп по время экспедиций научно-исследовательского судна "Академик Опарин" в августе 1996 и 1997 гг. Выделение фукоиданов проводили по методу [12]. Свежезаготовленные или замороженные водоросли вначале последовательно обрабатывали этиловым спиртом, ацетоном и хлороформом. Полисахариды экстрагировали из по-

лученного обезжиренного порошка 0.4%-ной соляной кислотой при 20–25°C (холодная экстракция) и затем при 60–70°C (горячая экстракция). После отделения ламинарансодержащих фракций с помощью гидрофобной хроматографии, фукоиданы из супернатанта осаждали 80%-ным этиловым спиртом. В ряде случаев для осаждения индивидуальных полисахаридов из общей фракции использовали 0.5 М раствор цетавлона. Последующее выделение фукоиданов из комплекса с цетавлоном проводили в 4 М растворе NaCl, как описано в работе [11]. Все полученные в работе фукоиданы описаны в таблице.

Полисахариды определяли фенол-сернокислым методом [13]. ИК-спектры снимали на спектрометре "Specord IR-75" ("Carl Zeiss", Jena) для чего фукоидан прессовали в таблетки с бромидом калия. Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  образцов в D<sub>2</sub>O получали на спектрометре НХ-90Е ("Bruker"). Внутренним стандартом служил метанол ( $\delta = 50.1$ ).

Для определения моносахаридного состава фукоиданы гидролизовали 4 М соляной кислотой при 100°C в течение 2 ч. Анализ продуктов кислотного гидролиза проводили методом жидкостной хроматографии высокого разрешения с использованием углеводного анализатора "Biotronik" (Durrum-x4-20; колонка 0.63 × 30 см; 60°C; бицинхонатный метод; интегрирующая система Shimadzu C-R2 AX). В качестве внутреннего стандарта использовали фукозу, маннозу, галлактозу, ксилозу, рибозу, глюкозу и арабинозу. ММ фукоиданов определены хроматографией на колонках Sephadex G-50 (1 × 100 см, H<sub>2</sub>O, 15 мл/ч) и Sefarose CL-4B (1 × 100 см, H<sub>2</sub>O, 15 мл/ч). Маркерами служили декстраны с M-10, 20, 40, 80 и 500.

Растворы для реологических измерений готовили на дистиллированной воде. При изучении смесей с гликолями или глицерином их смешивали с водой в мольной пропорции 1 : 1. Навески рассчитанных количеств полисахаридов растворяли при перемешивании магнитной мешалкой и небольшом нагревании (не более 40°C), затем оставляли при комнатной температуре для установления равновесия. Измерения проводили не ранее следующего дня.

Реологические измерения осуществляли с помощью реометра Rotovisco RT20 фирмы Haake (Германия) в режиме малоамплитудных колебаний при контролируемом усилии сдвига. Частоту варьировали от 0.001 до 10 Гц. Измерительный блок имел геометрию конус-плоскость. Использовали ячейки двух видов. Для маловязких смесей применяли ячейку с двойным зазором, в которой угол конуса составлял 1°, а диаметр – 60 мм. Вяз-

## Характеристики фукоиданов, выделенных из морских водорослей

Место сбора	Источник	Обозначение*	<i>M</i>	Количество сульфогрупп, приходящихся на остаток фукоиданов	Содержание индивидуальных сахаров, %
Бухта Троица, Японское море	<i>Laminaria cichoriooides</i>	<i>Lf-1T</i>	20–28	1.8	Fuc 77, Glc 5.6, Man 9, Xyl 8
		<i>Lf-2T</i>	25–28	1.7	Fuc 77, Glc 3, Rha 8, Gal 4, Man 2, Xyl 6
		<i>Lf-2T-Ц</i>	22–35	1.1	Fuc 74.1, Gal 16.8, Xyl 1.8, Glc 7.1
Бухта Кратерная, Охотское море	<i>Fucus evanescens</i>	<i>Ff-1K</i>	20–39	1.2	Fuc 47, Glc 16.2, Gal 18.1, Xyl 13.2, Rha 1.5, Rib 4.4
		<i>Ff-2K</i>	32–40	1.0	Fuc 43.5, Glc 23.9, Xyl 13.0, Rha 6.5, Rib 6.5, Gal 6.5
Остров Итуруп, Охотское море	<i>Fucus evanescens</i>	<i>Ff-2И</i>	200–500	0.8	Fuc 88.8, Gal 0.5, Xyl 10.7

\* Буквы *L* и *F* указывают на источник (*Laminaria c.* или *Fucus e.*); *f* – фукоидан; *T* – бухта Троица, *K* – бухта Кратерная, *И* – остров Итуруп, цифры 1 и 2 обозначают фракции, выделенные холодной и горячей экстракцией соответственно, *Ц* – с применением цетавлона.

коупругие смеси помещали в ячейку с конусом 2° и диаметром 35 мм. Температуру 25°C во время измерений поддерживали термостатом с точностью ±0.05°C.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Растворение фукоиданов в воде приводит к заметному повышению вязкости. Измерение частотных зависимостей модуля упругости показало, что водные растворы полисахаридов представляют собой вязкоупругие жидкости. Для примера на рис. 1 представлены комплексная вязкость  $|\eta^*|$ , модули накопления  $G'$  и потерь  $G''$  в зависимости от частоты для образца *Ff-2И*. Экспериментальные данные, показанные точками, удовлетворительно описываются формулами [14]

$$G'(\omega) = G_0 \omega^2 \tau^2 / (1 + \omega^2 \tau^2) \quad (1)$$

$$G''(\omega) = G_0 \omega \tau / (1 + \omega^2 \tau^2) \quad (2)$$

$$|\eta^*| = (G'^2 + G''^2)^{1/2} / \omega, \quad (3)$$

где  $\omega$  – круговая частота гармонических колебаний,  $\tau$  – максимальное время релаксации,  $G_0$  – предельное значение модуля упругости при больших частотах. Результаты расчетов по формулам (1)–(3) показаны на рис. 1 штриховыми линиями. Как видно, реологические свойства исследованной системы удовлетворяют модели Максвелла.

Рост вязкости растворов наблюдается при высокой концентрации полисахаридов. Иллюстрацией служит рис. 2, на котором представлена зависи-

мость стационарной вязкости  $\eta_0$  от концентрации *Ff-1K*. До концентрации 5 мас. % происходит лишь небольшое возрастание  $\eta_0$ . В этой области увеличение вязкости пропорционально объемной доле вещества в согласии с уравнением Эйнштейна

$$\eta = \eta_s (1 + 2.5\phi) \quad (4)$$

( $\eta_s$  – вязкость растворителя). Концентрация, равная ~5 мас. %, отвечает порогу перекрывания, при котором начинаются взаимодействия между молекулами полисахарида в растворе. Это обнаруживается по резкому возрастанию  $\eta_0$ .

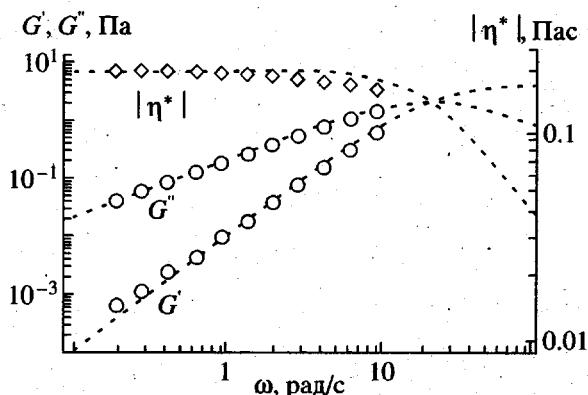


Рис. 1. Зависимости комплексной вязкости, модуля накопления и модуля потерь от частоты для 20%-ного раствора фукоидана *Ff-2И* в логарифмических координатах. Точки – экспериментальные данные, штриховые кривые – зависимости, рассчитанные по формулам (1)–(3). При расчетах было принято  $G_0 = 4$  Па,  $\tau = 0.05$  с.

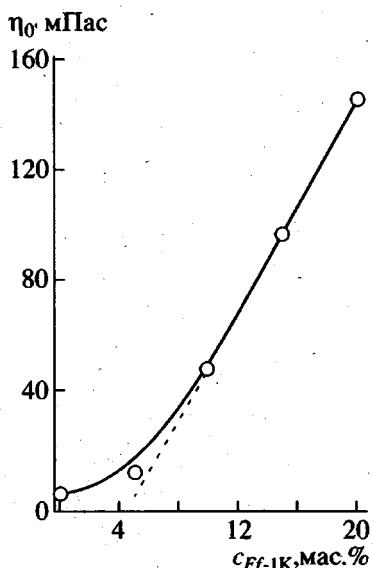


Рис. 2. Зависимость стационарной вязкости водных растворов от концентрации фукоидана Ff-1К.

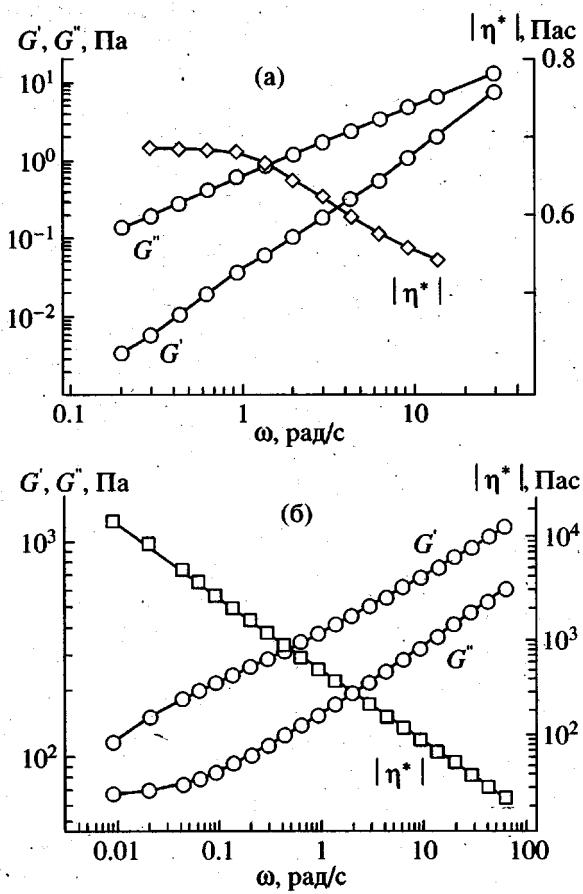


Рис. 3. Зависимости (в логарифмических координатах) реологических параметров от частоты для 7% (а) и 15%-ных (б) растворов фукоидана Ff-2И в смеси воды с глицерином, взятых в мольной пропорции 1 : 1.

Следует отметить, что характер зависимостей, представленных на рис. 1, не меняется при увеличении содержания фукоиданов в растворе вплоть до 25 мас. %, хотя наблюдали существенные различия реологических параметров исследованных образцов. На это указывают приведенные ниже данные.

Образец	Ff-1К	Ff-2К	Ff-2И
Вязкость, мПас	47.6	9	106

Видно, что различия в  $\eta_0$  могут достигать десятичного порядка по величине.

Неизменность характера частотных зависимостей компонент модуля упругости растворов различных концентраций свидетельствует о схожей природе межмолекулярных взаимодействий и отсутствии золь-гель-перехода в водных растворах изучаемых полисахаридов. Значительное воздействие на свойства смесей обнаружилось при добавлении в воду глицерина. Результаты измерений, проведенные с двумя растворами, содержащими 7 и 15 мас. % фукоидана Ff-2И, представлены на рис. 3а и 3б соответственно. Из сопоставления частотных зависимостей комплексной вязкости, модулей накопления и потерь видно, что с увеличением концентрации Ff-2И происходит резкий рост указанных величин, и, что более важно, изменение характера реологического поведения растворов. Это изменение отчетливо выявляется на рис. 4, на котором показан модуль накоплений для систем с различным содержанием Ff-2И. Видно, что с повышением концентрации наклон прямых уменьшается. Это характерно для систем, испытывающих золь-гель-переход [1, 2, 15, 16]. Действительно, с ростом концентрации фукоидана раствор (5 мас. %, рис. 3а) переходит в гелеобразное состояние (15 мас. %), характеризуемое более высокими значениями модуля упругости по сравнению с модулем потерь (рис. 3б). Этот переход сопровождается резким увеличением мутности. При высоких концентрациях в растворе могут появиться хлопьевидные частицы, при хранении он расслаивается на две фазы.

Следует отметить, что в ряду исследованных полисахаридов глицерин вызывает изменение реологического поведения только растворов Ff-2И. Для других фукоиданов столь значительного роста вязкости и модулей, как и золь-гель-перехода, не наблюдалось. Тем не менее в рассматриваемом случае индивидуальная природа полисахарида накладывает отпечаток на реологические свойства смесей. Это видно из сопоставления значений ста-

ционарной вязкости 3%-ных глицериновых растворов различных фукоиданов.

Образец	<i>Ff-1K</i>	<i>Ff-2K</i>	<i>Lf-1T</i>	<i>Lf-2T</i>	<i>Lf-2T-Ц</i>	<i>Ff-2И</i>
Вязкость, мПас	12.5	16	21	25	62	230

Обнаружение значительного воздействия глицерина на гелеобразование в растворах фукоида *Ff-2И* поставило вопрос о роли гидроксилсодержащих веществ в этом процессе. С этой целью было изучено влияние добавок различных диолов: этиленгликоля, 1,3-пропандиола и 1,4-бутандиола на реологические свойства растворов. Для количественного сопоставления готовили смеси с водой, в которых мольная пропорция была такой же, как в смеси вода—глицерин, т.е. 1 : 1. Все добавляемые к раствору диолы вызывали рост вязкости растворов полисахарида, но в различной степени. Результаты сопоставления стационарной вязкости 5%-ных растворов фукоида *Ff-2И* представлены ниже.

Добавка	Глицерин	1,3-Пропандиол	Этиленгликоль	Вода
Вязкость, мПас	208	76	83	37

Видно, что этиленгликоль и 1,3-пропандиол оказывают приблизительно одинаковое воздействие, которое по величине существенно меньше повышения  $\eta_0$ , вызываемого введением глицерина. Однако введение 1,4-бутандиола в тех же условиях приводило к золь-гель-переходу. Реологические характеристики смесей с 1,3-пропандиолом и 1,4-бутандиолом сопоставлены на рис. 5. Отметим, что приведены данные для 10%-ного раствора. Как видно, даже повышение концентрации полисахарида в смеси с 1,3-пропандиолом не приводит к золь-гель-переходу. Из сопоставления с раствором, содержащим 1,4-бутандиол, видна значительная разница как в реологических параметрах, так и в характере наблюдаемых зависимостей. По воздействию на вязкость растворов полиолы можно расположить в следующий ряд: 1,3-пропандиол  $\approx$  этиленгликоль < глицерин  $\ll$  1,4-бутандиол.

Для изучения взаимодействий фукоиданов с белками использовали бычий сывороточный альбумин. Последний растворяли в воде без нагревания, чтобы не вызвать его денатурации. Добавление БСА приводило к росту вязкости растворов, но оно не было значительным. Для исследований были взяты 15% растворы. Добавление фукоиданов, как показано на примере *Ff-1K* на рис. 6, увеличивает стационарную вязкость. Следует отметить, что вязкость смесей значительно выше, чем растворов каждого из веществ в отдельности. Однако с ростом концентрации полисахарида пере-

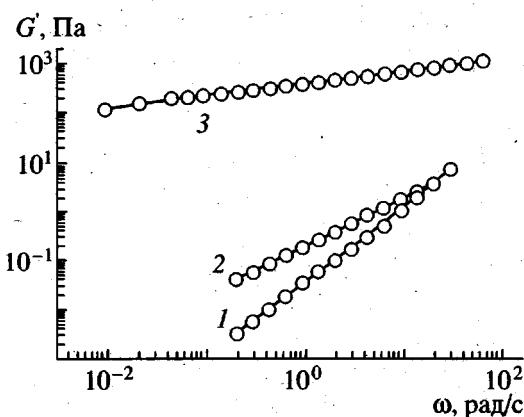


Рис. 4. Зависимости модуля упругости от частоты для 5% (1), 7% (2) и 15%-ных (3) водно-глицериновых растворов фукоида *Ff-2И* в логарифмических координатах.

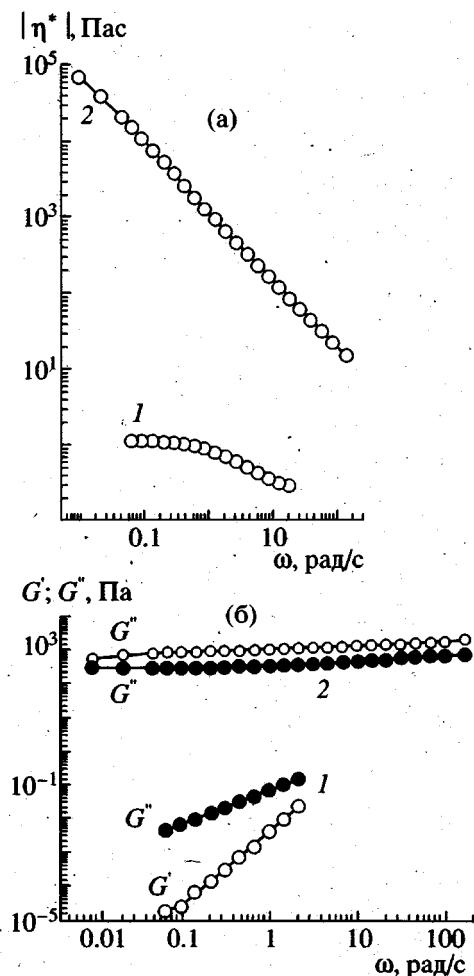


Рис. 5. Зависимости (в логарифмических координатах) комплексной вязкости (а) и компонент комплексного модуля упругости (б) от частоты для 10%-ного раствора фукоида *Ff-2И* в смеси воды с 1,3-пропандиолом (1) и 5%-ного раствора в смеси воды с 1,4-бутандиолом (2). Диолы с водой смешаны в мольной пропорции 1 : 1.

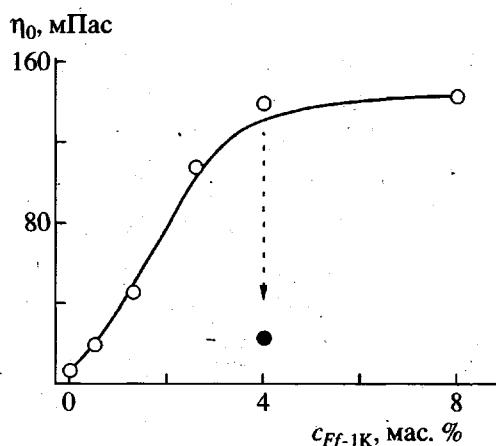


Рис. 6. Стационарная вязкость водных растворов, содержащих 15% БСА, в зависимости от концентрации Ff-1K. Стрелкой показано уменьшение  $\eta_0$  при добавлении 0.1 М хлорида калия.

ход золь-гель не происходит. Кривая зависимости вязкости от концентрации выходит на насыщение. Величина эффекта регулируется ионной силой водного раствора. Стрелкой на рис. 6 показано, как снижается вязкость в 0.1 М растворе хлорида калия. Значения стационарной вязкости смесей трех разных фукоиданов с БСА приведены ниже.

Образец	Ff-1K	Ff-2K	Ff-2И
Вязкость, мПас	140	10.5	86

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выше представлены результаты исследования трех различных, но взаимосвязанных друг с другом систем. Одна из них – это водные растворы фукоиданов, другая – смеси воды с диолами и глицерином, и третья – смеси полисахаридов с БСА.

### Водные растворы фукоиданов

Растворение изученных фукоиданов в воде не вызывало гелеобразования вплоть до концентраций 25 мас. %, хотя вязкость растворов значительно возрастала (рис. 1 и 2). Реологическое поведение этих растворов описывается в рамках модели Максвелла (рис. 1). При достижении некоторой критической концентрации, отвечающей порогу перекрывания макромолекулярных клубков, в объеме растворов формируется трехмерная сеть молекул полисахарида [14, 17]. Характер межмолекулярных взаимодействий определяется природой фукоиданов. Для них, по всей видимости, важное значение имеет наличие сульфогрупп, диссоциирующих в водных растворах. Это позво-

ляет отнести рассматриваемые полисахариды к полиэлектролитам. Поведение последних в значительной степени определяется электростатическими взаимодействиями [14, 18]. Отсутствие гелеобразования в водных растворах фукоиданов позволяет предположить, что именно отталкивание между заряженными сульфогруппами препятствует формированию более плотной упаковки молекул и прочной гелевой сетки.

Сопоставление различных фукоиданов подтверждает высказанное предположение о зависимости реологических свойств растворов от присутствия сульфогрупп в их молекулах. В частности, при переходе от Ff-1K к Ff-2K наблюдали почти пятикратное уменьшение стационарной вязкости. Количество сульфогрупп, приходящихся на остаток сахара, при этом уменьшается с двух до одной (таблица). Однако вязкость раствора фукоидана Ff-2И выше, чем раствора Ff-1K, хотя в последнем на остаток сахара приходится только 0.8 сульфогрупп. Возможная причина указанного различия может объясняться больше ММ последнего. Не исключено, что на способность фукоиданов к гелеобразованию также влияет расположение сульфогрупп в молекулах. Предварительные исследования показали, что в ИК-спектрах максимум поглощения полос, относящихся к  $\text{SO}_4^{2-}$ , для полисахаридов из *L. cichorioides* находится при  $840 \text{ cm}^{-1}$ , а для полисахаридов из *F. evanescens* – при  $820 \text{ cm}^{-1}$ . Это свидетельствует о преимущественном расположении сульфогрупп в фукозе соответственно при C-4 и C-2.

### Смеси воды с диолами и глицерином

Существенное изменение реологических свойств растворов при добавлении диолов и глицерина представляет несомненный интерес. Достаточно указать, что 1,4-бутандиол и глицерин вызывали гелеобразование (золь-гель-переход), которое отсутствовало в водных растворах.

Примечательным также является факт гелеобразования в случае только одного фукоидана Ff-2И. Если сравнить молекулярный состав (таблица) исследованных полисахаридов, то видно, что Ff-2И отличается более высоким содержанием фукозы и меньшей степенью сульфатирования. Кроме того, ММ данного полисахарида приблизительно на порядок больше ММ других фукоиданов. Значение отмеченных факторов можно проследить по приводившимся выше экспериментальным данным. Действительно, наименьшее значение стационарной вязкости наблюдали в случае Ff-1K, который содержит только 32% фукозы, а степень сульфатирования (две сульфогруппы на остаток фукозы) которого мак-

симальна в ряду исследованных полисахаридов. При переходе от Ff-1K к Ff-2И содержание фукозы возрастает, тогда как количество сульфогрупп в молекулах фукоиданов уменьшается. При этом наблюдается постепенный рост вязкости. Действительная причина отмеченного соответствия требует дальнейшего изучения.

Роль диолов и глицерина в гелеобразовании Ff-2И может быть двойкой. С одной стороны, их добавление к водным растворам может ухудшать качество растворителя. Например, этанол используется при осаждении фукоиданов из растворов [12]. Его диэлектрическая постоянная равна 24.55 [19]. Диоды и глицерин, видимо, обладают более мягким действием из-за более высокой полярности их молекул. Так, для глицерина  $\epsilon = 42.5$ , для этиленгликоля  $\epsilon = 37.7$ , для 1,3-пропандиола  $\epsilon = 35.0$  и для 1,4-бутандиола  $\epsilon = 30.16$  (данные взяты из работ [19, 20]). Золь-гель-переход в смесях воды с этиленгликolem и 1,3-пропандиолом отсутствует. В то же время гелеобразование наблюдается при добавлении 1,4-бутандиола. Он приводит к более значительному понижению диэлектрической постоянной смесей и, видимо, к большему ухудшению качества растворителя в сравнении с этиленгликolem и 1,3-пропандиолом. Это должно способствовать более плотной упаковке молекул полисахарида. Свидетельством сказанному может служить резкое увеличение мутности и расслоение концентрированных растворов Ff-2И, полученных при смешении воды с 1,4-бутандиолом.

Тем не менее, не все результаты удается объяснить, исходя только из оценки качества растворителя. Например, этиленгликоль и 1,3-пропандиол имеют меньшие диэлектрические постоянные (37 и 35), чем глицерин ( $\epsilon = 42.5$ ), но только последний вызывает золь-гель-переход. Какое-то значение имеет наличие третьей гидроксильной группы в молекуле глицерина. Во внимание, по нашему мнению, следует принять склонность полиолов к формированию водородных связей [19], которые они могут образовывать с соответствующими группами фукоиданов. Если при этом различные гидроксильные группы одной молекулы одновременно окажутся связанными с функциональными группами, находящимися по соседству молекул полисахарида, то фактически произойдет их сшивка, что должно привести к образованию сетчатой структуры, в которой глицерин и диолы участвуют в роли "сшивающих" агентов. Такое действие может служить альтернативным объяснением золь-гель-перехода.

### Взаимодействия с альбумином

Белок в водных растворах находится в глобулярном состоянии. Изоэлектрическая точка для него соответствует pH 4.7 [21]. При более высоких pH, при которых проводили эксперименты в настоящей работе (pH 5.6–5.8), на поверхности глобул находится больше положительно, чем отрицательно заряженных групп. Это, судя по результатам наших исследований, обусловливает связывание фукоиданов.

Достаточно подробно изучено взаимодействие альбумина с анионными ПАВ [22, 23]. Их введение в водный раствор белка приводит к сорбции на поверхности глобул. Когда положительные заряды альбумина оказываются скомпенсированными сорбированными анионами, дальнейшая сорбция ПАВ способствует появлению избыточных отрицательных зарядов. Электростатическое отталкивание между ними вызывает развертывание белковой молекулы, и в результате вязкость растворов возрастает [22, 23].

Аналогичная картина, по всей видимости, имеет место и в случае фукоиданов. Это предположение подтверждается двумя фактами: один из них – резкое снижение стационарной вязкости, вызываемое добавлением хлорида калия (рис. 6), другой – зависимость  $\eta_0$  от степени сульфатирования полисахаридов. Соответствующие результаты приводились выше. Видно, что при замене Ff-1K на Ff-2K, когда число сульфогрупп, приходящихся на остаток фукозы, уменьшается с двух до одной,  $\eta_0$  снижается более, чем в 10 раз. Ff-2И выпадает из этого ряда, но данный полисахарид отличается большей ММ и иным составом (таблица).

Связывание фукоиданов продуктами гидролиза альбумина было описано в работе [24]. Расщепление белка проводили пепсином, что должно было моделировать процессы в пищеварительном тракте. Формирование белково-полисахаридных комплексов подавляло антикоагулянтную активность фукоиданов, что свидетельствует о важной роли комплексообразования с белками в регулировании их биологической активности.

Выход кривой на насыщение с ростом концентрации полисахарида на рис. 6 указывает на достижение предельной сорбции на глобулах альбумина. Фукоиданы в отличие от ПАВ представляют собой полиэлектролиты, в молекулах которых содержится не одна, а несколько заряженных групп. Поэтому, если группы одной части молекулы взаимодействуют с зарядами на поверхности глобулы, то другие ее части остаются в растворе, создавая таким образом окружение вокруг белка из цепей

полисахарида с отрицательно заряженными группами. Последние препятствуют дальнейшей сорбции фукоидана из-за электростатических отталкиваний. Другими словами, в рассматриваемой системе можно ожидать формирования белково-полисахаридных комплексов, внутреннее ядро которых составлено из молекулы альбумина, а наружная оболочка – из молекул фукоидана.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Природные фукоиданы в зависимости от особенностей их состава демонстрируют разнообразные реологические свойства в растворах. Увеличение концентрации любых полисахаридов в растворе приводит к существенному повышению вязкости, а в случае высокомолекулярного производного обнаружен золь-гель-переход, индуцируемый добавками глицерина или 1,4-бутандиола. Действие последних объясняется, с одной стороны, ухудшением качества растворителя, а с другой стороны, спивкой соседних молекул полисахарида водородными связями. На реологические свойства фукоиданов заметное влияние оказывают сульфогруппы, находящиеся в их молекулах. Эти группы вызывают внутри- и межмолекулярные электростатические отталкивания, которые обусловливают рост вязкости водных растворов. Существенная роль сульфогрупп установлена во взаимодействиях фукоиданов с альбумином. Для таких смесей характерны значительно более высокие значения вязкости, чем для растворов каждого из них в отдельности. Предположено, что вследствие электростатических взаимодействий молекулы полисахарида сорбируются на поверхности глобул белка, которые частично развертываются и образуют внутреннее ядро комплекса.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Te Nijenhuis K.* // *Adv. Polym. Sci.* 1997. V. 130. P. 1.
2. *Nishinary K.* // *Colloid Polym. Sci.* 1997. V. 225. P. 1093.
3. *New Cosmetic Science* / Ed. by Mitsui T. Amsterdam: Elsevier, 1997.
4. *Percival E., McDowell R.H.* Chemistry and Enzymology of Marine Algae Polysaccharides. New York: Acad. Press, 1967. P. 53.
5. *Patancar S., Ochniger S., Barnett T.* // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 21770.
6. *McClure M.O., Moore J.P., Blanc D.F., Scotting P., Cook G.M.W., Keynes R.G., Weber J.N., Davis D., Weiss R.A.* // *AIDS Res. Human Retrovir.* 1992. V. 8. P. 19.
7. *Yamada T., Ogamo A., Saito T., Watanabe J., Uchiyama H., Nakagama Y.* // *Carbohydrate Polym.* 1996. V. 32. № 1. P. 51.
8. *Nagumo T., Nishino T.* // *Polysaccharides in Medicinal Applications.* / Ed. by Severani D. New York: Marcel Dekker, 1996. P. 545.
9. *Uryu T., Katsuraya K., Nakashima H.* // *Macromol. Symp.* 1997. V. 120. № 1. P. 147.
10. *Beress A., Wassermann O., Bruhn T., Beres L., Kraiselburd E.N., Gonzales L.V., Motta G.N., Chevez P.I.* // *J. Natur. Prod.* 1993. V. 56. P. 478.
11. *Усов А.И., Кирьянов А.А.* // Биоорган. химия. 1994. Т. 20. С. 1342.
12. *Zvyagintseva T.N., Sundukova E.V., Shevchenko N.M., Elyakova L.A.* In *PICES Scientific Rep.* 1996. V. 2. P. 406.
13. *Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Reiders P.A., Smith F.* // *Anal. Chem.* 1956. V. 28. № . P. 350.
14. *Ferry J.D.* Viscoelastic Properties of Polymers. New York: Wiley, 1980.
15. *Winter H.H., Chambon F.* // *J. Rheol.* 1986. V. 30. № 2. P. 367.
16. *Hess W., Vilgis T.A., Winter H.Y.* // *Macromolecules.* 1988. V. 21. № 8. P. 2536.
17. *Дой М., Эдвардс С.* Динамическая теория полимеров. М.: Мир, 1998.
18. *Хохлов А.Р., Дормидонтова Е.Е.* // Успехи физ. наук. 1997. Т. 167. № 2. С. 113.
19. *Marcus Y.* Ion Solvation. New York: Willey, 1985.
20. Справочник химика. М.: Госхимиздат, 1963. Т. 1. С. 950.
21. *Peters T.* // *Adv. Protein Chem.* 1985. V. 37. P. 161.
22. *Jones M.N.* // *Chem. Soc. Rev.* 1992. № 2. P. 127.
23. *Ananthapadmanabhan K.P.* // *Interactions of surfactants with polymers and proteins* / Ed. by Goddard E.D., Ananthapadmanabhan K.P. Boca Raton: CRC Press, 1993. P. 319.
24. *Валуев И.А., Попович С.Н., Гальзенков Ю.А., Сытров Г.А., Чупов В.В., Валуев А.И., Платэ Н.А., Жозефович Ж.* // Докл. РАН. 1997. Т. 357. № 5. С. 634.

**Rheological Properties of Aqueous Fucoidan Solutions**

**Yu. A. Shchipunov\*, O. G. Mukhaneva\*, T. N. Zvyagintseva\*\*,  
I. B. Popivnich\*\*, and N. M. Shevchenko\*\***

\**Institute of Chemistry, Far-East Division, Russian Academy of Sciences,  
pr. 100-letiya Vladivostoku 159, Vladivostok, 690022 Russia*

\*\**Pacific-Ocean Institute of Bioorganic Chemistry, Far-East Division, Russian Academy of Sciences,  
pr. 100-letiya Vladivostoku 159, Vladivostok, 690022 Russia*

**Abstract**—Rheological properties of the solutions of fucoidans—natural polysaccharides isolated from brown algae collected in various regions of the Far-East Coast of the Pacific Ocean were investigated. A broad spectrum of the substances studied allowed variation of the properties of polysaccharides to be followed, depending on the carbohydrate composition and the degree of sulfatation. The investigations were performed in the systems of three types: aqueous solutions, solutions in water-glycerol and water-diol systems, and fucoidan-albumin mixtures. Dissolution of the polysaccharides in water is accompanied by a considerable increase in viscosity, but no gel formation is observed until the fucoidan concentration reached 25 wt %. Fucoidans with greater molecular masses and higher degrees of sulfatation form solutions of higher viscosity. Adding glycerol and diols also leads to a significant increase in viscosity. In the case of high-molecular-mass fucoidans, glycerol and 1,4-butanediol induce a sol-gel transition. The effect is explained by poor quality of the mixed solvent and by cross-linking of the neighboring polysaccharide molecules as a result of the hydrogen bond formation. Fucoidans form complexes with albumin, the process being controlled by electrostatic interactions between charged groups of both molecules. It is suggested that an increase in the solution viscosity in this system is related to unfolding of the protein globule caused by electrostatic repulsion of the adsorbed fucoidan molecules.