

УДК 541.64:539.199:547.996.12

ДЕСТРУКЦИЯ ХИТОЗАНА В РАСТВОРАХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

© 2006 г. Е. Н. Федосеева, Ю. Д. Семчиков, Л. А. Смирнова

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, корп. 2

Поступила в редакцию 22.03.2006 г.

Принята в печать 18.05.2006 г.

Изучена деструкция хитозана в водных растворах уксусной и соляной кислот под действием окисительно-восстановительной системы пероксид водорода–аскорбиновая кислота. Природа кислоты оказывает существенное влияние на глубину деструкции и ММ олигохитозана – продукта реакции. Обнаружена экстремальная зависимость ММ олигохитозана от концентрации уксусной кислоты в составе растворителя. Показано, что при пятикратном мольном избытке уксусной кислоты по отношению к звеньям хитозана исходный раствор представляет собой ньютоновскую жидкость. Установлено, что именно в таком растворе образуется олигохитозан с минимальным числом звеньев в цепи.

ВВЕДЕНИЕ

Хитозан (поли- β -1,4-2-дезокси-2-амино-D-глюкопираноза) – многогонажный продукт деацетилирования природного полисахарида хитина. В настоящее время он широко используется в биологии, косметике, производстве бумаги, процессах очистки сточных вод, содержащих тяжелые металлы, и т.д. [1]. ММ хитозана, получаемого из природных источников, составляет обычно 10^5 – 10^6 , такой продукт способен растворяться в разбавленных водных растворах некоторых минеральных и органических кислот. Олигомеры хитозана обладают рядом особых свойств, не присущих высокомолекулярным продуктам [2], в том числе способностью к растворению в воде при нейтральных pH.

Известно несколько методов получения низкомолекулярного продукта, среди которых наиболее часто применяются гидролиз и ферментативное разложение исходного хитозана [3–6]. Однако ферментативная деструкция требует тщательной очистки сырья от примесей, снижающих активность ферментов, а конечного продукта – от ферментов. Химический гидролиз проводится с использованием водных растворов пероксида водорода различной концентрации, озона [3], персульфата калия [6]. Авторами работы [6]

доказан радикальный механизм процесса химической деградации цепей хитозана под действием реагентов, способных генерировать радикалы. Получение низкомолекулярного хитозана и его олигомеров с использованием упомянутых выше реагентов проводят, как правило, при повышенных температурах (порядка 50–70°C). В таких условиях велика вероятность изменения химического состава полисахарида. В частности, как отмечают авторы [3], наблюдается дезаминирование хитозана и окисление гидроксильных групп до карбоксильных. Использование более низких температур и концентраций не дает желаемого результата – получения водорастворимого хитозана. Поэтому поиск новых эффективных методов получения олигомерного хитозана при невысоких температурах остается на настоящий момент актуальной задачей.

Известно, что наиболее эффективный путь снижения температуры радикальных процессов – использование окислительно-восстановительных систем. В частности, система пероксид водорода–аскорбиновая кислота является эффективным инициатором радикальной полимеризации при низких температурах [7].

Исходя из сказанного выше, цель настоящей работы – изучение реакции расщепления цепей хитозана под действием пероксида водорода и ас-

E-mail: enfedoseeva@front.ru (Федосеева Елена Николаевна).

корбиновой кислоты в гомогенных условиях в интервале температур 10–25°C при pH среды ≤ 5.5.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали образцы хитозана с $M = 8.0 \times 10^4$ фирмы "Сонат" (Москва) без дополнительной очистки (степень деацетилирования 82%, массовая доля нерастворимых веществ 0.25%, массовая доля сухого остатка после прокаливания 0.3%), аскорбиновую кислоту квалификации х.ч., раствор пероксида водорода (30%) квалификации ч.д.а. Для приготовления растворителей использовали ледяную уксусную кислоту квалификации х.ч., 0.1 и 0.2 N растворы HCl готовили из фиксала.

Исходную концентрацию раствора пероксида водорода устанавливали объемным титрованием перманганатом калия в присутствии серной кислоты [8].

ММ образцов хитозана и его олигомеров находили методом вискозиметрии с использованием вискозиметра Уббелоде при 21°C в растворе уксусной кислоты с концентрацией 0.33 моль/л в дистиллированной воде, содержащей 0.3 моль/л NaCl. Средневязкостную ММ рассчитывали по уравнению Марка–Куна–Хаувинка $[\eta] = k\bar{M}_v^\alpha$, $k = 3.41 \times 10^{-5}$, $\alpha = 1.01$ [9].

Степень деацетилирования хитозана определяли потенциометрическим титрованием его растворов в 0.1 N растворе HCl раствором KOH (0.1 N) с использованием ионометра ЭВ-74.

Реакцию проводили без предварительной дегазации реакционной смеси при соотношении реагентов $v_{ХТЗ}/v_{П} = 10$, $v_{П}/v_{АК} = 1$ (здесь $v_{ХТЗ}$ – число моль звеньев хитозана, $v_{П}$ – число моль пероксида водорода, $v_{АК}$ – число моль аскорбиновой кислоты), добавляя к раствору хитозана определенной концентрации необходимую навеску аскорбиновой кислоты при перемешивании, затем определенное количество раствора пероксида водорода в дистиллированной воде. Предельное значение ММ продукта деградации цепей хитозана при заданных условиях определяли через 1 сутки после начала реакции.

Вязкость растворов хитозана измеряли на вискозиметре Уббелоде в случае разбавленных рас-

творов и на приборе "Реотест" для умеренно концентрированных растворов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В предварительных исследованиях установлено, что наибольшее снижение ММ исходного хитозана при деструкции его цепей под действием окислительно–восстановительной системы в водных растворах кислот достигается при соотношении числа моль реагентов $v_{ХТЗ}/v_{П} = 10$, $v_{П}/v_{АК} = 1$. Изменение соотношения компонентов реакционной или инициирующей системы в сторону увеличения количества какого-либо реагента не приводит к дальнейшему снижению ММ образующегося олигохитозана. Выявлено, что при любых соотношениях реагентов реакция заканчивается за 0.5 ч. При этом изменение температуры (в пределах 10–60°C), способа загрузки реагентов, а также присутствие атмосферного кислорода в растворе не оказывает значительного влияния на эффективность деструкции.

В настоящей работе исследовано влияние природы кислоты – растворителя хитозана, вязкости раствора и значения pH на ММ продукта реакции. Установлено, что при проведении деструкции в 0.2 N растворе соляной кислоты эффективность реакции в 4 раза меньше, чем в растворах уксусной кислоты при прочих равных условиях: концентрации хитозана в растворе, соотношении между количеством молей пероксида водорода и звеньев хитозана, а также пероксида водорода и аскорбиновой кислоты. ММ продукта составила 3.9×10^4 против 9×10^3 соответственно, поэтому дальнейшие исследования проводили только в растворах уксусной кислоты. Оказалось, что зависимость ММ образовавшегося олигохитозана от концентрации уксусной кислоты в составе растворителя при неизменности прочих условий проведения реакции экстремальна (рис. 1, 2). В специальных опытах было показано, что зависимости относительной (1% хитозана) и динамической (2% хитозана) вязкостей растворов исходного хитозана от содержания уксусной кислоты также экстремальны. Как видно из рис. 1 и 2 положение минимумов величин вязкости исходных растворов и ММ образующихся олигохитозанов во всех случаях совпадает и соответствует условию $v_{УК}/v_{ХТЗ} \sim 5$ (здесь $v_{УК}$ – число моль уксусной кислоты в растворителе).

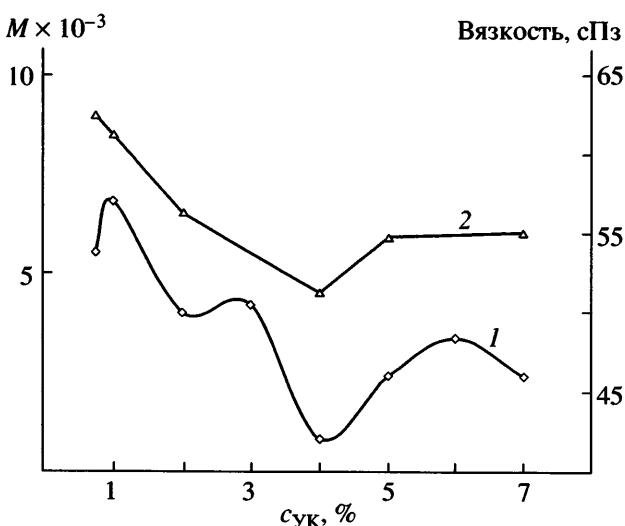


Рис. 1. Зависимость динамической вязкости (при напряжении сдвига 200 дин/см²) 2%-ных растворов исходного хитозана (1) и ММ олигоХитозанов (2), получаемых в реакции радикальной деструкции в данном растворе, от концентрации уксусной кислоты.

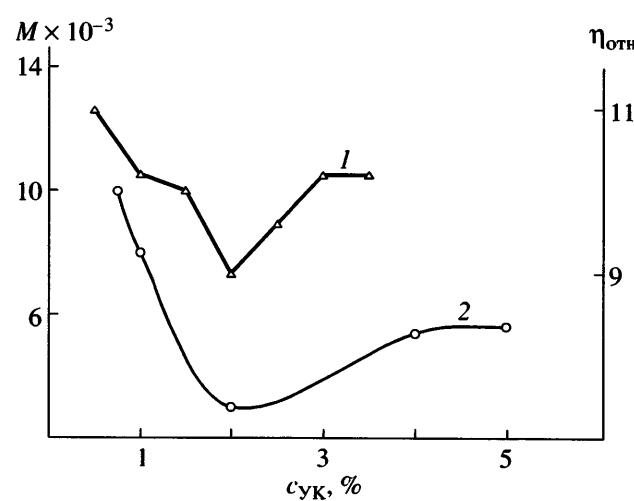


Рис. 2. Зависимость относительной вязкости 1%-ных растворов хитозана (1) и ММ олигоХитозанов (2), получаемых в реакции радикальной деструкции в данном растворе, от концентрации уксусной кислоты.

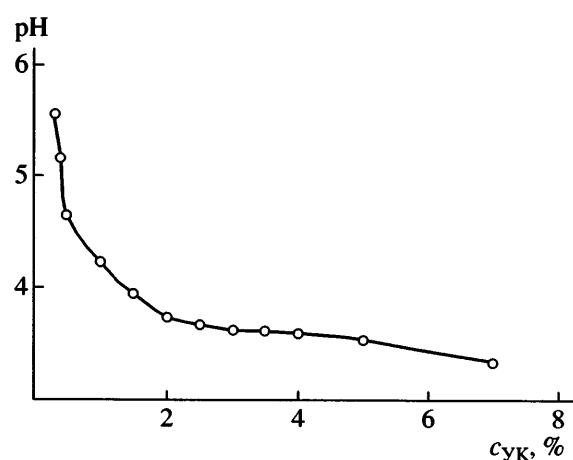


Рис. 3. Зависимость pH 1%-ных растворов хитозана от концентрации уксусной кислоты в составе растворителя H_2O –уксусная кислота.

В работе также исследовали влияние концентрации кислоты в составе растворителя на значение pH раствора хитозана (рис. 3). Характерно, что по достижении минимума вязкости pH раствора с увеличением концентрации уксусной кислоты меняется незначительно. Из рисунка видно, что в изучаемом интервале концентраций уксусной кислоты экстремальные точки отсутствуют.

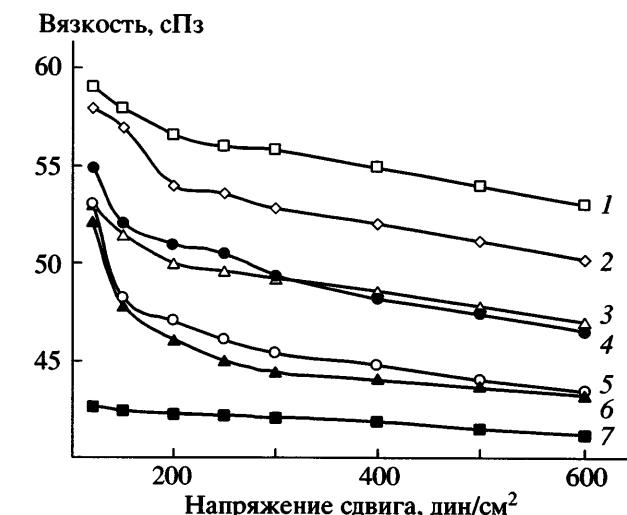


Рис. 4. Зависимость динамической вязкости от напряжения сдвига для 2%-ных растворов исходного хитозана в растворителе H_2O –уксусная кислота с содержанием последней 1 (1), 0.75 (2), 2 (3), 3 (4), 5 (5), 7 (6) и 4% (7).

Таким образом, значение pH среды не является решающим фактором по отношению к реакционной способности хитозана в растворе.

В связи с этим была изучена зависимость динамической вязкости от напряжения сдвига для 2%-ных растворов исходного хитозана в растворителе H_2O –уксусная кислота с различным содержанием последней. Из рис. 4 видно, что с изменени-

ем напряжения сдвига вязкость раствора, отвечающего установленному выше "оптимальному" отношению $v_{ук} : v_{хтз} \sim 5$, не изменяется, т.е. данный раствор – это ньютоновская жидкость. При всех других концентрациях уксусной кислоты растворы хитозана являются структурированными, вязкость растворов меняется при изменении напряжения сдвига.

Известно, что вязкость нестерильных растворов хитозана непостоянна во времени, что является следствием гидролиза цепей макромолекул под действием кислот и микроорганизмов. В нашем случае значения вязкости исходных растворов хитозана также несколько уменьшаются. В наименьшей степени изменяется вязкость раствора, отвечающего соотношению $v_{ук} : v_{хтз} \sim 5$, при этом раствор остается ньютоновским. В целом экстремальный характер зависимостей ММ олигохитозанов от соотношения H_2O –уксусная кислота в растворителе сохраняется в течение всего времени измерения, равного одному месяцу.

Известно, что внутри- и межмолекулярное взаимодействие макромолекул хитозана в растворе и в пленках реализуется за счет водородных связей. Можно предположить, что в растворе уксусной кислоты при пятикратном ее избытке (по молям) по сравнению с числом звеньев хитозана внутри- и межцепные водородные связи, образованные собственными поляризованными группами хитозана, замещаются водородными связями этих групп с молекулами уксусной кислоты. Таким образом, из рассмотренного выше ясно, что при $v_{ук} : v_{хтз} \sim 5$ все центры, способные к образованию водородных связей в макромолекуле хитозана, оказываются блокированными. Вследствие этого сводится к минимуму межмолекулярное взаимодействие, что обусловливает минимум вязкости и проявление характерных признаков ньютоновских жидкостей. Становится понятным поведение хитозана в растворах разбавленной соляной кислоты, которая, будучи полностью диссоциированной, не способна к образованию водородных связей.

Изменение реакционной способности при добавлении уксусной кислоты наблюдали и для структурного аналога хитозана – целлюлозы [10]. Инклюдирование, заключающееся в блокировании внутри- и межмолекулярных связей макромолекул целлюлозы, резко (до 40 раз) увеличивает

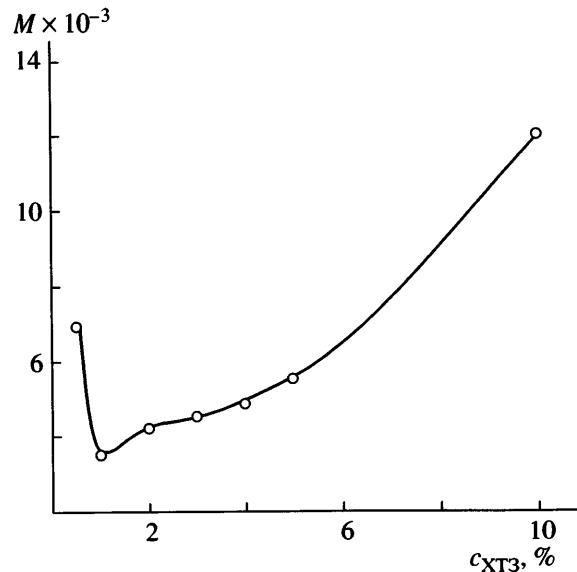


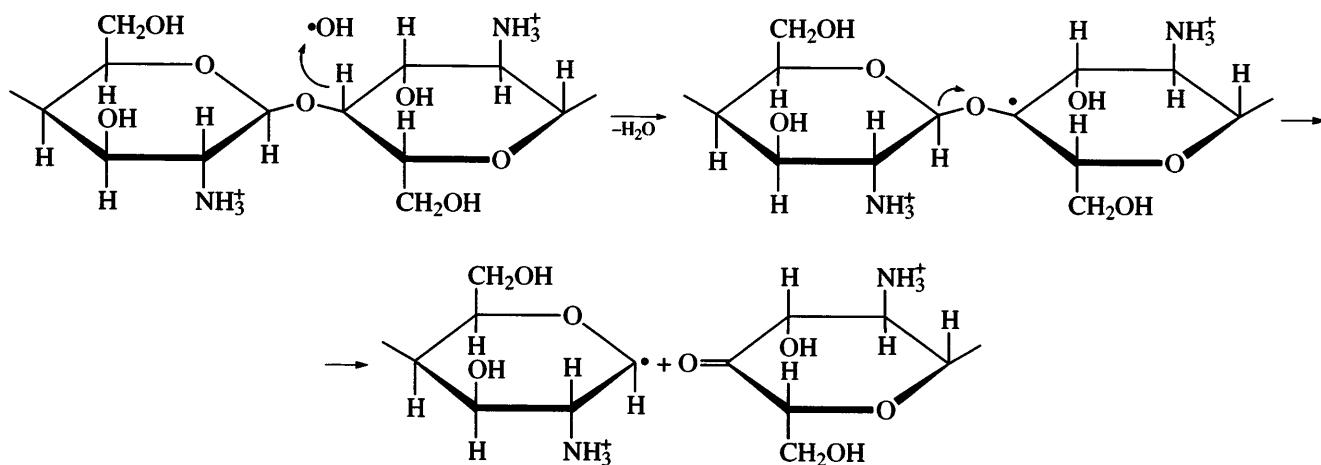
Рис. 5. Зависимость ММ олигохитозана, полученного действием пропорционально увеличивающегося количества инициирующей системы, от концентрации хитозана в исходном растворе. Количество уксусной кислоты в растворе 5.3 моль на моль звеньев хитозана.

реакционную способность ее функциональных групп при этерификации.

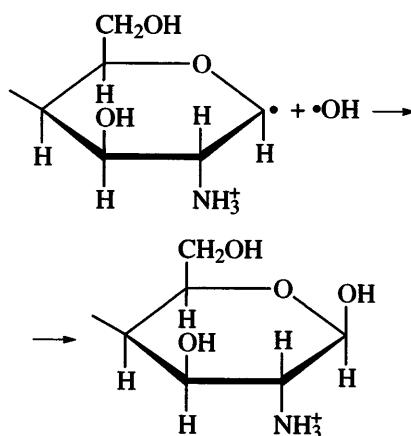
В работе исследовали влияние концентрации хитозана в растворе на глубину деструкции при сохранении мольного соотношения хитозана и уксусной кислоты постоянным (рис. 5): повышение концентрации хитозана сопровождали пропорциональным увеличением количества инициирующей системы. Из рисунка видно, что наименьшее значение ММ продукта достигается в случае концентрации исходного раствора 1 мас. % хитозана. Использование более концентрированных растворов приводит к постепенному росту ММ олигохитозанов. Таким образом, межмолекулярные взаимодействия, ассоциация макромолекул, вызванная увеличением концентрации растворов, также способствуют замедлению реакции деструкции, как и описанное выше блокирование активных центров макромолекулы, участвующих в ассоциации за счет образования "собственных" Н-связей в более разбавленных растворах. Следовательно, все факторы, способствующие доступности макромолекул, повышают скорость деструкции, вызванной атакой радикалов, генерируемых при окислительно-восстановительном взаимодействии пероксида водорода и аскорбиновой кислоты.

Схема реакции разрыва гликозидной связи с образованием концевого радикала в цепи хитоза-

на, может быть представлена следующим образом:



Концевой радикал может принимать участие в реакции рекомбинации радикалов. Например,



Вероятно, при увеличении концентрации хитозана радикалы инициирующей системы все больше расходуются на рекомбинацию, а не на разрыв гликозидной связи, что также может служить причиной снижения эффективности деструкции хитозана под действием окислительно-восстановительного инициирования в более концентрированных растворах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скорикова Е.Е., Калюжная Р.И., Вихорева Г.А., Гальбрах Л.С., Котова С.Л., Агеев Е.П., Зе-

зин А.Б., Кабанов В.А. // Высокомолек. соед. А. 1996. Т. 38. № 1. С. 61.

2. Mi Zhang, Tianwei Tan // J. Bioactive Compatible Polym. 2003. V. 18. September. C. 391.
3. Галиаскарова Г.Г. Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Уфа: Ин-т органической химии Уфимского научного центра РАН, 1997.
4. Комаров Б.А., Албулов А.И. Пат. 2001115860/04 Россия. 2003.
5. Муринов К.Ю., Волошин А.И., Красногорская И.Н., Соков Ю.Ф. // Изв. РАН. Сер. хим. 2002. № 1. С. 52.
6. Shih-Chang Hsu, Trong-Ming Don, Wen-Yen Chiu // Polym. Degrad. Stab. 2002. № 75. P. 73.
7. Grinstead R.R. // J. Am. Chem. Soc. 1960. № 82. P. 3464.
8. Мелентьев Г.А., Антонова Л.А. Фармацевтическая химия. М.: Медицина, 1985.
9. Погодина Н.В., Павлов Г.М., Бушин С.В., Мельников А.В., Лысенко Е.Б., Нудьга Л.А., Маршева В.Н., Марченко Г.Н. // Высокомолек. соед. А. 1982. Т. 28. № 2. С. 232.
10. Химические реакции полимеров / Под. ред. Фетте-са Е. М.: Мир, 1967. Т. 1. С. 53.

**Degradation of Chitosan in Solutions
in the Presence of a Redox System****E. N. Fedoseeva, Yu. D. Semchikov, and L. A. Smirnova**

*Lobachevskii State University,
pr. Gagarina 23/2, Nizhni Novgorod, 603950 Russia
e-mail: enfedoseeva@front.ru*

Abstract—The degradation of chitosan in aqueous solutions of acetic and hydrochloric acids initiated by the hydrogen peroxide–ascorbic acid redox system has been studied. The nature of acid strongly affects the degree of degradation and the molecular mass of oligochitosan—the reaction product. The relationship between the molecular mass of oligochitosan and the concentration of acetic acid in the solvent is described by a curve with a minimum. If acetic acid is present in a 5-fold molar excess with respect to chitosan units, the starting solution behaves as a Newtonian liquid. It has been demonstrated that, exactly in this solution, oligochitosan with the minimum amount of units is formed.