

ISSN 2308-1120

Том 65, Номер 5

Сентябрь - Октябрь 2023



Высокомолекулярные СОЕДИНЕНИЯ

Серия А

Физика полимеров

www.sciencejournals.ru

Журнал теоретической и экспериментальной
химии и физики высокомолекулярных соединений



СОДЕРЖАНИЕ

Том 65, номер 5, серия А, 2023

ПЕРСОНАЛИИ

К 85-летию со дня рождения Якова Семеновича Выгодского	323
Андрей Никодимович Праведников (К 100-летию со дня рождения)	325

РАСТВОРЫ

Структурные изменения при полимеризации акриламида в полуразбавленных растворах червеобразных мицелл поверхностно-активного вещества <i>А. С. Оспенников, А. В. Шибаев, А. И. Ку克林, О. Е. Филиппова</i>	327
Нарушение гомологии в ряду амфифильных гребнеобразных статистических сополимеров N-метил-N-винилацетамида и N-метил-N-виниламина с умеренной частотой прививки додецильных боковых групп <i>А. А. Гостева, О. В. Окатова, И. И. Гаврилова, Е. Ф. Панарин, Г. М. Павлов</i>	333

МЕДИЦИНСКИЕ ПОЛИМЕРЫ

Комплексы анионного ПАВ с хитозаном и его гидрофобными производными как дезинфицирующие средства против SARS-CoV-2 <i>А. В. Шибаев, А. С. Оспенников, Г. В. Корнилова, В. Ф. Ларичев, И. Т. Федякина, Lifeng Fu, Zhuo Chen, Yangyang Yang, Э. В. Карамов, А. С. Тургиев, Liping Duan, Jun Liu, О. Е. Филиппова</i>	343
---	-----

ПРИРОДНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

Энергетика солеобразования и надмолекулярное упорядочение L- и D-аскорбатов хитозана <i>О. Н. Малинкина, А. Б. Шиповская</i>	351
Выделение и физико-химические характеристики водорастворимого полисахарида из местнорастущего и культивируемого базидиального сырья <i>Ganoderma lucidum</i> <i>С. Б. Хайтметова, А. С. Тураев, Г. А. Халилова, Б. И. Мухитдинов, С. Р. Маккамбоева</i>	362

СМЕСИ ПОЛИМЕРОВ

Влияние вулканизирующей системы на структуру и свойства полимерэластомерных композитных материалов <i>Н. В. Шадрин, А. Р. Халдеева, А. Л. Федоров, М. Н. Кондаков, М. Д. Соколова</i>	374
--	-----

КОМПОЗИТЫ

Твердофазное получение композиций полиэтилена низкой плотности с восстановленным оксидом графена под действием сдвиговых деформаций <i>М. М. Гасымов, С. З. Роговина, О. П. Кузнецова, В. Г. Шевченко, А. А. Берлин</i>	384
--	-----

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение концентрации карбоксильных групп полимерных микросфер кондуктометрическим и потенциометрическим титрованием <i>Д. О. Шестакова, Н. Н. Санькова, Е. В. Пархомчук</i>	391
--	-----

К 85-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ЯКОВА СЕМЕНОВИЧА ВЫГОДСКОГО

DOI: 10.31857/S2308112023600072, EDN: DDEDPN



3 ноября исполняется 85 лет известному ученому в области химии высокомолекулярных соединений, доктору химических наук, профессору Якову Семеновичу Выгодскому. Жизнь и научная деятельность Якова Семеновича неразрывно связаны с Институтом элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, в котором он прошел путь от аспиранта до главного научного сотрудника и заведующего лабораторией.

Фундаментальные исследования Я.С. Выгодского, отличающиеся новаторством, разноплановостью и актуальностью, по праву принесли ему мировую известность. Якову Семеновичу присуще умение определять перспективные направления в химии полимеров. Это синтез мономеров для поликонденсационных и полимеризационных процессов, в том числе ионных мономеров для получения на их основе функциональных полимеров; исследование закономерностей синтеза

и свойств ароматических гетероцепных полимеров, главным образом полиимидов и полиамидов; образование сополимеров карбо- и гетероцепных высокомолекулярных соединений полимеризационно-поликонденсационного типа; изучение особенностей поликонденсации и полимеризации в новых экологически безопасных средах — ионных жидкостях и сверхкритическом диоксиде углерода; синтез и изучение свойств ионных жидкостей, их применение в качестве растворителей, катализаторов и электролитов; изучение ионно-радикального механизма в поликонденсации на примере образования поли(α -дикетонатов).

Яков Семенович Выгодский, являясь талантливым и последовательным учеником академика Василия Владимировича Коршака, внес значительный вклад в развитие представлений о термостойких гетероциклических ароматических полимерах — полиимидах. Результатами его исследований стали разработка методов одностадийной поликонденсации и двустадийной каталитической полициклизации, установление роли катализатора в указанных реакциях и создание эффективной технологии синтеза полиимидов с высокой молекулярной массой и количественной имидизацией. Ему принадлежит авторство общепризнанного в мировой науке термина “кардовые полимеры”. Преимуществом такого типа соединений является сочетание высокой теплостойкости с хорошей растворимостью в органических растворителях. Под руководством Я.С. Выгодского получены новые материалы с комплексом ценных свойств: теплостойкие и растворимые полимеры, применимые для самых разнообразных задач, в том числе для создания защитных покрытий оптических волокон, твердотельные полиэлектролиты для безопасных электрохимических устройств, ионные жидкости, которые совмещают свойства растворителя и катализатора поликонденсационных процессов и т.д.

Высокий профессионализм, широкая эрудиция и трудолюбие позволили Якову Семеновичу успешно совмещать научные исследования с преподавательской и просветительской деятельностью. Я.С. Выгодский — автор и редактор-консультант Энциклопедии полимеров, Химической энциклопедии, Большой Российской энциклопедии, а также переводчик и редактор ряда моно-

графий по высокомолекулярным соединениям, в том числе учебника Дж. Оудиана “Основы химии полимеров”. Он является автором более 400 статей, обзоров в отечественных и зарубежных журналах, авторских свидетельств СССР, российских и зарубежных патентов. Им подготовлено 17 кандидатов и 1 доктор химических наук.

В 2013 году Я.С. Выгодскому с коллегами была присуждена премия С.В. Лебедева РАН за выдающуюся работу в области химии и технологии синтетического каучука и других синтетических полимеров. Он лауреат трех премий издательской компании “Наука/Интерпериодика” за лучшие публикации в журнале “Высокомолекулярные соединения” (2004, 2008 и 2010 гг.), член Научного Совета по ВМС РАН, Российского химического общества им. Д.И. Менделеева, редколлегии журналов “Высокомолекулярные соединения” и “International Journal of Polymer Science”, диссертационных советов ИНЭОС РАН, ИСПМ РАН и химического факультета МГУ.

Яков Семенович — человек не только увлеченный наукой, но и в высшей степени интеллигентный, порядочный и благородный. Будучи заведу-

ющим лабораторией, он всегда способствовал инициативе и самостоятельности сотрудников, с особым вниманием передавал знания и богатый жизненный опыт молодежи. Благодаря его усилиям в коллективе создана атмосфера доброжелательности, взаимного уважения и поддержки.

Коллеги, ученики и друзья от всей души поздравляют Якова Семеновича с 85-летием и желают ему крепкого здоровья и долголетия, бодрости, хорошего настроения и новых ярких впечатлений!

*Дирекция и коллектив
Института элементоорганических соединений
имени А.Н. Несмеянова РАН,*

*редколлегия и редакция журнала
“Высокомолекулярные соединения”,*

*а также ученики и коллеги из Института химии
и молекулярной инженерии Аграрного университета
Грузии и Грузинского технического университета,
Волгоградского государственного технического
университета и Люксембургского института
науки и технологий*

ПЕРСОНАЛИИ

АНДРЕЙ НИКОДИМОВИЧ ПРАВЕДНИКОВ
(К 100-летию со дня рождения)

DOI: 10.31857/S2308112023600047, EDN: DBVPQU



16 ноября 2023 года исполняется 100 лет со дня рождения Андрея Никодимовича Праведникова (1923–1985) — выдающегося отечественного ученого в области полимерной химии, члена-корреспондента АН СССР, доктора химических наук, профессора.

В 1941 г. Андрей Никодимович, которому едва исполнилось 18 лет, ушел на фронт добровольцем. По возвращении с фронта он поступил в МИТХТ им. М.В. Ломоносова и окончил его в 1949 г. Вся дальнейшая научная деятельность А.Н. Праведникова была неразрывно связана с Научно-исследовательским физико-химическим институтом (НИФХИ) им. Л.Я. Карпова, в котором он работал с 1950 г. и до последнего дня жизни сначала в качестве аспиранта под руководством будущих академиков С.С. Медведева и Х.С. Багдасарьяна, затем старшим научным сотрудником, а с 1963 г. — заведующим лабораторией термостойких полимеров. Позднее, с 1972 по 1985 г. он также возглавлял кафедру синтеза полимеров МИТХТ им. М.В. Ломоносова.

Уже в первых своих работах Андрей Никодимович представил принципиально важные результаты по кинетике и механизму глубокой полимеризации виниловых мономеров, имеющие

большое практическое значение, например для контроля производственного процесса получения полихлоропренового каучука. Последующие труды А.Н. Праведникова охватывали широкий круг проблем химии полимеров. При этом в фокусе его внимания всегда находились физико-химические аспекты, связанные с механизмом исследуемых процессов. Его работы в области деструкции полимеров заложили базу для создания научных основ термической стабильности полимерных материалов, в частности, им предложен радикально-цепной механизм деструкции термостойких полимеров. В дальнейшем эти разработки получили развитие при создании огнезащитных полимерных материалов. Первостепенное значение имеет выполненная под руководством А.Н. Праведникова большая серия работ, ставших классическими для последующих поколений ученых, по изучению механизма, термодинамических и кинетических характеристик реакций, лежащих в основе синтеза высокотермостойких полигетероариленов и полиимидов. Под его руководством также был разработан оригинальный подход к синтезу термостойких полигетероариленов методом изомеризационной циклизации, позволяющий получать эти полимеры без выделения летучих продуктов. Еще одна область научных интересов Андрея Никодимовича — разработка полимерных материалов со специальными свойствами, а именно, фотопроводящих полиимидов.

А.Н. Праведников внес существенный вклад в развитие теории эмульсионной полимеризации; сформированные им теоретические представления привели к новому оформлению и оптимизации ряда технологических процессов синтеза эмульсионных каучуков и латексов. Работы по эмульсионной полимеризации трифторстирола стали основанием для разработки высокоэффективных термостойких фильтрующих материалов, нашли важное практическое применение и были отмечены Золотой медалью ВДНХ.

Андрей Никодимович вел большую педагогическую работу, возглавляя кафедру синтеза полимеров МИТХТ им. М.В. Ломоносова. Им создана крупная научная школа, подготовлено более 50 кандидатов и докторов наук. В списке его уче-

ников такие известные ученые, как И.Е. Кардаш, Б.В. Котов, Э.Н. Телешов и многие другие.

Значительную часть своей энергии А.Н. Праведников отдавал научно-организационной работе. Он был членом бюро Научного совета по высокомолекулярным соединениям АН СССР, председателем секции “Каучук и резина” совета “Полимеры в народном хозяйстве” при ГКНТ при Совете министров СССР, заместителем председателя Координационного совета по теоретическим и поисковым исследованиям при Министерстве химической промышленности, членом редколлегии журнала “Высокомолекулярные соединения” и т.д.

А.Н. Праведникова по праву можно считать основателем целого ряда научных направлений в

области химии полимеров. Он является автором более 350 научных работ. В 1976 г. А.Н. Праведников был избран членом-корреспондентом АН СССР, за научные заслуги награжден Орденом Трудового Красного Знамени.

Окружавшим его сотрудникам и ученикам Андрей Никодимович Праведников запомнился как обаятельный, остроумный и доброжелательный человек, который посвятил весь свой талант служению науке и оставил в ней яркий след за свою, к сожалению, не очень долгую жизнь.

Д.х.н. Кузнецов Александр Алексеевич

Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН

УДК 541.64:547.39

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ АКРИЛАМИДА В ПОЛУРАЗБАВЛЕННЫХ РАСТВОРАХ ЧЕРВЕОБРАЗНЫХ МИЦЕЛЛ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА

© 2023 г. А. С. Оспенников^а, А. В. Шибаетов^{а,*}, А. И. Куклин^{б,с}, О. Е. Филиппова^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова. Физический факультет
119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2, Россия

^бОбъединенный институт ядерных исследований
141980 Дубна, Московская область, ул. Жолио-Кюри, 13, Россия

^сМосковский физико-технический институт
141701 Долгопрудный, Московская область, Институтский пер., 9, Россия

*e-mail: shibaev@polly.phys.msu.ru

Поступила в редакцию 13.05.2023 г.

После доработки 19.09.2023 г.

Принята к публикации 29.09.2023 г.

Исследованы структура и реологические свойства водных растворов анионного поверхностно-активного вещества олеата калия и водорастворимого мономера акриламида до и после проведения радикальной полимеризации. В отсутствие мономера и в присутствии низкомолекулярной соли олеат калия образует сетку из длинных переплетающихся цилиндрических (червеобразных) мицелл. Добавление мономера не приводит к изменению их цилиндрической формы и радиуса, однако способствует трансформации разветвленных мицелл в линейные. После проведения полимеризации структура агрегатов ПАВ значительно изменяется — согласно данным нейтронного рассеяния она становится биконтинуальной, а ее локальная геометрия — ламелярной. Сосуществование такой структуры с макромолекулами полиакриламида в полуразбавленном растворе приводит к значительному синергетическому увеличению вязкости и модуля упругости.

DOI: 10.31857/S2308112023600060, EDN: DBWNGH

ВВЕДЕНИЕ

Свободнорадикальная полимеризация в водной среде является одним из наиболее простых и распространенных методов получения водорастворимых полимеров [1, 2]. Так, при помощи радикальной полимеризации получают незаряженные (например, полиакриламид [3]), анионные (например, полиакриловую, полиметакриловую и другие кислоты [4] и катионные (например, поли(диаллилдиметиламмоний хлорид) [5]) полимеры. Для этого во многих случаях используют водорастворимые виниловые мономеры, содержащие двойную связь.

Часто полимеризацию проводят в водных растворах, содержащих ПАВ. За счет своего амфифильного строения молекулы ПАВ способны самоорганизовываться, образуя агрегаты различной формы — сферические и цилиндрические мицеллы, ламели, везикулы, биконтинуальные структуры и т.д. [6]. На поверхности агрегатов, которая контактирует с водой, находятся водорастворимые полярные группы молекул ПАВ, а их гидрофобные хвосты образуют ядро агрегата.

Сферические мицеллы ПАВ часто используют для мицеллярной сополимеризации водорастворимого гидрофильного и водонерастворимого гидрофобного мономеров [7]. Гидрофобный мономер солюбилизируется в ядрах мицелл, в то время как гидрофильный мономер находится в водной среде. Растущая полимерная цепь присоединяет к себе мономеры, находящиеся в воде, и когда она достигает мицеллы, к ней присоединяются все молекулы гидрофобного мономера, находящиеся внутри нее. Таким способом удается получать водорастворимые гидрофобно модифицированные полимеры с различной степенью блочности [8].

При проведении полимеризации в присутствии молекул ПАВ важно взаимное влияние компонентов системы друг на друга. Так, известно, что взаимодействие акриламида со сферическими мицеллами ПАВ влияет на протекание процесса полимеризации. Например, в работе [9] показано, что при концентрациях ниже критической концентрации мицеллообразования молекулы ПАВ не взаимодействуют с мономером, в то время как

при концентрациях катионных ПАВ выше критической концентрации мицеллообразования происходит падение скорости полимеризации и молекулярной массы получаемого полимера. Обнаружено, что как неионогенные, так и ионогенные ПАВ могут замедлять полимеризацию [10, 11]. Эти эффекты зависят от положения мономера во время полимеризации, который может находиться в водном растворе (если он является гидрофильным и водорастворимым), на поверхности мицелл (если мономер содержит слабо гидрофобный фрагмент) или в их гидрофобных ядрах (если мономер является гидрофобным).

Исследовано и влияние полимеризации на структуру сферических мицелл ПАВ. Например, показано, что мономер акриламид взаимодействует со сферическими мицеллами анионного ПАВ додецилсульфата натрия, что приводит к уменьшению их агрегационного числа и увеличению критической концентрации мицеллообразования [12]. Это объясняется наличием в молекуле акриламида слабо гидрофобного винилового фрагмента, ответственного за проникновение мономера в мицеллы. Вместе с тем получающийся после проведения полимеризации полиакриламид не взаимодействует с мицеллами [12] вследствие исчезновения двойной связи $C=C$ в его составе.

Влияние ПАВ на полимеризацию виниловых мономеров изучали в основном в случае, когда молекулы ПАВ образуют сферические мицеллы, находящиеся в режиме разбавленного раствора.

В то же время область, относящаяся к полимеризации в полуразбавленных растворах ПАВ, является практически не затронутой. Полуразбавленные растворы ПАВ могут содержать целый ряд различных структур, например цилиндрические или червеобразные мицеллы [13, 14], ламели, биконтинуальные структуры [15] и т.д. Исследование структурных переходов между ними, вызванных полимеризацией, представляет значительный интерес. Это связано с тем, что достаточно большие агрегаты ПАВ, например, червеобразные мицеллы, могут солюбилизовать гораздо большие количества гидрофобных мономеров, чем сферические мицеллы [16], что важно для получения гидрофобно модифицированных полимеров с высокой степенью блочности [17]. Такие гидрофобно модифицированные полимеры могут использоваться для получения гидрогелей с высокой механической прочностью, обусловленной сильным гидрофобным взаимодействием между протяженными гидрофобными блоками и образованием сшивок в виде гидрофобных доменов с включенными в них гидрофобными группами различных макромолекул [18].

В связи с этим целью настоящей работы является исследование влияния полимеризации акри-

ламида на структуру и свойства мицеллярных агрегатов анионного ПАВ олеата калия в полуразбавленных растворах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для приготовления образцов использовали анионное ПАВ олеат калия (фирма TCI, степень чистоты 98%), соль хлорид калия (фирма "Acros", степень чистоты 99%), гидроксид калия (фирма "Acros", степень чистоты 98%), мономер акриламид (фирма "Sigma-Aldrich", степень чистоты 99%), инициатор персульфат аммония (фирма "Sigma-Aldrich", степень чистоты 99.8%), катализатор N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин (ТМЭДА, "Sigma-Aldrich", степень чистоты 99%). Все вещества использовали без предварительной очистки. Для приготовления растворов брали деионизированную дистиллированную воду, полученную на установке "Milli-Q" фирмы "Millipore Waters" (США). При проведении экспериментов по малоугловому рассеянию нейтронов использовали дейтерированную воду D_2O (фирма "Астрахим", изотопная чистота 99.99%).

Образцы в присутствии мономера готовили следующим образом. Олеат калия, хлорид калия и акриламид растворяли в воде при перемешивании в течение 1 суток. Затем pH растворов доводили до значения 10.7 добавлением 1 М водного раствора КОН и оставляли еще на 1 сутки до достижения равновесного состояния.

Образцы в присутствии полимера получали, проводя свободнорадикальную полимеризацию в смесях олеата калия, KCl и акриламида при комнатной температуре. Для этого к ним в качестве инициатора добавляли персульфат аммония и перемешивали на магнитной мешалке в течение 1 ч. Затем раствор продували азотом в течение 2 мин, добавляли катализатор ТМЭДА, интенсивно перемешивали в течение 10 с и оставляли образцы на 1 сутки.

Эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов проводили на спектрометре ЮМО реактора ИБР-2 в Объединенном институте ядерных исследований (Дубна) при 20°C. Детали экспериментов описаны в работе [19]. В качестве фонового раствора брали раствор хлорида калия в D_2O . Измерения проводили в специально сконструированных разборных кварцевых кюветах с зазором 2 мм, предназначенных для исследования растворов с высокой вязкостью и гелей. Кривые рассеяния аппроксимировали форм-фактором цилиндра с помощью программы SasView (<http://www.sasview.org/>).

Реологические исследования выполняли на ротационном реометре "Physica MCR301" ("Anton Paar", Австрия) с использованием измерительной ячейки конус—плоскость с радиусом 50 мм и углом

раствора конуса 1° при 20°C [20]. Измерения проводили при двух режимах воздействия на образец — ротационном и осцилляционном. В ротационном режиме к образцу прикладывали сдвиговую деформацию при постоянной скорости сдвига. В этих экспериментах определяли зависимость вязкости от скорости сдвига и максимальную ньютоновскую вязкость η_0 (вязкость при нулевой скорости сдвига). В осцилляционном режиме к образцу прикладывали переменную гармоническую сдвиговую деформацию и определяли упругую G' и вязкую G'' составляющие комплексного модуля упругости. Значения амплитуды деформации подбирали так, чтобы обеспечить проведение всех экспериментов в линейной вязкоупругой области, где модули накоплений G' и потерь G'' не зависят от амплитуды приложенного напряжения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучено влияние мономера акриламида на водные растворы анионного ПАВ олеата калия в присутствии низкомолекулярной соли хлорида калия. Концентрацию ПАВ брали равной 14 мас. %, а концентрацию KCl 9 мас. %. Согласно данным малоуглового рассеяния нейтронов, при этих условиях в отсутствие акриламида в растворе образуются цилиндрические мицеллы (рис. 1): кривая рассеяния хорошо аппроксимируется моделью цилиндра с взаимодействиями исключенного объема. Радиус цилиндра равен $18.6 \text{ \AA}$, что близко к длине полностью вытянутого алкильного хвоста молекулы олеата калия ($19 \text{ \AA}$) и совпадает с литературными данными для червеобразных молекул олеата калия [21, 22]. Концентрация ПАВ (14 мас. %) достаточно высокая и соответствует полуразбавленному режиму, в котором червеобразные мицеллы переплетаются и образуют сетку топологических зацеплений [23]. Мицеллы являются сильно разветвленными вследствие высокой концентрации низкомолекулярной соли KCl, которая экранирует электростатическое отталкивание между заряженными полярными головками молекул олеата калия, в результате чего расстояние между головками уменьшается, и оказывается выгодным образование разветвлений [24]. Наличие сильных взаимодействий исключенного объема — это следствие высокой концентрации ПАВ и высокой плотности мицеллярной сетки.

Частотные зависимости модуля накоплений G' и модуля потерь G'' для раствора в отсутствие акриламида имеют вид, типичный для сильно разветвленной мицеллярной сетки (рис. 2). Раствор характеризуется вязкоупругим поведением: при высоких частотах $G' > G''$, а в широком диапазоне низких частот $G' < G''$, при этом точка пересечения между кривыми $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ лежит в обла-

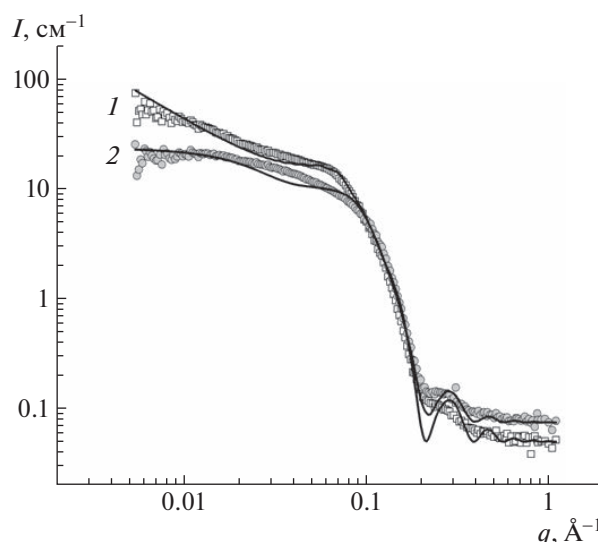


Рис. 1. Кривые малоуглового рассеяния нейтронов для растворов, содержащих 14 мас. % олеата калия и 9 мас. % хлорида калия в отсутствие (1) и в присутствии 8 мас. % акриламида (2). Растворитель D_2O , температура 20°C . Сплошные линии — аппроксимация экспериментальных кривых моделью цилиндра со взаимодействием исключенного объема. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

сти чрезвычайно высоких частот: $\omega_0 = 150 \text{ с}^{-1}$, что соответствует времени релаксации $\tau_0 = 1/\omega_0 = 0.007 \text{ с}$. Столь малое время релаксации является следствием наличия большого количества разветвлений, которые, в соответствии с литературными данными [25], способны к быстрой релаксации за счет скольжения точек ветвления вдоль участков цилиндрической мицеллы. При этом вязкость раствора достаточно велика и составляет 17 Па с (на четыре порядка больше вязкости воды), что обусловлено образованием мицеллярной сетки.

При добавлении акриламида вязкоупругие свойства растворов ПАВ становятся более выраженными (рис. 2). На зависимости $G'(\omega)$ появляется высокочастотное плато, которое расширяется при повышении концентрации мономера. Точка пересечения между кривыми $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ смещается в область меньших частот, что соответствует увеличению времени релаксации. В соответствии с литературными данными, полученными при значительно меньших концентрациях олеата калия [19, 26], подобное реологическое поведение обусловлено взаимодействием молекул акриламида с цилиндрическими мицеллами и их частичным проникновением в область полярных головок в мицелле. Это вызывает изменение упаковки молекул ПАВ, выражающееся в фактическом увеличении расстояния между полярными головками. В результате разветвления становятся

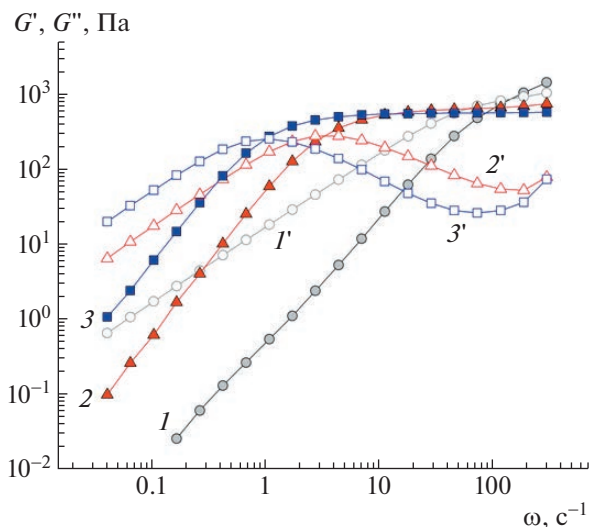


Рис. 2. Зависимости модуля накоплений G' (темные точки) и модуля потерь G'' (светлые) от угловой частоты ω для водных растворов, содержащих 14 мас. % олеата калия, 9 мас. % KCl и различные концентрации акриламида: 0 (1, 1'), 2 (2, 2'), 6 мас. % (3, 3'). Растворитель H_2O , температура 20°C .

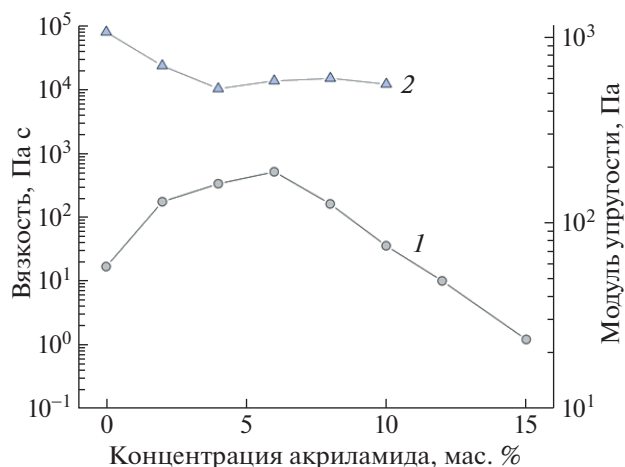


Рис. 3. Зависимости вязкости (1) и модуля упругости (2) от концентрации акриламида в водных растворах, содержащих 14 мас. % олеата калия и 9 мас. % KCl. Растворитель H_2O , температура 20°C .

менее энергетически выгодными, и происходит перестроение структуры мицелл с образованием более длинных агрегатов с меньшим количеством разветвлений, что приводит к усилению вязкоупругости, а также к увеличению вязкости (рис. 3). Максимум вязкости наблюдается при содержании акриламида 6 мас. %, что, по всей видимости, соответствует наиболее длинным линейным цилиндрическим мицеллам. При дальнейшем повышении концентрации акриламида вязкость падает (рис. 3), что является следствием уменьшения длины линейных цилиндрических мицелл, вызванного взаимодействием с мономером [26]. Тем не менее, в широком диапазоне концентраций акриламида (0–12 мас. %) вязкость растворов на четыре порядка превышает вязкость воды; это свидетельствует о сохранении сетки из переплетенных червеобразных мицелл. Данный факт подтверждается тем, что растворы сохраняют достаточно высокой модуль упругости G_0 (рис. 3). При добавлении небольших концентраций акриламида значение G_0 немного падает, что, в соответствии с литературными данными, происходит при уменьшении количества разветвлений в мицеллярной сетке [27]. При более высоких концентрациях акриламида G_0 остается практически постоянным, что характерно для линейных мицелл при постоянной концентрации ПАВ [27]. Согласно данным малоуглового рассеяния нейтронов, кривая рассеяния в присутствии акриламида хорошо описывается моделью цилиндра с радиусом $18.6 \text{ \AA}$ и взаимодействиями исключенного объема (рис. 1). Таким образом, при добавлении акрила-

мида к разветвленной мицеллярной сетке олеата калия сохраняется локальная цилиндрическая структура мицелл и не меняется их радиус, но мицеллы становятся менее разветвленными и затем трансформируются в линейные.

Для дальнейших исследований выбрана концентрация акриламида 8 мас. %, соответствующая полуразбавленному раствору линейных червеобразных мицелл с высокой вязкостью, и проведена радикальная полимеризация с образованием полиакриламида (ПАА) в присутствии мицеллярной сетки. После полимеризации структура агрегатов ПАВ значительно изменяется, что подтверждается данными малоуглового рассеяния нейтронов. На рис. 4 представлены кривые рассеяния от смесей ПАВ и ПАА после проведения полимеризации, а также от молекул ПАА, полученных в отсутствие ПАВ в аналогичных условиях. Видно, что интенсивность рассеяния от смесей ПАВ и ПАА на один–два порядка выше, чем интенсивность рассеяния от молекул ПАА, практически во всем диапазоне векторов рассеяния. Это свидетельствует о том, что агрегаты ПАВ вносят основной вклад в рассеяние, что обусловлено их большими размерами, чем у молекул ПАА.

Таким образом, кривые рассеяния от смеси ПАВ–ПАА в основном определяются структурой агрегатов ПАВ, которая значительно отличается от исходной структуры мицелл в отсутствие полимера (рис. 4). Как показано выше, до проведения полимеризации ПАВ образует червеобразные мицеллы как в отсутствие, так и в присутствии акриламида (рис. 1). После полимеризации форма кривой существенно меняется: при промежуточных векторах рассеяния появляется выраженный структурный пик, а при малых q наблюдается на-

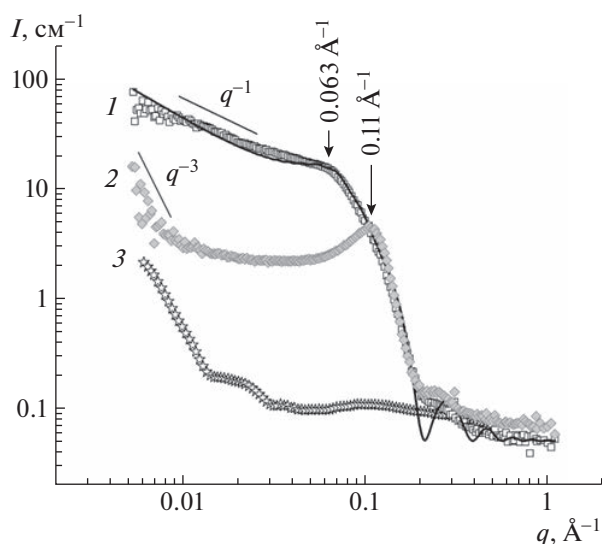


Рис. 4. Кривые малоуглового рассеяния нейтронов для растворов, содержащих 14 мас. % олеата калия и 9 мас. % хлорида калия в отсутствие (1) и в присутствии 8 мас. % ПАА (2), а также 8 мас. % ПАА в отсутствие ПАВ (3). Растворитель D_2O , температура $20^\circ C$.

клон $I \sim q^{-3}$, что характерно для биконтинуальной структуры, имеющей локальную плоскую (ламелярную) геометрию [28]. В такой структуре, в отличие от сетки цилиндрических мицелл, все части системы связаны друг с другом, т.е. молекулы ПАВ образуют единый агрегат. При этом толщина ламелярной структуры составляет $40 \text{ \AA}$, что вдвое больше длины полностью вытянутого хвоста молекулы олеата калия.

В смесях ПАВ–ПАА наблюдается синергетическое увеличение вязкоупругости по сравнению

с компонентами – раствором червеобразных мицелл ПАВ без ПАА, а также раствором молекул ПАА, полученным без ПАВ в аналогичных условиях (рис. 5). При концентрации 8 мас. % раствор ПАА без ПАВ является полуразбавленным, что подтверждается высокой вязкостью при нулевой скорости сдвига (2 Па с) и наличием вязкоупругих свойств. Вязкость смеси ПАВ–ПАА составляет 600 Па с, что практически на два порядка превышает вязкость каждого из компонентов. Вязкоупругие свойства смеси также значительно более выражены, чем у компонентов: на зависимости $G'(\omega)$ появляется выраженное упругое плато, а точка пересечения кривых $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ смещается влево, что соответствует значительному увеличению времени релаксации по сравнению с компонентами.

Подобный синергетический эффект может быть объяснен микрофазным разделением, возникающим в смесях ПАА и ПАВ. Микрофазное разделение характерно для смесей агрегатов ПАВ и гидрофильных водорастворимых полимеров [29, 30] и заключается в образовании двух типов микродоменов, обогащенных либо молекулами ПАВ, либо полимером. Возникновение микрофазного разделения подтверждается данными малоуглового рассеяния нейтронов. Так, до проведения полимеризации на кривой рассеяния виден очень слабо выраженный структурный пик при $q^* = 0.063 \text{ \AA}^{-1}$, возникающий из-за объемных взаимодействий между мицеллами. После полимеризации структурный пик становится явно выраженным и смещается в область больших векторов рассеяния ($q^* = 0.11 \text{ \AA}^{-1}$), что свидетельствует об уменьшении среднего расстояния d между агрегатами ПАВ, которое связано с положением

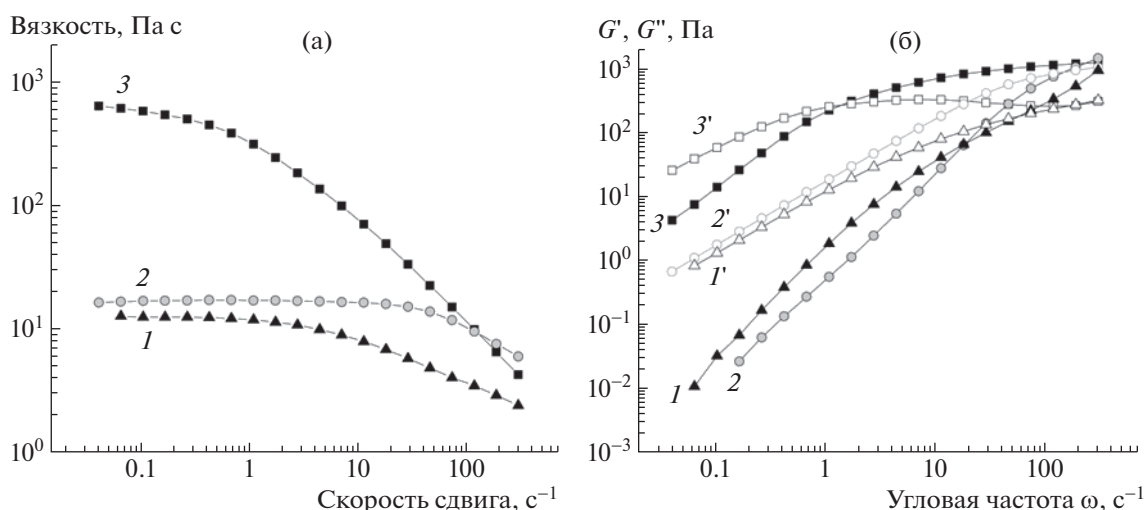


Рис. 5. Зависимости вязкости от скорости сдвига (а), модуля накоплений G' (темные точки) и модуля потерь G'' (светлые) от угловой частоты ω (б) для водных растворов, содержащих 8 мас. % ПАА (1, 1'), 14 мас. % олеата калия и 9 мас. % КСл (2, 2'), а также 14 мас. % олеата калия, 9 мас. % КСл и 8 мас. % ПАА (3, 3'). Растворитель H_2O , температура $20^\circ C$.

структурного пика формулой $d = 2\pi/q^*$ [31]. Так как в процессе полимеризации концентрация ПАВ остается постоянной, смещение структурного пика свидетельствует о локальном концентрировании молекул ПАВ в своих микродоменах.

По всей видимости, микрофазное расслоение, вызванное полимеризацией, является причиной структурного перехода от червеобразных мицелл ПАВ к биконтинуальной структуре. Действительно, биконтинуальные структуры наблюдали в растворах при более высоких концентрациях ПАВ [32]. При выбранной же в работе концентрации ПАВ (14 мас. %) еще образуются цилиндрические мицеллы. Формирование микродоменов приводит к локальному концентрированию молекул ПАВ, что вызывает трансформацию цилиндрических мицелл в биконтинуальную структуру.

Таким образом, после проведения полимеризации формируется биконтинуальная структура, образованная молекулами ПАВ, в которую внедрены макромолекулы ПАА. Насколько нам известно, подобные структуры ранее не были описаны в литературе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом малоуглового рассеяния нейтронов показано, что полимеризация водорастворимого мономера акриламида в полуразбавленных растворах анионного ПАВ олеата калия приводит к изменению структуры агрегатов, образованных молекулами ПАВ, из цилиндрической в биконтинуальную. В смесях ПАВ с биконтинуальной структурой и молекул полиакриламида наблюдается значительное усиление вязкоупругих свойств по сравнению с компонентами, обусловленное микрофазным разделением с образованием доменов, обогащенных либо молекулами ПАВ, либо полимером.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 21-73-10197).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семчиков Ю.Д. Высокомолекулярные соединения. М.: Академия, 2008.
2. Gur'eva L.L., Tkachuk A.I., Estrin Ya.i., Komarov B.A., Dzhevadyan E.A., Estrina G.A., Bogdanova L.M., Surkov N.F., Rozenberg B.A. // *Polymer Science A*. 2008. V. 50. № 3. P. 283.
3. Kulichikhin S.G., Malkin A.Ya., Polushkina O.M., Kulichikhin V.G. // *Polym. Eng. Sci.* 1997. V. 37. № 8. P. 1331.
4. Fischer E.J., Storti G., Cuccato D. // *Processes*. 2017. V. 5. № 2. P. 23.
5. Jaeger W., Hahn M., Lieske A., Zimmermann A., Brand F. // *Macromol. Symp.* 1996. V. 111. № 1. P. 95.
6. Evans F.D., Wennerström H. *The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet*. New York: Wiley-VCH, 1999.
7. Hill A., Candau F., Selb J. // *Macromolecules*. 1993. V. 26. № 17. P. 4521.
8. Candau F., Biggs S., Hill A., Selb J. // *Prog. Org. Coat.* 1994. V. 24. № 1–4. P. 11.
9. Friend J.P., Alexander A.E. // *J. Polym. Sci., Polym. Chem.* 1968. V. 6. P. 1833.
10. Niranjan P.S., Tiwari A.K., Upadhyay S.K. // *J. Appl. Polym. Sci.* 2011. V. 122. P. 981.
11. Barthelet C., Wilson J., Cadix A., Destarac M., Chassenieux C., Harrisson S. // *J. Polym. Sci., Polym. Chem.* 2018. V. 56. № 7. P. 760.
12. Sabbadin J., François J. // *Colloid Polym. Sci.* 1980. V. 258. P. 1250.
13. Dreiss C.A. // *Soft Matter*. 2007. V. 3. № 8. P. 956.
14. Shibaev A.V., Osipov A.A., Philippova O.E. // *Gels*. 2021. V. 7. № 4. P. 258.
15. Israelachvili J.N., Mitchell D.J., Ninham B.W. // *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*. 1976. V. 72. P. 1525.
16. Bergström L.M. // *AIP Adv.* 2018. V. 8. № 5. P. 055136.
17. Can V., Kochovski Z., Reiter V., Severin N., Siebenburger M., Kent B., Just J., Rabe J.P., Ballauf M., Okay O. // *Macromolecules*. 2016. V. 49. № 6. P. 2281.
18. Tuncaboylu D.C., Sari M., Oppermann W., Okay O. // *Macromolecules*. 2011. V. 44. № 12. P. 4997.
19. Shibaev A.V., Ospennikov A.S., Kuznetsova E.K., Kuklin A.I., Aliev T.M., Novikov V.V., Philippova O.E. // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. P. 4445.
20. Shibaev A.V., Smirnova M.E., Kessel D.E., Bedin S.A., Razumovskaya I.V., Philippova O.E. // *Nanomaterials*. 2021. V. 11. P. 1271.
21. Roland S., Miquelard-Garnier G., Shibaev A.V., Aleshina A.L., Chennevière A., Matsarskaia O., Sollogoub C., Philippova O.E., Iliopoulos I. // *Polymers*. 2021. V. 13. P. 4255.
22. Shibaev A.V., Aleshina A.L., Arkharova N.A., Orekhov A.S., Kuklin A.I., Philippova O.E. // *Nanomaterials*. 2020. V. 10. № 12. P. 2353.
23. Molchanov V.S., Philippova O.E. // *Colloid J.* 2009. V. 71. № 2. P. 239.
24. Calabrese M.A., Wagner N.J. // *ACS Macro Lett.* 2018. V. 7. № 6. P. 614.
25. Lequeux F. // *Europhys. Lett.* 1992. V. 19. P. 675.
26. Ospennikov A.S., Gavrilo A.A., Artykulnyi O.P., Kuklin A.I., Novikov V.V., Shibaev A.V., Philippova O.E. // *J. Colloid Interface Sci.* 2021. V. 602. P. 590.
27. Oelschlaeger C., Schopferer M., Scheffold F., Willenbacher N. // *Langmuir*. 2009. V. 25. № 2. P. 716.
28. Grillo I. // *Soft Matter Characterization* / Ed. by R. Borsali, R. Pecora. Springer, 2008. P. 723.
29. Li X., Lin Z., Cai J., Scriven L.E., Davis H.T. // *J. Phys. Chem.* 1995. V. 99. P. 10865.
30. Shibaev A.V., Kuklin A.I., Torocheshnikov V.N., Orekhov A.S., Roland S., Miquelard-Garnier G., Matsarskaia O., Iliopoulos I., Philippova O.E. // *J. Colloid Interface Sci.* 2022. V. 611. P. 46.
31. Gamez-Corralles R., Berret J.-F., Walker L.M., Oberdisse J. // *Langmuir*. 1999. V. 15. P. 6755.
32. Salentinig S., Sagalowicz L., Glatter O. // *Langmuir*. 2010. V. 26. № 14. P. 11670.

УДК 541.64:547.398.1

НАРУШЕНИЕ ГОМОЛОГИИ В РЯДУ АМФИФИЛЬНЫХ ГРЕБНЕОБРАЗНЫХ СТАТИСТИЧЕСКИХ СОПОЛИМЕРОВ N-МЕТИЛ-N-ВИНИЛАЦЕТАМИДА И N-МЕТИЛ-N-ВИНИЛАМИНА С УМЕРЕННОЙ ЧАСТОТОЙ ПРИВИВКИ ДОДЕЦИЛЬНЫХ БОКОВЫХ ГРУПП

© 2023 г. А. А. Гостева^а, О. В. Окатова^а, И. И. Гаврилова^а, Е. Ф. Панарин^а, Г. М. Павлов^{а,*}

^аИнститут высокомолекулярных соединений Российской академии наук
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31, Россия

*e-mail: georges.pavlov@mail.ru

Поступила в редакцию 25.04.2023 г.

После доработки 19.07.2023 г.

Принята к публикации 31.08.2023 г.

Серия водорастворимых гребнеобразных сополимеров N-метил-N-винилацетамида и N-метил-N-виниламина (МВАА-*co*-МВА) с гидрофобными додецильными боковыми группами $C_{12}H_{25}$ исследована в 0.1 М растворе NaCl при подавлении полиэлектролитных эффектов методами молекулярной гидродинамики: вискозиметрии, поступательной диффузии и скоростной седиментации в разбавленных растворах. Рассматриваются вопросы гомологии этих амфифильных сополимеров. Результаты вискозиметрии, представленные в координатах $\ln \eta_r$ от $c[\eta]$, позволяют различать макромолекулы сополимеров по степени их гидрофобности. Мерой гидрофобности амфифильных сополимеров служат положительные значения второй производной B_2 , определяемой из начального хода кривых этих зависимостей. Заметные различия в величинах B_2 для разных сополимеров указывают на то, что они не являются истинным гомологическим рядом. Для квази-гомологического ряда, сформированного из сополимеров МВАА-*co*-МВА $C_{12}H_{25} \cdot HI$ с близкими значениями B_2 , получены соотношения Куна–Марка–Хаувинка–Сакурады и проведена оценка равновесной жесткости цепей по адаптированному уравнению Грэя–Блумфельда–Хирста.

DOI: 10.31857/S2308112023600035, EDN: DDPZKA

ВВЕДЕНИЕ

Амфифильные сополимеры с гидрофобными фрагментами способны проявлять (индуцировать) самосборку в водной среде. В разбавленных растворах таких сополимеров внутримолекулярная ассоциация определенных групп в макромолекулах способствует образованию физических связей, которые значительно слабее ковалентных связей. При переходе к более концентрированным растворам амфифильных сополимеров происходит образование межцепных связей, что в результате приводит к гелеобразованию. Самосборка амфифильных полимеров изучается на протяжении многих десятилетий благодаря способности этих материалов предлагать/демонстрировать богатое разнообразие формирующихся как внутри- так и межмолекулярных структур [1–6]. В экспериментальных исследованиях обычно изучают архитектуру амфифильных статистических сополимеров или блок-сополимеров. Ключевое преимущество использования статистических сополимеров заключается в том, что синтез данных сополимеров относительно прост.

Учитывая эту особенность, такие материалы на основе статистических сополимеров имеют хорошие перспективы с точки зрения конечных приложений, поскольку их можно достаточно легко масштабировать [7–9].

Интерес к этим системам обусловлен их многочисленными реальными и возможными применениями, например, молекулярные системы доставки фармацевтических препаратов, модификаторы реологии растворов, адсорбенты и покрытия, флокулянты для очистки сточных вод и стабилизаторы для гетерогенной полимеризации. Амфифильные сополимеры синтезируют на основе как синтетических, так и природных полимеров [10–12].

Широкое изучение самоорганизации амфифильных водорастворимых сополимеров с различной последовательностью распределения гидрофильных и гидрофобных звеньев (статистические, чередующиеся, градиентные сополимеры) вызвано их потенциальной способностью к образованию в водных растворах внутримолекулярных гидрофобных анклавов, а в некоторых

случаях унимолекулярных мицелл малых размеров [13–17].

Экспериментальное изучение самоорганизации амфифильных сополимеров проводят с использованием различных экспериментальных методов, таких как реология [18–22], рассеяние электромагнитного излучения [23, 24], метод флуоресценции [25] и другие [6, 26]. Большое число теоретических работ посвящено изучению процессов самоорганизации амфифильных сополимеров на молекулярном и межмолекулярном уровнях [2, 3, 6, 22, 27–31].

В настоящем сообщении представлены и обсуждаются результаты гидродинамических исследований ряда амфифильных гребнеобразных статистических сополимеров N-метил-N-винилацетамида и N-метил-N-виниламина (МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅·HI) с умеренной частотой прививки додецильных боковых групп при изменении молекулярной массы основной цепи. Работа является продолжением наших методо- и метрологических изысканий [32–34], посвященных особенностям определения такой фундаментальной величины, как характеристическая вязкость макромолекул при изучении ассоциирующих полимерных систем, а также сопутствующих безразмерных параметров. Полученные для ряда сополимеров, априори полагаемых быть гомологическим рядом, экспериментальные данные демонстрируют отсутствие строгой гомологичности в изученном ряду. В работе рассматривается экспериментальный параметр, который позволяет различать образцы по уровню их гидрофобности.

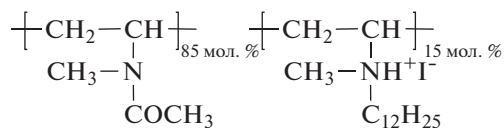
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез амфифильных сополимеров

N-метил-N-винилацетамида и йодида

N-метил-N-виниламина (МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅·HI)

Структура исследованных в работе статистических гребнеобразных амфифильных сополимеров N-метил-N-винилацетамида и йодида N-метил-N-виниламина, содержащих 15 мол. % додецильного радикала –C₁₂H₂₅, приведена ниже.



Сополимеры N-метил-N-винилацетамида и N-метил-N-виниламина синтезировали частичным гидролизом гомополимера N-метил-N-винилацетамида (ПМВАА). Полимеризация гомополимера описана в работе [35]. Гидролиз гомополимера (ПМВАА) проводили в 1.8 н HCl до содержания заряженных звеньев 15 мол. %. Содержание заряженных групп в сополимерах определяли аргентометрическим титрованием на кондуктометре ТВЛ-1. Затем полученные сополиме-

ры N-метил-N-винилацетамида и N-метил-N-виниламина гидрохлорида (МВАА-*co*-МВАА·HCl) алкилировали при температуре 90°C в течение 18 ч иодистым алкилом C₁₂H₂₅I [36]. Содержание алкильных групп в сополимерах определяли аргентометрическим титрованием ионов йода на кондуктометре ТВЛ-1.

Методы

Макромолекулы сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅·HI изучали методами молекулярной гидродинамики при 25°C в 0.1 М NaCl в условиях подавления первичных полиэлектролитных эффектов. Вискозиметрические исследования осуществляли с использованием капиллярного вискозиметра Оствальда. Скоростную седиментацию изучали на аналитической ультрацентрифуге “Beckman XLI” в двухсекторной кювете с оптическим путем 12 мм при скорости вращения ротора 40000 об/мин. Седиментационные интерференционные сканы обрабатывали в программе Sedfit [37]. Для учета концентрационной зависимости исследовали растворы при трех концентрациях в диапазоне 0.0008–0.0035 г/см³. Коэффициенты седиментации s_0 при бесконечном разбавлении рассчитывали из построения, описываемого формулой $s^{-1} = s_0^{-1} (1 + k_s c)$, где s – коэффициент седиментации при данной концентрации, k_s – концентрационный коэффициент Гралена.

Поступательную диффузию исследовали на поляризационно-интерферометрическом диффузомере Цветкова [38] классическим методом образования границы между раствором и растворителем в металлической кювете с тефлоновым вкладышем толщиной 3 см по ходу луча [39]. Концентрации растворов 0.0025–0.0003 г/см³, что соответствует степени разбавленности $0.004 < c[\eta] < 0.022$. Расплывание диффузионной границы фиксировали через определенные промежутки времени с помощью цифровой камеры. Продолжительность опытов составляла 6–15 ч в зависимости от величины характеристической вязкости сополимеров. Диффузионные интерферограммы обрабатывали с использованием программного обеспечения [40]. Дисперсию интерференционных кривых рассчитывали в гауссовом приближении по максимальной ординате и площади [38]. Коэффициент диффузии D вычисляли по наклону экспериментальных зависимостей дисперсии диффузионной границы σ^2 от продолжительности опыта t : $D = \left(\frac{\Delta \sigma^2}{\Delta t} \right) / 2$.

Детально методика седиментационно-диффузионного анализа представлена в работах [35, 41–43]. Фактор плавучести сополимеров рассчитывали по плотности растворов сополимеров, опреде-

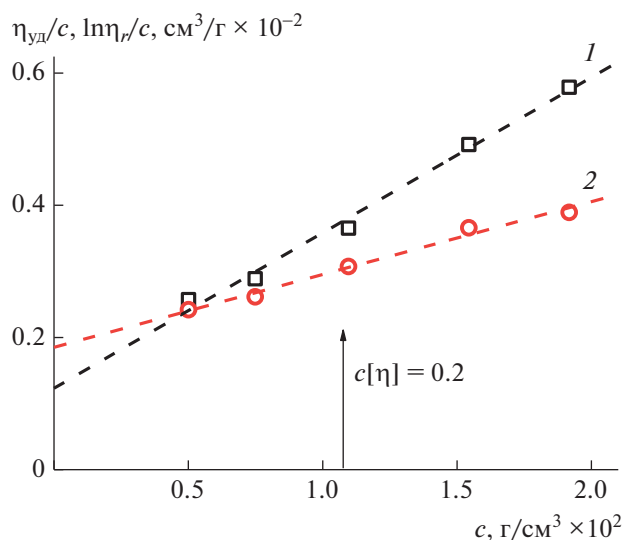


Рис. 1. Зависимости Хаггинса $\eta_{уд}/c$ (1) и Крэмера $\ln\eta_r/c$ (2) от концентрации c для амфифильного сополимера МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl (табл. 1, сополимер 8). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

ленной на денситометре Kyoto “Electronics DA-640”. Измерения растворов сополимеров проводили как в чистой воде, так и в водно-солевом растворе 0.1 М NaCl. Среднее значение фактора плавучести составило $(1 - \nu\rho_0) = (0.246 \pm 0.04)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вискозиметрические результаты

Ранее было показано [32–34], что для достоверного определения значений характеристической вязкости, особенно в случае сложных поли-

мерных систем, необходимо использовать двойное построение зависимостей Хаггинса [44]:

$$\eta_{уд}/c = [\eta]_X + k_X[\eta]^2 c + \dots \quad (1)$$

и Крэмера [45]:

$$\ln\eta_r/c = [\eta]_K + k_K[\eta]^2 c + \dots, \quad (2)$$

где $\eta_{уд} = \eta_r - 1$ – удельная вязкость раствора, $\eta_{уд}/c$ – приведенная вязкость, c – концентрация полимера в растворе, k_X и k_K – безразмерные параметры Хаггинса и Крэмера соответственно. Оба параметра характеризуют термодинамическое качество растворителя.

На рис. 1 приведен пример такого двойного построения для сополимера 8 в табл. 1. При исследовании амфифильных гребнеобразных сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl нами было установлено, что во всех случаях значения характеристической вязкости $[\eta]_X$, получаемые из построения Хаггинса, меньше (в разной мере), чем $[\eta]_K$, получаемые из построения Крэмера, при этом k_X существенно превышают 0.5, а k_K имеют положительные значения (табл. 1).

Различие в получаемых отсекаемых отрезках (величинах $[\eta]$) при $c \rightarrow 0$ в построениях Хаггинса и Крэмера вызвано ранним проявлением вклада квадратичного по концентрации члена разложения в уравнении Хаггинса (уравнение (1)). Поскольку оба построения должны приводить к эквивалентным значениям характеристической вязкости $[\eta]$, необходимо провести коррекцию построения $\eta_{уд}/c$ в области малых концентраций. Для этого был предложен следующий подход [32, 33]: формируется система данных, состоящая из нескольких экспериментальных точек зависимости Хаггинса, полученных при наименьших концентрациях растворов, и к ним добавляется точка

Таблица 1. Характеристическая вязкость $[\eta]$, определенная по уравнениям Хаггинса $[\eta]_X$ и Крэмера $[\eta]_K$ в 0.1 М NaCl, параметры Крэмера k_K и Хаггинса k_X и корректный параметр Хаггинса $k_X^{\text{корр}}$

Сополимер	$[\eta]_X$, см³/г	k_X	$[\eta]_K$, см³/г	k_K	$k_X^{\text{корр}}$
1	60 ± 1.0	1.45 ± 0.09	64.3 ± 0.4	+0.33 ± 0.02	0.88
2	56 ± 4.0	2.3 ± 0.50	63 ± 1.0	+0.55 ± 0.07	1.23
3	36 ± 3.0	4 ± 1.0	41 ± 2.0	+1.5 ± 0.30	2.42
4	42 ± 5.0	6 ± 2.0	54 ± 2.0	+1.3 ± 0.20	2.24
5	64 ± 2.0	1.7 ± 0.20	72 ± 2.0	+0.30 ± 0.07	0.81
6	25 ± 2.0	6 ± 1.0	29.6 ± 0.5	+2.1 ± 0.10	3.09
7	20 ± 4.0	9 ± 4.0	26.6 ± 0.07	+2.2 ± 0.20	3.26
8	12 ± 2.0	16 ± 5.0	18.5 ± 0.9	+3.2 ± 0.50	4.02
9	16.6 ± 0.8	4.0 ± 0.7	19.2 ± 0.3	+1.4 ± 0.10	2.20
10	22.4 ± 0.9	1.3 ± 0.3	23.3 ± 0.8	+0.40 ± 0.20	0.86
11	15.4 ± 0.4	4.2 ± 0.4	17.03 ± 0.03	+1.93 ± 0.02	2.75

Таблица 2. Коэффициенты диффузии D_0 , седиментации s_0 , характеристическая вязкость, определенная по уравнению Крэмера $[\eta]_K$, гидродинамический инвариант A_0 и молекулярная масса M_{SD} амфифильных сополимеров МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl при 25°C

Сополимер	$[\eta]_K$, см ³ /г	$D_0 \times 10^7$, см ² /с	$s_0 \times 10^{13}$, с	$A_0 \times 10^{10}$, г см ² /с ² К моль ^{1/3}	$M_{SD} \times 10^{-3}$
1	64.0	2.0	3.1	2.82	156
2	63.0	2.10	3.2	2.92	153
3	41.0	2.20	3.3	2.64	151
4	54.0	2.40	3.6	3.16	151
5	72.0	1.72	2.8	2.48	149
6	30.0	2.50	2.9	2.48	117
7	27.0	3.50	2.7	2.93	78
8	18.5	3.25	2.5	2.39	77
9	19.0	3.70	2.0	2.45	54
10	23.0	4.10	1.8	2.69	44
11	17	5.75	2.0	3.16	35

на оси ординат ($c = 0$), равная величине характеристической вязкости $[\eta]$, полученной из построения Крэмера (уравнение (2)). По этим точкам проводим параболическую зависимость, а затем получаем уравнение касательной к параболе в точке $c = 0$, из которого рассчитываем корректное значение параметра Хаггинса [33]. Согласование значения характеристической вязкости $[\eta]_K \equiv [\eta]_X$ приводит к существенному уменьшению параметра Хаггинса. Корректные значения представлены в табл. 1. Изложенное выше также означает, что для адекватной оценки $[\eta]$ по Хаггину без предложенной корректировки необходимо использовать вискозиметрические данные в *значительно* меньшем интервале концентраций, чем при построении Крэмера.

Важно заметить, что проявление начальной вогнутости зависимости $\eta_{уд}/c$ сложно наблюдать без сопоставления обеих зависимостей $\eta_{уд}/c$ и $\ln \eta_r/c$ на одном графике, поэтому при обработке вискозиметрических данных необходимо всегда использовать двойное построение Хаггинса–Крэмера.

Характеристическую вязкость амфифильных сополимеров измеряли при степени разбавления $0.095 < c[\eta] < 0.5$. Несмотря на сильную разбавленность изучаемых растворов амфифильных сополимеров МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅ · HI, зависимость Хаггинса уже в указанном диапазоне начинает проявлять нелинейность.

Анализируя результаты, представленные в табл. 1, можно заключить, что корректировка значений характеристической вязкости, получаемой из построения Хаггинса, составляет в среднем 15% в сторону увеличения. При этом значения параметра Хаггинса уменьшаются в среднем в

два раза соответственно. В связи с этим следует обратить внимание на таблицы значений $[\eta]$ и k_X , опубликованные в Polymer Handbook [46]. Можно утверждать, что приведенные в них значения $k_X > \approx 0.8$ завышенные, а соответствующие значения $[\eta]$ занижены, т.е. они не являются корректными и должны быть исключены из рассмотрения.

Молекулярно-гидродинамические параметры

В табл. 2 приведены значения коэффициентов седиментации, диффузии, а также характеристических вязкостей $[\eta]_K$, используя которые рассчитали гидродинамический инвариант по соотношению

$$A_0 = (R[D]^2[s][\eta])^{1/3}, \quad (3)$$

где $[s] = s_0\eta_0/(1 - \nu\rho_0)$ – характеристический коэффициент седиментации, $[D] = D_0\eta_0/T$ – характеристический коэффициент диффузии, R – универсальная газовая постоянная, ν – парциальный удельный объем полимера, ρ_0 и η_0 – плотность и вязкость растворителя соответственно. Введение гидродинамического инварианта основано на предположении о равенстве размеров макромолекулы в двух разных типах ее движения, поступательного и вращательного [38]. Флуктуации A_0 около среднего значения в гомологическом ряду свидетельствуют о согласованности полученных экспериментальных величин (характеристической вязкости, коэффициентов диффузии и седиментации) и о возможности их дальнейшей интерпретации. Значения гидродинамического инварианта A_0 приведены в табл. 2. Среднее значение A_0 для сополимеров МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅ · HI оказа-

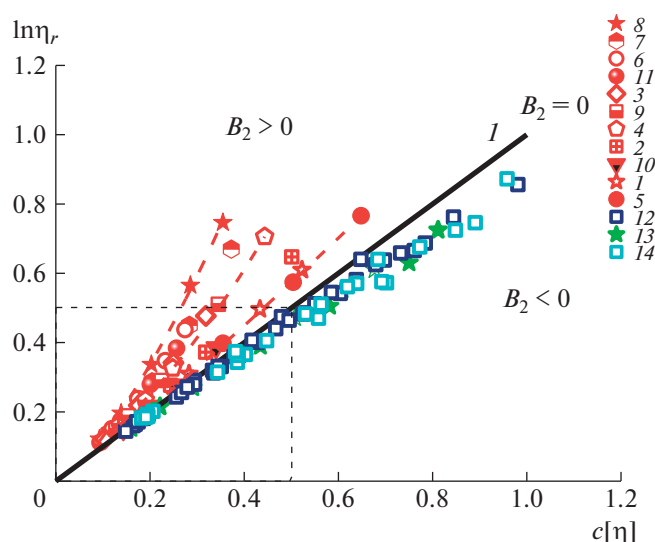


Рис. 2. Зависимости натурального логарифма относительной вязкости $\ln \eta_r$ от степени разбавления $c[\eta]$ для амфифильных сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в водном 0.1 М NaCl (1–11), в ДМФА + 0.1 М LiCl (12), гомополимеров ПМВАА в H₂O (13), сополимеров МВАА-*co*-МВА · HCl 84–16 мол. % в 0.2 М NaCl (14). Соплимеры МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI расположены в порядке уменьшения гидрофобных взаимодействий (табл. 3). Сплошная линия ($\ln \eta_r = c[\eta]$, $B_2 = 0$) – граница раздела двух областей.

лось равным $A_0 = (2.7 \pm 0.1) \times 10^{-10}$ Г см²/с² К моль^{1/3}, что заметно меньше теоретического значения. Каноническое теоретическое значение гидродинамического инварианта для гауссовых цепей при отсутствии объемных эффектов, полученное с использованием предварительно усредненного гидродинамического тензора Озеена, составляет $A_0^{\text{theor}} \equiv kP_0/\Phi_0^{1/3} = 3.84 \times 10^{-10}$ Г см²/с² К моль^{1/3}, где $P_0 = 5.11$ и $\Phi_0 = 2.86 \times 10^{23}$ – канонические значения гидродинамических параметров Флори [38]. Следует отметить, что отличие экспериментального значения A_0^{exp} от теоретического A_0^{theor} неизбежно приводит к разным оценкам длины статистического сегмента Куна A и гидродинамического диаметра d по данным поступательного и вращательного трения, рассчитываемых с использованием канонических значений гидродинамических параметров Флори P_0 и Φ_0 .

Абсолютную молекулярную массу (табл. 2) рассчитывали по уравнению Сведберга с использованием полученных экспериментальных значений s_0 , D_0 и $(1-\nu\rho_0)$:

$$M_{sD} = \frac{RT}{(1-\nu\rho_0)} \cdot \frac{s_0}{D_0} \quad (4)$$

Зависимость $[\eta]$ от ММ может быть представлена в виде уравнения Куна–Марка–Хаувинка–Саку-

рады $[\eta] = KM^{b_\eta}$. Для гибкоцепных полимеров в хорошем растворителе скейлинговый индекс b_η находится в пределах $0.5 \leq b_\eta \leq 0.85$ [47]. К таким типам полимерных систем относятся многие гибкоцепные полимеры, в том числе на основе N-виниламинов.

Мера гидрофобных взаимодействий в цепях МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI

Уравнение Крэмера можно записать в координатах зависимости $\ln \eta_r$ от степени разбавления $c[\eta]$. В широком интервале концентраций данная зависимость хорошо описывается полиномом второй степени и позволяет сравнивать полимеры разного химического строения, разной молекулярной массы и в различных растворителях:

$$\ln \eta_r = A + B_1(c[\eta]) + B_2(c[\eta])^2 + \dots \quad (5)$$

В области $c[\eta] < 2$, как правило, выполняется условие $A \approx 0$, $B_1 \approx 1$, тогда соотношение (5) преобразуется к виду, соответствующему уравнению (2):

$$\ln \eta_r \approx (c[\eta]) + B_2(c[\eta])^2 \quad (6)$$

Это означает, что вторая производная зависимости вблизи $c[\eta] = 0$ суть параметр Крэмера ($B_2 \approx k_K$). Для полимерных систем, не проявляющих ассоциативных взаимодействий в растворах, величина B_2 отрицательная [32], тогда как для ассоциирующих полимерных систем B_2 , как и k_K – положительны и могут служить мерой гидрофобных взаимодействий в полимерных цепях [34].

Рассмотрим зависимость $\ln \eta_r = f(c[\eta])$ для исследованного ряда сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl и в ДМФА + 0.1 М LiCl, гомополимеров N-метил-N-винилацетамида (ПМВАА) в воде [35] и сополимеров N-метил-N-винилацетамида и N-метил-N-виниламина гидрохлорида (МВАА-*co*-МВА · HCl 84–16 мол. %) в 0.2 М NaCl [48] (рис. 2). Прямая линия, проведенная при условиях $\ln \eta_r = c[\eta]$, $B_2 = 0$, является границей разделения полимерных систем, проявляющих гидрофобно-ассоциирующие взаимодействия (область, где $B_2 > 0$) и гидрофильных полимерных систем (область, где $B_2 < 0$) [32–34]. Оказывается, что сополимеры МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в ДМФА + 0.1 М LiCl, как и гомополимеры ПМВАА в H₂O, и сополимеры МВАА-*co*-МВА · HCl в 0.2 М NaCl, образуют практически единую выгнутую зависимость с $B_2 < 0$. Это поведение характеризует набор *гибкоцепных гомологов* без ассоциативных взаимодействий в термодинамически хороших растворителях. Кроме того, совпадение зависимостей для разных полимерных систем означает, что термодинамическое качество растворителей в сравниваемых системах

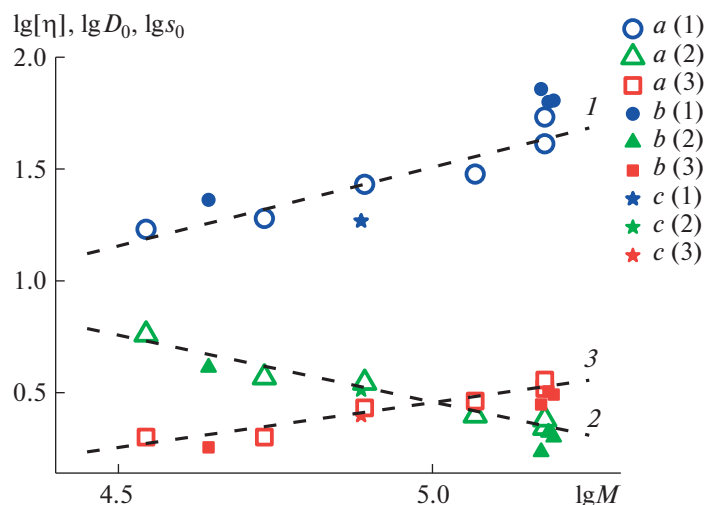


Рис. 3. Двойная логарифмическая зависимость характеристической вязкости (1), коэффициентов поступательной диффузии (2) и коэффициентов скоростной седиментации (3) от молекулярной массы амфифильных сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI. *a* – группа сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI со средним значением $k_K = 1.7 \pm 0.3$ (шесть сополимеров), по которым проведены линейные зависимости; *b* – группа сополимеров с минимальным значением параметра Крэмера (четыре сополимера); *c* – третья группа, состоящая из одного сополимера, с максимальным значением $k_K = 3.2$.

практически эквивалентно. Таким образом, в ор-
гано-солевом растворителе ассоциативные взаи-
модействия в цепях макромолекул МВАА-*co*-
МВАС₁₂H₂₅ · HI не проявляются.

Ситуация кардинальным образом изменяется,
когда сополимеры МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI на-
ходятся в водно-солевом в 0.1 М растворе NaCl.
Совокупность данных смещается влево от линии 1
($\ln \eta_r = c[\eta]$, $B_2 = 0$) (рис. 2) и образуется *система*
вогнутых зависимостей с различными значения-
ми $B_2 > 0$ для разных сополимеров с одинаковой

степенью прививки (15 мол. %). Поскольку
МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI являются *статисти-*
ческими сополимерами, такое различие в прояв-
лении гидрофобных взаимодействий может быть
связано с неоднородным распределением гидро-
фобных групп вдоль основной цепи макромоле-
кул. Чем больше значение B_2 , тем сильнее прояв-
ляются внутрицепные гидрофобные взаимодей-
ствия между гидрофобными группами одной
макромолекулы. Строго говоря, изученный ряд
теряет в этих условиях свою гомологичность, что
обусловлено композиционной неоднородностью
сополимеров. Одновременно можно утверждать,
что эта зависимость ($\ln \eta_r = f(c[\eta])$) позволяет
дифференцировать полимеры по уровню их гид-
рофобности, тем самым исследователи получают
дополнительные аналитические возможности
для оценки степени гидрофобности, представ-
ляемые вискозиметрией разбавленных растворов
гидрофобных сополимеров в селективных рас-
творителях. Однако следует заметить, что для ко-
личественного использования величин k_K или B_2
необходима их калибровка. Для этого, например,
следует синтезировать и исследовать гребнеоб-
разные амфифильные регулярные сополимеры с
различными и равномерными распределениями
боковых цепей вдоль основной цепи.

В таблице 3 представлены величины парамет-
ра Крэмера k_K и второй производной B_2 для сопо-
лимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl.
Сополимеры расположены по мере уменьшения
проявления гидрофобных взаимодействий, в по-
рядке уменьшения величин k_K и B_2 .

Таблица 3. Значения величин параметра Крэмера k_K и второй производной B_2 для сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl

Сополимер*	B_2	k_K	$M_{SD} \times 10^{-3}$
8	3.7 ± 0.2	3.2 ± 0.5	77
7	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.2	78
6	2.21 ± 0.09	2.1 ± 0.1	117
11	1.93 ± 0.01	1.93 ± 0.02	35
3	1.7 ± 0.2	1.5 ± 0.3	151
9	1.41 ± 0.07	1.4 ± 0.1	54
4	1.39 ± 0.08	1.3 ± 0.2	151
2	0.62 ± 0.05	0.55 ± 0.07	153
10	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.2	44
1	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.02	156
5	0.25 ± 0.05	0.30 ± 0.07	149

*Номера сополимеров соответствуют номерам сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в табл. 1 и табл. 2.

Считая, что параметры B_2 и k_K могут служить мерой гидрофобности полимеров, можно констатировать, что степень гидрофобности изменяется более чем на порядок в изученном ряду. Этот ряд можно разделить на три группы: первая с минимальным средним значением $k_K = 0.4 \pm 0.1$ (четыре сополимера), вторая со средним значением $k_K = 1.7 \pm 0.3$ (шесть сополимеров) и третья, состоящая из одного сополимера, с максимальным значением $k_K = 3.2$.

Уравнения Куна–Марка–Хаувинка–Сакурады для амфифильных сополимеров МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅·НІ в 0.1 М NaCl

Для дальнейшего обсуждения из табл. 3 выбираем систему сополимеров, характеризующуюся средним значением $k_K = 1.7$, которую в первом приближении будем считать гомологическим рядом (квази-гомологическим). На рис. 3 представлены построения, позволяющие определить параметры серии сополимеров уравнений Куна–Марка–Хаувинка–Сакурады $[\eta] = K_\eta M^{b_\eta}$, $D_0 = K_D M^{b_D}$, $s_0 = K_s M^{b_s}$.

В интервале молекулярных масс $35 < M_{sD} \times 10^{-3} < 156$ для серии из шести сополимеров были получены следующие скейлинговые соотношения:

$$[\eta] = 0.01 M^{0.70 \pm 0.12}, \quad r = 0.9444 \quad (7)$$

$$D_0 = 2.51 \times 10^{-4} M^{-(0.60 \pm 0.06)}, \quad r = -0.9792 \quad (8)$$

$$s_0 = 3.16 \times 10^{-15} M^{0.40 \pm 0.06}, \quad r = 0.9584 \quad (9)$$

Между скейлинговыми индексами b_D и b_s хорошо выполняется соотношение: $|b_D| + b_s = 1$, что является тривиальным обстоятельством при подобном способе определения ММ. С учетом погрешности оценок скейлинговых индексов b_η и b_D можно утверждать, что и соотношение $|b_D| = (1 + b_\eta)/3$ может быть легко получено.

Наибольшие отклонения точек от проведенных зависимостей наблюдаются на зависимости $\lg[\eta]$ от $\lg M$ для сополимеров, относящихся к первому и третьему классу. Поскольку зависимость $[\eta] = f(M)$ наиболее чувствительна к размерам полимерных цепей в растворах по сравнению с данными по поступательному трению, это может служить дополнительным подтверждением негомологичности серии амфифильных сополимеров МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅·НІ.

Оценка равновесной жесткости амфифильных сополимеров МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅·НІ

Для количественной оценки длины статистического сегмента A (длины сегмента Куна), харак-

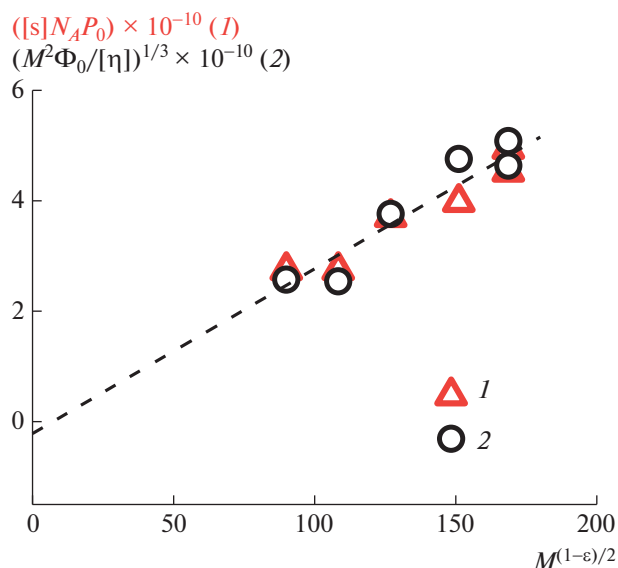


Рис. 4. Зависимости $[s]N_A P_0$ (1) и $(M^2 \Phi_0 / \eta)^{1/3}$ (2) от $M^{(1-\epsilon)/2}$, используемые для оценки статистического сегмента Куна и гидродинамического диаметра из данных поступательного (1) и вращательного трения (2).

теризующей равновесную жесткость молекул МВАА–со–МВАС₁₂H₂₅·НІ, использовали теорию Грэя–Блумфельда–Хирста, рассматривающую зависимость коэффициента поступательного трения червеобразного ожерелья от молекулярной массы с учетом влияния внутримолекулярного протекания и объемных эффектов на размер цепи [42, 49].

При относительной контурной длине $L/A > 2.3$:

$$[s]N_A P_0 = \frac{3M_L^{(1+\epsilon)/2}}{(1-\epsilon)(3-\epsilon)A^{(1-\epsilon)/2}} M^{(1-\epsilon)/2} + \frac{P_0 M_L}{3\pi} \left[\frac{\ln A}{d} - \frac{d}{3A} - \phi(\epsilon) \right], \quad (10)$$

где L – контурная длина цепи; A – длина статистического сегмента Куна; $[s]$ – характеристический коэффициент седиментации; N_A – число Авогадро; P_0 – параметр Флори для поступательного трения, зависит от выбранной модели [43]; ϵ – параметр, характеризующий термодинамическое качество растворителя; d – гидродинамический диаметр цепи; M_L – линейная плотность цепи (масса единицы длины); $\phi(\epsilon) = 1.431 + 2.635\epsilon + 4.709\epsilon^2$ – свободный член, описывающий молекулярное протекание.

Термодинамический параметр ϵ может быть рассчитан из данных по поступательному и вращательному трениям согласно уравнениям $\epsilon = 2|b_D| - 1 = (2b_\eta - 1)/3$.

В предположении о равномерном распределении массы боковых цепей вдоль основной цепи, что является существенным приближением, рассчитали линейную плотность цепи. Массу единицы длины M_L оценили на основе структурной формулы сополимера и рассчитали по формуле $M_L = M_0/\lambda = 4.68 \times 10^9$ г/см моль, где M_0 — усредненная молярная масса повторяющегося звена, а λ — его проекция на направление основной полимерной цепи 2.52×10^{-8} см.

Вискозиметрические данные обработали в предположении эквивалентности гидродинамических размеров макромолекул в явлениях поступательного и вращательного трения [50], используя уравнение

$$[s] N_A P_0 = \left(\frac{M^2 \Phi_0}{[\eta]} \right)^{1/3} \quad (11)$$

С учетом погрешности определения скейлинговых индексов b_η и b_D термодинамический параметр ϵ был принят одинаковым для данных по поступательному и вращательному трению и равным $\epsilon = 0.14$.

До 80-х годов XX века каноническими значениями параметров Флори для поступательного и вращательного трения считались $P_0 = 5.11$ и $\Phi_0 = 2.86 \times 10^{23}$ моль $^{-1}$. Эти величины были получены из теорий J.E. Hearst, W.H. Stockmayer [51] и Н. Yamakawa и М. Fujii [52, 53] с усреднением гидродинамического тензора Озеена [54]. Такая комбинация параметров Флори $P_0 = 5.11$ и $\Phi_0 = 2.86 \times 10^{23}$ моль $^{-1}$ приводит к значению гидродинамического инварианта $A_0 = 3.84 \times 10^{-10}$ г см 2 /с 2 К моль $^{1/3}$. В середине 80-х годов XX века появилась серия работ, в которых гидродинамические взаимодействия при поступательном и вращательном трении оценивались без усреднения Озеена, при помощи машинных экспериментов (метод Монте Карло) [55–57], а также согласно теории ренормгрупп [58]. Эти оценки приводят к большим значениям параметра P_0 для поступательного трения и меньшим значениям параметра Φ_0 для вращательного трения. Например, комбинация гидродинамических параметров $P_0 = 6.20$ и $\Phi_0 = 2.36 \times 10^{23}$ моль $^{-1}$, полученных из теории ренормгрупп [58], приводит к значению $A_0 = 2.96 \times 10^{-10}$ г см 2 /с 2 К моль $^{1/3}$, которое значительно ближе к полученному среднему значению для исследованной серии сополимеров.

Таким образом, расхождения между экспериментальными и теоретическими значениями гидродинамического инварианта неизбежно будут приводить к расхождениям в оценках равновесной жесткости по данным поступательного и вращательного трения. И они будут тем больше, чем

больше эти различия в значениях гидродинамических инвариантов.

Для сополимеров МВАА-*co*-МВАС $_{12}$ H $_{25}$ · НI, отнесенных к квази-гомологическому ряду, экспериментально полученное значение гидродинамического инварианта A_0 составило $A_0 = (2.8 \pm 0.1) \times 10^{-10}$ г см 2 /с 2 К моль $^{1/3}$ и заметно отличается от теоретического значения, полученного при канонических значениях параметров P_0 и Φ_0 . В связи с этим равновесную жесткость цепей оценили при значениях параметров Флори $\Phi_0 = 2.36 \times 10^{23}$ моль $^{-1}$ и $P_0 = 6.20$. На рис. 4 приведены соответствующие построения Грэя–Блумфельда–Хирста. Величина сегмента Куна $A = (21 \pm 4) \times 10^{-8}$ см, гидродинамический диаметр $d = (10 \pm 7) \times 10^{-8}$ см. Данные обрабатывали как единое целое, т.е. прямая проведена по 12 точкам.

Сравним полученные результаты для исследованного сополимера МВАА-*co*-МВАС $_{12}$ H $_{25}$ · НI с результатами уточненной оценки равновесной жесткости макромолекул исходного линейного гомополимера ПМВАА, изученного в водных растворах [35]. Оценку проводили для полимеров с высокими ММ (в интервале $52 < M \times 10^{-3} < 540$), в цепях которых проявляются объемные взаимодействия. Ранее [35] равновесную жесткость оценивали во всем интервале молекулярных масс, включая область малых ММ, где отсутствуют объемные взаимодействия. Для высокомолекулярной серии ПМВАА величина $A_0 = (3.2 \pm 0.1) \times 10^{-10}$ г см 2 /с 2 К моль $^{1/3}$, поэтому при расчете использовали значения параметров Флори для поступательного и вращательного трений $P_0 = 5.3$ и $\Phi_0 = 1.9 \times 10^{23}$ моль $^{-1}$ соответственно. По данным поступательного трения $A_f = (33 \pm 3) \times 10^{-8}$ см, $d_f = (2 \pm 2) \times 10^{-8}$ см, из данных по вращательному трению $A_\eta = (29 \pm 1) \times 10^{-8}$ см, $d_\eta = (5 \pm 1) \times 10^{-8}$ см. Средние оценки для молекул исходного гомополимера ПМВАА: $A = (31 \pm 2) \times 10^{-8}$ см и $d = (3 \pm 2) \times 10^{-8}$ см.

Таким образом, длина сегмента Куна молекул ПМВАА заметно больше, чем для изученных гребнеобразных сополимеров МВАА-*co*-МВАС $_{12}$ H $_{25}$ · НI. Это свидетельствует о более компактной форме цепей сополимеров, имеющих одновременно больший гидродинамический диаметр за счет наличия компактизованных гидрофобных боковых групп.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сополимеры МВАА-*co*-МВАС $_{12}$ H $_{25}$ · НI (85 : 15 мол. %) в 0.1 М NaCl растворе можно дифференцировать по степени гидрофобности, используя вискозиметрические данные в координатах зависимости натурального логарифма $\ln \eta_r$ от сте-

пени разбавления $c[\eta]$. Значение второй производной B_2 зависимости $\ln \eta_r$ от $c[\eta]$ и параметр Крэмера k_K ($B_2 \approx k_K$ при бесконечном разбавлении $c \rightarrow 0$) являются мерой гидрофобности полимеров.

Значение B_2 должно иметь одинаковое значение в полимер-гомологическом ряду. Для изученных МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl наблюдается система вогнутых зависимостей с различными значениями $B_2 > 0$ для разных сополимеров. Таким образом, серия сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI не является гомологическим рядом.

Чем больше значение B_2 , тем сильнее проявляются гидрофобные взаимодействия между гидрофобными группами одной макромолекулы МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в 0.1 М NaCl.

В органо-солевом растворителе ДМФА+0.1 М LiCl величина B_2 имеет отрицательное значение для всех сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI, так же, как и для гомополимеров ПМВАА в водном растворе, и для сополимеров МВАА-*co*-МВА в водно-солевом растворе. В этих условиях ассоциативные взаимодействия в цепях сополимера МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI не проявляются. Одинаковая отрицательная величина B_2 для серии сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI в органическом растворителе свидетельствует о том, что неравномерное распределение алифатических боковых групп в статистическом гребнеобразном сополимере не может быть детектировано в термодинамически хорошем растворителе как для водорастворимой основной цепи, так и для боковой алифатической, т.е. в отсутствие гидрофобных взаимодействий. Иными словами, в таких условиях основная и боковые цепи сополимера теряют свою индивидуальность, т.е. амфифильные сополимеры не отличаются от полимергомологов, хотя ими не являются. При этом и амфифильный МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI, и полимеры ПМВАА и МВАА-*co*-МВА · HCl, не имеющие гидрофобных компонентов, демонстрируют практически одно и то же значение B_2 .

Для квази-гомологического ряда, сформированного из сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI с близкими значениями B_2 , получены зависимости Куна-Марка-Хаувинка-Сакурады.

Равновесную жесткость макромолекул МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI оценили по уравнению Грэя-Блумфельда-Хирста. Длина сегмента Куна $A = 21 \pm 4 \times 10^{-8}$ см, гидродинамический диаметр $d = 10 \pm 7 \times 10^{-8}$ см.

Длина сегмента Куна изученных молекул гребнеобразных сополимеров МВАА-*co*-МВАС₁₂H₂₅ · HI заметно меньше, чем для цепей исходного гомополимера ПМВАА. Это свидетельствует о бо-

лее компактной форме цепей сополимеров. В то же время их гидродинамический диаметр заметно больше за счет боковых групп, компактизованных ("скукожившихся") в водном растворе у основной цепи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122012100171-8 (Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук)).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Winnik M.A., Yekta A. // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 1997. V. 2. № 4. P. 424.
2. Rubinstein M., Dobrynin A.V. // Trends Polym. Sci. 1997. V. 5. P. 181.
3. Dobrynin A.V., Rubinstein M. // Macromolecules. 1999. V. 32. № 3. P. 915.
4. Senan C., Meadows J., Shone P.T., Williams P.A. // Langmuir. 1994. V. 10. № 7. P. 2471.
5. Wolff C., Silberberg A., Priel Z., Layec-Raphalen M.N. // Polymer. 1979. V. 20. № 3. P. 281.
6. Associative Polymers in Aqueous Media / Ed. by J.E.Glass. Washington: Am. Chem. Soc., 2000.
7. Imai S., Hirai Y., Nagao C., Sawamoto M., Terashima T. // Macromolecules. 2018. V. 51. № 2. P. 398.
8. Hattori G., Hirai Y., Sawamoto M., Terashima T. // Polym. Chem. 2017. V. 8. № 46. P. 7248.
9. Li L., Raghupathi K., Song C., Prasad P., Thayumavan S. // Chem. Commun. 2014. V. 50. № 88. P. 13417.
10. Esquenet C., Terech P., Boué F., Buhler E. // Langmuir. 2004. V. 20. № 9. P. 3583.
11. Rinaudo M. // Carbohydr. Polymers. 2011. V. 83. № 3. P. 1338.
12. Lopez C.G., Colby R.H., Cabral J.T. // Macromolecules. 2018. V. 51. № 8. P. 3165.
13. Ma Y., Cao T., Webber S.E. // Macromolecules. 1998. V. 31. № 6. P. 1773.
14. Yusa S.-i., Sakakibara A., Yamamoto T., Morishima Y. // Macromolecules. 2002. V. 35. № 27. P. 10182.
15. Ordanini S., Cellesi F. // Pharmaceutics. 2018. V. 10. № 4. P. 209.
16. Wang X., Li L., He W., Wu C. // Macromolecules. 2015. V. 48. № 19. P. 7327.
17. Kanno R., Tanaka K., Ikami T., Ouchi M., Terashima T. // Macromolecules. 2022. V. 55. № 12. P. 5213.
18. Pabon M., Corpart J.-M., Selb J., Candau F. // J. Appl. Polym. Sci. 2002. V. 84. № 7. P. 1418.
19. Kujawa P., Audibert-Hayet A., Selb J., Candau F. // Macromolecules. 2006. V. 39. № 1. P. 384.
20. Abdala A.A., Wu W., Olesen K.R., Jenkins R.D., Tonelli A.E., Khan S.A. // J. Rheol. 2004. V. 48. № 5. P. 979.
21. Chassenieux C., Nicolai L., Benyahia L. // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 2011. V. 16. № 1. P. 18.
22. Jiang N., Zhang H., Tang P., Yang Y. // Macromolecules. 2020. V. 53. № 9. P. 3438.

23. Neal T.J., Beattie D.L., Byard S.J., Smith G.N., Murray M.W., Williams N.S.J., Emmett S.N., Armes S.P., Spain S.G., Mykhaylyk O.O. // *Macromolecules*. 2018. V. 51. № 4. P. 1474.
24. Kawata T., Hashidzume A., Sato T. // *Macromolecules*. 2007. V. 40. № 4. P. 1174.
25. Ueda M., Hashidzume A., Sato T. // *Macromolecules*. 2011. V. 44. № 8. P. 2970.
26. *Macromolecular Self-Assembly* / Ed. by L. Billon, O. Borisov. Hoboken: Wiley, 2016.
27. Dobrynin A.V., Rubinstein M. // *Macromolecules*. 2000. V. 33. № 21. P. 8097.
28. Limberger R.E., Potemkin I.I., Khokhlov A.R. // *J. Chem. Phys.* 2003. V. 119. № 22. P. 12023.
29. Vasilevskaya V.V., Markov V.A., ten Brinke G., Khokhlov A.R. // *Macromolecules*. 2008. V. 41. № 20. P. 7722.
30. Zhang Z., Huang C., Weiss R.A., Chen Q. // *J. Rheol.* 2017. V. 61. № 6. P. 1199.
31. Zhang Z., Chen Q., Colby R.H. // *Soft Matter*. 2018. V. 14. № 16. P. 2961.
32. Gosteva A., Gubarev A.S., Dommes O., Okatova O., Pavlov G.M. // *Polymers*. 2023. V. 15. № 4.
33. Pavlov G.M., Gosteva A.A. // *Polymer Science A*. 2022. V. 64. № 6. P. 586.
34. Pavlov G.M., Gosteva A.A., Okatova O.V., Dommes O.A., Gavrilova I.I., Panarin E.F. // *Polym. Chem.* 2021. V. 12. № 15. P. 2325.
35. Pavlov G.M., Okatova O.V., Mikhailova A.V., Ulyanova N.N., Gavrilova I.I., Panarin E.F. // *Macromol. Biosci.* 2010. V. 10. № 7. P. 790.
36. Панарин Е.Ф., Гаврилова И.И. // *Высокомолек. соед. Б*. 1977. V. 19. № 4. P. 251.
37. Schuck P. // *Biophys. J.* 2000. V. 78. № 3. P. 1606.
38. Tsvetkov V.N. // *Rigid-Chain Polymers: Hydrodynamic and Optical Properties in Solution*. New York: Plenum Press, 1989.
39. Лавренко П.Н., Окатова О.В. // *Высокомолек. соед. А*. 1977. V. 19. № 11. P. 2640.
40. Lavrenko V.P., Gubarev A.S., Lavrenko P.N., Okatova O.V., Pavlov G.M., Panarin E.F. // *Ind. Lab. Materials Diagnostics*. 2013. V. 79. P. 33.
41. Pavlov G.M., Okatova O.V., Gubarev A.S., Gavrilova I.I., Panarin E.F. // *Macromolecules*. 2014. V. 47. № 8. P. 2748.
42. Pavlov G.M., Perevyazko I.Y., Okatova O.V., Schubert U.S. // *Methods*. 2011. V. 54. № 1. P. 124.
43. Pavlov G.M. Different Levels of Self-Sufficiency of the Velocity Sedimentation Method in the Study of Linear Macromolecules Analytical Ultracentrifugation Instrumentation, Software, and Applications/ Ed. by S. Uchiyama, F. Arisaka, W.F. Stafford, T. Laue. Tokyo: Springer 2016.
44. Huggins M.L. // *J. Am. Chem. Soc.* 1942. V. 64. № 11. P. 2716.
45. Kraemer E.O. // *Industr. Eng. Chem.* 1938. V. 30. № 10. P. 1200.
46. Concentration Dependence of the Viscosity of Dilute Polymer Solutions: Huggins and Schulz-Blaschke Constants. In *The Wiley Database of Polymer Properties* / Ed. by C. Schöff. Hoboken: Wiley, 2003.
47. Perevyazko I., Gubarev A.S., Pavlov G.M. // *Molecular Characterization of Polymers. A Fundamental Guide* / Ed. by M.I. Malik, J. Mays, M.R. Shah. Amsterdam: Elsevier, 2021. Ch. 6.
48. Dommes O.A., Okatova O.V., Kostina A.A., Gavrilova I.I., Panarin E.F., Pavlov G.M. // *Polymer Science C*. 2017. V. 59. № 1. P. 125.
49. Gray H.B., Bloomfield V.A., Hearst J.E. // *J. Chem. Phys.* 1947. V. 46. P. 1493.
50. Pavlov G.M. // *Eur. Phys. J. E*. 2007. V. 22. № 2. P. 171.
51. Hearst J.E., Stockmayer W.H. // *J. Chem. Phys.* 1962. V. 37. № 7. P. 1425.
52. Yamakawa H., Fujii M. // *Macromolecules*. 1973. V. 6. № 3. P. 407.
53. Yamakawa H., Fujii M. // *Macromolecules*. 1974. V. 7. № 1. P. 128.
54. Tsvetkov V.N., Eskin V.E., Frenkel S.Y. // *Structure of Macromolecules in Solution*. Boston: The National Lending Library for Science and Technology, 1971.
55. Zimm B.H. // *Macromolecules*. 1980. V. 13. № 3. P. 592.
56. Garcia de la Torre J.G., Jimenez A., Freire J.J. // *Macromolecules*. 1982. V. 15. № 1. P. 148.
57. Garcia de la Torre J.G., Martínez L.M., Tirado M., Freire J. // *Macromolecules*. 1984. V. 17. № P. 2715.
58. Oono Y. // *Adv Chem Phys*. 1985. V. 61. № P. 301.

МЕДИЦИНСКИЕ
ПОЛИМЕРЫ

УДК 541(64+49):547.995.12

КОМПЛЕКСЫ АНИОННОГО ПАВ С ХИТОЗАНОМ
И ЕГО ГИДРОФОБНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ
КАК ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ СРЕДСТВА ПРОТИВ SARS-CoV-2

© 2023 г. А. В. Шibaев^{a,*}, А. С. Оспенников^a, Г. В. Корнилаева^b, В. Ф. Ларичев^b,
И. Т. Федякина^b, Lifeng Fu^c, Zhuo Chen^d, Yangyang Yang^d, Э. В. Карамов^{b,e}, А. С. Тургиев^{b,e},
Liping Duan^f, Jun Liu^g, О. Е. Филиппова^a

^aМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова. Физический факультет
119991 Москва, Ленинские горы, 1, корп. 2, Россия

^bНациональный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи
123098 Москва, ул. Гамалеи, 18, Россия

^cCAS Key Laboratory of Pathogen Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology,
Chinese Academy of Sciences (CAS) Beijing 100101, China

^dShanghai Key Laboratory of Chemical Biology, Shanghai Key Laboratory of New Drug Design, School of Pharmacy,
East China University of Science and Technology Shanghai 200237, China

^eНациональный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных болезней
Минздрава России 127473 Москва, ул. Достоевского, 4, корп. 2, Россия

^fNHC Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, WHO Collaborating Centre for Tropical Diseases,
National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention Shanghai 200025, China

^gNHC Key Laboratory of Biosafety, National Institute for Viral Disease Control and Prevention,
Chinese Center for Disease Control and Prevention (China CDC) Beijing 102206, China

*e-mail: shibaev@polly.phys.msu.ru

Поступила в редакцию 30.01.2023 г.

После доработки 07.11.2023 г.

Принята к публикации 15.11.2023 г.

Настоящая работа направлена на получение комплексов хитозана и гидрофобно-модифицированного хитозана с анионным ПАВ додецилбензолсульфонатом натрия и изучение вирулицидной активности комплексов и их компонентов по отношению к SARS-CoV-2. Показано, что введение достаточного количества (4 мол. %) боковых гидрофобных *n*-додецильных групп обеспечивает активность гидрофобно-модифицированного хитозана против SARS-CoV-2 в умеренных концентрациях, при которых немодифицированный хитозан и хитозан, содержащий меньшее количество гидрофобных групп, не проявляют активности. Получены комплексы гидрофобно-модифицированного хитозана с додецилбензолсульфонатом натрия, что подтверждено данными флуоресцентной спектроскопии и изотермической титрационной калориметрии. Установлено, что комплекс гидрофобно-модифицированный хитозан–додецилбензолсульфонат натрия более активен, чем полимер без ПАВ, а увеличение количества гидрофобных групп усиливает активность.

DOI: 10.31857/S2308112023600114, EDN: DCRANG

ВВЕДЕНИЕ

За последние несколько десятилетий произошли вспышки эпидемий трех новых высококонтагиозных и летальных заболеваний, вызванных различными коронавирусами [1–3]: SARS-CoV в 2002 г., MERS-CoV в 2014 г. и SARS-CoV-2 в 2020 г. Для эффективной борьбы с вызванной последним вирусом пандемией приоритетной задачей является разработка новых безопасных противовирусных средств, включая вакцины, лекарства и дезинфицирующие средства. Разработаны различные дезинфицирующие средства как

наружного (для устранения вируса с поверхностей и рук и т.п.), так и внутреннего применения (например, в виде спреев для горла и т.п.). Наиболее широко используемые дезинфицирующие средства созданы на основе катионных четвертичных аммониевых соединений (так называемых “quats”) [4, 5], с ними связано большинство современных исследований вирулицидных свойств [6–8]. Однако и анионные ПАВ являются перспективными противовирусными средствами, поскольку они менее токсичны, и некоторые из них известны своей активностью в отношении вирусов [9–11].

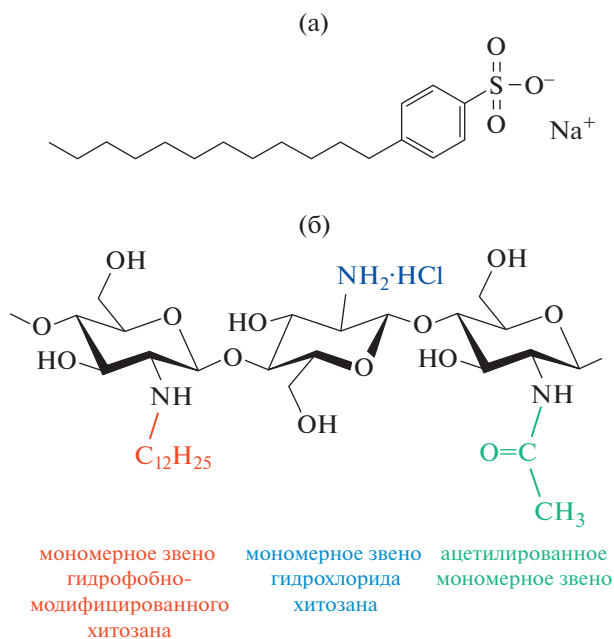


Рис. 1. Химическая структура анионного поверхностно-активного вещества ДБСН (а) и гидрохлорида гидрофобно-модифицированного хитозана (б). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

Одним из путей улучшения противовирусного действия ПАВ служит получение комплексов полимер–ПАВ [12, 13]. Для этой цели очень перспективны носители на основе природных полимеров. Среди них одним из лучших кандидатов для получения комплексов с анионными ПАВ является хитозан [14, 15], поскольку он представляет собой один из немногих положительно заряженных природных полимеров, обеспечивающих комплекссообразование с противоположно заряженными частицами за счет электростатических взаимодействий, и характеризуется хорошей биосовместимостью и биodeградируемостью [16, 17]. Хитозан представляет собой линейный аминополисахарид, состоящий из двух типов случайно распределенных β -(1 $\rightarrow$ 4)-связанных мономерных звеньев: 2-амино-2-дезоксид-Д-глюкопиранозы (Д-глюкозамина) и 2-ацетиамидо-2-дезоксид-Д-глюкопиранозы (N-ацетил-Д-глюкозамина) [16]. Благодаря своему положительному заряду хитозан способствует проникновению различных веществ через липидные бислои [18]. Хитозан широко исследуется с целью дальнейшего биомедицинского использования в качестве носителя лекарств или для генной инженерии [19]. Для повышения эффективности хитозана часто проводят его химическую модификацию [20, 21]. Например, введение боковых гидрофобных заместителей усиливает его взаимодействие с клетками или слизистыми оболочками. Показано, что гидрофобная модификация хитозана способствует

трансфекции его комплекса с ДНК в клетки [19, 22]. Активно разрабатываются носители противовирусных средств на основе хитозана [23, 24]. Например, показано, что наноконпозиты хитозана с наночастицами серебра обладают вирулицидной активностью в отношении вируса гриппа [25], а наногели хитозана, содержащие куркумин, активны против вируса гепатита С [26]. Некоторые производные хитозана проявляют активность в отношении коронавирусов, подавляя их репликацию [27], в частности, это касается SARS-CoV-2 [28].

Однако влияние самого хитозана на SARS-CoV-2 не было исследовано, и роль гидрофобной модификации хитозана в противовирусной эффективности его препаратов не выявлена. Кроме того, не получены комплексы хитозан–ПАВ, обладающие вирулицидной активностью. В связи с этим целью настоящей работы является получение комплексов хитозана и гидрофобно-модифицированного хитозана с анионным ПАВ додецилбензолсульфонатом натрия (ДБСН) и исследование вирулицидного действия этих комплексов и их компонентов на SARS-CoV-2.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

ДБСН (твердый тип, чистота >95%) (рис. 1а) приобретен в компании TCI. Хитозан с низкой молярной массой ($M = (5-19) \times 10^4$ г/моль), ледяная уксусная кислота (чистота > 99%), додецилальдегид (чистота > 92%) и цианоборгидрид натрия (чистота > 95%) были предоставлены “Sigma-Aldrich”. NaOH (чистота > 99%) был куплен у “Acros”. Образцы готовили с использованием физиологического раствора (0.9 мас. % NaCl в дистиллированной воде), предоставленного фирмой “Гротекс” (Россия). Для приготовления растворов использовали дистиллированную деионизированную воду, полученную с помощью системы MilliQ (“Millipore”). Этанол был предоставлен фирмой “Ферейн” (Россия) и очищен перегонкой. Растворы для ЯМР-измерений готовили в D₂O (изотопная чистота > 99.9%, “Астрахим”, Россия).

Модификация хитозана

Модификацию хитозана с введением *n*-додецильных групп проводили по методике, описанной в работе [29]. Хитозан (10 г) растворяли в 0.2 М водном растворе уксусной кислоты (500 мл) при перемешивании в течение ночи, затем добавляли этанол (350 мл), и доводили pH до 5.2 добавлением концентрированного водного раствора NaOH. После этого приливали необходимое количество раствора *n*-додецилальдегида в этаноле. Затем добавляли цианоборгидрид натрия (17 г), и раствор перемешивали в течение 24 ч при комнат-

ной температуре. После завершения реакции pH доводили до 7.2, в результате чего продукт выпал в осадок. Его трижды промывали смесью этанола и воды и сушили на воздухе.

Характеризация хитозана

Количество *n*-додецильных групп, привитых к хитозану, определяли методом спектроскопии ЯМР ^1H на спектрометре “Bruker AV-600”. Получили два образца хитозана с разной степенью модификации, содержащие 1.7 или 4 мол. % групп C12 в расчете на один моносахаридный остаток. Степень ацетилирования (количество остаточных ацетамидных групп), также определенная методом ЯМР ^1H , составляла для всех образцов 15 мол. %.

Подготовка образцов

Сначала все хитозаны получали в форме водорастворимых гидрохлоридов путем растворения 0.3 мас.% хитозана или гидрофобно-модифицированного хитозана в водном растворе HCl (pH 3) при осторожном перемешивании в течение ночи. Потом растворы пропускали через керамический фильтр Robu 3 (размер пор 16–40 мкм) для удаления не растворимых в воде остатков, а затем высушивали лиофильно. Полученные хитозаны хорошо растворялись в воде [30], их химическая структура представлена на рис. 16. Полимеры и ДБСН растворяли в физиологическом растворе, и растворы смешивали в разном соотношении для получения образцов с желаемыми концентрациями.

Противовирусная активность

Для исследования вирулицидной активности клетки Vero E6 из ATCC (Манассас, США) (CRL-1586) культивировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в среде Игла, модифицированной Дульбекко (ДМЕМ) (“Sigma-Aldrich”) с высоким содержанием глюкозы, в которую добавляли 5% фетальной телячьей сыворотки (ФТС), 2 ммоль/л *L*-глутамина и смесь антибиотиков (150 ед/мл пенициллина и 150 ед/мл стрептомицина). Используемый препарат вируса SARS-CoV-2 (штамм HCoV-19/Russia/Moscow-PMVL-12/2020 (EPI_ISL_572398), выделенный от пациента) представлял собой культуральную жидкость, полученную из культур инфицированных клеток Vero E6.

Растворы анионных дезинфицирующих средств или их комплексов с гидрофобно-модифицированным хитозаном инкубировали с равным объемом препарата вируса при комнатной температуре в течение 60 мин. Затем вирусные частицы (вирионы) отмывали от дезинфицирующих средств центрифугированием при 27 000 об/мин в течение 1 ч, чтобы избежать их токсического воз-

действия на клетки. Вирусные частицы ресуспендировали в 300 мкл поддерживающей среды (ДМЕМ, 1% ФТС) и готовили 10-кратные разведения в поддерживающей среде для определения титра. Монослойные культуры клеток Vero-E6 в 96-луночных планшетах инфицировали приготовленными таким образом разведениями и после инкубации в течение 2 ч инокулят удаляли. Планшеты дважды промывали ДМЕМ, не содержащей ФТС, заполняли поддерживающей средой другого типа (ДМЕМ, 2% ФТС) и далее инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 96 ч. Вызванные вирусом цитопатические эффекты оценивали путем микроскопического исследования клеток и считали признаком их инфицирования. Количество активного вируса, оцениваемое по доле инфицированных клеток, определяли методом конечных разведений (титрованием) и выражали в пятидесятипроцентных инфекционных дозах для культуры ткани (TCID₅₀). Титр рассчитывали по методу Спирмана–Кербера и выражали в виде lg TCID₅₀/0.1 мл [31].

Вирулицидную эффективность ПАВ оценивали по разнице титров вируса (*A*) между контрольным *A_к* (без дезинфицирующих средств) и экспериментальным *A_э* значениями:

$$A = A_k - A_e.$$

Индекс защиты, или коэффициент ингибирования (КИ), рассчитывали по формуле

$$\text{КИ} = [(A_k - A_e)/A_k] \times 100\%.$$

Флуоресцентная спектроскопия

Эксперименты по флуоресцентной спектроскопии проводили на спектрометре “Perkin-Elmer LS55” с ксеноновой газоразрядной лампой. Длина волны возбуждения составляла 338 нм. Спектры флуоресценции образцов регистрировали при скорости сканирования 10 нм/мин. Щели возбуждения и испускания были установлены на 2.5 нм. Для измерения критической концентрации мицеллообразования в качестве гидрофобного флуоресцентного зонда использовали пирен. Метод определения ККМ основан на том, что спектр флуоресценции пирена зависит от полярности микроокружения, в котором находится пирен [32]. При концентрации ПАВ ниже ККМ пирен находится в воде, и соотношение интенсивностей первого и третьего пиков (*I₁/I₃*) в его спектре флуоресценции составляет 1.7–2.1. Выше ККМ, когда образуются мицеллы, пирен сольбилизируется в их ядрах, и соотношение *I₁/I₃* понижается до 0.8–1.1. ККМ определяют как точку перегиба зависимости *I₁/I₃* от концентрации ПАВ.

В экспериментах концентрацию пирена фиксировали на значении 8×10^{-6} моль/л. При подготовке образцов к измерениям сначала готовили

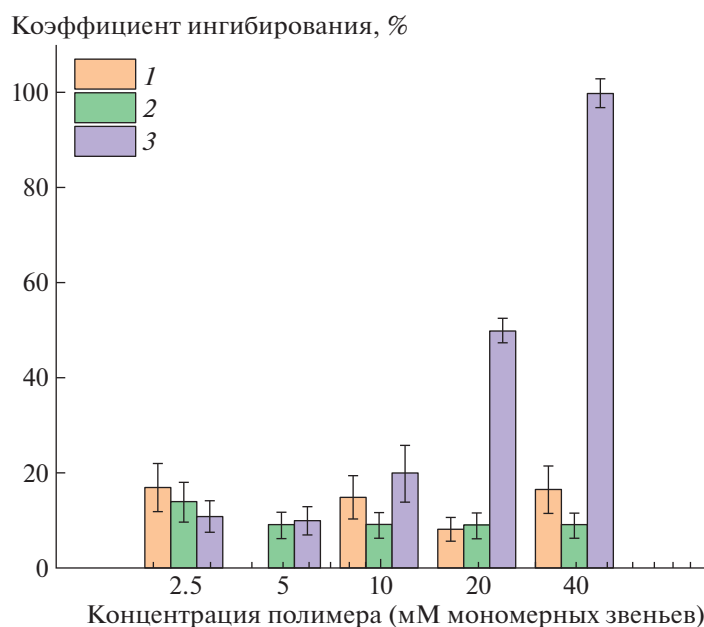


Рис. 2. Коэффициенты ингибирования SARS-CoV-2 для водных растворов хитозана (1) и образцов гидрофобно-модифицированного хитозана, содержащих 1.7 (2) и 4 мол. % (3) привитых *n*-додецильных групп (все полимеры были в форме гидрохлоридов).

раствор пирена в этаноле (10^{-3} моль/л). Небольшое количество этого раствора добавляли в пузырьки, этанол выпаривали, добавляли водный раствор ПАВ и полимера, и образец перемешивали встряхиванием в течение 2 ч.

Изотермическая титрационная калориметрия

Эксперименты по изотермической титрационной калориметрии проводили на изотермическом титрационном калориметре “Nano ITC TA Instruments” (США). Титрование осуществляли ступенчатым введением раствора ПАВ (0.144 ммоль/л) из инъекционного шприца емкостью 50 мкл в ячейку для образца, заполненную раствором гидрофобно-модифицированного хитозана (0.6 ммоль/л мономерных звеньев, 4 мол. % *n*-додецильных групп) в 0.9% NaCl в воде при постоянной температуре 20.0°C. Интервал времени между одновременными впрысками составлял 300 с. Выделение или поглощение тепла в результате каждой инъекции в ходе титрования измеряли непосредственно микрокалориметром.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе мы получили комплексы хитозана с гидрофобно-модифицированного хитозана с анионным поверхностно-активным веществом ДБСН и изучили их вирулицидную активность в отношении SARS-CoV-2. Концентрацию полимеров поддерживали в диапазоне $0-80 \times 10^{-3}$ ммоль/л (1 ммоль/л = 1 М мономерных звеньев), а концентрацию ДБСН варь-

ровали от 0 до 8 ммоль/л. Сначала мы оценили вирулицидную активность хитозана в отсутствие ДБСН.

Вирулицидная активность хитозана и гидрофобно-модифицированного хитозана

Исследовали активность хитозана по отношению к SARS-CoV-2 и сравнили ее с активностью гидрофобно-модифицированного хитозана с различной степенью замещения. На рис. 2 представлены зависимости коэффициента ингибирования от концентрации немодифицированного хитозана и двух образцов гидрофобно-модифицированного хитозана, содержащих 1.7 и 4 мол. % групп C12.

В диапазоне концентраций полимера от 0.0025 до 0.04 ммоль/л немодифицированный хитозан и гидрофобно-модифицированный хитозан с меньшей степенью модификации (1.7 мол. %) практически не обладают активностью, которая находится на уровне шума и не меняется закономерно с концентрацией. Однако гидрофобно-модифицированный хитозан с более высокой степенью модификации (4 мол. %) проявляет высокую эффективность ингибирования при концентрации 0.04 ммоль/л — он снижает титр вируса на 6 порядков. Полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) этого гидрофобно-модифицированного хитозана составляет 0.02 ммоль/л. Противовирусную активность гидрофобно-модифицированного хитозана можно объяснить тем, что он несет заряженные группы $-NH_3^+$ и гидро-

фобные *n*-додецильные группы, которые взаимодействуют с отрицательно заряженной оболочкой вируса и разрушают ее, подобно низкомолекулярным катионным дезинфицирующим средствам [7]. Активность гидрофобно-модифицированного хитозана по сравнению с немодифицированным хитозаном объясняется тем, что введение в макромолекулы боковых C12-алкильных групп делает взаимодействие полимера с липидным бислоем энергетически более выгодным, поскольку *n*-додецильные группы встраиваются в липидный бислой, действуя как гидрофобные хвосты ПАВ.

Таким образом, введение достаточного количества боковых гидрофобных групп придает хитозану активность против SARS-CoV-2 при достаточно небольших концентрациях полимера. Насколько нам известно, это первое сообщение, демонстрирующее противовирусные свойства гидрофобно-модифицированного природного полимера, и первый описанный случай активности гидрофобно-модифицированного хитозана против SARS-CoV-2.

Вирулицидная активность ДБСН

ДБСН без добавления полимеров активен по отношению к SARS-CoV-2 (рис. 3): он способен ингибировать вирусную активность более чем на 6 порядков в концентрациях выше 2 ммоль/л. Этот эффект можно объяснить проникновением молекул ПАВ в липидный бислой вирусной оболочки и его разрушением [33], что происходит за счет наличия достаточно длинного C12-алкильного хвоста и гидрофобного бензольного фрагмента в структуре ПАВ. EC_{50} для этого ПАВ очень низкая и составляет около 0.5 ммоль/л. Однако она выше, чем EC_{50} для различных катионных ПАВ. Например, $EC_{50} = 0.081$ ммоль/л для катионного ПАВ аналогичного строения – хлорида бензилдиметилдодециламмония (C12ВАС), которое также имеет алкильный хвост C12 и бензольную группу, но при этом его головка положительно заряжена [8]. Это объясняется более высоким сродством катионных ПАВ к отрицательно заряженным липидным бислоям.

Заметим, что все концентрации ДБСН, при которых он проявляет высокую активность, превышают ККМ (0.4 ммоль/л, см. ниже); это означает, что ПАВ активен в мицеллярной форме. Это вполне объяснимо, поскольку одна мицелла, контактирующая с вирусной частицей, может передать ей сразу несколько десятков ионов ПАВ, что гораздо эффективнее деактивирует вирус, чем контакт с одиночной молекулой ПАВ, не включенной в мицеллу.

Ранее было продемонстрировано, что ДБСН активен против оболочечных вирусов: например, 3 мас. % ДБСН и 70 мас. % этанола проявляют ви-

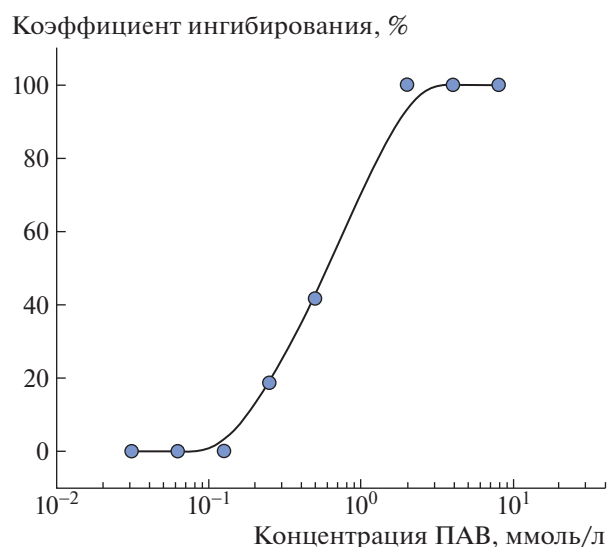


Рис. 3. Коэффициенты ингибирования SARS-CoV-2 для водных растворов анионного поверхностно-активного вещества ДБСН.

рулицидную активность против SARS-CoV-2 [11]. В настоящей работе мы показываем, что сам ДБСН (в отсутствие этанола) эффективен против SARS-CoV-2 даже в небольших концентрациях.

Получение комплексов хитозан–ДБСН и гидрофобно-модифицированный хитозан–ДБСН

Для получения комплексов полимер–ПАВ хитозан или гидрофобно-модифицированный хитозан с 4 мол. % *n*-додецильных групп смешивали с ДБСН при различном мольном отношении ПАВ к мономерным звеньям хитозана. Показано, что смеси немодифицированного хитозана и ДБСН стабильны только в узком диапазоне концентраций, в частности, при низких концентрациях ДБСН. Гидрофобная модификация хитозана расширяет область гомогенности: в этом случае стабильные однофазные растворы можно приготовить при концентрации гидрофобно-модифицированного хитозана до 1.5 мас. % (90 ммоль/л мономерных звеньев) и мольном отношении [ДБСН] : [мономерные звенья полимера] до 0.2. Таким образом, при низком мольном отношении [ДБСН] : [мономерные звенья хитозана] растворы являются однофазными и гомогенными, а при его увеличении происходит фазовое расслоение, сопровождающееся выпадением осадка. Такое поведение можно объяснить образованием электростатического комплекса между анионными полярными головками ДБСН и катионными аминогруппами хитозана. При низких мольных соотношениях [ДБСН] : [мономерные звенья хитозана] комплексы сильно заряжены положительно и не выпадают в осадок из-за большой потери энтропии противоионов. Увеличение соотношения [ДБСН] : [мономерные звенья хитозана] делает

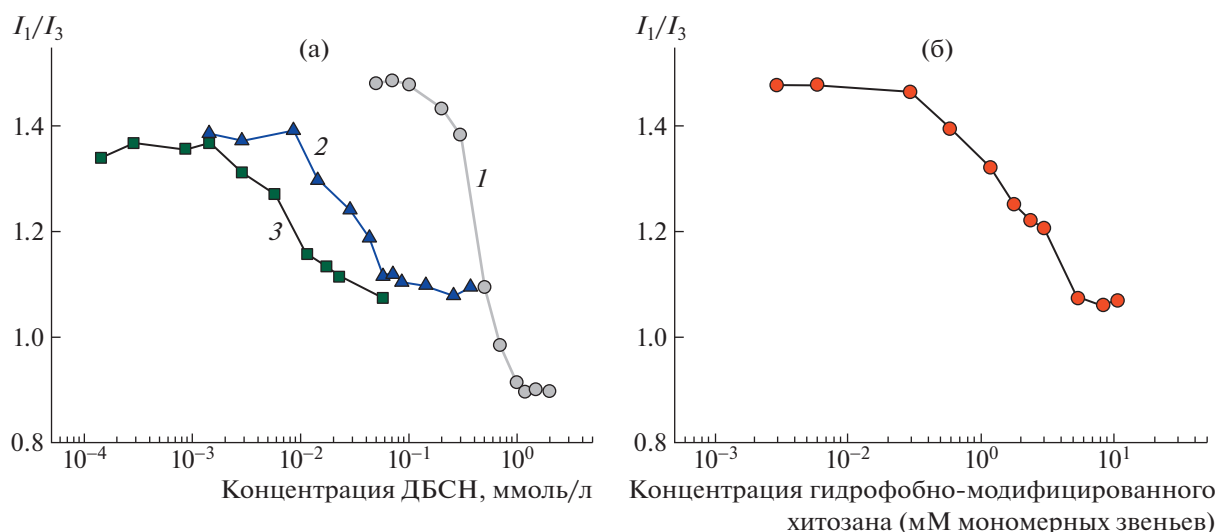


Рис. 4. Зависимость соотношения интенсивностей первого и третьего пиков в спектре флуоресценции пирена от концентрации ДБСН для растворов в отсутствие полимера (1), в присутствии хитозана (2) или гидрофобно-модифицированного хитозана (0.6 мМ мономерных звеньев, 4 мол. % *n*-додецильных групп) (3) (а), а также от концентрации гидрофобно-модифицированного хитозана (в отсутствие ДБСН) (б). Растворитель: 0.9 мас. % NaCl в воде.

комплекс менее заряженным, вызывая его выпадение в осадок. Такая ситуация типична для комплексов полиэлектролит–ПАВ и описана в литературе для многих систем [34–37].

Образование комплексов доказано измерением критической концентрации мицеллообразования ДБСН в отсутствие хитозана и критической концентрации ассоциации (ККА) в присутствии хитозана — гидрофобно-модифицированного хитозана методом флуоресцентной спектроскопии с использованием пирена в качестве зонда (рис. 4). В отсутствие хитозана критическая концентрация мицеллообразования ДБСН в физиологиче-

ском растворе (0.9 мас. % NaCl в воде) равна 0.4 ммоль/л, что близко к значениям, полученным ранее [38]. При добавлении немодифицированного хитозана концентрация мицеллообразования понижается на порядок, что свидетельствует об образовании электростатического комплекса. Действительно, противоположно заряженный полиэлектролит эффективно экранирует электростатическое отталкивание между заряженными головками ПАВ, способствуя связыванию молекул ПАВ с полимером и образованию агрегатов.

В случае гидрофобно-модифицированного хитозана ситуация более сложная, поскольку молекулы ДБСН получают возможность взаимодействовать как с противоположно заряженными аминогруппами, так и с боковыми гидрофобными *n*-додецильными цепями. В широком диапазоне концентраций гидрофобно-модифицированного хитозана (более 4 ммоль/л мономерных звеньев) *n*-додецильные группы полимера образуют гидрофобные агрегаты даже в отсутствие ПАВ. Это подтверждается данными флуоресцентной спектроскопии, которые показывают, что при очень низких концентрациях полимера отношение I_1/I_3 в спектрах флуоресценции пирена велико и падает при повышении содержания полимера (рис. 4б). Данный факт свидетельствует об образовании гидрофобных доменов *n*-додецильными группами, когда содержание указанных групп увеличивается.

Следовательно, можно ожидать, что наличие гидрофобных групп будет способствовать комплексообразованию между гидрофобно-модифицированным хитозаном и ДБСН. Это подтверждается тем, что даже при очень низких концентрациях гидрофобно-модифицированного хитозана

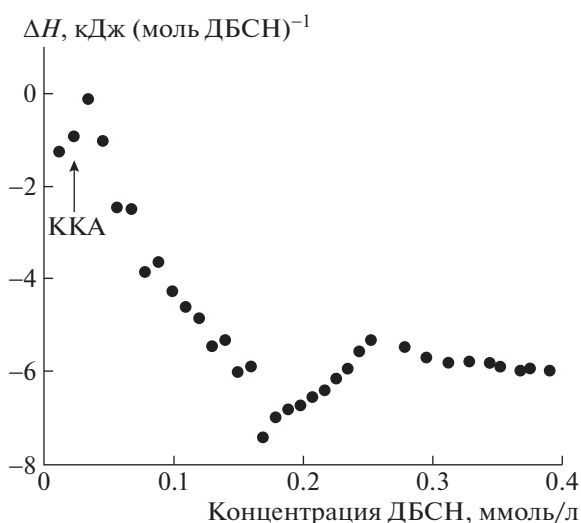


Рис. 5. Кривая изотермического титрования 5 мМ раствором ДБСН гидрофобно-модифицированного хитозана (6 мМ мономерных звеньев, 4 мол. % *n*-додецильных групп) при 20°C.

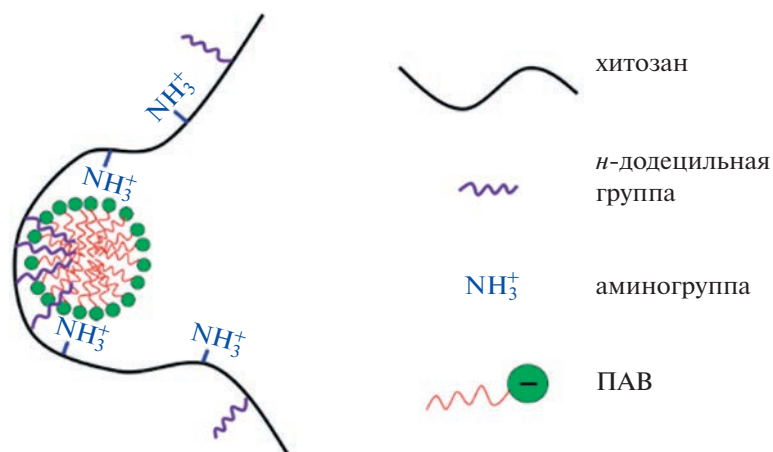


Рис. 6. Структура комплекса гидрофобно-модифицированный хитозан–ДБСН.

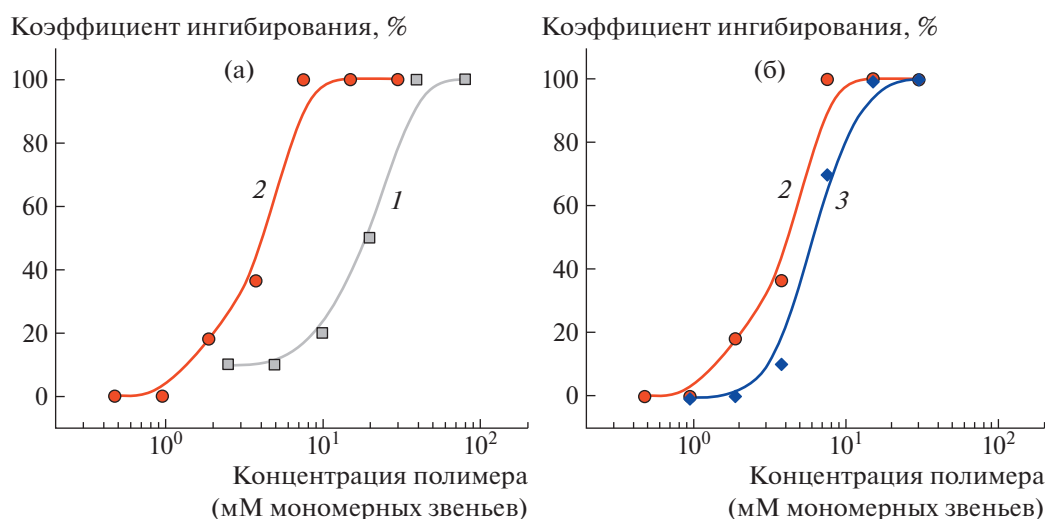


Рис. 7. Коэффициенты ингибирования SARS-CoV-2 для водных растворов, содержащих гидрофобно-модифицированный хитозан с 4 мол. % *n*-додецильных групп (1), гидрофобно-модифицированный хитозан с 4 мол. % *n*-додецильных групп и 8 мМ ДБСН (2), гидрофобно-модифицированный хитозан с 1.7 мол. % *n*-додецильных групп и 8 мМ ДБСН (3).

происходит более сильное падение ККМ, чем для немодифицированного хитозана (рис. 4а). Аналогичные низкие значения ККА для агрегации ДБСН в присутствии гидрофобно-модифицированного хитозана получены методом изотермической титрационной калориметрии (рис. 5). Таким образом, в смесях гидрофобно-модифицированный хитозан–ДБСН образуются смешанные агрегаты, состоящие из ПАВ и *n*-додецильных групп. Их возможная структура показана на рис. 6.

Вирулицидная активность комплексов гидрофобно-модифицированный хитозан–ДБСН

Активность комплексов гидрофобно-модифицированный хитозан–ДБСН по отношению к SARS-CoV-2 исследовали в широком диапазоне концентраций, используя стабильные гомоген-

ные комплексы. Показано, что комплексы значительно эффективнее самого гидрофобно-модифицированного хитозана (рис. 7а): при добавлении 8 ммоль/л ПАВ зависимость коэффициента ингибирования от концентрации полимера смещается в ~5 раз в сторону меньших концентраций, что обусловлено вирулицидным действием ПАВ.

Роль комплексообразования в получении синергетического эффекта обоих компонентов очевидна из того обстоятельства, что важным фактором, влияющим на активность комплекса, является количество привитых групп C12 в хитозане. Его увеличение с 1.7 до 4 мол. % приводит к повышению активности при тех же концентрациях компонентов (рис. 7б). Такой же эффект наблюдался выше для гидрофобно-модифицированного хитозана в отсутствие ПАВ (рис. 2). Та же закономерность для комплексов полимер–ПАВ означа-

ет, что для получения комплекса предпочтителен гидрофобно-модифицированный хитозан с большим содержанием привитых групп, что может быть обусловлено двумя причинами: он обеспечивает более сильное сродство комплекса к вирусу и усиливает взаимодействие между хитозаном и ДБСН.

Таким образом, комплексы гидрофобно-модифицированного хитозана с анионным поверхностно-активным веществом ДБСН проявляют повышенную активность против SARS-CoV-2, что является результатом кооперативного переноса на вирион одним комплексом многих молекул ПАВ, а также синергизма вирулицидной активности гидрофобно-модифицированного хитозана и ПАВ.

Работа выполнена с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, NSFC и CNPq в рамках научного проекта РФФИ № 20-53-80005 (научный проект БРИКС 085-ChitoTarCoV) и Фондом развития теоретической физики и математики “БАЗИС” (А.С. Оспенников).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cui J., Li F., Shi Z.-L. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. V. 17. P. 181.
2. Liu W.J., Wu G.Z. // *Biosaf. Health.* 2020. V. 2. P. 185.
3. Gao G.F., Liu W.J. // *China CDC Wkly.* 2021. V. 3. P. 915.
4. Schrank C.L., Minbiole K.P.C., Wuest W.M. // *ACS Infect. Dis.* 2020. V. 6. P. 1553.
5. Vereshchagin A.N., Frolov N.A., Egorova K.S., Seitkalieva M.M., Ananikov V.P. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 6793.
6. Baker N., Williams A.J., Tropsha A., Ekins S. // *Pharm. Res.* 2020. V. 37. P. 104.
7. Ogilvie B.H., Solis-Leal A., Lopez J.B., Poole B.D., Robinson R.A., Berges B.K. // *J. Hosp. Infect.* 2021. V. 108. P. 142.
8. Karamov E.V., Larichev V.F., Kornilaeva G.V., Fedyakina I.T., Turgiev A.S., Shibaev A.V., Molchanov V.S., Philippova O.E., Khokhlov A.R. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 6645.
9. Korneyeva M., Hotta J., Lebing W., Rosenthal R.S., Franks L., Petteway Jr S.R. // *Biologicals.* 2002. V. 30. P. 153.
10. Fletcher N.F., Meredith L.W., Tidswell E.L., Bryden S.R., Gonçalves-Carneiro D., Chaudhry Y., Shannon-Lowe C., Folan M.A., Lefteri D.A., Pinggen M., Bailey D., McKimmie C.S., Baird A.W. // *J. Gen. Virol.* 2020. V. 101. P. 1090.
11. Jahromi R., Mogharab V., Jahromi H., Avazpour A. // *Food Chem. Toxicol.* 2020. V. 145. P. 111702.
12. Molchanov V.S., Shibaev A.V., Karamov E.V., Larichev V.F., Kornilaeva G.V., Fedyakina I.T., Turgiev A.S., Philippova O.E., Khokhlov A.R. // *Polymers.* 2022. V. 14. P. 2444.
13. Kozhunova E.Y., Komarova G.A., Vyshivannaya O.V., Nasimova I.R., Kuvarina A.E., Sadykova V.S. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 4394.
14. Bezrodnykh E.A., Berezin B.B., Kulikov S.N., Zelenikhin P.V., Vyshivannaya O.V., Blagodatskikh I.V., Tikhonov V.E. // *Starch.* 2021. V. 73. P. 2000234.
15. Blagodatskikh I.V., Vyshivannaya O.V., Bezrodnykh E.A., Tikhonov V.E., Orlov V.N., Shabelnikova Y.L., Khokhlov A.R. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2022. V. 214. P. 192.
16. Rinaudo M. // *Prog. Polym. Sci.* 2006. V. 31. P. 603.
17. Muzzarelli R.A.A. // *Mar. Drugs* 2010. V. 8. P. 292.
18. Janes K.A., Calvo P., Alonso M.J. // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2001. V. 47. P. 83.
19. Kabanov A.V., Kabanov V.A. // *Bioconjugate Chem.* 1995. V. 6. P. 7.
20. Spinner J.L., Oberoi H.S., Yorgensen Y.M., Poirier D.S., Burkhart D.S., Plante M., Evans J.T. // *Vaccine.* 2015. V. 33. P. 5845.
21. De Matteis L., Alleva M., Serrano-Sevilla I., Garcia-Embid S., Stepien G., Moros M., de la Fuente J.M. // *Mar. Drugs* 2016. V. 14. P. 175.
22. Philippova O.E., Korchagina E.V. // *Polymer Science A.* 2012. V. 54. № 7. P. 552.
23. Safer A.-M., Leporatti S. // *Int. J. Nanomedicine* 2021. V. 16. P. 8141.
24. Jaber N., Al-Remawi M., Al-Akayleh F., Al-Muhtaseb N., Al-Adham I.S.I., Collier P.J. // *J. Appl. Microbiol.* 2022. V. 132. P. 41.
25. Mori Y., Ono T., Miyahira Y., Nguyen V.Q., Matsui T., Ishihara M. // *Nanoscale Res. Lett.* 2013. V. 8. P. 93.
26. Loufi S.A., Elberry M.H., Farroh K.Y., Mohamed H.T., Faraag A.H.I., Mousa S.A. // *Int. J. Nanomedicine* 2020. V. 15. P. 2699.
27. Pyrk K., Milewska A., Nowakowska M., Szczubialka K., Kaminski K. Pat. EP 2 849 763 B1. 2017.
28. Milewska A., Chi Y., Szczepanski A., Barreto-Duran E., Dabrowska A., Botwina P., Obloza M., Liu K., Liu D., Guo X., Ge Y., Li J., Cui L., Ochman M., Urlik M., Rodziejewicz-Motowidlo S., Zhu F., Szczubialka K., Nowakowska M., Pyrk K. // *J. Virology.* 2021. V. 95. E01622-20.
29. Desbrières J., Martinez C., Rinaudo M. // *Int. J. Biol. Macromol.* 1996. V. 19. P. 21.
30. Signini R., Campana Filho S.P. // *Polym. Bull.* 1999. V. 42. P. 159.
31. Flint S.J., Racaniello V.R., Rall G.F., Skalka A.M., Enquist L.W. *Principles of Virology.* 4th ed. Washington: ASM Press, 2015.
32. Kalyanasundaram K., Thomas J.K. // *J. Am. Chem. Soc.* 1977. V. 99. P. 2039.
33. Simon M., Veit M., Osterrieder K., Gradzielski M. // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2021. V. 55. P. 101479.
34. Thalberg K., Lindman B., Karlström G. // *J. Phys. Chem.* 1991. V. 95. P. 6004.
35. Piculell L. // *Langmuir.* 2013. V. 29. V. 33. P. 10313.
36. Bezrodnykh E.A., Antonov Y.A., Berezin B.B., Kulikov S.N., Tikhonov V.E. // *Carbohydr. Polym.* 2021. V. 270. P. 118352.
37. Onésippe C., Lagerge S. // *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 2008. V. 330. P. 201.
38. Chauhan S., Sharma K. // *J. Chem. Thermodyn.* 2014. V. 71. P. 205.

ЭНЕРГЕТИКА СОЛЕОБРАЗОВАНИЯ И НАДМОЛЕКУЛЯРНОЕ УПОРЯДОЧЕНИЕ *L*- И *D*-АСКОРБАТОВ ХИТОЗАНА

© 2023 г. О. Н. Малинкина^{а,*}, А. Б. Шиповская^а

^аСаратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского.
Институт химии 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83, Россия

*e-mail: Olga-Malinkina@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.09.2023 г.

После доработки 23.10.2023 г.

Принята к публикации 13.11.2023 г.

На примере двух образцов хитозана (*D*-глюкана) со средневязкостной молекулярной массой 40×10^3 и 200×10^3 исследовано влияние диастереомерной формы (*L*- и *D*-) аскорбиновой кислоты на энергетику формирования, структуру и надмолекулярное упорядочение гетеро-(*D*-*L*) и гомохиральных (*D*-*D*) солевых комплексов полимер–кислота. Установлено, что тепловой эффект при взаимодействии хитозана с *L*-аскорбиновой кислотой в водной среде и степень протонирования (*D*-*L*)-солей меньше по сравнению с *D*-изомером кислоты. Гомохиральные (*D*-*D*)-соли в отличие от гетерохиральных (*D*-*L*)-солей отличаются меньшим количеством кристаллизационной воды, высокой степенью кристалличности и более уплотненной надмолекулярной структурой с высоким уровнем меж- и внутримолекулярных контактов.

DOI: 10.31857/S2308112023600059, EDN: DDFOKH

ВВЕДЕНИЕ

Аминополисахарид хитозан относится к классу *D*-глюканов и вследствие катионногенной природы, комплекса биологически ценных свойств, коммерческой доступности весьма перспективен при создании материалов биомедицинского назначения [1, 2]. К настоящему времени достоверно установлено, что биологическая активность хитозана зависит от молекулярной массы полимера и совокупного заряда макроцепи, растущего с повышением степени деацетилирования образца [2–4]. Недавние исследования показали значимое влияние на биологические свойства хитозана молекулярной хиральности макромолекул и построенных из них надмолекулярных структур [5–7]. Обнаружено антибатное изменение биохимической активности энантиомеров хлорфеноксисловых гербицидов в присутствии хирального хитозана [8].

Кроме того, в последние годы отмечается значимое влияние на структуру, свойства и функциональные характеристики хитозансодержащих материалов природы органической кислоты, используемой для растворения хитозана, т.е. формирования солевых комплексов полимер–кислота. Например, хитозан в солевых пленках, полученных из растворов уксусной кислоты, характеризуется аморфно-кристаллическим упорядочением, а в пленках, полученных из растворов в лимонной

и молочной кислотах — практически полностью аморфным надмолекулярным упорядочением [9]. Это соответственно понижает прочность пленок цитрата и лактата хитозана по сравнению с пленкой ацетата хитозана [10]. Вместе с тем композитные пленки цитрата хитозана с поливиниловым спиртом обладают повышенной прочностью, устойчивостью к ползучести и способностью восстанавливать форму [11], а пленки сукцината хитозана с метилцеллюлозой — повышенной термостабильностью [12]. Хитозановые губки, сформированные из растворов полимера в угольной кислоте, демонстрируют существенно более высокие механико-прочностные и пористые характеристики, чем полученные из растворов хитозана в уксусной кислоте [13].

Применение биологически активных карбоновых кислот и аминокислот для получения солевой формы хитозана приводит к целенаправленному улучшению биологических свойств материалов посредством синергизма биохимических активностей макромолекулы аминопполисахарида и аниона кислоты [5, 14–18]. В таких солевых комплексах, кроме водородных, классических кулоновских и гидрофобных взаимодействий, характерных для солей хитозана с традиционными кислотами-растворителями, возможны специфические кулоновские (в виде ионных ассоциатов) и ион-дипольные меж- и внутримолекулярные контакты [5, 9, 11, 13–16]. По нашему мнению,

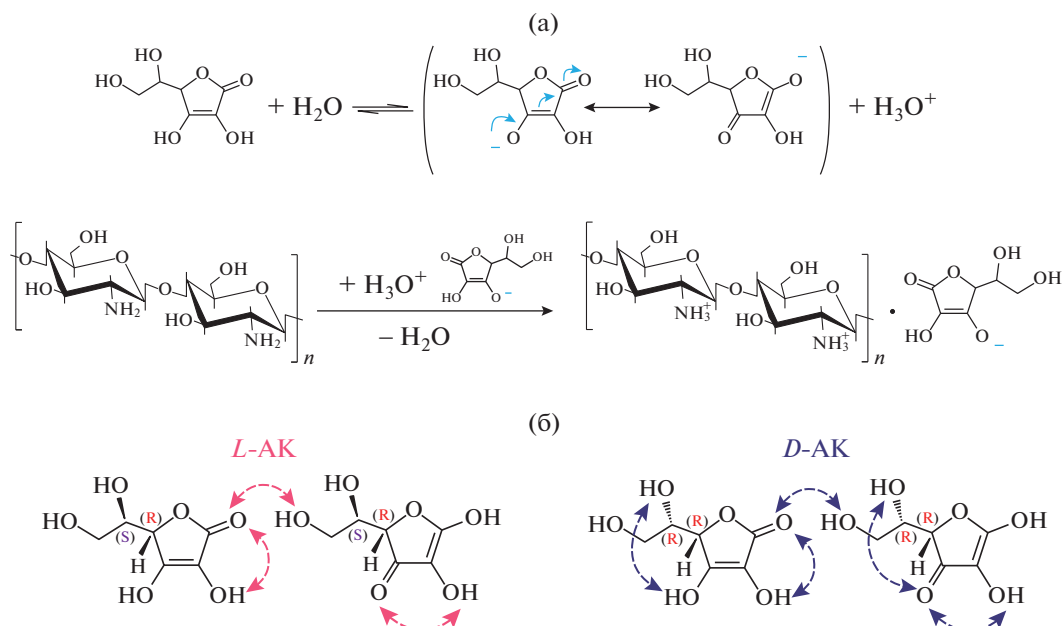


Рис. 1. Схема формирования резонансно-стабилизированного сопряженного основания АК (аниона аскорбата) и аскорбата хитозана (а), а также химическая структура и основные внутри- и межмолекулярные взаимодействия (пунктирные стрелки) в *L*- и *D*-АК (б). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

это должно приводить к формированию конформационно-лабильных пространственно-сшитых структур, определяющих особенности надмолекулярного упорядочения, физико-химических и биологических свойств получаемых солей.

Одной из перспективных биологически активных органических кислот, обеспечивающих надежное донорно-акцепторное взаимодействие при получении солей хитозана, является аскорбиновая кислота (**АК**) [7, 17–26]. Так, ее использование в качестве источника протонов для формирования солевой формы хитозана (рис. 1а) приводит к проявлению высокой мукоадгезии [20], повышению индекса пролиферации эндотелиальных клеток [21], усилению антиоксидантных свойств [22, 23], антибактериальной [6, 24, 25] и ранозаживляющей активности [17, 20, 24, 26] хитозансодержащих препаратов.

Аскорбаты хитозана относятся к высококристаллическим солям и представляют собой безводные кристаллы, в которых молекулы воды заменены на анионы кислоты [27, 28]. Молекулярная структура дегидратированных полиморфов содержит две молекулы воды на один период идентичности и по сравнению с гидратированными солями, например, с традиционно используемыми для растворения хитозана монокарбоновыми кислотами (HCOOH , CH_3COOH), стабилизирована многочисленными Н-связями с участием алифатических атомов водорода гликозидных звеньев [29, 30]. Экваториальные дифракционные профили гидратированных модификаций

хитозана характеризуются четкими интенсивными рефлексами при углах отражения $2\theta \sim 10^\circ$ и 20° – 22° , а профили безводных кристаллов — уменьшением интенсивности и смещением данных рефлексов в область $2\theta \sim 15^\circ$ и 22° – 24° [29, 31].

Аскобиновая кислота относится к классу оптически активных веществ и имеет две пары (диа)стереоантиподов, из которых коммерчески доступны природный *L*-изомер (витамин С) и его синтетический *D*-диастереоантипод, имеющие противоположную конфигурацию хирального центра при С-5 (рис. 1б) [32]. Оба диастереомера имеют жесткое практически плоское лактонное кольцо с окислительно-восстановительной ендольной группировкой, обуславливающей кислотные свойства водного раствора АК за счет ионизации енольного гидроксила при С-3 и формирования резонансно-стабилизированного аскорбат-аниона, гидроксильный протон которого более кислый, чем в изолированной ОН-группе (рис. 1а). В силу обращения конфигурации атома С в положении 5 эпимеры АК различаются температурой и энтальпией плавления, растворимостью в воде, первой константой ионизации pK_{a1} ($pK_{a1} (L\text{-AK}) = 4.26$, $pK_{a1} (D\text{-AK}) = 4.18$, $pK_{a2} (L\text{-AK}) \sim pK_{a2} (D\text{-AK}) \sim 11.6$), параметрами элементарной ячейки и системой меж- и внутримолекулярных контактов. Так, в *D*-АК, помимо характерных для *L*-АК внутримолекулярных водородных связей между С-2-ОН и функциональных фрагментов С-1 или С-3 и межмолекулярных Н-свя-

зей С-1 и С-6-ОН, реализуются С-5-ОН...С-3 внутримолекулярные взаимодействия [32].

L-АК (витамин С) выполняет крайне важные биологические функции: выступает в качестве кофермента гидроксилаз, катализирует метаболизм фолиевой кислоты, проявляет антиоксидантную активность, стимулирует синтез коллагена и пролиферацию фибробластов, участвует во всех фазах заживления ран и т.д. [33]. Для *D*-АК имеется лишь несколько сообщений о его невысокой антиоксидантной и коллагенстимулирующей активности, составляющей лишь ~5% биологической активности *L*-АК [34, 35]. Между тем, в комплексах с межмолекулярным переносом заряда именно *D*-аскорбаты хитозана (хитозан·*D*-АК) проявляют большую антибактериальную, противовоспалительную и ранозаживляющую активность, значительно повышают жизнеспособность фибробластов, чем *L*-аскорбаты хитозана (хитозан·*L*-АК) [6, 24, 26].

Представляется, что различия в биологической активности *L*- и *D*-аскорбатов хитозана обусловлены стерическими особенностями хирального органического лиганда (кислотного остатка). В зависимости от диастереомера АК формируются гетеро-(*D*–*L*) или гомохиральные (*D*–*D*) солевые комплексы *D*-глюкан–кислота, обеспечивающие дифференциацию пространственной структуры и соответственно свойств и биологической функциональности изомерной солевой формы полимера. При этом принципам гомохиральности живой природы соответствует лишь солевой комплекс *D*-глюкан–*D*-АК. Однако в подавляющем числе исследовательских работ при получении солевой формы хитозана используется *L*-АК как наиболее биологически активная форма данной кислоты [18–23, 25].

Следует отметить, что специфическая биологическая роль *D*-изомеров биологически активных веществ уже не считается нетривиальной, поскольку исследования последнего десятилетия выявили отклонение от заявленной ранее “хиральной чистоты” биосистем, в частности принципа построения природных белков только из *L*-аминокислот. *D*-изомеры аминокислот обнаружены в клетках прокариот, эукариот и млекопитающих, в том числе человека [36]. Предполагается, что они участвуют в регуляции нейротрансмиссии, врожденного иммунитета и барьерной функции живого организма [37]. Установлена высокая эффективность *D*-аминокислот при терапии некоторых заболеваний [36, 38], разрушении биопленок и снижении антибиотикорезистентности, достижении биостабильности синтетических пептидов [39], что открывает новые направления получения биомедицинских материалов не только с улучшенными, но и принципиально новыми биологическими функциями [36–39].

Обнаружено также, что хитозан·*L*-АК и хитозан·*D*-АК отличаются параметрами псевдоорторомбической элементарной ячейки кристаллитов [40], хирооптическими характеристиками [6, 7], физико-механическими и гидродинамическими свойствами [6, 17, 41]. Вероятно, гетеро-(*D*–*L*) или гомохиральные (*D*–*D*) солевые комплексы хитозан–АК должны отличаться структурными характеристиками и надмолекулярным упорядочением макроцепей, а различия в кислотности диастереомеров АК должны отражаться на химическом сродстве реагирующих компонентов и соответственно на энергетических параметрах солеобразования.

Цель настоящей работы – оценка энергетики донорно-акцепторного взаимодействия хитозана с *L*- и *D*-диастереомерами АК в водной среде и особенностей надмолекулярного упорядочения формирующихся при этом *D*–*L* и *D*–*D* хиральных солевых комплексов полимер–кислота.

ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Для исследования выбраны образцы хитозана со средневязкостной молекулярной массой $\bar{M}_\eta = 40 \times 10^3$ (в форме гидрохлорида) и 200×10^3 , близкой степенью деацетилирования 80–82 мол. % производства Закрытого акционерного общества “Биопрогресс” (Шелково, Россия), далее обозначаемые хитозан-40 и хитозан-200. Значение $\bar{M}_\eta$ рассчитывали по уравнению Марка–Куна–Хаувинка $[\eta] = 1.38 \times 10^{-4} \bar{M}_\eta^{0.85}$ [42], где $[\eta]$ – характеристическая вязкость (дл/г) раствора хитозана в 0.33 М $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2$ М CH_3COONa при $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Количество Cl^- в образце хитозан-40, определенное потенциометрическим титрованием, составило 0.57 мол. % HCl .

Использовали *L*-АК с содержанием основного вещества 99% (Общество с ограниченной ответственностью “Мелиген”, Россия); *D*-АК с содержанием основного вещества 98% (Общество с ограниченной ответственностью “База Химреактивов”, Россия); NaOH , HCl (фиксанал), CH_3COOH и CH_3COONa (Общество с ограниченной ответственностью “Завод химических реактивов”, Россия); *L*-ментол (“Alfa Aesar”, Англия); 95% этиловый спирт (Общество с ограниченной ответственностью “РФК”, Россия); ацетон (Закрытое акционерное общество “Экос 1”, Россия); бидистиллированную воду.

Объекты исследования

Водные растворы хитозана-40(–200) в *L*-(*D*)-АК с концентрацией хитозана 0.25–5.0 мас. % получали при мольном соотношении $[\text{AK}] : [-\text{NH}_2] =$

= 1.0 моль/осново-моль (для устранения влияния несвязанной АК) при перемешивании на магнитной мешалке при $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 1–3 ч. Для обеспечения тождественности условий сравнительного анализа образцов хитозана разной $\bar{M}_n$ в отдельных опытах использовали водные растворы гидрохлорида *L*-(*D*)-аскорбата хитозана-200 (хитозан-200+HCl · *L*-(*D*)-АК), которые получали добавлением 0.1 Н HCl в раствор хитозана-200 в *L*-(*D*)-АК до достижения той же степени замещения NH_2 -групп, что и в образце гидрохлорида хитозана-40. В специальных экспериментах показано, что в данных условиях реализуется максимально возможная степень протонирования аминогрупп полимера, $(-\text{NH}_3^+)_{\text{max}}$. Поскольку аскорбат хитозана в водной среде окисляется до дегидроаскорбата хитозана, который вступает в реакцию Шиффа с образованием полимерного кетимина [43], и даже низкие концентрации несвязанной АК могут вызывать деструкцию полимера [44], в экспериментах использовали только свежеприготовленные растворы.

Порошки хиральных солей хитозана-40(-200) · *L*-(*D*)-АК получали из растворов с концентрацией хитозана 3.0 мас. % лиофилизацией на Bench-Top 2K (“VirTis”, США) при температуре -57°C и давлении 2–5 мм рт.ст. Образцы подвергали диализу против воды с использованием трубчатой мембраны Cellu-Sep (“Sigma-Aldrich”, США) с пределом по молекулярной массе $(12\text{--}14) \times 10^3$. Модуль диализной ванны 1 : 100, время диализа – 36 ч. Диализат заменяли каждые 8 ч до достижения pH 5.0, значение которого контролировали комбинированным ионоселективным электродом “Mettler Toledo Five Easy FE20” (MTD, Сингапур). Образцы диализованных порошков вновь лиофильно сушили как описано выше и хранили в эксикаторе при нулевой влажности.

Для выделения порошков полимера в среде оптически активного осадителя раствор хитозана-40(-200), хитозан-200+HCl в *L*-(*D*)-АК с концентрацией хитозана 4–5 мас. % смешивали с 5%-ным раствором *L*-ментола в 95% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ в объемном соотношении 1 : 1 и вливали тонкой струей (при перемешивании) в ацетон до полного осаждения компонентов. Полученный осадок отделяли фильтрованием и сушили в воздушной атмосфере при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 ч до полного испарения жидкой среды.

Методы исследования

Теплоту растворения ΔH определяли в адиабатической калориметрической системе “Parr Solution Calorimeter 6755” (“Parr Instrument Company”, США) по величине температурного скачка в процессе растворения навесок полимера и кислоты в бидистиллированной воде, концентрация хито-

зана 0.25 мас. %. Чувствительность термодатчика 10^{-4} град, повторность трехкратная.

Потенциометрическое титрование проводили на автоматическом титраторе “Mettler Toledo G20” (MTD, Германия) при $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Индикаторный электрод – стеклянный DGi115SC, встроенный электрод сравнения – хлорид-серебряный. Начальный объем раствора полимера – 40 мл, концентрация хитозана 0.5 мас.%. В качестве титранта использовали 0.05 Н NaOH, концентрацию уточняли по фиксаналу 0.1 Н HCl. Точки эквивалентности определяли по максимумам производной кривой титрования $\Delta\text{pH}/\Delta V = f(V)$, повторность трехкратная. Степень протонирования α рассчитывали по формуле из работы [45].

Элементный анализ (C, H) выполняли на анализаторе “Vario Micro Cube” (“Elementar”, Германия) в токе O_2 , N – в токе CO_2 . Погрешность составила ± 0.5 мас. %. Содержание C/N/H элементов рассчитывали на беззольную пробу.

ИК-спектры регистрировали на вакуумном ИК-фурье-спектрометре “Vertex 70 v” (“Bruker”, США) с термовариацией PIKE GladiATR и разрешением 4 см^{-1} , используя в среднем 36 сканирований в диапазоне $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ методом НПВО. Спектры обрабатывали в программе OPUS. Соотношение полос поглощения ИК-спектров исходных образцов хитозана и его хиральных солей с *L*- и *D*-АК приведено в таблице SI-1 Онлайн-ресурса.

Рентгеновские дифрактограммы получали на дифрактометре ДРОН-3 (Научно-производственное предприятие “Буревестник”, Россия) с излучением CuK_α при $U = 22\text{ кВ}$ и $I_a = 20\text{ мА}$ с автоматической регистрацией данных. Монохроматизацию осуществляли с помощью Ni-фильтра. Степень кристалличности χ рассчитывали как отношение интегральной интенсивности суммарного рассеяния кристаллитов к полному рассеянию от аморфных и кристаллических областей графическим интегрированием (программа QCAD 3.15) [46]. Характеристика кристаллитов и степень кристалличности исходных образцов Научно-производственного предприятия “Буревестник” и его хиральных солей с *L*- и *D*-АК приведены в таблице SI-2 Онлайн-ресурса.

Электронно-микроскопические изображения получали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе “MIRA\LMU” (“Tescan”, Чехия) при напряжении 7 кВ и проводящем токе 400 пА. На образцы напыляли слой золота толщиной 5 нм на установке “K450X Carbon Coater” (“Emitech”, Англия).

Статистический анализ проводили для трехкратных повторов эксперимента. Результаты представлены в виде средних значений со стандартным отклонением.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс взаимодействия хитозана с *L*- и *D*-АК в водной среде характеризуется отрицательными значениями энтальпии растворения, а доля групп $(-\text{NH}_3^+)_{\text{max}}$ в условиях максимально возможного протонирования аминогрупп полимера не превышает 75 мол. % (табл. 1). При этом тепловой эффект при растворении хитозана в *L*-АК и степень протонирования *L*-хиральных солевых комплексов меньше, чем при растворении в среде *D*-АК.

Обнаруженные отличительные особенности солевых комплексов хитозан·*L*-АК и хитозан·*D*-АК в растворе отражаются и на физико-химических параметрах их твердой фазы.

ИК-спектры хитозана-40 и хитозана-200 показывают все типичные для данного полимера характеристические частоты колебаний, в частности, включенных в систему водородных контактов связей ОН– и NH– (широкие полосы 3600–3300 см^{-1}), $-\text{NHCO}-$ (1638 см^{-1} , Амид I) и валентных колебаний C–N вторичной аминогруппы (1315 и 1324 см^{-1} , Амид III), связей C–O и C–C глюкопиранозного кольца (1149–1033 см^{-1}) (рис. 2, спектры 1 и 1', табл. SI-1) [5, 22, 47, 48]. В ИК-спектрах хитозан-200·*L*-(*D*-)АК (рис. 2, спектры 2' и 3', табл. SI-1) появляется составная полоса Амид II, характерная для асимметричных деформационных колебаний N–H и валентных колебаний C–N протонированных (ассоциированных) аминогрупп $(-\text{NH}_3^+)$ при 1535 и 1530 см^{-1} , что подтверждает солеобразование хитозан-200 с *L*-(*D*-)АК [5, 14, 49, 50]. В спектрах солей хитозан-40 *L*-(*D*-)АК, полученных из гидрохлорида хитозан-40, наблюдается сдвиг данной полосы при 1537 см^{-1} в низкочастотную область: 1525 и 1532 см^{-1} (рис. 2, спектры 2 и 3, табл. SI-1).

Отличительной особенностью ИК-спектров *L*- и *D*-аскорбатов хитозан-40(-200) от ИК-спектров исходных образцов хитозан-40(-200) является сдвиг полос поглощения валентных колебаний N–H, O–H и C=O, а также деформационных колебаний C=O полосы Амид I в область низких частот (табл. SI-1). Как известно, такое смещение характеристических полос обусловлено формированием водородных связей [1, 15]. Это могут быть Н-связи между соседними цепями полимера или удаленными по цепи “изгибными” сегментами одной и той же макромолекулы, между макроцепями и молекулами воды [13, 15, 40]. Кроме того, возможны меж- и внутримолекулярные контакты между макромолекулами полимера и свободными функциональными группами молекул кислоты [14, 16]. Наибольшее количество Н-связей наблюдается для *D*-солевых комплексов хитозан-40(-200), что согласуется с отличительными особенностями индивидуальных диасте-

Таблица 1. Энтальпия растворения и степень протонирования хитозана в водном растворе *L*- и *D*-АК

Кислота	ΔH , кДж/моль	α^* , мол. %	pH
Хитозан-40			
<i>L</i> -АК	-23.1 ± 2.1	72.6 (58.5 + 14.1)	3.0
<i>D</i> -АК	-31.0 ± 2.4	74.0 (57.4 + 16.6)	2.9
Хитозан-200			
<i>L</i> -АК	-16.3 ± 1.4	69.8 (54.6 + 15.2)	4.4
<i>D</i> -АК	-19.8 ± 1.7	69.6 (52.3 + 17.3)	4.3

*Суммарная степень протонирования в условиях $(-\text{NH}_3^+)_{\text{max}}$, в скобках – степень протонирования групп NH_2 полимера HCl и АК соответственно.

реомеров АК, в частности, с отсутствием в ИК-спектре *D*-АК полосы поглощения групп ОН при C-5, поскольку они участвуют в образовании внутримолекулярных Н-связей C-3...C-5 (рис. 16) [32].

Таким образом, спектральные характеристики хиральных солей хитозана с *L*- и *D*-АК указывают на развитую систему меж- и внутримолекулярных контактов в надмолекулярной структуре образцов, что не типично для солевой формы хитозана. При этом наиболее развитой системой Н-связей характеризуются *D*-аскорбаты хитозана.

На рентгеновских дифрактограммах исходных порошков хитозана-40 и хитозана-200 (рис. 3, спектры 1 и 1') на фоне аморфного гало проявляются основные кристаллические рефлексы при $2\theta \sim 11.3^\circ$ – 12.5° (гидратированные кристаллы), 15.2° – 16.5° (безводные кристаллы), 19.3° – 20.3° и при $2\theta \sim 27.1^\circ$ для гидрохлорида хитозан-40. Дифрактограммы являются типичными для аморфно-кристаллических полимеров с невысокой степенью кристалличности, в частности хитозан [9, 14, 15]. Значения межплоскостных расстояний в кристаллических решетках исследованных образцов согласуются с описанными в литературе (табл. SI-2) [5, 49].

На экваториальных рентгеновских профилях диастереомерных солей хитозан-40·*L*-(*D*-)АК по сравнению с исходным порошком хитозан-40 наблюдается значимое повышение интенсивности основных рефлексов в диапазоне $2\theta \sim 19.3^\circ$ – 20.3° град для хитозан-40·*L*-АК и $2\theta \sim 20.8^\circ$ – 22.6° град для хитозан-40·*D*-АК, а рефлекс при $2\theta \sim 28.2^\circ$ (хитозан-40·*L*-АК) и 27.1° (хитозан-40·*D*-АК) практически исчезает (рис. 3, спектры 2 и 3). Фиксируется также слабый пик при $2\theta \sim 14.2^\circ$ – 16.2° и 16.0° (хитозан-40·*L*-АК и хитозан-40·*D*-

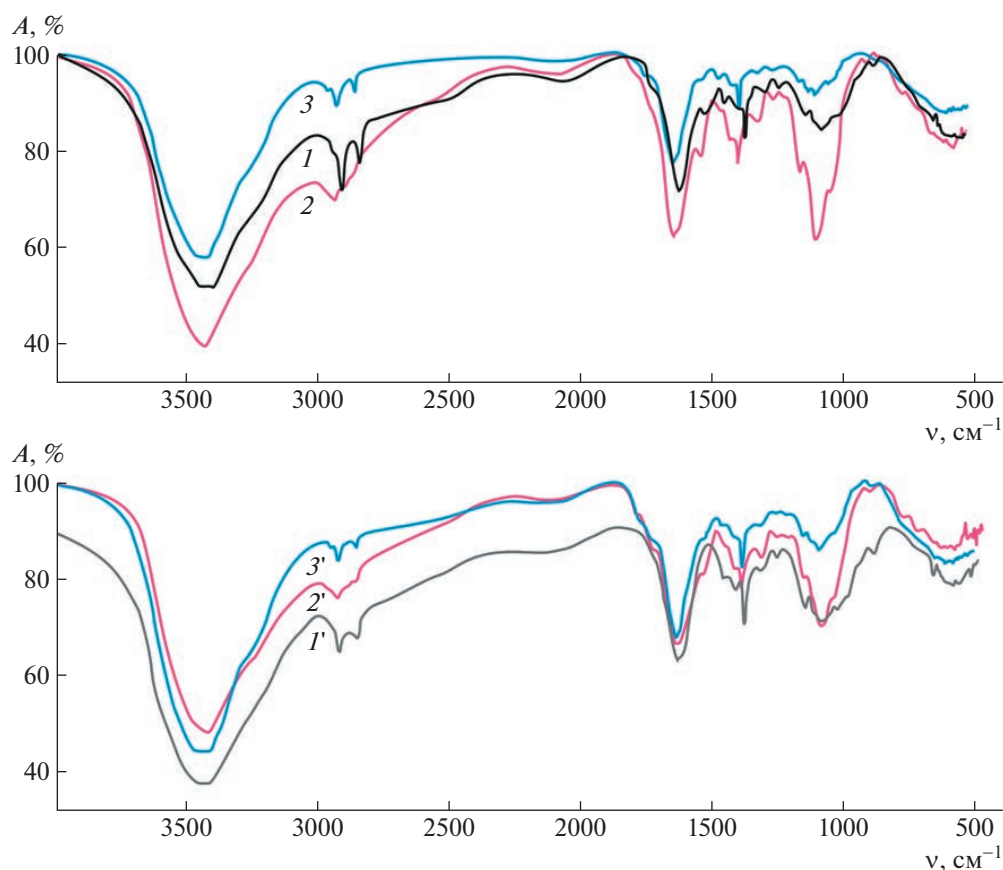


Рис. 2. ИК-спектры исходного порошка хитозана (I , I') и его хиральных солевых комплексов с L - (2 , $2'$) и D -АК (3 , $3'$) для образцов хитозан-40 (I – 3) и хитозан-200 (I' – $3'$).

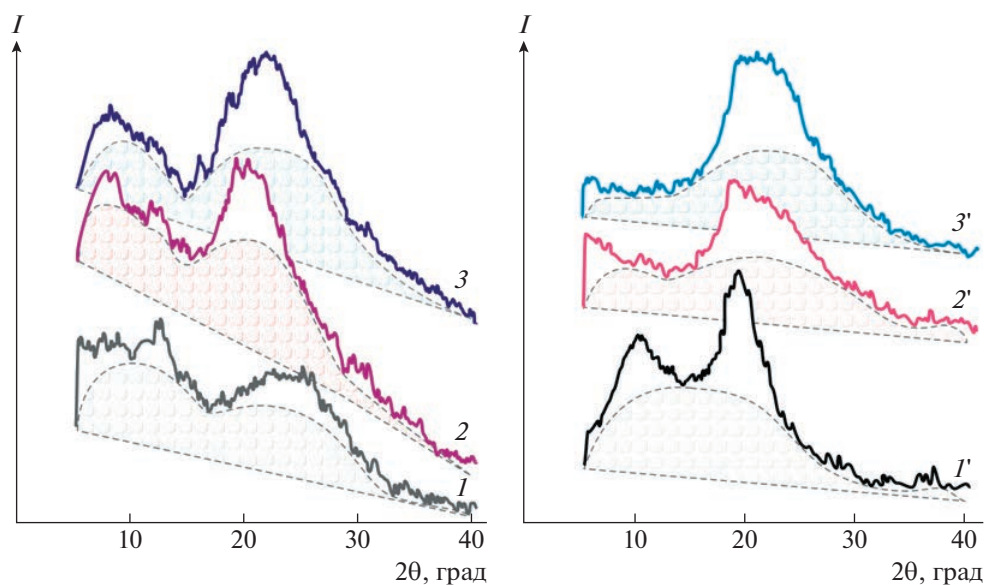


Рис. 3. Рентгеновские дифрактограммы и степень кристалличности исходного порошка хитозана (I , I') и его хиральных солевых комплексов с L - (2 , $2'$) и D -АК (3 , $3'$) для образцов хитозан-40 (I – 3) и хитозан-200 (I' – $3'$). $\chi = 32.6$ (I), 28.3 (2), 34.4 (3), 36.9 (I'), 37.3 ($2'$) и 40.3% ($3'$). Обозначенная пунктиром заштрихованная область соответствует диффузному рассеянию.

Таблица 2. Некоторые характеристики исходных порошков хитозана и его хиральных солей с *L*- и *D*-АК

Кислота	Содержание элемента, мас.%			C/N	Формула
	C	H	N		
Хитозан-40					
—	37.98	7.44	6.95	5.47	$C_{6.4}H_{11.4}NO_{4.2} \cdot 1.8 H_2O$
<i>L</i> -АК	35.63	7.15	5.06	7.04	$C_{6.4}H_{11.4}NO_{4.2} \cdot 0.3 L-C_6H_8O_6 \cdot 3.0 H_2O$
<i>D</i> -АК	37.17	6.82	5.03	7.39	$C_{6.4}H_{11.4}NO_{4.2} \cdot 0.4 D-C_6H_8O_6 \cdot 2.3 H_2O$
Хитозан-200					
—	39.10	7.32	7.14	5.48	$C_{6.4}H_{11.4}NO_{4.2} \cdot 1.5 H_2O$
<i>L</i> -АК	39.51	6.14	3.91	10.10	$C_{6.4}H_{11.4}NO_{4.2} \cdot 0.9 L-C_6H_8O_6 \cdot 1.7 H_2O$
<i>D</i> -АК	39.85	6.57	5.29	7.53	$C_{6.4}H_{11.4}NO_{4.2} \cdot 0.4 D-C_6H_8O_6 \cdot 1.4 H_2O$

АК соответственно), характерный для дегидратированных солевых форм хитозана [29, 31].

На дифракционных картинах диастереомерных солей хитозан-200 · *L*-(*D*-)АК по сравнению с исходным образцом хитозан-200 первый основной рефлекс при $2\theta \sim 11.8^\circ$ малоинтенсивен, второй смещается в область больших значений углов дифракции: до $\sim 21.7^\circ$ – 24.8° для хитозан-200 · *L*-АК и $\sim 21.8^\circ$ – 24.4° для хитозан-200 · *D*-АК (рис. 3, спектры 2' и 3'). Кроме того, рентгеновские дифрактограммы хитозан-200 · *L*-(*D*-)АК характеризуются уширением и уменьшением интенсивности пика второго основного рефлекса, что свидетельствует о наличии в них меньших по размеру структурных элементов. В совокупности изменений экваториальных профилей рентгеновской дифракции можно заключить, что в структуре *L*-(*D*-)аскорбатов хитозана-40 и хитозана-200 присутствуют полиморфы гидратированной и безводной формы полимера.

Несмотря на некоторое снижение интенсивности отдельных рефлексов по сравнению с исходным полимером, степень кристалличности хиральных солей хитозан-40 · *L*-(*D*-)АК и хитозан-200 · *L*-(*D*-)АК достаточно высокая по сравнению с солевыми формами хитозана с традиционными монокрабовыми кислотами-растворителями, значение χ которых, как правило, не превышает 25–30% [30, 31, 46]. Значения межплоскостных расстояний в кристаллической решетке, определенные при $2\theta \sim 14.2^\circ$ – 16.2° (хитозан-40 · *L*-(*D*-)АК) увеличиваются, а при $2\theta \sim 19.3^\circ$ – 22.6° (хитозан-40 · *L*-(*D*-)АК, хитозан-200 · *L*-(*D*-)АК) — уменьшаются (табл. SI-2). Обнаруженные структурные изменения наиболее выражены для *D*-изомерных солевых комплексов хитозана. Наиболее высокие значения степени

кристалличности также наблюдаются для *D*-аскорбатов хитозана.

Элементный анализ показал, что соотношение C/N в порошках хиральных солей хитозан-40 · *L*-(*D*-)АК и хитозан-200 · *L*-(*D*-)АК значительно больше по сравнению с исходным полимером (табл. 2). Полученные результаты, как и данные ИК-спектроскопии, подтверждают, что взаимодействие хитозана с *L*-(*D*-)АК идет с переносом протона кислоты на аминогруппу полимера с образованием протонированных аминогрупп и соответственно солевой формы хитозана. При стехиометрическом пересчете содержания элементов на усредненное элементарное звено полимера (формульная единица) установлено, что в *L*-солях хитозана-40 и хитозана-200 содержится большее количество кристаллизационной воды, чем в *D*-солевых комплексах.

СЭМ-микроскопия показала, что стереоизомерия кислотного остатка значимо отражается и на надмолекулярном упорядочении порошков хиральных солевых комплексов хитозан-40(–200) · *L*-(*D*-)АК. Так, пористая структура твердой фазы *L*-солей хитозан-40(–200) представлена регулярной последовательностью разнонаправленных борозд, в то время как структура *D*-солей — ячейками близкой к сферической формы (рис. 4).

При осаждении полимера из водного раствора хитозан-40 · *L*-АК с использованием этанольного раствора *L*-ментола (специфический оптически активный осадитель) и ацетона (традиционный осадитель) формируется структура с преимущественно анизометрическими надмолекулярными образованиями, а при осаждении из раствора хитозан-40 · *D*-АК — с плотно упакованными конфокальными доменами сферической формы (рис. 5а, 5б).

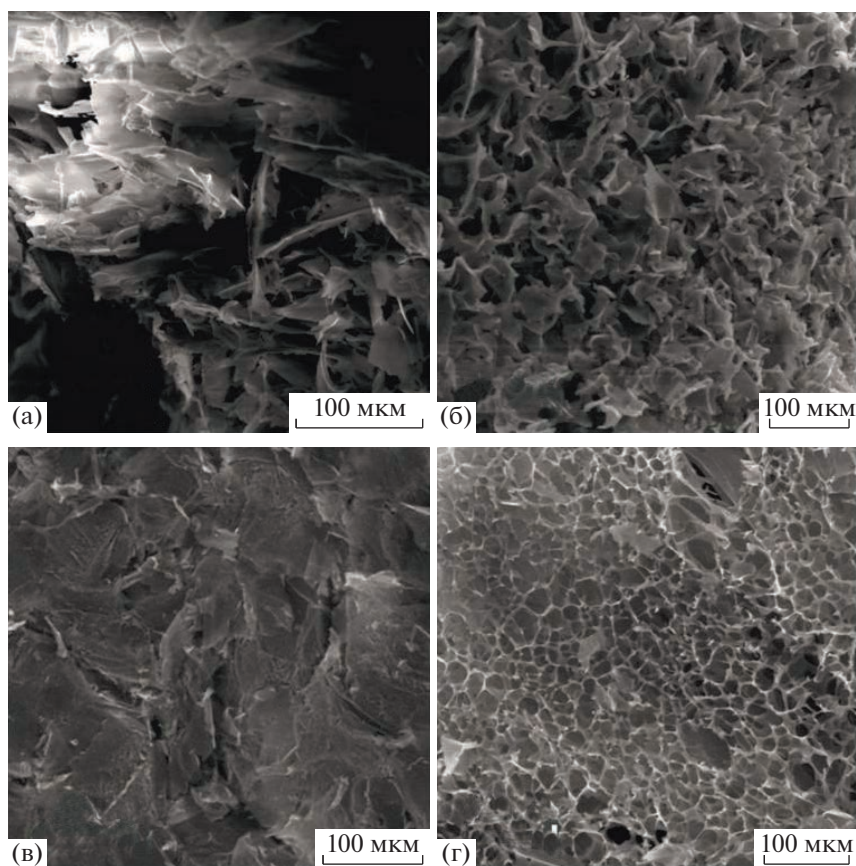


Рис. 4. Электронно-микроскопические изображения морфоструктуры порошков хиральных солевых комплексов хитозан-40 (а, б) и хитозан-200 (в, г) с *L*- (а, в) и *D*-АК (б, г).

В случае осаждения хитозан-200 · *L*-(*D*-)АК в тех же условиях формируется пористая архитектура с системой взаимосвязанных анизотропных пор (рис. 5в, 5г). Использование гидрохлорида-аскорбата хитозан-200 также приводит к образованию рыхлой морфоструктуры осадка (рис. 5д, 5е). Это свидетельствует о слабом влиянии Cl^- на стереоструктуру образцов и подтверждает наше предположение, что надмолекулярное упорядочение солей хитозана с *L*- и *D*-АК определяются стереоизомерией кислотного остатка. Как для хитозана-200, так и для хитозан-200+HCl большая пористость и меньший размер пор наблюдаются для *L*-солевых комплексов.

Таким образом, и лиофильно-высушенные порошки *L*-солей хитозана-40(–200), и выделенные оптически активным осадителем из соответствующих растворов характеризуются более “рыхлым” надмолекулярным упорядочением по сравнению с *D*-солевыми комплексами хитозана-40(–200) и порошков, перекристаллизованных из них в среде *L*-ментол+этанол+ацетон.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что при формировании *L*- и *D*-аскорбатов хитозана наиболее сильное энергетическое взаимодействие реализуется при формировании гомохиральных солевых комплексов *D*-глюкан – *D*-диастереомер АК. Положение и ширина валентных колебаний N–H и O–H, их сдвиг в область низких частот, аналогичный сдвиг полос поглощения валентных и деформационных колебаний C=O свидетельствуют о существовании меж- и внутримолекулярных контактов в надмолекулярной структуре образцов с наиболее развитой системой таких контактов для *D*-аскорбата хитозана. *D*-диастереомерные солевые комплексы хитозана характеризуются более высокой степенью кристалличности и наибольшим изменением межплоскостных расстояний в кристаллитах по сравнению как с хитозаном · *L*-АК, так и с солевыми комплексами хитозана с другими карбоновыми кислотами [5, 14, 40]. В солевых формах хитозана с *D*-изомером АК присутствует меньшее количество приходящейся на макромолекулярное звено кристаллизационной воды, что косвенно указывает на сильное взаимодействие компонентов соли,

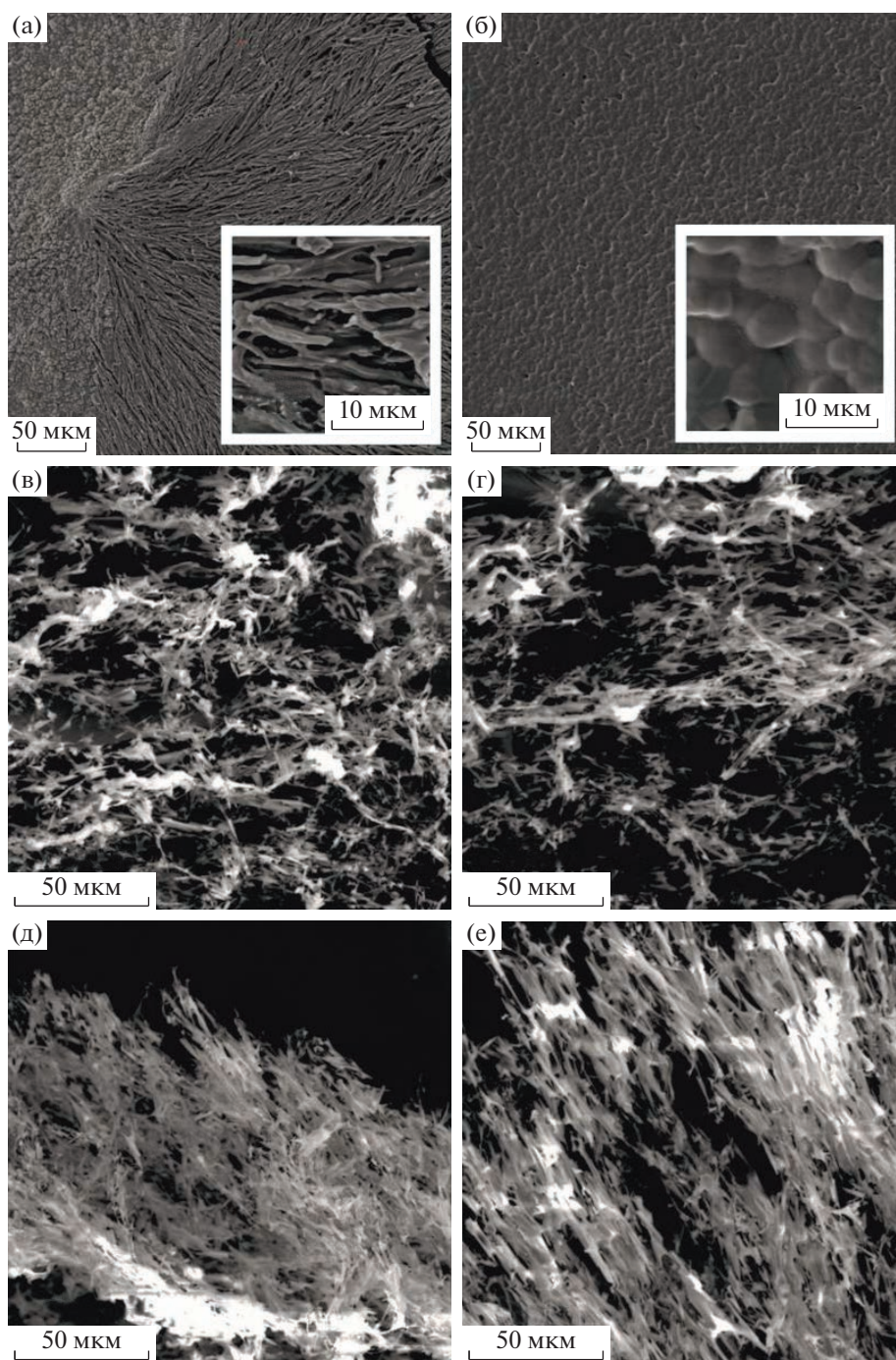


Рис. 5. Электронно-микроскопические изображения морфологии осадков, выделенных этанольным раствором *L*-ментола и ацетоном из водных растворов хитозана-40 (а, б), хитозана-200 (в, г) и хитозан-200+HCl (д, е) в *L*- (а, в, д) и *D*-АК (б, г, е).

вследствие чего на взаимодействие с водой остается меньше центров и групп. Надмолекулярная структура и пространственное упорядочение солей хитозан с *L*- и *D*-АК также в значительной мере определяются пространственной конфигурацией хирального лиганда. Во всех случаях суммарная пористость порошков выше для *L*-аскорбатов хитозана.

Как известно, протонизация глюкозаминных звеньев хитозана исключает возможность участия аминогрупп в формировании водородных связей и вследствие внутримолекулярного электростатического отталкивания частично ослабляет исходную жесткую кристаллическую структуру полимера. Однако гетеро- (*D-L*) и гомохиральные (*D-D*) солевые комплексы хитозан–АК показы-

вают уплотненную надмолекулярную ориентацию макроцепей, стабилизированную многочисленными меж- и внутримолекулярными контактами. Совокупность полученных результатов позволяет констатировать, что хиральные солевые комплексы хитозана с *L*- и *D*-АК представляют собой стереоспецифические полимерные сетки, сшитые как посредством классических водородных и ион-дипольных связей, так и специфических кулоновских и других взаимодействий, в которых немаловажную роль выполняет диастеремерная форма АК. Не исключено, что наиболее развитая система меж(внутри)молекулярных контактов при гомохиральном солеобразовании *D*-глюкан–*D*-кислота и обеспечивает наилучшую биологическую активность солей хитозан · *D*-АК, о чем сообщалось нами в работах [6, 7, 24, 26].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 22-23-00320).

Авторы выражают благодарность центру коллективного пользования “Физико-химические методы исследования и анализа веществ и материалов” Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского за получение СЭМ-фотографий и рентгеновских дифрактограмм порошков хиральных солей хитозана.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kou S.G., Peters L., Mucalo M. // Carbohydr. Polym. 2022. V. 282. P. 119132.
- Kulish E.I., Lazdin R.Y., Shurshina A.S., Kolesov S.V., Zakharova E.M., Zakharov V.P. // Polymer Science A. 2021. V. 63. № 1. P. 54.
- Liu N., Chen X.G., Park H.J., Liu C.G., Liu C.S., Meng X.H., Yu L.J. // Carbohydr. Polym. 2006. V. 64. № 1. P. 60.
- Namli S., Guven O., Simsek F.N., Gradišek A., Sumnu G., Yener M.E., Oztot M. // Int. J. Biol. Macromol. 2023. V. 250. P. 126123.
- Singh J., Dutta P.K. // Int. J. Biol. Macromol. 2009. V. 45. № 4. P. 384.
- Gegel N.O., Zhuravleva Y.Y., Shipovskaya A.B., Malinkina O.N., Zudina I.V. // Polymers. 2018. V. 10. № 3. P. 259.
- Shipovskaya A.B., Malinkina O.N., Gegel N.O., Zudina I.V., Lugovitskaya T.N. // Russ. Chem. Bull. 2021. V. 70. P. 1765.
- Wen Y., Yuan Y., Chen H., Xu D., Lin K., Liu W. // Environ. Sci. Technol. 2010. V. 44. № 13. P. 4981.
- Qiao C., Ma X., Wang X., Liu L. // Lwt. 2021. V. 135. ID 109984.
- Melro E., Antunes F.E., da Silva G.J., Cruz I., Ramos P.E., Carvalho F., Alves L. // Polymers. 2021. V. 13. № 1. ID 1.
- Jiang S., Qiao C., Liu R., Liu Q., Xu J., Yao J. // Carbohydr. Polym. 2023. V. 312. P. 120842.
- Bochek A.M., Zabivalova N.M., Popova E.N., Lebedeva M.F., Lavrent'ev V.K., Yudin V.E. // Polymer Science A. 2021. V. 63. № 1. P. 63.
- Pigaleva M.A., Portnov I.V., Rudov A.A., Blagodatskikh I.V., Grigoriev T.E., Gallyamov M.O., Potemkin I.I. // Macromolecules. 2014. V. 47. P. 5749.
- Demarger-Andre S., Domard A. // Carbohydr. Polym. 1994. V. 23. № 3. P. 211.
- Lugovitskaya T.N., Shipovskaya A.B., Shmakov S.L., Shipenok X.M. // Carbohydr. Polym. 2022. V. 277. P. 118773.
- Li Q.X., Song B.Z., Yang Z.Q., Fan H.L. // Carbohydr. Polym. 2006. V. 63. № 2. P. 272.
- Shipovskaya A.B., Zhuravleva Y.Y., Khonina T.G., Malinkina O.N., Gegel N.O. // J. Sol-Gel Sci. Technol. 2019. V. 92. P. 349.
- Sekar V., Rajendran K., Vallinayagam S., Deepak V., Mahadevan S. // J. Ind. Eng. Chem. 2018. V. 62. P. 239.
- Ashurov N.S., Yugai S.M., Shakhobutdinov S.S., Kulumbetov A.S., Atakhanov A.A. // Russ. Chem. Bull. 2022. V. 71. № 2. P. 227.
- Rossi S., Vigani B., Puccio A., Bonferoni M.C., Sandri G., Ferrari F. // Marine Drugs. 2017. V. 15. № 10. P. 319.
- Augustine R., Dan P., Schlachet I., Rouxel D., Menu P., Sosnik A. // Int. J. Pharm. 2019. V. 559. P. 420.
- Hafsa J., Charfeddine B., Smach M.A., Limem K., Majdoub H., Sonia R. // Int. J. Pharm., Chem. Biol. Sci. 2014. V. 4. № 4.
- Tan W., Zhang J., Zhao X., Li Q., Dong F., Guo Z. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V. 146. P. 53.
- Gegel N.O., Zudina I.V., Malinkina O.N., Shipovskaya A.B. // Microbiology. 2018. V. 87. № 5. P. 732.
- Zain N.M., Stapley A.G., Shama G.J.C.P. // Carbohydr. Polym. 2014. V. 112. P. 195.
- Malinkina O.N., Zhuravleva Y.Y., Shipovskaya A.B. // Appl. Biochem. Microbiol. 2022. V. 58. № 2. P. 161.
- Ogawa K., Yui T., Okuyama K. // Int. J. Biol. Macromol. 2004. V. 34. № 1–2. P. 1.
- Kawada J., Yui T., Okuyama K., Ogawa K. // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001. V. 65. № 11. P. 2542.
- Naito P.K., Ogawa Y., Kimura S., Iwata T., Wada M. // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 2015. V. 53. № 15. P. 1065.
- Baklagina Y.G., Kononova S.V., Petrova V.A., Poshina D.N., Skorik Y.A., Klechkovskaya V.V., Orekhov A.S. // Crystallogr. Rep. 2018. V. 63. № 3. P. 303.
- Kobaisi M.A., Murugaraj P., Mainwaring D.E. // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 2012. V. 50. № 6. P. 403.
- Dolle C., Magrone P., Riva S., Ambrosi M., Fratini E., Peruzzi N., Nostro P.L. // J. Phys. Chem. B. 2011. V. 115. № 40. P. 11638.
- Rizzo J.A., Rowan M.P., Driscoll I.R., Chung K.K., Friedman B.C. // Critical Care Clinics. 2016. V. 32. № 4. P. 539.
- Fidler M.C., Davidsson L., Zeder C., Hurrell R.F. // Am. J. Clin. Nutr. 2004. V. 79. № 1. P. 99.
- Munoz-Munoz J.L., Garcia-Molina F., Garcia-Ruiz P.A., Varon R., Tudela J., Garcia-Cánovas F., Rodriguez-Lopez J.N. // Biochim. Biophys. Acta. 2009. V. 1794. № 2. P. 244.

36. *Bastings J.J., van Eijk H.M., Olde Damink S.W., Rensen S.S.* // *Nutrients*. 2019. V. 11. № 9. P. 2205.
37. *D'Aniello A.* // *Brain Res. Rev.* 2007. V. 53. № 2. P. 215.
38. *Shi Y., Hussain Z., Zhao Y.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 18. P. 10794.
39. *Jia F., Wang J., Peng J., Zhao P., Kong Z., Wang K., Wang R.* // *Acta Biochim. Biophys. Sinica*. 2017. V. 49. № 10. P. 916.
40. *Ogawa K., Nakata K., Yamamoto A., Nitta Y., Yui T.* // *Chem. Mater.* 1996. V. 8. № 9. P. 2349.
41. *Malinkina O.N., Gegel N.O., Shipovskaya A.B.* // *J. Mol. Liq.* 2019. V. 284. P. 75.
42. *Gamzazade A.I., Šlimak V.M., Skljar A.M., Štykova E.V., Pavlova S.S., Rogożyn S.V.* // *Acta Polymerica*. 1985. V. 36. № 8. P. 420.
43. *Muzzarelli R.A., Tanfani F., Emanuelli M.* // *Carbohydr. Polym.* 1984. V. 4. № 2. P. 137.
44. *Zoldners J., Kiseleva T., Kaiminsh I.* // *Carbohydr. Polym.* 2005. V. 60. № 2. P. 215.
45. *Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J.* // *Polymer*. 1999. V. 40. P. 7029.
46. *Shipovskaya A.B., Shmakov S.L., Gegel N.O.* // *Carbohydr. Polym.* 2019. V. 206. P. 476.
47. *Kumirska J., Czerwicka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P.* // *Marine Drugs*. 2010. V. 8. № 5. P. 1567.
48. *Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F.M., Argüelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M.* // *Polymer*. 2001. V. 42. № 8. P. 3569.
49. *Prashanth K.H., Kittur F.S., Tharanathan R.N.* // *Carbohydr. Polym.* 2002. V. 50. № 1. P. 27.
50. *Singh J., Dutta P.K., Dutta J., Hunt A.J., Macquarrie D.J., Clark J.H.* // *Carbohydr. Polym.* 2009. V. 76. № 2. P. 188.

ПРИРОДНЫЕ
ПОЛИМЕРЫ

УДК 541.64:547.458

ВЫДЕЛЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ВОДОРАСТВОРИМОГО ПОЛИСАХАРИДА ИЗ МЕСТНОРАСТУЩЕГО
И КУЛЬТИВИРУЕМОГО БАЗИДИАЛЬНОГО СЫРЬЯ
GANODERMA LUCIDUM

© 2023 г. С. Б. Хайтметова^{а,*}, А. С. Тураев^а, Г. А. Халилова^а,
Б. И. Мухитдинов^а, С. Р. Маккамбоева^а

^аИнститут биоорганической химии им. А.С. Садыкова Академии наук Республики Узбекистан
100125 Узбекистан, Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83

*e-mail: xsb75@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2023 г.

После доработки 10.10.2023 г.

Принята к публикации 20.10.2023 г.

В результате исследования из базидиомицетного сырья местнорастущей и культивируемой *Ganoderma lucidum*, выделены разветвленные полисахариды. Установлено, что выделенные фракции содержат разветвленные полисахариды в виде комплексов с меланином. После очистки полисахаридов методом ионообменной хроматографии из местнорастущего и культивируемого базидиального сырья получили две фракции: нейтральные полисахариды местнорастущего *Ganoderma lucidum* (GW-1), культивируемого *Ganoderma lucidum* (GWL-1) с выходом 25.71 и 29.85% соответственно, и анионные полисахариды местнорастущего *Ganoderma lucidum* (GW-2), культивируемого *Ganoderma lucidum* (GWL-2), с выходом 5.26 и 4.19%. Изучены физико-химические свойства полученных образцов методами ИК- и УФ-спектроскопии. Установлена степень чистоты фракций разветвленных полисахаридов. Методами газовой хроматографии, одномерной (ЯМР ^{13}C , ЯМР ^1H) и двумерной (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) ЯМР-спектроскопии установлены состав и молекулярная структура полученных образцов полисахаридов. Результаты показали, что выделенные и очищенные полисахариды представляют собой разветвленные полисахариды β -глюканового типа, которые имеют точки разветвления (1,4,6)- и (1,3,6)-связанных глюкопиранозных остатков.

DOI: 10.31857/S2308112023600084, EDN: DDDUQO

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в мире ведутся научные исследования по поиску природных источников, богатых биологически активными соединениями, по выделению из них биологически активных веществ, а также по определению их структуры и биологической активности. В связи с этим особое внимание уделяется разработке методов выделения биологически активных веществ из базидиальных грибов (*Ganoderma lucidum* (Curt Fr.), являющихся одним из перспективных объектов, определению структуры и биологической активности полученных биологически активных соединений, а также созданию лекарственных средств на их основе, обладающих иммуномодулирующей и противоопухолевой активностями.

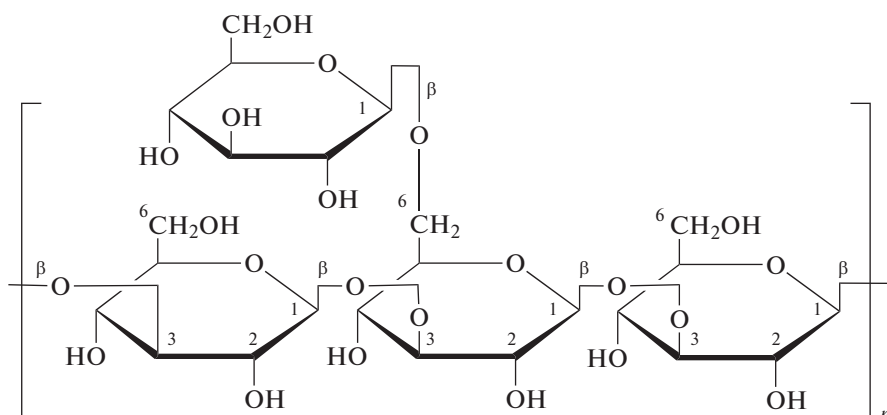
Базидиальные грибы в последние годы становятся предметом для глубокого исследования с точки зрения поиска новых противоопухолевых и различных биологически активных лекарственных веществ.

После получения данных о составе клеточных стенок базидиальных грибов у исследователей появился большой интерес к имеющимся в их составе полисахаридам. Полисахариды являются одним из важнейших компонентов органических соединений, которые участвуют во многих биологических процессах. Многочисленные исследования показали, что противораковые свойства биологически активных соединений, выделенных из грибов, в основном имеют разветвленную структуру [1–4].

При исследовании структуры установлено, что большинство полисахаридов, выделенных из грибов, обладающих противораковыми свойствами, представляют собой глюканы с (1,3), (1,6) гликозидными связями [5]. β -D-глюканы состоят из линейной или разветвленной цепи, состоящей из молекул глюкозы, и боковой цепи, содержащей комбинацию других простых сахаров. Полисахариды, содержащиеся в базидиальных грибах, накапливаются в плодовых телах, спорах, и особен-

но высока их концентрация в мицелии. Эти полисахариды, как сказано выше, различаются по своей химической структуре, но все имеют β -(1,3)-глюкановые группы в основной цепи и β -(1,6)-

глюкановые группы в разветвленных участках, которые отвечают за биологическую активность. Структура β -глюканов базидиальных грибов приведена ниже.



Исследование структурных характеристик полисахаридов представляет собой сложную задачу с точки зрения физико-химических и структурных показателей [6]. Гель-проникающая хроматография сочетается с детектором многоуглового лазерного рассеяния. В гелевой колонке макромолекулы полисахаридов начинают разделяться по относительной молекулярной массе [7].

В настоящее время часто применяют хромато-масс-спектрометрию для структурного анализа полисахаридов. Использование этого метода позволяет за один анализ смеси получить сведения о временах удерживания ее компонентов, об их относительном содержании в смеси, а также масс-спектры каждого компонента смеси [8].

Анализ состава моносахаридов имеет решающее значение для изучения структуры полисахаридов. Моносахариды, высвобождающиеся в результате гидролиза, могут быть идентифицированы и количественно охарактеризованы с помощью различных методов, таких как анионообменная, газовая хроматография, обращенно-фазовая ВЭЖХ [9].

Характеристика разветвления полисахаридов является одним из важных молекулярных параметров, которая определяет различные физико-химические свойства полисахаридов. Разветвленные полисахариды могут иметь различную структуру, положение разветвления может быть случайным или равномерно распределено по основной цепи или цепи разветвления [10].

Для установления структуры полисахаридов применяют ИК- и ЯМР-спектроскопию. Последняя подтверждает наличие гликозидных связей в структуре полисахарида и количества моносахаридов в повторяющейся структуре, включая идентификацию моносахарида, альфа- или бета-

связи, тип гликозидной связи и повторяющиеся единичные последовательности полисахаридной цепи [11].

Молекулы полисахаридов могут образовывать трехмерные сетчатые структуры через водородные связи, силы Ван-дер-Ваальса, ковалентные связи и т.д. Более того, полисахаридная цепь имеет большую степень свободы и гибкости. Эти особенности делают пространственную конформацию полисахаридов очень сложной. Исследования все чаще показывают, что биологическая активность полисахаридов не только связана с первичными структурами, но также зависит от структуры и разветвления [12, 13]. В связи с этим большое значение имеет анализ структуры полисахаридов. Дополнительными методами изучения структуры полисахаридов являются атомно-силовая микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, хроматография с круговым дихроизмом, рентгеновская дифракция и т.д.

Цель настоящей работы — выделение разветвленных полисахаридов из местнорастущего и культивируемого базидиального гриба *Ganoderma lucidum*, определение их физико-химических свойств, макромолекулярной структуры и биологической активности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выделение водорастворимых полисахаридов

В качестве природного сырья для извлечения водорастворимых полисахаридов нами были выбраны базидиальные трутовые грибы трутовик лакированный (также возможны названия Линчжи или Рейши) (лат. *Ganoderma lucidum*) — гриб рода *Ganoderma*, в настоящее время включаемого в семейство Polyporaceae, собранный в местах

естественного произрастания на территории Узбекистана в Бустанлыкском районе, а также *Ganoderma lucidum*, полученный методом культивирования.

*Культивирование гриба *Ganoderma lucidum**

Из чистых культур плодовых тел данного гриба впервые методом культивирования получен местный штамм — *Ganoderma lucidum*.

Для выделения мицелиальных культур из плодовых тел последние тщательно очищают, промывают, обжигают над пламенем горелки и в асептических условиях берут кусочек из внутренней части (размером 3 мм), помещают на поверхность плотной питательной среды в чашке Петри. Молодой мицелий базидиального гриба появлялся на седьмые–восьмые сутки с момента посева на среды.

При культивировании на искусственных субстратах данного местного штамма получено 10% от сухой массы субстрата. Грибы выращивали методом культивирования шелуха (хлопковая) + 5% отруби пшеницы, урожай 10% от сухой массы.

В качестве носителя для мицелия использовали зерно злаковых культур (пшеницы). Из данного мицелия были выращены базидиальные грибы рода *Ganoderma lucidum*.

Для выделения водорастворимых полисахаридов из природного сырья использовали высушенные, измельченные, обезжиренные трutowые тела, взвешивали и экстрагировали трижды горячей водой на кипящей водяной бане с обратным холодильником (при суммарном соотношении сырья и экстрагента 1 : 20, 1 : 15, 1 : 10). Суммарная продолжительность трех экстрагирований 6 ч. Полученные водные экстракты объединяли, фильтровали и упаривали на ротаторном испарителе при температуре 50°C до 1/5 первоначального объема и лиофилизовали.

Ионообменная хроматография

Образец водорастворимого полисахарида (100 мг) растворяли в 5 мл дистиллированной воды и наносили на колонку (14 × 3 см) с DEAE-целлюлозой 52 (“Sigma-Aldrich Chemie GmbH”, Германия). Элюирование полисахаридов проводили последовательно 0–1 М градиентным раствором NaCl со скоростью 60 мл/ч. Отбирали фракции объемом по 10 мл. Выход полисахаридов из колонки контролировали фенол-сернокислотным методом. Фракцию, соответствующую отдельным пикам, объединяли, концентрировали, диализовали и лиофильно высушивали.

Эксклюзионно-жидкостная хроматография

Молекулярно-массовые характеристики водорастворимых полисахаридов определяли на жид-

костном хроматографе “Agilent 1260 Infinity” с использованием хроматографической колонки “PLAqualgelOHMixed” (Англия) длиной 300 мм и внутренним диаметром 8 мм.

ИК-спектроскопия

ИК-спектры исследуемых образцов снимали на ИК-фурье-спектрометре “IRTracer-100” (“Shimadzu Corp”, Япония, 2017) в диапазоне частот 400–4000 см⁻¹ [14].

Исследование структуры методом метилирования

Навеску полисахарида 5 мг растворяли в диметилсульфоксиде 1 мл, прибавляли тонкоизмельченный гидроксид натрия 30–40 мг и далее при перемешивании приливали CH₃I — 0.5 мл. Реакционную смесь выдерживали 1 ч, приливали хлороформ 5 мл, промывали несколько раз водой, после чего хлороформный раствор упаривали и остаток гидролизовали нагреванием с 1 мл 2М раствора трифторуксусной кислоты при 100°C в течение 8 ч. Кислоту отгоняли упариванием с этанолом, полученные метилированные производные моносахаридов переводили в ацетаты полиолов и идентифицировали с помощью хромато-масс-спектрометрии известным методом [15].

ЯМР-спектроскопия

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре “JNM-ECZ600R” (“JEOL”, Япония) при рабочей частоте 600 МГц, для ¹H в растворах D₂O. В качестве внутреннего стандарта в спектрах ЯМР ¹H использовали сигнал воды (4.8 м.д.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для предварительной очистки исходного сырья измельченное плодовое тело базидиального гриба *Ganoderma lucidum* экстрагировали обезжиривающим реагентом, который приводит к удалению липидов, частично протеинов, моно- и олигосахаридов, красящих веществ и неорганических примесей, при этом выход примесей у местнорастущего базидиального гриба составил 3.6%, а культивируемого — 4.39%. После обессмоливания сырья для выделения из него водорастворимых полисахаридов провели последовательную экстракцию сырья водой и лиофилизовали. Выход полисахаридов из местнорастущего базидиального гриба составил 15.16%, из культивируемого — 16.47%. Выделенные полисахариды представляют собой порошок кремового цвета, который хорошо растворяется в воде, при низкой концентрации образует опалесцирующий раствор, а при высокой концентрации образует вязкий раствор.

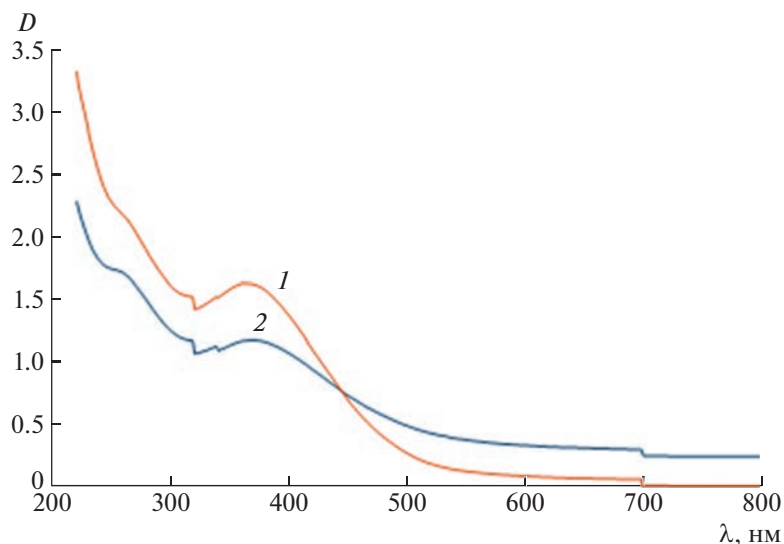


Рис. 1. УФ-спектр водорастворимых фракций полисахаридов, выделенных из местнорастущего GW (1) и культивируемого GWL (2) базидиомицетного сырья. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

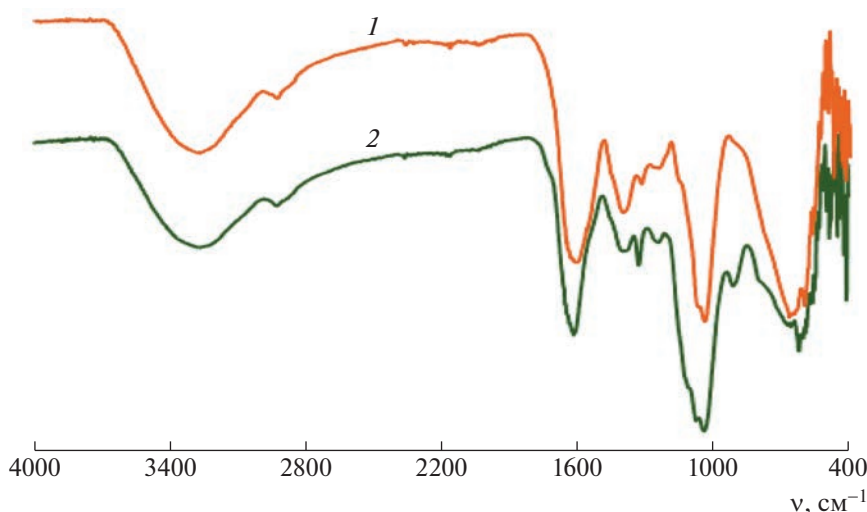


Рис. 2. ИК-спектры выделенных водных фракций GW (1) и GWL (2) полисахаридов.

Был проведен УФ-спектральный анализ на содержание меланина во фракциях местнорастущего и культивируемого базидиомицетного сырья (рис. 1). Как видно на рис. 1, в области 320–360 нм наблюдаются пики, которые соответствуют присутствию в образцах меланина, т.е. образцы полисахаридов находятся в виде комплекса полисахаридов и меланина, что согласуется с литературными данными [16]. В водорастворимой фракции 1 (местнорастущего сырья) пик более интенсивный, и количество меланина в данной фракции больше, чем во фракции 2, выделенной из культивируемого сырья, в которой меланина меньше.

Для дальнейшего изучения выделенных фракций полисахаридов провели исследования мето-

дом ИК-спектроскопии, которая является чувствительным методом к различным функциональным группам в молекулах полимеров и широко применяется для определения карбоксильных групп в полисахаридах.

ИК-спектры выделенных фракций полисахаридов представлены на рис. 2. В спектрах полученных образцов наблюдались соответствующие полисахаридам полосы поглощения 3300, 2950, 1600, 1420–1380, 1200–750 см^{-1} . В областях 1620 и 1420–1380 см^{-1} присутствуют полосы поглощения, соответствующие полисахаридам. В области 1200–950 см^{-1} наблюдались полосы поглощения валентных колебаний, относящиеся к связям С–О

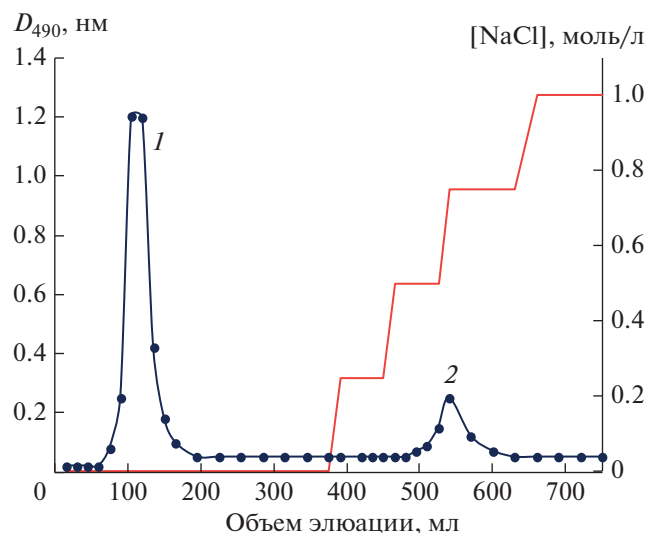


Рис. 3. Ионообменная хроматограмма полисахаридов GW-1 и GW-2 в целлюлозной колонке DEAE-52. Здесь и на рис. 4 элюент: градиентный раствор NaCl 0–1.0 моль/л, скорость элюирования: 1 мл/мин.

и С–С [17]. Наибольшую информацию о структуре полисахарида несет ближняя ИК-область спектра (аномерный регион), наличие полос в которой характеризует направление и тип связей в макромолекуле, а также конформационные и конфигурационные особенности полимера. В данной области очень хорошо видны структурные различия полисахаридов. В спектре полисахарида присутствует полоса $898\text{--}900\text{ см}^{-1}$, свидетельствующая о наличии β -типа связи: β - (1–3), β - (1–6) [18, 19].

Для исследования структуры необходимо использовать чистые фракции полисахаридов. В связи с этим полученные водорастворимые полисахариды были дополнительно очищены методами ионного обмена и гель-хроматографии.

Для дальнейшей очистки полисахариды были пропущены через колонку с DEAE-целлюлозой. Их сначала промывали в дистиллированной воде, затем добавляли 0.1 М раствор NaCl. Со временем концентрация раствора NaCl возрастала до 1.0 М. Нейтральные и анионные полисахариды были разделены при промывке дистиллированной водой и градиентом NaCl соответственно. При этом выход нейтральных полисахаридов фракции полисахаридов из местнорастущего гриба GW-1 составил 25.71%, анионных полисахаридов GW-2 — 5.26%.

На рис. 3 представлены полученные после разделения фракции GW из местнорастущего базидиомицетного сырья нейтральные полисахариды GW-1 и анионные полисахариды GW-2.

После очистки полисахаридов методом ионообменной хроматографии получили две фракции полисахаридов GWL-1 и GWL-2 (рис. 4). При этом выход нейтральных полисахаридов GWL-1 составил 29.85%, анионных GWL-2 — 4.19%. При сравнении выхода нейтральных и анионных полисахаридов из дикорастущего и культивируемого вида сырья оказалось, что разница в выходе незначительная и составляет всего 1.5%.

Для определения гомогенности фракций исходных полисахаридов, а также очистки их от сопутствующих примесей с целью дальнейшего изучения их состава и строения углеводных цепей

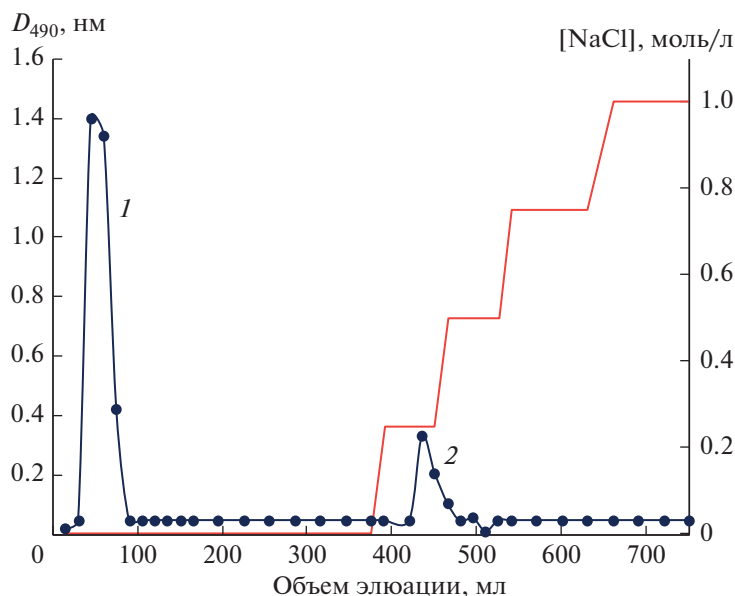


Рис. 4. Ионообменная хроматограмма полисахаридов GWL-1, GWL-2 в целлюлозной колонке DEAE-52.

Таблица 1. Количество углеводов после фракционирования

Базидиальный гриб <i>Ganoderma lucidum</i>	Растворитель	Полисахарид	Количество полисахарида, %	Примеси, %
Местнорастущий	Вода	GW-1	99.41	0.60
	0.1 М NaCl	GW-2	65.01	69.99
Культивированный	Вода	GWL-1	99.32	0.70
	0.1 М NaCl	GWL-2	79.54	67.50

Таблица 2. Молекулярно-массовые параметры полисахаридов

Базидиальный гриб <i>Ganoderma lucidum</i>	Фракция	$M \times 10^{-3}$	M_w/M_n
Местнорастущий	Водная фракция (GW)	12.3	1.5
	Нейтральный полисахарид (GW-1)	17.7	1.4
	Анионный полисахарид (GW-2)	10.5	1.5
Культивированный	Водная фракция (GWL)	10.9	1.5
	Нейтральный полисахарид (GWL-1)	10.3	1.5
	Анионный полисахарид (GWL-2)	9.8	1.2

проведена гель-хроматография на сефадексе G-75. В процессе разделения было установлено, что каждый образец полисахарида состоял из однородных полисахаридов.

После очистки полисахаридов фенол-серно-кислотным методом определили количество углеводов в образцах, результаты которых представлены в табл. 1. Как видно, количество углеводов в нейтральных фракциях больше, чем в анионных фракциях. Количество полисахаридов в нейтральных фракциях в культивируемом и местнорастущем сырье одинаково.

Далее были определены молекулярно-массовые характеристики полученных фракций с помощью метода гель-фильтрации. В табл. 2 приведены молекулярно-массовые параметры полисахаридов водной фракции.

Результаты показывают, что молекулярная масса образцов водной фракции (GW, GW-1, GW-2, GWL, GWL-1, GWL-2) находится в пределах 9800–17700, ММР – в интервале 1.2–1.5.

Из табл. 2 следует, что образцы характеризуются относительно небольшим значением полидисперсности, что указывает на гомогенность полисахаридов. Образцы из местнорастущего и культивированного сырья по молекулярной массе сильно не отличаются друг от друга.

Для анализа структуры связей полисахаридов широко применяется метод метилирования с использованием метилиодида для преобразования всех свободных гидроксильных групп молекул полисахарида в метоксигруппы. Метилированный полисахарид гидролизуют до моносахаридов и восстанавливают с помощью бородегтеридата натрия. Восстановленные моносахариды ацети-

руют уксусным ангидридом с образованием летучих продуктов – частично метилированных ацетатов альдитов. Для идентификации и количественного определения частично метилированных ацетатов альдитов их анализируют методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС) [9, 20, 21].

Типы связывания моносахаридных единиц в полисахаридах были идентифицированы посредством метилирования. Индивидуальность и характер фрагментации перметилованных альдитолацеталей детектировали с помощью масс-спектров и относительного времени удерживания в газовой хроматографии. Процент метилированных сахаров оценивался как отношение площадей пиков. Анализ ГХ-МС перметилованных альдитолацеталей представлен в табл. 3. Анализ ГХ-МС показал, что перметилованные альдитолацетали, полученные из GW-1 и GWL-1, содержат 1,5-ди-О-ацетил-2,3,4,6-тетра-О-метил-глюцитол, 1,3,5-три-О-ацетил-2,4,6-три-О-метил-глюцитол, 1,4,5-три-О-ацетил-2,3,6-три-О-метил-глюцитол, 1,5,6-три-О-ацетил-2,3,4-три-О-метилглюцитол, 1,4,5,6-тетра-О-ацетил-2,3-ди-О-метилглюцитол и 1,3,5,6-тетра-О-ацетил-2,4-ди-О-метил-глюцитол. Полученные результаты доказывают, что полисахариды GW-1 и GWL-1 состоят из концевых (1,3)-связанных, (1,4)-связанных, (1,6)-связанных, (1,4,6)-связанных и (1,3,6)-связанных глюкопиранозильных остатков.

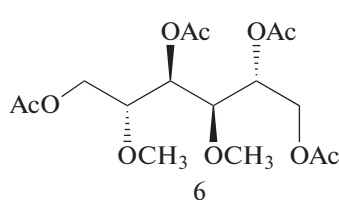
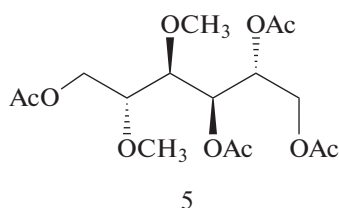
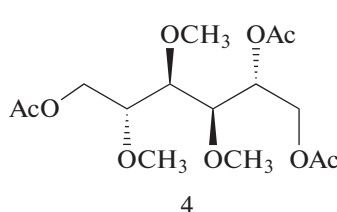
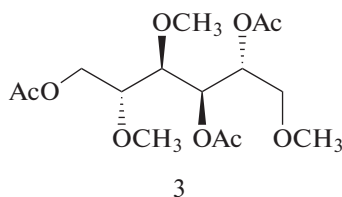
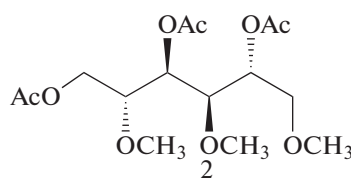
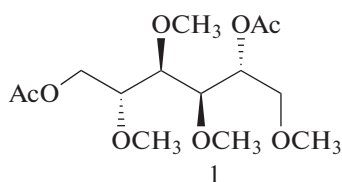
Ниже показаны перметилованные альдитолацетали из GW-1 и GWL-1 1,5-ди-О-ацетил-2,3,4,6-тетра-О-метил-глюцитол (1), 1,3,5-три-О-ацетил-2,4,6-три-О-метил-глюцитол (2), 1,4,5-три-О-ацетил-2,3,6-три-О-метил-глюцитол (3),

Таблица 3. Результаты ГХ-МС метилированных полисахаридов GW-1 и GWL-1, выделенных из природного и культивируемого *Ganoderma lucidum*

Метилированный сахар	Гликозидные связи	Молярное соотношение		Основные массовые фрагменты (m/z)
		GW-1	GWL-1	
2,3,4,6-Me ₄ -GlcP	1-связанный GlcP	3.0	2.0	43,45,71,87,102,118,129,145,161,162,205
2,4,6-Me ₃ -GlcP	1,3-связанный GlcP	1.0	3.0	43,45,71,87,101,118,129,161,174,217,234,277
2,3,6-Me ₃ -GlcP	1,4-связанный GlcP	1.0	1.0	43,45,71,87,102,113,118,129,162,173,233,277
2,3,4-Me ₃ -GlcP	1,6-связанный GlcP	1.0	3.0	43,59,71,87,99,102,118,129,162,189,233
2,3-Me ₂ -GlcP	1,4,6-связанный GlcP	1.0	1.0	43,85,102,118,127,162,201,261,305
2,4-Me ₂ -GlcP	1,3,6-связанный GlcP	2.0	1.0	43,87,102,118,129,189,234,305

1,5,6-три-О-ацетил-2,3,4-три-О-метилглюцитол (4),
1,4,5,6-тетра-О-ацетил-2,3-ди-О-метилглюцитол (5)

и 1,3,5,6-тетра-О-ацетил-2,4-ди-О-метил-глюцитол (6).



Было определено, что остатки в полисахаридах GW-1 и GWL-1 находятся в молярном соотношении 3.0 : 1.0 : 1.0 : 1.0 : 1.0 : 2.0 и 2.0 : 3.0 : 1.0 : 3.0 : 1.0 : 1.0 соответственно. Результаты показали, что выделенные и очищенные полисахариды представляют собой разветвленные полисахариды β -глюканового типа, которые имеют точки разветвления (1,4,6) – и (1,3,6)-связанных глюкопиранозных остатков.

Спектры ЯМР ¹³C содержат ценную информацию о функциональном составе полисахаридов, положениях межмономерных связей, размерах циклов моносахаридных остатков, конфигурациях гликозидных центров и последовательности

моносахаридов в цепи. Из этих спектров можно определить абсолютные конфигурации отдельных моносахаридных остатков (если известны конфигурации соседних звеньев), а также получить данные о регулярном строении полисахаридов. Если известен моносахаридный состав линейного регулярного полисахарида, построенного из повторяющихся олигосахаридных звеньев, то задача установления его полного строения по спектру ЯМР успешно решается с помощью соответствующих компьютерных программ [22]. В связи с этим дальнейшее изучение моносахаридных последовательностей и структуры полисахаридов GW-1 и GWL-1, очищенных из природного и культивируемого сырья базидиомицетов, были

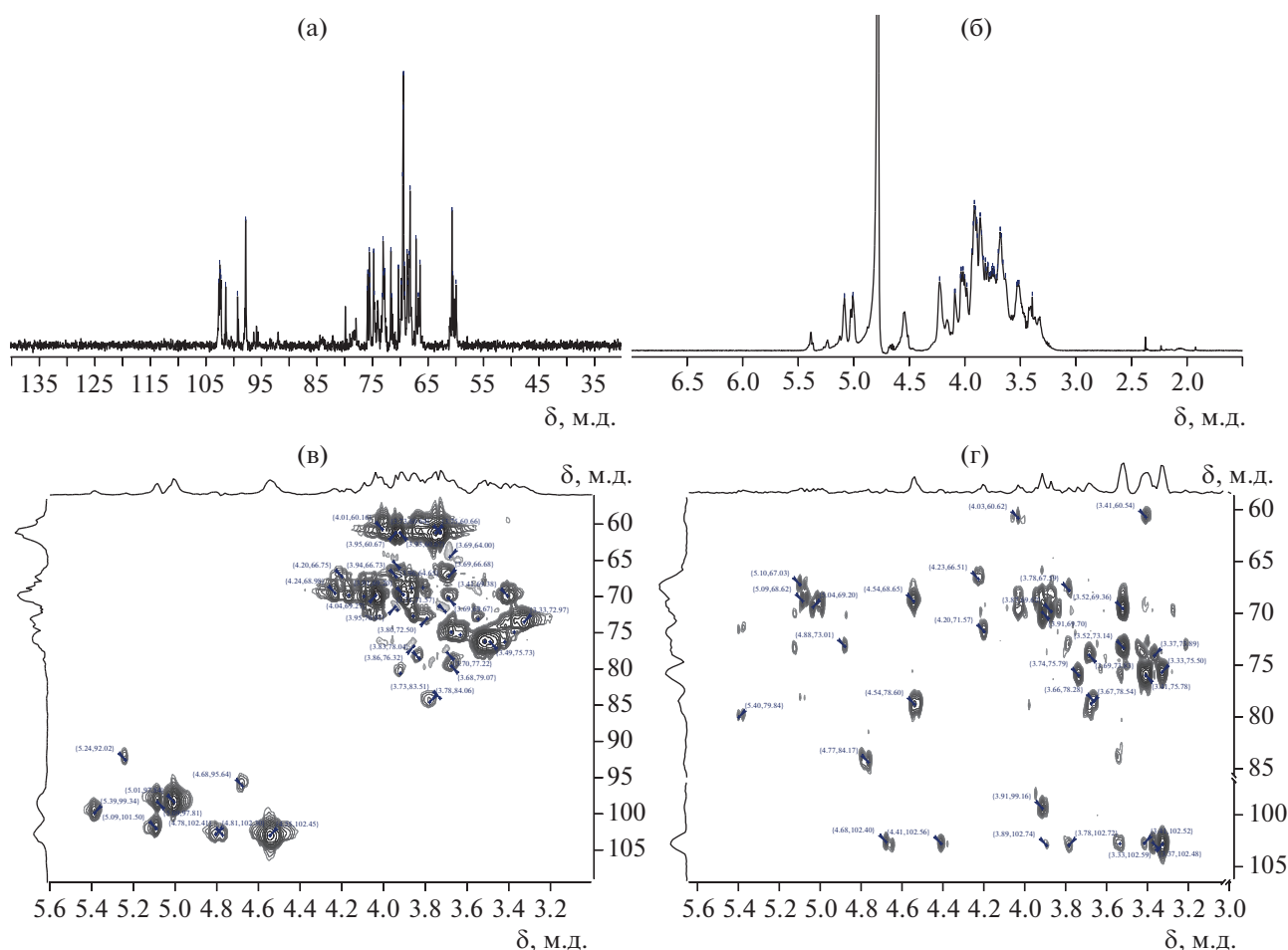


Рис. 5. Спектры ЯМР ^{13}C (а), ЯМР ^1H (б), HSQC (в) и HMBC (г) полисахарида GW-1.

изучены с использованием одномерной (ЯМР ^{13}C , ЯМР ^1H) и двумерной (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) ЯМР-спектроскопии (рис. 5 и 6). Химические сдвиги ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C для GW-1 и GWL-1 представлены в табл. 4 и 5 соответственно.

Спектры ЯМР ^1H GW-1 и GWL-1 показали, что оба полисахарида имеют шесть аномерных сигналов, наблюдаемых при 4.42–5.09 м.д. Это указывает на то, что глюкопиранозильные звенья полисахаридов обладают β -конфигурацией. Приведенные результаты согласуются с данными ИК-спектроскопии. Кроме того, β -конфигурация моносахаридных остатков полисахаридов подтверждается спектрами ЯМР ^{13}C , в которых характерные сигналы для аномерных атомов углерода C-1 появляются при 97.84–102.75 м.д.

Химические сдвиги аномерных протонов остатков 1,3-Glcp (остаток А) GW-1 и GWL-1 были обнаружены при 4.81 и 4.42 м.д.; это указывает на то, что остаток является β -связанным. В спектрах GW-1 характерные резонансы для 1,3-Glcp H2/C2, C3/H3, H4/C4, H5/C5, H6/C6 обнаруже-

ны при 3.92/80.07, 3.73/83.51, 3.69/66.68, 3.70/77.22, 3.75/60.66 м.д. соответственно. В спектрах GWL-1 характерные резонансы для H2/C2, C3/H3, H4/C4, H5/C5, H6/C6 наблюдаются при 3.46/73.18, 3.67/85.78, 3.49/68.00, 3.30/75.54, 3.92/69.44 м.д. Исследования HMBC и NOESY показали, что остаток 1,3-Glcp GW-1 связан с 1,3,6-Glcp посредством β -(1,3)-гликозидной связи. Кроме того, спектр HMBC GWL-1 свидетельствует о том, что остатки 1,3-Glcp связаны друг с другом и с 1,3,6-Glcp посредством β -(1,3)-гликозидных связей.

В спектрах остатков 1,3,6-Glcp (остаток В) GW-1 и GWL-1 специфические сигналы аномерного протона проявлялись при 4.78 и 4.64 м.д., указывая на то, что остатки имеют β -конфигурацию. В спектрах GW-1 характерные резонансы для 1,3,6-Glcp H2/C2, C3/H3, H4/C4, H5/C5, H6/C6 определены при 3.68/79.07, 3.78/84.06, 3.94/66.73, 3.67/74.32, 3.91/69.30 м.д. соответственно. В спектрах GWL-1 специфические сигналы для 1,3,6-Glcp H2/C2, C3/H3, H4/C4, H5/C5, H6/C6 наблюдаются при 3.46/73.18,

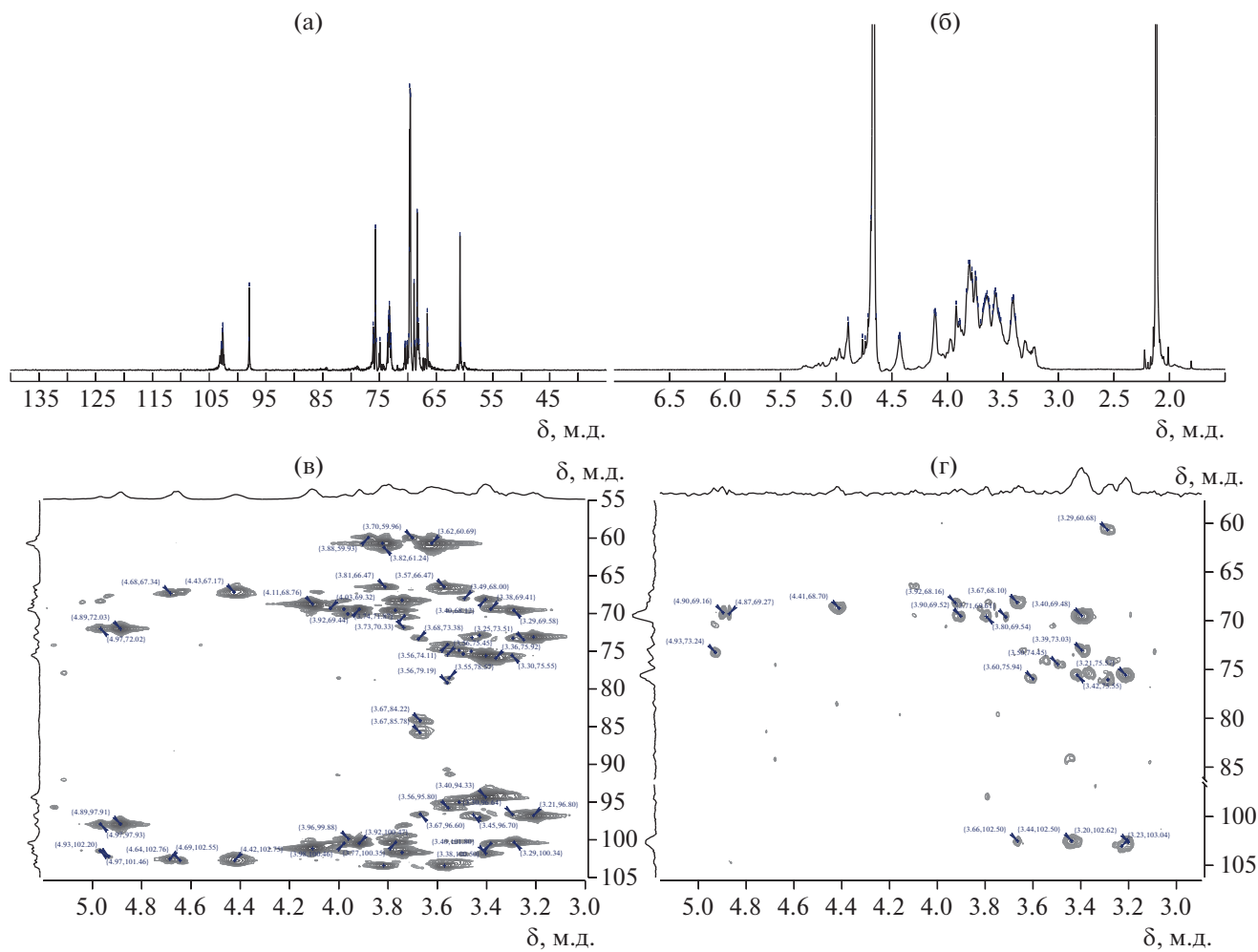


Рис. 6. Спектры ЯМР ¹³C (а), ЯМР ¹H (б), HSQC (в) и HMBC (г) полисахарида GWL-1.

3.67/85.78, 3.49/68.00, 3.30/75.54, 3.92/69.44 м.д. Эксперименты HMBC и NOESY показали, что остатки 1,3,6-Glcp в GW-1 связаны друг с другом и остатком 1,3-Glcp посредством β(1,3)-гликозидной связи и с 1-Glcp-, 1,6-Glcp- и 1,4,6-Glcp-

остатки по β-(1,6)-, β-(1,6)- и β-(1,4)-гликозидным связям. Кроме того, остаток в GWL-1 связан с 1,3,6-Glcp, 1,6-Glcp- и 1,4,6-Glcp-остатками посредством β-(1,3)-, β-(1,6)- и β-(1,4)-гликозидной связи.

Таблица 4. Химические сдвиги ЯМР ¹H и ЯМР ¹³C для GW-1, выделенного из природного Ganoderma lucidum

Остаток гликозидной связи	H1/C1	H2/C2	H3/C3	H4/C4	H5/C5	H6/C6
1,3-Glcp (A)	4.81/102.30	3.92/80.07	3.73/83.51	3.69/66.68	3.70/77.22	3.75/60.66
1,3,6-Glcp (B)	4.78/102.41	3.68/79.07	3.78/84.06	3.94/66.73	3.67/74.32	3.91/69.30
1,4-Glcp (C)	5.01/97.84	3.33/72.97	3.52/75.68	3.68/79.07	3.49/75.73	3.73/60.64
1,4,6-Glcp (D)	5.09/101.50	3.55/72.56	3.42/75.71	3.83/78.04	3.38/74.35	4.04/69.27
Терминал-Glcp (E)	4.55/102.45	3.86/72.15	3.64/74.75	3.71/71.57	3.86/76.32	4.01/60.16
1,6-Glcp (F)	4.88/100.27	3.80/72.50	3.52/74.68	3.69/69.67	3.51/75.31	3.87/68.26

Таблица 5. Химические сдвиги ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C для GWL-1, выделенного из культивированной *Ganoderma lucidum*

Остатки гликозидной связи	H1/C1	H2/C2	H3/C3	H4/C4	H5/C5	H6/C6
1,3-Glcp (A)	4.42/102.75	3.21/73.12	3.67/84.22	3.40/68.12	3.46/75.01	3.70/59.96
1,3,6-Glcp (B)	4.64/102.76	3.46/73.18	3.67/85.78	3.49/68.00	3.30/75.54	3.92/69.44
1,4-Glcp (C)	4.89/97.91	3.43/72.90	3.40/75.59	3.56/79.19	3.56/75.45	3.82/60.69
1,4,6-Glcp (D)	4.93/102.20	3.56/74.11	3.42/75.71	3.55/78.57	3.54/76.31	3.77/69.57
Терминал-Glcp (E)	4.97/101.46	3.68/73.38	3.50/75.37	3.74/71.87	3.66/75.14	3.88/59.93
1,6-Glcp (E)	4.69/102.55	3.68/73.38	3.51/74.89	3.96/70.05	3.51/75.31	4.11/68.76

Спектроскопическими исследованиями остатков 1,4-Glcp (остаток C) в GW-1 и GWL-1 установлено, что остатки присутствуют в β -конфигурации. В спектрах GW-1 специфические сигналы для 1,3,6-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, H4/C4, H5/C5, H6/C6 проявляются при 5.01/97.84, 3.33/72.97, 3.52/75.68, 3.68/79.07, 3.49/75.73, 3.73/60.64 м.д. В спектрах GWL-1 сигналы для 1,3,6-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, H4/C4, H5/C5, H6/C6 наблюдаются при 4.89/97.91, 3.43/72.90, 3.40/75.59, 3.56/79.19, 3.56/75.45, 3.82/60.69 м.д. соответственно. Исследования НМБС и NOESY показали, что остаток 1,4-Glcp в образцах GW-1 и GWL-1 связан с 1-Glcp- и 1,4,6-Glcp-остатками посредством β -(1,4)- и β -(1,6)-гликозидных связей.

Дальнейшими исследованиями установлено, что остатки 1,4,6-Glcp (остаток D) GW-1 и GWL-1 также имеют β -конфигурацию. В спектрах GW-1 резонансы 1,4,6-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, C4/H4, H5/C5, H6/C6 обнаружены при 5.09/101.50, 3.55/72.56, 3.42/75.71, 3.83/78.04, 3.38/74.35, 4.04/69.27 м.д. Из спектров GWL-1 сигналы 1,4,6-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, C4/H4, H5/C5, H6/C6 расположены при 4.93/102.20, 3.56/74.11, 3.42/75.71, 3.55/78.57, 3.54/76.31, 3.77/69.57 м.д. соответственно. Анализ НМБС и NOESY показал, что остатки 1,4,6-Glcp как в GW-1, так и в GWL-1, связаны с остатками 1,3,6-Glcp-, 1,4-Glcp- и 1,3-Glcp по β -(1,4)-, β -(1,6)- и β -(1,3)-гликозидным связям.

В спектрах GW-1 и GWL-1 были обнаружены концевые остатки 1-Glcp (остаток E), имеющие β -конфигурацию. В спектрах GW-1 характерные сигналы для 1-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, C4/H4, H5/C5, H6/C6 наблюдаются при 4.55/102.45, 3.86/72.15, 3.64/74.75, 3.71/71.57, 3.86/76.32, 4.01/60.16 м.д.

В спектрах GWL-1 сигналы для 1-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, C4/H4, H5/C5, H6/C6 обнаружены при 4.97/101.46, 3.68/73.38, 3.50/75.37, 3.74/71.87, 3.66/75.14, 3.88/59.93 м.д. Эксперименты НМБС и NOESY ясно показали, что концевые остатки в GW-1 связаны с остатками 1,3,6-Glcp-, 1,6-Glcp- и 1,4-Glcp посредством β -(1,6)-, β -(1,6)- и β -(1,4)-гликозидных связей. Из спектра НМБС следует, что концевые остатки в GWL-1 связаны с 1,6-Glcp- и 1,4-Glcp-остатками посредством β -(1,6)- и β -(1,4)-гликозидных связей.

Спектроскопические исследования привели к выводу, что полисахариды содержат остатки 1,6-Glcp (остаток F), имеющие β -конфигурацию. В спектрах GW-1 специфические сигналы для 1,6-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, C4/H4, H5/C5, H6/C6 обнаружены при 4.88/100.27, 3.80/72.50, 3.52/74.68, 3.69/69.67, 3.51/75.31, 3.87/68.26 м.д. В спектрах GWL-1 специфические сигналы для 1,6-Glcp H1/C1, H2/C2, C3/H3, C4/H4, H5/C5, H6/C6 наблюдаются при 4.69/102.55, 3.68/73.38, 3.51/74.89, 3.96/70.05, 3.51/75.31, 4.11/68.76 м.д. В исследованиях НМБС и NOESY кросс-пики свидетельствуют о том, что остатки 1,6-Glcp в образцах как GW-1, так и GWL-1, связаны с 1,3,6-Glcp- и концевыми 1-Glcp-остатками посредством β -(1,6)-гликозидных связей.

На основании результатов анализа метилирования, 1D и 2D ЯМР-спектроскопических исследований были выяснены порядок и последовательность связывания, а также возможные структуры моносахаридных остатков в полисахаридах GW-1 и GWL-1. Ниже приведены порядок связывания, последовательность и возможные структуры полисахаридов GW-1 (а) и GWL-1 (б).

8. *Pan D., Wang L., Chen C., Teng B., Wang Ch., Xu Z., Hu B., Zhou P.* // *Food Chem.* 2012. V. 135. № 3. P. 1097.
9. *Magdeldin S.* *Affinity Chromatography: Principles and Applications.* China: InTech, 2012.
10. *Wang Q., Zhao X., Pu J., Luan X.* // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 143. P. 296.
11. *Kim Y., Kim B., Cheong Ch., David L., Williams, Kim Ch., Lim S.* // *Carbohydr. Res.* 2000. V. 328. P. 331.
12. *Patel B.K., Campanella O.H., Janaswamy S.* // *Carbohydr. Polym.* 2013. V. 92. P. 1873.
13. *Tao Y., Zhang R., Wei Y., Liu H., Yang H., Zhao Q.* // *Carbohydr. Polym.* 2015. V. 128. P. 179.
14. *Khaytmetova S.B., Turaeva A.S., Khalilova G.A.* // *Polymer Science B.* 2022. V. 64. № 4. P. 500.
15. *Bjomdal H., Hellerqvist C., Lindberg B., Svensson S.* // *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 1970. V. 9. P. 610.
16. *Arun G., Eyini M., Gunasekaran P.* // *J. Experim. Biol.* 2015. V. 53. P. 380.
17. *Tian Y., Elbing K., Stefan H.* // *Microbiology.* 2008. V. 154. P. 2814.
18. *Jianguo W., Yahong Y., Tianli Y.* // *Carbohydr. Polym.* 2014. V. 10. P. 247.
19. *Khalilova G.A., Turaev A.S., Muhtidinov B.I., Filatova A.V., Haytmetova S.B., Normakhamatov N.S.* // *Am. J. Appl. Sci.* 2021. V. 3. № 1. P. 9.
20. *Ding H.H., Cui S.W., Goff H.D., Chen J., Guo Q., Wang Q.* // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 151. P. 538.
21. *Ren Y., Bai Y., Zhang Z., Cai W., Del R., Flores A.* // *Molecules.* 2019. V. 24. № 17. P. 3122.
22. *Халилова Г.А., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхматов Н.С.* // *Докл. АН Республики Узбекистан.* 2020. № 5. С. 55.

СМЕСИ ПОЛИМЕРОВ

УДК 541.64:539.2

ВЛИЯНИЕ ВУЛКАНИЗУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ НА СТРУКТУРУ И СВОЙСТВА ПОЛИМЕРЭЛАСТОМЕРНЫХ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ

© 2023 г. Н. В. Шадринов^{а,*}, А. Р. Халдеева^а, А. Л. Федоров^а, М. Н. Кондаков^а, М. Д. Соколова^а

^аИнститут проблем нефти и газа Сибирского отделения Российской академии наук
677007 Якутск, ул. Автодорожная, 20, Россия

*e-mail: nshadrinov@gmail.com

Поступила в редакцию 17.06.2023 г.

После доработки 15.08.2023 г.

Принята к публикации 01.09.2023 г.

Исследовано влияние вулканизирующей системы на комплекс свойств полимер-эластомерных композитных материалов на основе бутадиен-нитрильного каучука и сверхвысокомолекулярного полиэтилена. Анализ реометрических и вулканизационных характеристик резиновых смесей показал значительное повышение плотности сшивки вулканизатов при использовании комбинированной серо-пероксидной системы вулканизации. При изучении упруго-прочностных и динамических механических свойств вулканизатов установлено, что использование серо-пероксидной системы вулканизации обеспечивает достижение наиболее высоких показателей, в том числе при низких температурах. Анализ упруго-гистерезисных свойств образцов до и после вулканизации, полученных в условиях динамического нагружения в широком диапазоне частот и деформации позволил описать особенности физико-химических взаимодействий в полимер-эластомерных материалах в зависимости от использованной вулканизационной системы. Методом растровой электронной микроскопии визуализированы особенности надмолекулярной структуры образцов вулканизатов, а методом ИК-спектроскопии получены результаты, свидетельствующие о протекании химического взаимодействия между макромолекулами бутадиен-нитрильного каучука и сверхвысокомолекулярного полиэтилена при пероксидной вулканизации.

DOI: 10.31857/S2308112023600096, EDN: DDBUZY

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в производстве резинотехнических изделий, устойчивых к углеводородам нефтяного происхождения (бензин, масла, смазки), наиболее широко применяются бутадиен-нитрильные каучуки (БНК) с различным содержанием акрилонитрила. Для производства морозостойких маслостойких уплотнений используются БНК с низким содержанием акрилонитрила (17–23%). Однако с уменьшением содержания акрилонитрила снижаются маслостойкость, упруго-прочностные свойства и другие важные технические характеристики БНК. Кроме того, в условиях экстремально низких температур до –60°C, характерных для некоторых северных территорий [1], низкотемпературные свойства БНК зачастую бывают недостаточны.

Один из способов улучшения комплекса свойств БНК, в том числе морозостойкости, — его смешение с термопластичными полимерами. Основным препятствием для получения таких полимер-эластомерных материалов с высокими физи-

ко-механическими показателями является низкая адгезия между БНК и термопластом, обусловленная большой разностью в их полярности [2].

Важным фактором, влияющим на свойства полимер-эластомерных материалов, служит природа используемой вулканизирующей группы. Благодаря достаточно высокой реакционной способности вулканизация БНК может быть осуществлена различными системами [3]: серой в присутствии ускорителей серной вулканизации, органическими перекисями, тиурамом, алкилфенолформальдегидными смолами и хлорорганическими соединениями [4]. Учитывая, что пероксидный радикал способен реагировать с макромолекулами полимера как путем присоединения к двойной связи, так и путем отщепления аллильного водорода [5], вулканизацию полимер-эластомерного материала предпочтительнее проводить через пероксидную, либо комбинированную серо-пероксидную систему вулканизации [6]. В таком случае сшивка вулканизата может потенциально происходить через макромолекулы как

Таблица 1. Рецепттура резиновых смесей

Состав резиновых смесей (мас. ч. на 100 мас. ч. каучука)	БНКС-18АМН	GUR 4113	П 803	Оксид цинка	Стеариновая кислота	Альтакс	Сера	Дикумил пероксид
100 : 0 : 2 : 0	100.0	—	50.0	5.0	1.5	1.5	2.0	0
100 : 10 : 2 : 0	100.0	10.0	50.0	5.0	1.5	1.5	2.0	0
100 : 0 : 1 : 2	100.0	—	50.0	5.0	1.5	2.5	1.0	2.0
100 : 10 : 1 : 2	100.0	10.0	50.0	5.0	1.5	2.5	1.0	2.0
100 : 0 : 0 : 2	100.0	—	50.0	5.0	1.5	2.5	0	2.0
100 : 10 : 0 : 2	100.0	10.0	50.0	5.0	1.5	2.5	0	2.0

каучука, так и термопластичного полимера, что, безусловно, может отразиться на его свойствах.

В настоящей работе в качестве термопластичного полимера использован сверхвысокомолекулярный ПЭ, обладающий комплексом уникальных свойств [7]. Ранее в работах [8, 9] было показано, что несмотря на несовместимость БНК со сверхвысокомолекулярным ПЭ, используя различные технологические приемы, можно добиться улучшения многих технических характеристик вулканизатов. Однако оценка улучшения технологической совместимости полимерэластомерных материалов на основе БНК и сверхвысокомолекулярного ПЭ путем совокупного анализа их структуры, упруго-прочностных и динамических вязкоупругих свойств при использовании серной, пероксидной и комбинированной серо-пероксидной вулканизирующей системы, до сих пор не была проведена.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

В качестве БНК использовали морозостойкую марку БНКС-18АМН с содержанием акрилонитрила 17–23% и вязкостью по Муни 61–70 производства Открытого акционерного общества “Красноярский завод СК” (ТУ 38.30313-2006). В качестве сверхвысокомолекулярного ПЭ использовали промышленную марку GUR 4113 производства “Celanese” (КНР) со средневязкостной молекулярной массой 3.9×10^6 [10], а вулканизирующей группы – дикумил пероксид (CAS 80-43-3), серу (ГОСТ 127.1-93), альтакс (CAS 120-78-5), оксид цинка (ГОСТ 202-84), стеариновую кислоту (ГОСТ 6484-96). Наполнителем служил технический углерод П803 (ГОСТ 7885-86).

Изготовление образцов

Смешение резиновых смесей осуществляли в камере лабораторного смесителя “BRABENDER PL 2200-3” (Германия) при начальной заданной температуре 40°C и скорости вращения роторов

40 об/мин. Рецепттура резиновых смесей приведена в табл. 1. Концентрацию сверхвысокомолекулярного ПЭ в количестве 10 мас. ч. на 100 мас. ч. каучука выбирали основываясь на результатах предыдущей работы [11]. Вулканизацию образцов для физико-механических исследований и анализа надмолекулярной структуры проводили в вакуумном гидравлическом прессе Y1000D (КНР) при температуре 160°C в течение 20 мин.

Вулканизационные и вязкоупругие свойства

Вулканизационные характеристики резиновых смесей (ГОСТ Р 54547–2011) и их вязкоупругие свойства до и после вулканизации (ASTM D6204) изучали в режиме динамического нагружения (синусоидальных колебаний) на анализаторе перерабатываемости резин RPA-2000 производства “ALPHA TECHNOLOGIES” (США) [12]. Вязкоупругие свойства образцов исследовали в диапазоне амплитуды деформации от 0.7 до 280% при частоте 1 Гц, а также в диапазоне частот от 0.02 до 30 Гц при амплитуде деформации 14%.

Динамический механический анализ

Динамический механический анализ образцов проводили на приборе DMA 242 производства “NETZSCH” (Германия) в режиме циклического одноосного растяжения–сжатия при частоте 1 Гц с постоянной скоростью повышения температуры 2 град/мин в диапазоне –100 ... +150°C.

Структурные исследования

Спектроскопические исследования выполняли на ИК-спектрометре “NICOLET PROTEGE 460 ESP” производства “THERMO FISHER SCIENTIFIC” (США) в диапазоне 500–4000 см^{–1} с разрешением 2 см^{–1}. Полученные ИК-спектры обрабатывали в программе OMNIC.

Морфологические особенности образцов изучали с помощью растрового электронного микроскопа “JEOL JSM 7800F” (Япония) с ускоряющим

напряжением в 2 кВ. Сканирование образцов проводили на поверхностях сколов, полученных путем низкотемпературного разрушения после замораживания в среде жидкого азота.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование реологических и вулканизационных свойств

Анализ вулканизационных свойств показывает (табл. 2), что использование пероксидной системы вулканизации приводит к росту значений крутящих моментов. Наиболее существенное повышение максимального крутящего момента $S_{\text{макс}}$ наблюдается при использовании комбинированной серо-пероксидной системы вулканизации. Величина $S_{\text{макс}}$ резиновой смеси с серо-пероксидной системой выше по сравнению с серной примерно на 40%. По сравнению с образцами серной системой вулканизации, величина $S'_{\text{мин}}$, характеризующая вязкость резиновой смеси [13], у образцов с серо-пероксидной и пероксидной выше примерно на 44 и 48% соответственно. Плотность сшивки вулканизатов, которая характеризуется разностью между максимальными и минимальными величинами крутящего момента ($S'_{\text{макс}} - S'_{\text{мин}}$) [14], у образцов с пероксидной и особенно с серо-пероксидной системой вулканизации, также существенно выше. По сравнению с серной и пероксидной системой вулканизации плотность сшивки смесей с серо-пероксидной системой больше примерно на 36 и 23% соответственно.

Время начала подвулканизации T_5 резиновых смесей с серо-пероксидной и пероксидной системой вулканизации значительно меньше по сравнению с серной. Величина T_5 с серной системой составляет 5.73 мин, а с серо-пероксидной и пероксидной — 1.59 и 1.28 мин, т.е. меньше на 72 и 77%. Время достижения оптимума вулканизации T_{90} у смесей с серной и серо-пероксидной вулканизации примерно одинаковое и составляет около 20 мин. Температура T_{90} смеси с пероксидной системой в среднем на 3 мин больше по сравнению с остальными.

С введением сверхвысокомолекулярного ПЭ в резиновую смесь для всех образцов происходит незначительное снижение величины $S_{\text{макс}}$ и повышение $S'_{\text{мин}}$. По сравнению с исходными образцами у наполненных образцов наблюдаемое снижение $S_{\text{макс}}$ варьируется в пределах 0.9–1.2 дНм (5–9%), а повышение $S'_{\text{мин}}$ — в пределах 0.02–0.14 дНм (1–4%). Степень сшивки вулканизатов уменьшается в пределах 1.04–1.78 дНм, что составляет 7–9%. Влияние сверхвысокомолекулярного ПЭ на значения T_5 и T_{90} также минимальное. Величина T_5 образцов уменьшается в пределах

Таблица 2. Вулканизационные характеристики резиновых смесей

Состав резиновых смесей	$S'_{\text{макс}}$	$S'_{\text{мин}}$	$S'_{\text{макс}} - S'_{\text{мин}}$	T_5	T_{90}
	дНм			мин	
100 : 0 : 2 : 0	13.48	1.65	11.83	5.73	19.26
100 : 10 : 2 : 0	12.28	1.67	10.61	5.71	20.56
100 : 0 : 1 : 2	21.37	2.96	18.41	1.59	19.31
100 : 10 : 1 : 2	19.71	3.08	16.63	1.51	19.39
100 : 0 : 0 : 2	17.18	3.18	14.0	1.28	23.84
100 : 10 : 0 : 2	16.28	3.32	12.96	1.24	23.88

Таблица 3. Механические показатели вулканизатов

Состав резиновых смесей	f_p , МПа	f_{100} , МПа	ϵ_p , %	K_m
100 : 0 : 2 : 0	13.1	2.4	550	0.194
100 : 10 : 2 : 0	9.3	2.6	440	0.203
100 : 0 : 1 : 2	9.9	2.6	355	0.423
100 : 10 : 1 : 2	10.6	4.0	290	0.577
100 : 0 : 0 : 2	11.4	2.8	365	0.520
100 : 10 : 0 : 2	8.6	3.7	265	0.580

0.02–0.08 мин, а T_{90} увеличивается в пределах 0.04–1.3 мин. Следовательно, введение сверхвысокомолекулярного ПЭ в резиновую смесь имеет незначительное влияние на ее технологичность.

Исследование механических свойств вулканизатов

Использование пероксидной системы вулканизации приводит к повышению условного напряжения при удлинении 100% (f_{100}), но при этом снижаются прочность на растяжение f_p и относительное удлинение при разрыве ϵ_p , т.е. вулканизаты получаются более жесткими и менее эластичными (табл. 3). С введением сверхвысокомолекулярного ПЭ наиболее кардинальные изменения происходят у образцов с серо-пероксидной системой вулканизации. Так, величина f_p для всех образцов снижается, а для образцов серо-пероксидной системы — повышается. Кроме того, у образцов с серо-пероксидной системой наблюдается наибольшее повышение f_{100} и при этом наименьшее снижение ϵ_p . Приведенные факты свидетельствуют об увеличении взаимодействия между сверхвысокомолекулярным ПЭ и эластомерной матрицей в случае использования серо-пероксидной системы вулканизации.

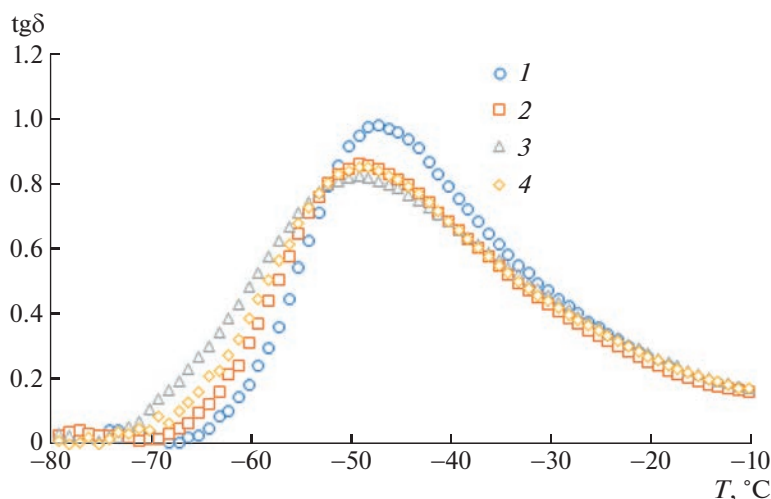


Рис. 1. Изменение $\text{tg}\delta$ образцов вулканизатов БНК—сверхвысокомолекулярный ПЭ—сера—дикумил пероксид в диапазоне температур -80 до -10°C . Соотношение БНК : сверхвысокомолекулярный ПЭ : сера : dikuмил пероксид равно $100 : 0 : 2 : 0$ (1), $100 : 10 : 2 : 0$ (2), $100 : 10 : 1 : 2$ (3) и $100 : 10 : 0 : 2$ (4); $T_g = -46$ (1) и -49°C (2–4). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

Исследование низкотемпературных свойств

Измерение коэффициента морозостойкости K_m при растяжении при -35°C показывает, что использование пероксидной системы также положительно отражается на морозостойкости образцов, что во многом связано с повышением плотности сшивки вулканизатов [15]. У образцов с пероксидной системой вулканизации величина K_m в 2.6 раза больше по сравнению с образцами серной вулканизации. Присутствие сверхвысокомолекулярного ПЭ также способствует повышению K_m , особенно в случае использования опять же серо-пероксидной системы вулканизации.

Зависимость изменения тангенса угла механических потерь $\text{tg}\delta$ вулканизатов в диапазоне $-80 \dots -10^\circ\text{C}$, где для всех образцов наблюдаются его пиковые значения, которые соответствуют их температуре стеклования [16], приведена на рис. 1. Температура стеклования T_g образцов со сверхвысокомолекулярным ПЭ на 3°C ниже по сравнению с ненаполненными образцами. Вместе с тем динамический механический анализ показал, что T_g образцов не меняется в зависимости от использованной системы вулканизации, и пиковые значения всех образцов со сверхвысокомолекулярным ПЭ наблюдаются в районе -49°C .

Исследование динамических вязкоупругих свойств

На рис. 2а–2в представлены зависимости модуля накопления G' , модуля потерь G'' и тангенса угла механических потерь $\text{tg}\delta$ образцов полимер-эластомерных материалов БНК—сверхвысокомолекулярный ПЭ—сера—дикумил пероксид до (резиновые смеси) и после вулканизации как функ-

ции частоты нагружения в диапазоне $0.02\text{--}30$ Гц при постоянной амплитуде деформации 0.5% и температуре 60°C .

Значение G' всех образцов до и после вулканизации с увеличением частоты нагружения возрастают (рис. 2а, 2б). Это связано с тем, что макромолекулы полимера не успевают релаксировать при высоких частотах [17]. Существенной разницы в значениях G' резиновых смесей не наблюдается. Характер кривых зависимости G' от частоты схожий, и они находятся примерно на одинаковом уровне, особенно в области низких частот. Значения G' вулканизатов (рис. 2б) расположены выше по сравнению с резиновыми смесями (рис. 2а), что объясняется протеканием процесса сшивки, в результате которого материал приобретает эластичность. Видно, что в зависимости от используемой вулканизационной системы и от содержания сверхвысокомолекулярного ПЭ значение G' вулканизатов меняется. Значения G' образцов пероксидной и комбинированной серо-пероксидной системы вулканизации выше по сравнению с серной по всему диапазону частот, что свидетельствует об образовании более плотной сшивки. У образцов с серо-пероксидной системой вулканизации значения G' самые высокие. Сравнивая величины G' исходных и наполненных сверхвысокомолекулярным ПЭ вулканизатов, можно обнаружить, что для всех систем с введением сверхвысокомолекулярного ПЭ значения G' повышаются. При этом в области высоких частот более ~ 1 Гц разница между значениями G' исходных и наполненных вулканизатов увеличивается, а разница между наполненными вулканизатами в зависимости от использованной системы вулканизации нивелируется. Это объясняется тем, что

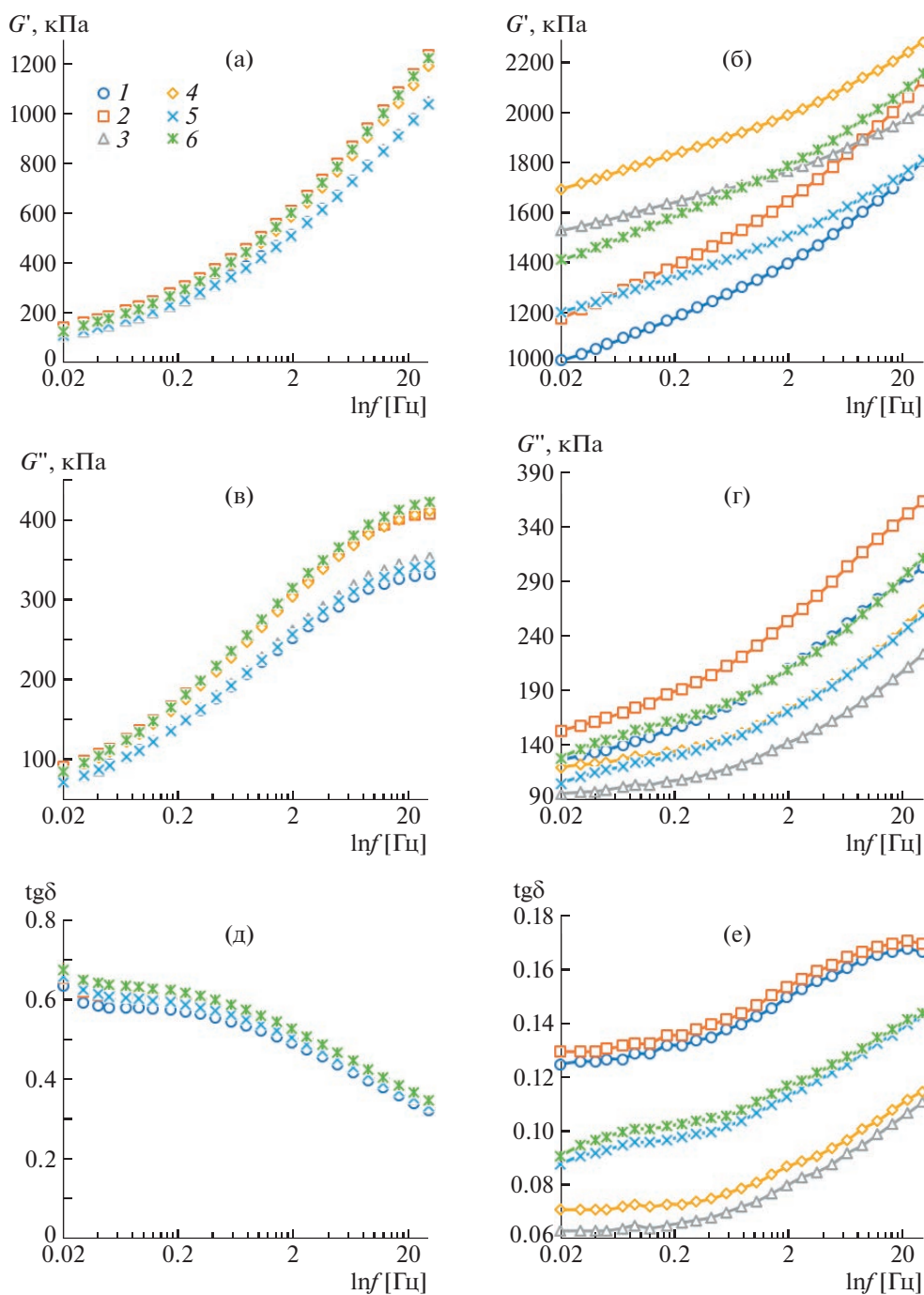


Рис. 2. Изменение G' , G'' и $\text{tg} \delta$ резиновых смесей (а, в, д) и вулканизатов БНК—сверхвысокомолекулярный ПЭ—сера—дикумил пероксид (б, г, е) в диапазоне частот f от 0.02 до 30 Гц. Соотношение БНК : сверхвысокомолекулярный ПЭ : сера : дикумил пероксид равно 100 : 0 : 2 : 0 (1), 100 : 10 : 2 : 0 (2), 100 : 0 : 1 : 2 (3), 100 : 10 : 1 : 2 (4), 100 : 0 : 0 : 2 (5) и 100 : 10 : 0 : 2 (6).

динамические свойства материалов при низких частотах сильно зависят от формирования физической сетки, образуемой в том числе за счет вторичных включений, тогда как на высоких частотах преобладает зависимость от химической сетки, образуемой самой матрицей [18].

Значение G'' у образцов до и после вулканизации также возрастает с увеличением частоты нагружения (рис. 2в, 2г). В зависимости от использования вулканизующей системы различия в значениях G'' резиновых смесей не наблюдается. Резиновые смеси, наполненные сверхвысокомо-

лекулярным ПЭ, демонстрируют более высокие значения G'' по сравнению с исходной смесью, особенно в области более высоких частот — от 1 Гц и выше. Учитывая, что значение G'' в основном связано с потерями, которые обусловлены диссипацией энергии, можно предположить, что сверхвысокомолекулярный ПЭ увеличивает диссипативные потери в резиновой смеси за счет препятствия релаксации макромолекул каучука и косвенно свидетельствует о его смачиваемости эластомерной матрицей. Значения G'' вулканизатов отличаются в зависимости от использованной системы вулканизации и содержания сверхвысокомолекулярного ПЭ. Кривые зависимости G'' от частоты образцов серной системы вулканизации расположены выше остальных, а ниже всех расположены образцы с серо-пероксидной системой. При этом наполненные образцы расположены несколько выше исходных, что указывает на увеличение диссипативных потерь в присутствии сверхвысокомолекулярного ПЭ. Наименьшая разница между исходными и наполненными образцами наблюдается в случае использования серо-пероксидной системы.

У резиновых смесей в зависимости от использованной системы вулканизации и наполнения разницы в значениях $\tan \delta$ нет (рис. 2д). С увеличением частоты нагружения для всех резиновых смесей значения уменьшаются. У вулканизатов вне зависимости от использованной вулканизирующей системы, наоборот, величина $\tan \delta$ возрастает (рис. 2е). В зависимости от использованной вулканизационной системы видно четкое отличие в значениях $\tan \delta$. По всему диапазону частот самые высокие значения $\tan \delta$, который является комплексной характеристикой, наиболее полно определяющей гистерезисные потери в объеме резины [19], наблюдаются у образцов с серной системой вулканизации. Самые низкие значения зафиксированы опять же у образцов с серо-пероксидной системой вулканизации. Образцы с пероксидной системой занимают промежуточное значение. Высокие значения $\tan \delta$ вулканизатов серной системы по сравнению с серо-пероксидной и пероксидной связаны с химическим строением ее пространственной сетки. Более длинные и подвижные связи S—S и S—C, образуемые при серной вулканизации, имеют более высокие диссипативные потери. Присутствие сверхвысокомолекулярного ПЭ приводит к незначительному повышению значений G'' по всему диапазону частот вне зависимости от использованной системы вулканизации.

На рис. 3 представлены зависимости G' , G'' и $\tan \delta$ вулканизатов полимерэластомерных материалов БНК—сверхвысокомолекулярный ПЭ—серадикумил пероксид как функции амплитуды деформации нагружения в диапазоне от 0.7 до 280% при частоте 1 Гц и температуре 60°C. Видно, что

при высоких амплитудах деформации, прибор не зафиксировал величину показателей вязкоупругих свойств образцов пероксидной (свыше ~180%) и серо-пероксидной вулканизации (более ~150%). Вероятно, это связано с проскальзыванием образцов внутри биконической испытательной ячейки с рифлеными дисками (полуформ) вследствие их высокой упругости. Такие проскальзывания принимаются прибором за ошибку измерения и значения не фиксируются. Причина остановки прибора вследствие разрушения вулканизатов исключается, так как осмотр образцов после испытания не выявил наличие трещин и разрывов.

Значение G' с увеличением амплитуды деформации снижается для всех образцов независимо от использованной вулканизационной системы (рис. 3а). Расположение кривых зависимости G' от амплитуды деформации аналогично с кривыми по частоте. Наиболее высокие значения G' — у вулканизатов с серо-пероксидной системой вулканизации, наименьшие — у серной, а пероксидные занимают промежуточные значения. В области амплитуды деформации до ~10% наблюдается линейное плато, затем при дальнейшем увеличении деформации кривая резко идет вниз, т.е. значения G' вулканизатов в области низкой и высокой деформации имеют четкое отличие. Для наполненных резин такое поведение связывают с проявлением эффекта Пейна [20], которое может быть обусловлено, во-первых, разрушением пространственной сетки, образованной взаимодействием наполнитель—наполнитель [21, 22], во-вторых, разрывом связей наполнитель—матрица [23, 24]. В области амплитуды деформации до ~10% разница в значениях G' между исходными и наполненными вулканизатами более существенна, что, видимо, связано с гетерогенностью полимерной смеси. Далее с увеличением амплитуды деформации разница постепенно нивелируется.

Значения G'' всех вулканизатов демонстрируют линейное плато в диапазоне деформации до 20–30%. С дальнейшим увеличением деформации у всех образцов происходит резкое повышение G'' с пиковыми значениями амплитуды деформации в районе 60–80%. В литературе подобные пиковые значения связывают с разрушением ковалентной связи в исследуемом материале [25]. Наиболее ярко выраженные и высокие пики имеют образцы серо-пероксидной и пероксидной вулканизации, содержащие сверхвысокомолекулярный ПЭ, что также косвенно свидетельствует о повышении прочности связи между сверхвысокомолекулярным ПЭ и эластомерной матрицей.

В зависимости от использованной системы вулканизации и содержания сверхвысокомолекулярного ПЭ значения $\tan \delta$ также меняются. Для всех образцов в области амплитуды деформации

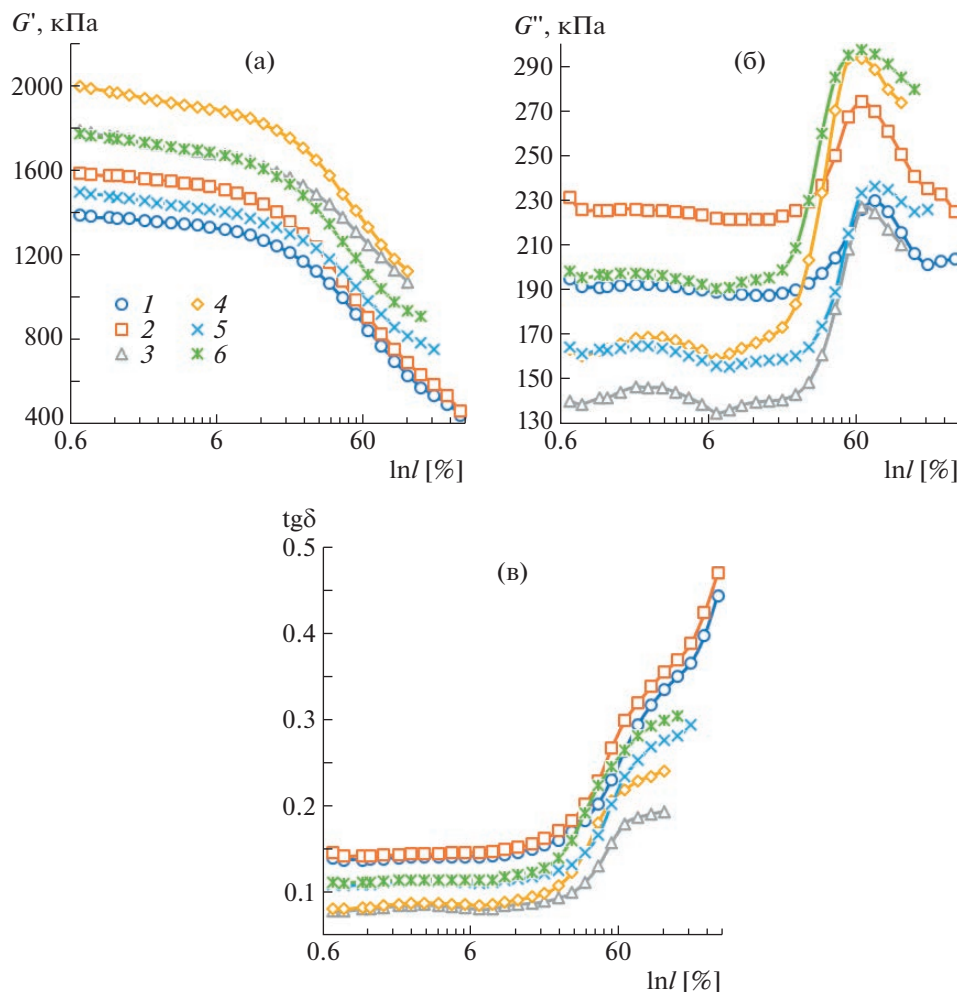


Рис. 3. Изменение G' (а), G'' (б) и $\text{tg}\delta$ (в) вулканизатов БНК—сверхвысокомолекулярный ПЭ—серы—дикумил пероксид в диапазоне амплитуды деформации I от 0.7 до 280%. Соотношение БНК : сверхвысокомолекулярный ПЭ : серы : дикумил пероксид равно 100 : 0 : 2 : 0 (1), 100 : 10 : 2 : 0 (2), 100 : 0 : 1 : 2 (3), 100 : 10 : 1 : 2 (4), 100 : 0 : 0 : 2 (5) и 100 : 10 : 0 : 2 (6).

до 30–50% наблюдается линейное плато, затем при дальнейшем увеличении деформации кривая резко идет вверх, что опять же во многом связано с разрушением ковалентных связей. В области линейного плато расположение кривых аналогичное с предыдущими результатами, т.е. минимальные значения имеют образцы серо-пероксидной вулканизации, максимальные — серной, а пероксидные занимают промежуточные значения. Влияние сверхвысокомолекулярного ПЭ на $\text{tg}\delta$, в частности, на его увеличение, проявляется в области амплитуды деформации свыше 30–50%. Наиболее существенное повышение и соответственно большая разница между исходным и наполненным образцом наблюдается у вулканизата с серо-пероксидной системой.

Исследование морфологических особенностей

Исследование низкотемпературных сколов образцов полимерэластомерных материалов ме-

тодом РЭМ показало, что характер взаимодействия сверхвысокомолекулярного ПЭ с эластомерной матрицей меняется в зависимости от использованной системы вулканизации. У образцов серной системы прослеживается резкая граница между сверхвысокомолекулярным ПЭ и эластомерной матрицей с разрывами (рис. 4а, 4б), которые, видимо, образуются в процессе их низкотемпературного раскалывания. Наличие таких разрывов свидетельствует о слабом межфазном взаимодействии между сверхвысокомолекулярным ПЭ и матрицей. У образцов серо-пероксидной (рис. 4в, 4г) и пероксидной (рис. 4д, 4е) систем вулканизации подобных разрывов не наблюдается, и переходы со сверхвысокомолекулярным ПЭ в эластомерную матрицу более плавные.

Исследование структуры

ИК-спектры всех исследованных образцов до и после вулканизации — схожие. Как и следовало

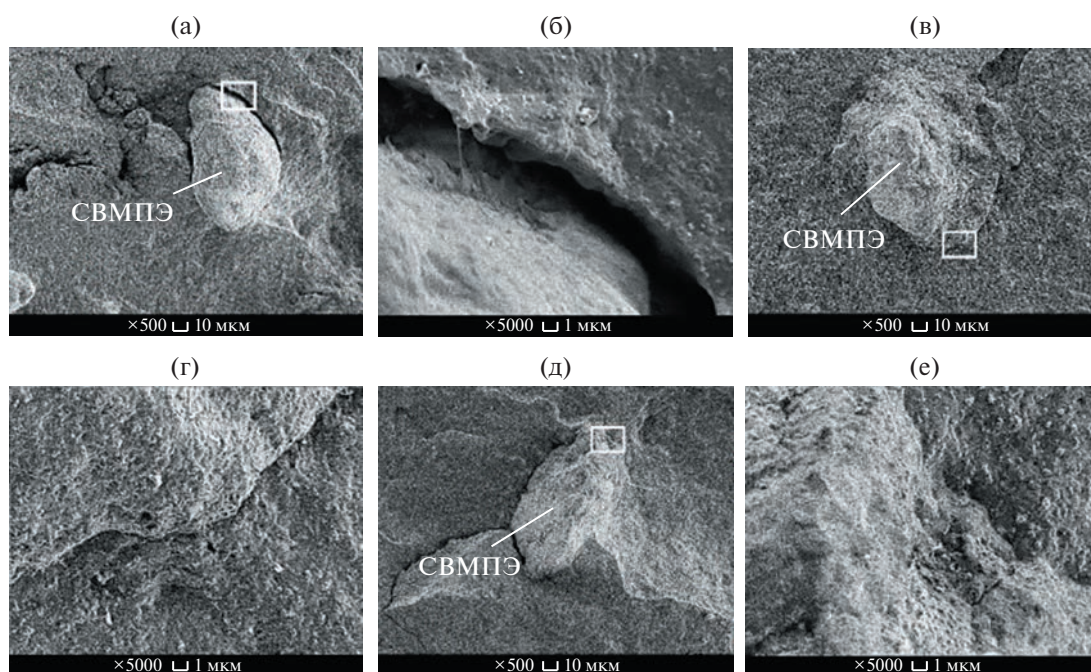


Рис. 4. РЭМ-снимки вулканизатов с разной системой вулканизации: а, б – серная, в, г – серо-пероксидная, д, е – пероксидная. СВМПЭ – сверхвысокомолекулярный ПЭ.

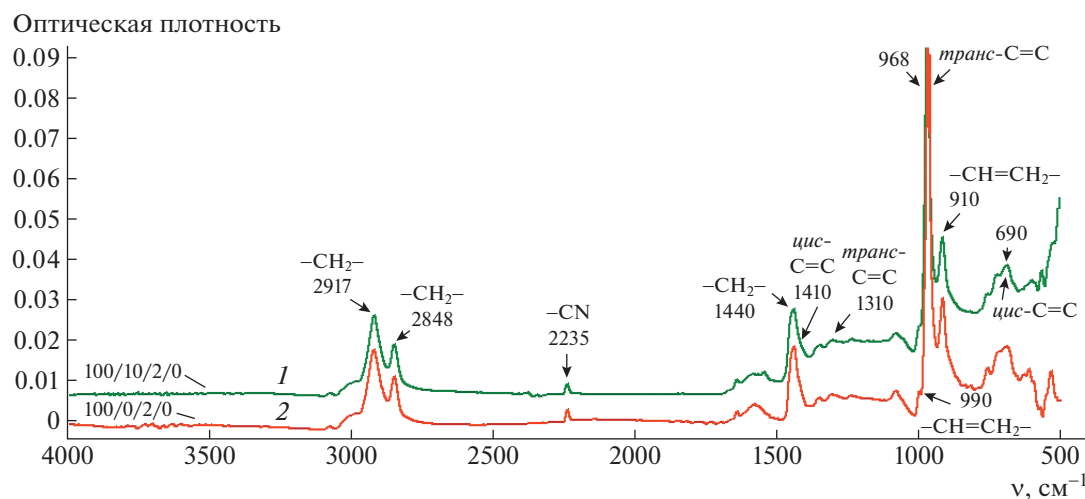


Рис. 5. ИК-спектры вулканизатов с серной системой вулканизации. Соотношение БНК : сверхвысокомолекулярный ПЭ : сера : дикумил пероксид равно 100 : 10 : 2 : 0 (1) и 100 : 0 : 2 : 0 (2).

ожидать, с введением сверхвысокомолекулярного ПЭ новые пики на ИК-спектрах не появляются. Для наглядности, на рис. 5 приведены ИК-спектры исходного (100 : 0 : 2 : 0) и наполненного сверхвысокомолекулярным ПЭ (100 : 10 : 2 : 0) вулканизатов с серной системой вулканизации. Каждый ИК-спектр содержит пики при 690 и 1410 см^{-1} (в виде плеча), соответствующие колебаниям С–Н в *цис*-двойной связи; пики при 910 и 990 см^{-1} , соответствующие внеплоскостным де-

формационным колебаниям связи С–Н в винильной группе; пики при 968 и 1310 см^{-1} , относящиеся к деформационным колебаниям С–Н в *транс*-двойной связи; пик при 1440 см^{-1} , отвечающий деформационным колебаниям метиленовых групп по типу так называемых ножничных колебаний; пик при 2235 см^{-1} , соответствующий валентным колебаниям нитрильной группы; пики при 2917 и 2848 см^{-1} , относящиеся к асиммет-

Таблица 4. Индексы пиков на ИК-спектрах образцов до и после вулканизации

Состав резиновых смесей	Смесь	Вулканизат	Δ	Смесь	Вулканизат	Δ	Смесь	Вулканизат	Δ
	<i>транс</i> -			<i>цис</i> -			винил		
100 : 0 : 2 : 0	27.560	28.839	+1.279	2.820	3.125	+0.305	5.320	4.875	−0.445
100 : 10 : 2 : 0	28.986	30.069	+1.083	2.536	2.795	+0.259	6.696	6.278	−0.418
100 : 0 : 1 : 2	28.083	29.750	+1.667	4.104	3.519	−0.585	5.583	5.038	−0.545
100 : 10 : 1 : 2	28.159	30.276	+2.117	3.971	3.552	−0.419	8.664	8.310	−0.354
100 : 0 : 0 : 2	27.479	29.750	+2.271	4.083	3.404	−0.679	5.417	5.058	−0.359
100 : 10 : 0 : 2	29.323	31.620	+2.297	4.135	3.521	−0.521	8.647	8.592	−0.055

Примечание. Δ — увеличение (+) или уменьшение (−) количества связей после вулканизации.

ричным и симметричным валентным колебаниям метиленовых групп.

Однако в зависимости от использованной вулканизационной системы наблюдаются небольшие изменения в интенсивностях пиков оптических плотностей, по которым можно оценить соотношение функциональных групп. Для количественного сравнения абсолютных значений интенсивностей пиков использован метод внутреннего стандарта [26], суть которого заключается в приведении к общему знаменателю значений интенсивностей тех или иных пиков в пределах одного спектра с вычислением так называемого индекса определенной функциональной группы. В ИК-спектрах БНК в качестве общего знаменателя лучше всего использовать интенсивность пика нитрильной группы при 2235 см^{-1} , так как ее содержание не должно меняться в процессе вулканизации.

В табл. 4 приведены индексы пиков при 968 (*транс*-), 690 (*цис*-) и 910 см^{-1} (винил), рассчитанные для всех исследованных образцов до и после вулканизации. Данные пики выбраны из тех соображений, что именно по их количественному изменению можно попытаться оценить химическое взаимодействие, происходящее при вулканизации.

По изменению количества выбранных связей после вулканизации видно, что в процессе серной вулканизации происходит увеличение количества *транс*-двойных и *цис*-двойных (в меньшей степени) связей, а количество винильных групп уменьшается. Из этого следует, что вулканизация преимущественно идет по ответвлениям винильных групп, а не по *цис*- и *транс*-двойным связям, находящимся в основной цепи. Но при этом необходимо учитывать, что сшивка может идти и по альфа-положению основной цепи [27]. В присутствии сверхвысокомолекулярного ПЭ разница между *цис*- и *транс*-двойными связями до и после вулканизации немного уменьшается.

В случае серо-пероксидной и пероксидной вулканизации также наблюдается увеличение ко-

личества *транс*-двойных связей и снижение винильных групп, но в отличие от серной системы вулканизации количество *цис*-двойных связей заметно уменьшается. По всей видимости, это связано с *цис-транс*-изомеризацией в молекуле БНК под действием высокой температуры и свободных радикалов, образованных в результате распада дикумил пероксида [28]. Причем в присутствии сверхвысокомолекулярного ПЭ разница между количеством *транс*-двойных связей до и после вулканизации увеличивается, что может быть объяснено “эффектом соседа” [29], т.е. влиянием макромолекул сверхвысокомолекулярного ПЭ, вступивших во взаимодействие с макромолекулой БНК в альфа-положении от двойной связи, что характерно для пероксидной вулканизации [30], на процесс *цис-транс*-изомеризации. Это может быть косвенным свидетельством того, что в случае использования серной и серо-пероксидной системы вулканизации происходит одновременная сшивка макромолекул каучука и сверхвысокомолекулярного ПЭ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты совокупного анализа структуры, упруго-прочностных и динамических вязкоупругих свойств полимер-эластомерных материалов на основе БНКС-18АМН и сверхвысокомолекулярного ПЭ показали, что использование комбинированной серо-пероксидной вулканизирующей системы позволяет получать вулканизаты с высокой морозостойкостью, маслостойкостью и комплексом физико-механических свойств. Достигнутое высокое комплексное свойство при использовании комбинированной серо-пероксидной вулканизирующей системы во многом объясняется особенностью пространственной структуры, образуемой при вулканизации, а также взаимодействием между каучуком и сверхвысокомолекулярным ПЭ, происходящим в том числе на химическом уровне.

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Якутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук” (грант № 13.ЦКП.21.0016).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузник В.М., Василевич Н.И. // Лаборатория и производство. 2020. № 1 (11). С. 98.
2. Paul D., Bucknell K. // Polymer Blends. New York: Wiley, 2000.
3. Захаров Н.Д., Кострыкина Г.И. // Высокомолек. соед. А. 1968. Т. 10. № 1. С. 107.
4. Корнев А.Е., Буканов А.М., Швердяев О.Н. Технология эластомерных материалов. М.: Эксим, 2000.
5. Dluzneski P.R. // Rubber Chem. Technol. 2001. V. 74. № 3. P. 451.
6. Valentin J.L., Rodriguez A., Marcos-Fernandez, Livier Gonzales // J. Appl. Polym. Sci. 2005. V. 96. P. 1.
7. Kurtz S.M. // UHMWPE Biomaterials Handbook: Ultra-High Molecular Weight Polyethylene in Total Joint Replacement and Medical Devices. New York: William Andrew, 2015.
8. Соколова М.Д., Давыдова М.Л., Шадрин Н.В. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2018. Т. 54. № 5. С. 1.
9. Шадрин Н.В., Гоголев В.Д., Исакова Т.А. // Журн. Сибирского федерального ун-та. Техника и технологии. 2021. Т. 14. № 4. С. 424
10. Ketan Patel, Samir H. Chikkali, Swaminathan Sivaram // Progr. Polym. Sci. 2020. V. 109. P. 101290.
11. Shadrinov N.V., Borisova A.A. // Inorgan. Mater. Appl. Res. 2021. № 12. P. 1112.
12. Leblanc J.L., Mongruel A. // Prog. Rubber Plast. Technol. 2001. V. 3. № 17. P. 162.
13. Yahaya L.E., Adebowale K.O., Olu-Owolabi B.I. // Am. Chem. Sci. J. 2014. V. 4. № 4. P. 472.
14. Lopez-Manchado M.A., Arroyo M.A., Herrero M.B., Biagiotti J. // J. Appl. Polym. Sci. 2003. V. 89. № 1. P. 1.
15. Бухина М.Ф. Кристаллизация каучуков и резин. М.: Химия, 1973.
16. Manoj Sehrawat, Mamta Rani, Sony Bharadwaj, Shant Sharma, Gaurav Chauhan, Sanjay Dhakate, Bhanu Pratap Singh // MAPAN. 2022. № 37. С. 517.
17. Barick A.K., Tripathy D.K. // J. Appl. Polym. Sci. 2010. V. 117. № 2. P. 639.
18. Babu R.R., Singha N.K., Naskar K. // Polym. Eng. Sci. 2009. V. 50. № 3. P. 455.
19. Муромцев Д.Н., Пичхидзе С.Я. // Вестн. Саратовского гос. техн. ун-та. 2012. Т. 68. № 1. С. 158.
20. Payne A.R., Whittaker R.E. // Rubber Chem. Technol. 1971. V. 44. № 2. P. 440.
21. Robertson C.G., Roland C.M. // Rubber Chem. Technol. 2008. V. 81. № 3. P. 506.
22. Bohm G.A., Tomaszewski W., Cole W., Hogan T. // Polymer. 2010. V. 51. № 9. P. 2057.
23. Maier P.G., Goritz D. // Kautschuk Gummi Kunststoffe. 1996. V. 49. № 1. P. 18.
24. Chazeau L., Brown J.D., Yanyo L.C., Sternstein S.S. // Polym. Compos. 2000. V. 21. № 2. P. 202.
25. Ge X., Zhang Z., Yu H., Zhang B., Cho U.R. // Appl. Clay Sci. 2018. № 157. P. 274.
26. Bellamy M. // J. Chem. Educ. 2010. № 87. P. 1399.
27. Passador F.R., Rodolfo A., Pessan L.A. // J. Macromol. Sci. B. 2009. V. 48. № 2. P. 282.
28. Liu Xifei, Zhou Tao, Liu Yongcheng, Zhang Aiming, Yuan Canyao, Zhang Weidong // RSC Adv. 2015. № 5.
29. Карасёва С.Я., Саркисова В.С., Дружинина Ю.А. // Химические реакции полимеров. Самара: Самарский гос. техн. ун-т, 2012.
30. Kruzalak J., Sykora R., Hudec I. // J. Polym. Eng. 2014. № 34.

УДК 541.64:539.3:546.26=162

ТВЕРДОФАЗНОЕ ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИЦИЙ ПОЛИЭТИЛЕНА НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ С ВОССТАНОВЛЕННЫМ ОКСИДОМ ГРАФЕНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ СДВИГОВЫХ ДЕФОРМАЦИЙ

© 2023 г. М. М. Гасымов^а, С. З. Роговина^{а,*}, О. П. Кузнецова^а, В. Г. Шевченко^{а,б}, А. А. Берлин^а

^аФедеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук
119991 Москва, ул. Косыгина, 4, Россия

^бИнститут синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук
117393 Москва, ул. Профсоюзная, 70, Россия

*e-mail: s.rogovina@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2023 г.

После доработки 05.10.2023 г.

Принята к публикации 23.10.2023 г.

В условиях высокотемпературных сдвиговых деформаций в роторном диспергаторе получены композиции полиэтилена низкой плотности с наноглеродным наполнителем — восстановленным оксидом графена различного состава. С привлечением широкого спектра физико-химических методов анализа, включающих в себя метод лазерной дифракции, сканирующую электронную микроскопию, измерения механических и электрических параметров, проведено исследование структуры и свойств полученных нанокомпозиций. Продемонстрировано влияние состава композиций на характеристики получаемых материалов.

DOI: 10.31857/S2308112023600023, EDN: DDRTR

ВВЕДЕНИЕ

Полимерные нанокомпозиции, содержащие в качестве наполнителей графен и его производные, представляют собой перспективные материалы, широко используемые в различных областях [1–8]. Уникальная двумерная структура этих соединений углерода позволяет применять их для получения материалов, характеризующихся хорошими прочностными и электрическими показателями, долговечностью и технологичностью, соответствующих современным техническим требованиям и способствующих их разнообразному использованию [9–15].

Такие нанокомпозиции могут быть получены различными способами, обычно используемыми при создании полимерных композиций, а именно полимеризацией *in situ*, а также смешением в растворе или расплаве [16].

Основной проблемой при получении нанокомпозиций является обеспечение равномерного распределения графеновых производных в полимерной матрице. Это, в частности, может быть достигнуто проведением процесса под действием высокоинтенсивных сдвиговых деформаций с использованием определенного типа смесителей (двухшнековый экструдер, роторный диспергатор, смеситель Брабендер) [17]. Данный метод основан на явлении множественного растрескива-

ния твердого тела и разрушении его на отдельные частицы в условиях интенсивного сжатия и одно-временного деформирования сдвигом, осуществляемых при оптимальных температурах. Применение метода высокотемпературных сдвиговых деформаций позволяет получать материалы на основе полимеров с более равномерным распределением компонентов, в том числе и при использовании дисперсных наполнителей, в частности графеновых производных [18], по сравнению с композициями, получаемыми при смешении в жидкой фазе. Как следствие, образующиеся композиции обладают улучшенными физико-химическими характеристиками, при этом отличительной особенностью данного метода является тот факт, что процесс протекает с малыми энергетическими затратами в твердом состоянии в отсутствие растворителей, что делает его экологически чистым.

Ранее нами был проведен цикл работ, посвященных получению в условиях твердофазного смешения многочисленных композиций на основе полимеров различных классов (полиэтилена, природных полисахаридов, биоразлагаемых алифатических полиэфиров полилактид и поли-(3-гидроксibuтират) и изучению их свойств [19–21].

Также под действием сдвиговых деформаций в смесителе Брабендера были разработаны компо-

зиции полилактида с нанонаполнителями — восстановленным оксидом графена и нанопластинами графита [22, 23]. Было установлено, что механические свойства разрабатываемых материалов зависят как от природы, так и от количества используемого нанонаполнителя.

Тем не менее, в литературе встречается незначительное количество работ, посвященных созданию композиций на основе полиэтилена и графеновых наполнителей [24–27].

Цель настоящей работы — получение твердофазным способом в роторном диспергаторе наполненных композиций ПЭНП—восстановленный оксид графена различного состава и сравнительное исследование их свойств. Это представляет собой перспективное направление работ, проводимых в данной области, поскольку способствует созданию на основе этого крупнотоннажного полимера материалов с новым комплексом свойств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служил ПЭНП (Ribelen FC 30) с $\rho = 0.922$ г/см³ и показателем текучести расплава 0.25 г/10 мин (190°C, 2.16 кг), наполнителем — восстановленный оксид графена.

Синтез восстановленного оксида графена осуществляли в несколько стадий согласно работе [28]: вначале окислением кристаллического графита раствором KMnO_4 в кислой среде по методу Хаммерса синтезировали оксид графена, из которого в дальнейшем восстановлением был получен восстановленный оксид графена.

Термическое восстановление оксид графена проводили в трубчатой печи при 900°C, где происходило взрывообразное разложение оксид графена с выделением газообразных CO , CO_2 и H_2O и образованием значительно увеличенного в объеме твердого продукта — восстановленного оксид графена [29].

Композиции ПЭНП—восстановленный оксид графена получали путем смешения ПЭНП и восстановленного оксида графена под действием сдвиговых деформаций в роторном диспергаторе при температуре 155–160°C. Концентрация восстановленного оксида графена в смесях составляла 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25 и 0.9 мас. %.

Для измерений механических и электрических характеристик композиций, а также определения структуры образцов на лабораторном прессе “Cарver” при температуре 190°C и давлении 10 МПа были отпрессованы пленки толщиной 0.3 мм.

Определение дисперсного состава композиций ПЭНП—восстановленный оксид графена методом лазерной дифракции проводили в жидкой среде в наноанализаторе размеров частиц “Fritsch Analysette 22 Microtec plus” (“Fritsch”, Германия)

с разрешающей способностью в диапазоне 0.08–2000 мкм.

Структуру композиций исследовали методом электронной сканирующей микроскопии с использованием микроскопа “Jeol JSM-7001F” (Япония). Во вторичных электронах при ускоряющем напряжении 15 кэВ были получены СЭМ-изображения, характеризующие морфологию поверхности сколов пленочных образцов. Предподготовка заключалась в магнетронном напылении золота в среде аргона на поверхность образца с целью создания токопроводящей пленки толщиной менее разрешающей способности электронного сканирующего микроскопа.

Механические испытания композиций выполняли на разрывной машине “Instron-3365” (UK) в режиме одноосного растяжения при постоянной скорости перемещения верхнего траверса 5.0 мм/мин и комнатной температуре. Из диаграмм растяжения напряжение σ —удлинение ϵ определяли модуль упругости E , предельные значения прочности σ_p и удлинения при разрыве ϵ_p . Результаты усредняли по шести–семи образцам.

Диэлектрические свойства нанокмпоЗИТОВ (диэлектрическая проницаемость, потери, электрический модуль и проводимость) изучали в диапазоне частот 10^{-1} – 10^6 Гц с помощью импеданс-анализатора “NovocontrolAlpha-Au” диэлектрической ячейки ZGS Alpha Active Sample Cell с позолоченными дисковыми электродами диаметром 20 и 30 мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании дисперсного состава композиций ПЭНП—восстановленный оксид графена с разным соотношением компонентов, полученных под действием сдвиговых деформаций в роторном диспергаторе, было установлено, что при измельчении как ПЭНП, так и его композиций с восстановленным оксидом графена, образуются порошки с различным распределением частиц по размерам (рис. 1).

Как следует из рис. 1, ПЭНП характеризуется узким распределением с размером частиц от 0.1 до 10 мкм (кривая 1), тогда как размер частиц восстановленного оксида графена находится в интервале 0.1–160 мкм (кривая 2). Эти данные коррелируют с результатами, полученными методом СЭМ (рис. 2), из которых отчетливо видно, что ПЭНП представляет собой отдельные частицы (рис. 2а), в то время как частицы восстановленного оксида графена являются чешуйчатыми агломератами разного размера (рис. 2б).

Образование таких агломератов обусловлено их большой удельной поверхностью и, как правило, в том или ином виде они присутствуют в по-

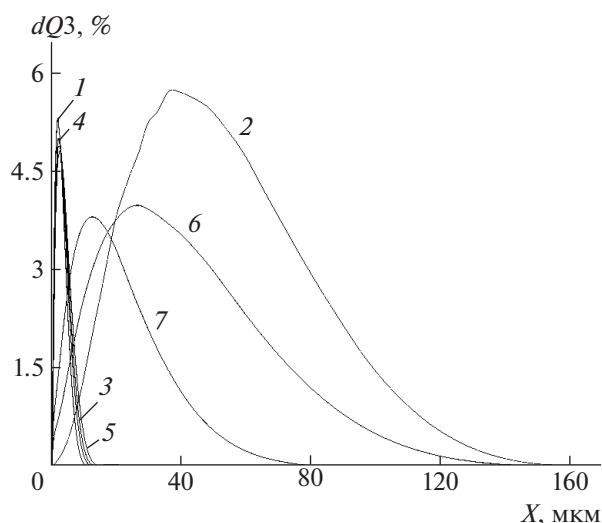


Рис. 1. Дифференциальные кривые распределения ПЭНП (1), частиц восстановленного оксида графена (2) и композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена с содержанием наполнителя восстановленного оксида графена 0.05 (3), 0.10 (4), 0.15 (5), 0.20 (6), 0.25 мас. % (7). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

добных композициях. В то же время вид кривых распределения частиц композиций зависит от содержания восстановленного оксида графена (рис. 1). Кривые распределения частиц композиций, содержащих от 0.05 до 0.15 мас. % восстановленного оксида графена (кривые 3–5) практически совпадают с кривой распределения частиц ПЭНП. Однако увеличение содержания нанонаполнителя от 0.2 до 0.25 мас. % приводит к уширению кривых распределения (кривые 6, 7), и размер частиц композиций находится в диапазоне от 0.1 до 140 мкм.

Для изучения морфологии полученных композиций методом СЭМ использовали сколы об-

разцов с содержанием наполнителя 0.25 мас. % (рис. 3). Как следует из микрофотографий, в композициях восстановленный оксид графена присутствует в виде чешуйчатых агломератов с размерами, значительно превышающими величину исходных наночастиц (рис. 2б).

Необходимо отметить, что образующиеся агломераты, по-видимому, неравномерно распределены в полимерной матрице, что может приводить к снижению прочностных и электрических характеристик получаемых композиций.

Механические характеристики ПЭНП и его композиций с восстановленным оксидом графена, полученных под действием сдвиговых деформаций, представлены на рис. 4. Видно, что введение восстановленного оксида графена в диапазоне исследуемых концентраций вызывает незначительное повышение значений модуля упругости E и снижение предельной прочности σ_p по сравнению с исходным ПЭНП. В то же время наблюдается заметное падение значений удлинения при разрыве ϵ_p , что обусловлено агломерацией частиц восстановленного оксида графена и соответствует данным СЭМ.

Ранее в работе [18] при изучении механических свойств композиций полилактид–восстановленный оксид графена, полученных твердофазным способом под действием сдвиговых деформаций и жидкофазным синтезом в хлороформе, было показано, что значения предельной прочности σ_p и удлинения при разрыве ϵ_p композиций, полученных твердофазным синтезом, несколько выше, чем у аналогичных композиций, синтезированных в жидкой фазе (так, при содержании восстановленного оксида графена 0.25 мас. % значения $\sigma_p = 52.5$ и 38.5 МПа, а $\epsilon_p = 2.5$ и 2.0% соответственно).

Диэлектрические свойства композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена были

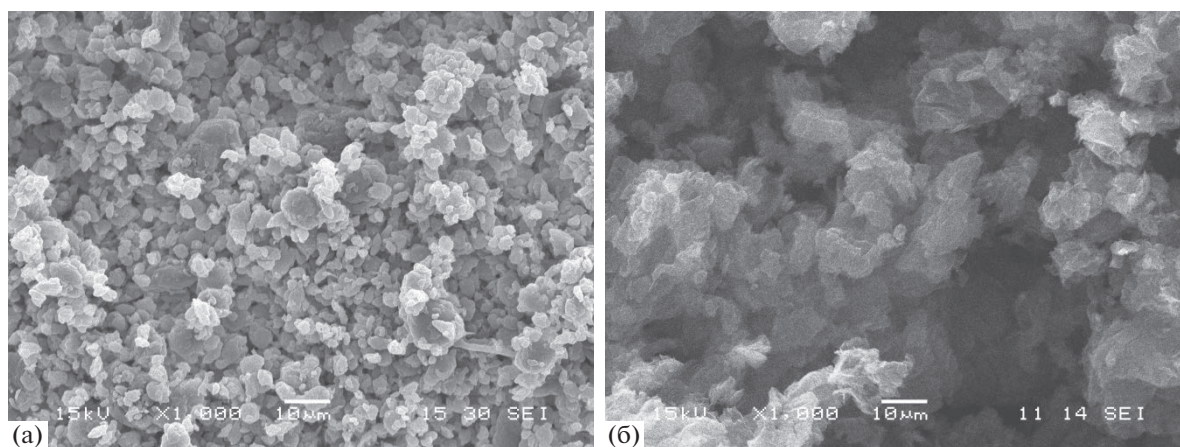


Рис. 2. СЭМ-изображения частиц восстановленного оксида графена (а) и ПЭНП (б).

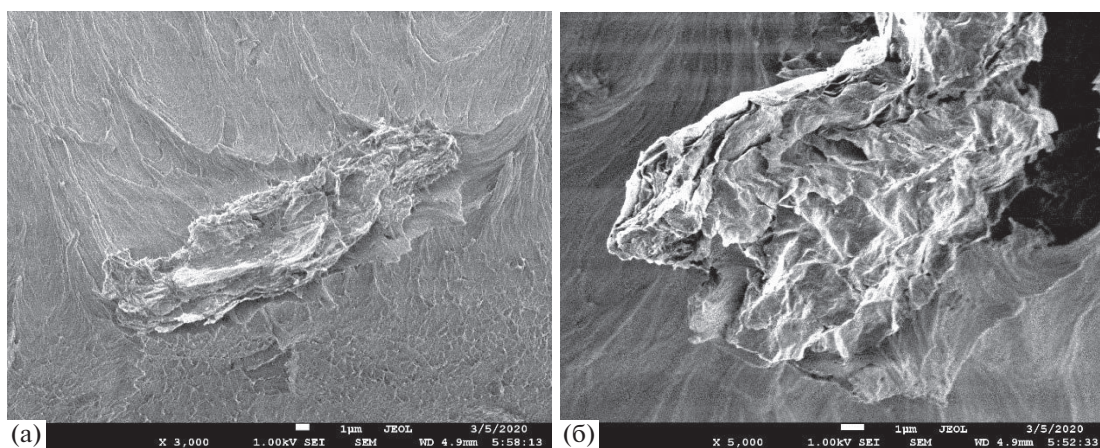


Рис. 3. СЭМ-изображения композиции ПЭНП–восстановленный оксид графена с содержанием наполнителя 0.25 мас. %. Увеличение 3000 (а) и 5000 (б).

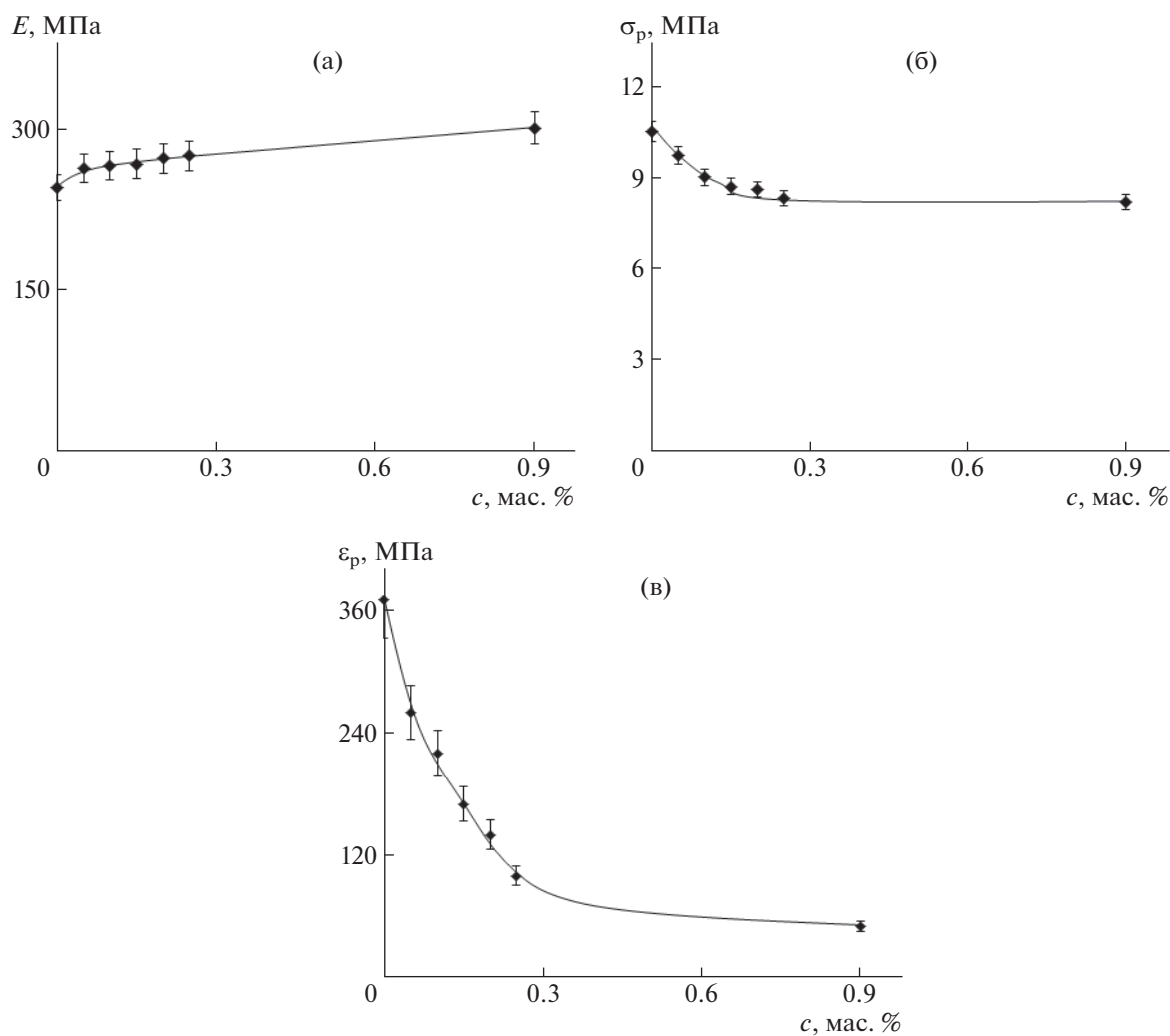


Рис. 4. Зависимости модуля упругости E (а), предельной прочности σ_p (б) и удлинения при разрыве ϵ_p (в) от содержания c восстановленного оксида графена в композициях ПЭНП–восстановленный оксид графена.

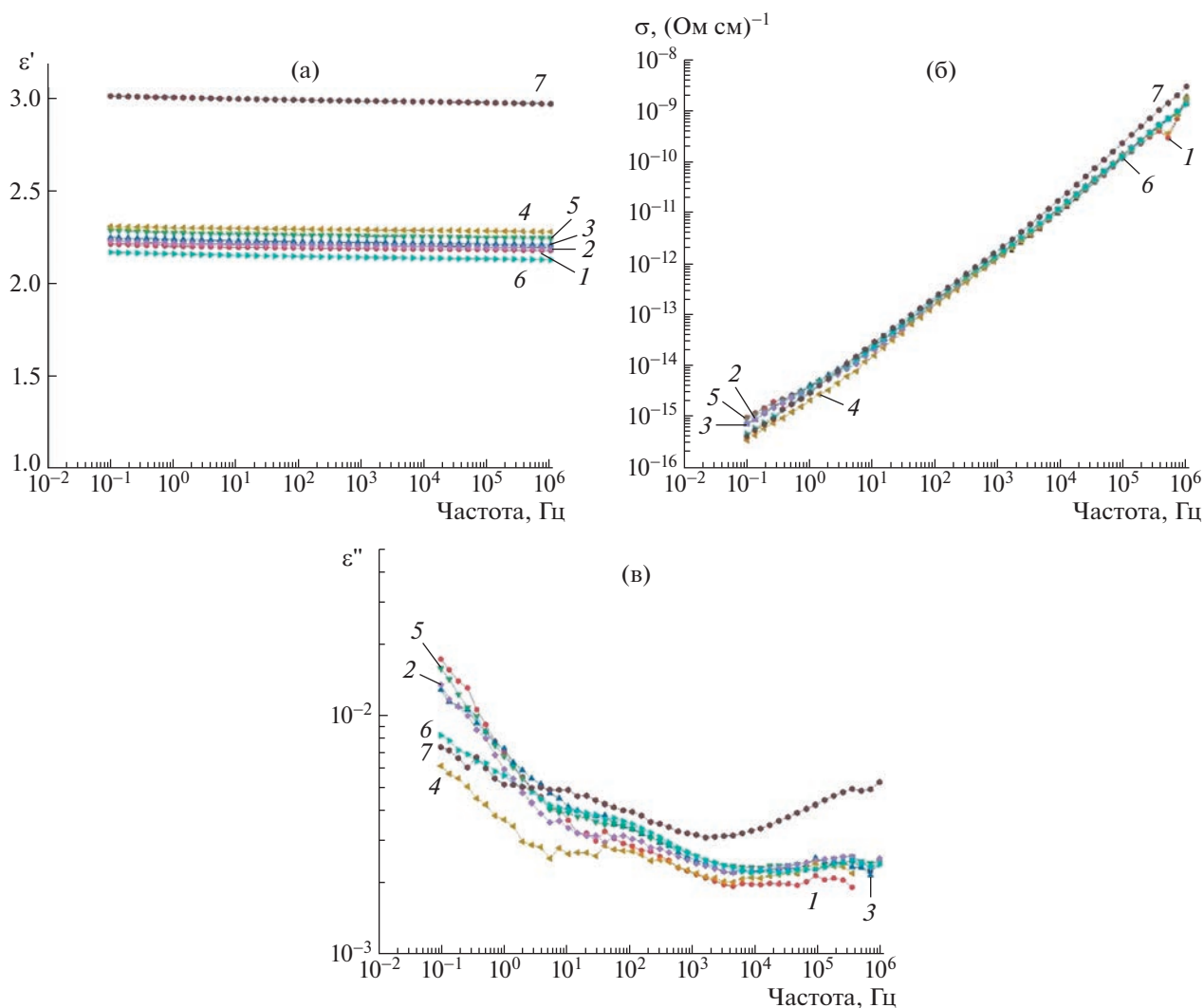


Рис. 5. Зависимости от частоты f диэлектрической проницаемости ϵ' (а), проводимости σ (б) и диэлектрических потерь ϵ'' (в) измельченного ПЭНП (1) и его композиций с восстановленным оксидом графена (2–7). Концентрация восстановленного оксида графена 0.05 (2), 0.1 (3), 0.15 (4), 0.20 (5), 0.25 (6), 0.9 мас. % (7).

исследованы в интервале концентраций наполнителя от 0.1 до 0.9 мас. %. На рис. 5 представлены частотные зависимости диэлектрической проницаемости ϵ' , проводимости σ и диэлектрических потерь ϵ'' композитов ПЭНП с различной концентрацией восстановленного оксида графена.

Как видно, диэлектрическая проницаемость ϵ' практически не зависит от содержания наполнителя в интервале его концентраций от 0.1 до 0.25 мас. % и равна 2.2 ± 0.1 . Увеличение проницаемости до 2.98 наблюдается только при концентрации восстановленного оксида графена 0.9 мас. %.

Проводимость σ также почти не зависит от содержания наполнителя, как и наклон ее частотной зависимости, составляющий 1 ± 0.05 .

Диэлектрические потери ϵ'' в композитах очень малы (порядка нескольких тысячных). Все эти факты объясняются малой концентрацией проводящего наполнителя, которая намного ниже порога протекания.

Диэлектрические свойства материала (диэлектрическая проницаемость ϵ' , потери ϵ'') обычно описываются с помощью уравнения Гаврилика–Негами с проводимостью [30]

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{(1 + (i\omega\tau)^\alpha)^\beta} + i \frac{\sigma_0}{\epsilon_0 \omega^n}, \quad (1)$$

где ϵ^* — комплексная диэлектрическая проницаемость; $\Delta\epsilon = \epsilon_s - \epsilon_\infty$ — высокочастотный и низкочастотный пределы диэлектрической проницаемости; τ — характерное время релаксации; ω — частота; α — параметр, определяющий симметрию

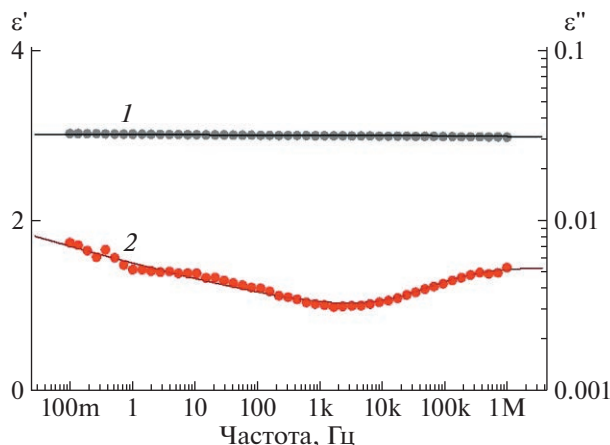


Рис. 6. Зависимости диэлектрической проницаемости ϵ' (1) и потерь ϵ'' (2) для образца ПЭНП—восстановленный оксид графена (0.9 мас. %). Точки — экспериментальные данные, линии — результат аппроксимации.

распределения времен релаксации; β — параметр, определяющий ширину спектра; σ_0 — электрическая проводимость, ϵ_0 — диэлектрическая проницаемость вакуума; n — параметр.

Как показывает анализ полученных результатов, экспериментальные зависимости описываются двумя релаксационными процессами (функциями Гавриилиака—Негами), высокочастотным (уравнение (2)) и низкочастотным с проводимостью (уравнение (3)):

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{(1 + (i\omega\tau)^{1-\alpha})^{1-\beta}} \quad (2)$$

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{(1 + (i\omega\tau)^{1-\alpha})^{1-\beta}} + i \frac{\sigma_0}{\epsilon_0 \omega^n} \quad (3)$$

На рис. 6 в качестве примера приведены частотные зависимости диэлектрической проницаемости и потерь для композита с концентрацией наполнителя 0.9 мас.% и результаты аппроксимации по уравнениям (2) и (3) — красные линии. Поскольку ПЭНП является неполярным полимером с очень низкими диэлектрическими потерями, это увеличивает погрешность измерений использованного импеданс-анализатора и ухудшает сходимость аппроксимации при меньших концентрациях наполнителя, в связи с чем определенных выводов относительно зависимости параметров уравнений (2) и (3) от концентрации наполнителя сделать не удастся. Можно лишь отметить, что значения параметра α обоих уравнений для всех композитов близки к единице. Это означает, что диэлектрические потери определяются в основном потерями за счет электропроводности, иными словами, наличием примесных носителей заряда. При этом релаксационные

процессы, связанные с подвижностью диполей в полимерной цепи, практически не наблюдаются.

Таким образом, проведение твердофазного смешения ПЭНП с наночастицами восстановленного оксида графена под действием сдвиговых деформаций позволяет получить композиционный материал, отличающийся по своим механическим и электрическим характеристикам от исходного полимера в зависимости от степени наполнения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях высокотемпературных сдвиговых деформаций в одношнековом роторном диспергаторе получены композиции ПЭНП—восстановленный оксид графена с содержанием наполнителя от 0.05 до 0.9 мас. %.

Методом лазерной дифракции определено распределение частиц порошковых композиций ПЭНП—восстановленный оксид графена по размерам. Показано, что введение частиц восстановленного оксида графена приводит к уширению кривых распределения по сравнению с исходным ПЭНП.

Методом сканирующей электронной микроскопии изучена морфология полученных композиций и обнаружено, что наночастицы восстановленного оксида графена в смеси представляют собой агломераты чешуйчатой структуры.

Исследование механических свойств композиций показало, что введение восстановленного оксида графена способствует небольшому возрастанию модуля упругости E , при одновременном снижении предельной прочности σ_p и удлинения при разрыве ϵ_p , что может быть связано с агломерацией частиц восстановленного оксида графена, происходящей при смешении компонентов в процессе экструзии.

При изучении электрических свойств композиций было установлено, что диэлектрическая проницаемость ϵ' практически не зависит от содержания наполнителя в области малых концентраций от 0.1 до 0.25 мас.% и возрастает только при концентрации восстановленного оксида графена 0.9 мас.%. Отсутствие регулярной зависимости постоянной и переменной проводимости от концентрации наполнителя может указывать на неоднородное распределение частиц наполнителя в матрице полимера.

Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра химической физики Российской академии наук (№ FFZE-2022-0010).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jeffrey R.P., Daniel R.D., Christopher W.B. // Polymer. 2011. V. 52. P. 5.
2. Layek R.K., Nandi A.K. // Polymer. 2013. V. 54. № 19. P. 5087.
3. Alam F., Choosri M., Gupta T.K., Varadarajan K.M. // Mater. Sci. Eng. B. 2019. V. 241. P. 82.
4. Barra A., Santos J.D.C., Silva M.R.F., Nunes C. // Nanomaterials. 2020. V. 10. P. 1.
5. Rafiee M.A., Rafiee J., Wang Z., Song H., Yu Z.-Z., Koratkar N. // ACS Nano. 2009. V. 3. № 3. P. 3884.
6. Abbasi H., Antunes M., Velasco J.I. // Prog. Mater. Sci. 2019. V. 103. P. 319.
7. Nasir A., Kausar A., Younus A. // Polym. Plast. Technol. Eng. 2015. V. 54. P. 750.
8. Olanipekun O., Oyefusi A., Neelgund G.M., Oki A. // Spectrochim. Acta A. 2015. V. 149. P. 991.
9. Zhu Y., Peng Q., Qin Y., Zhao X., Xu L., Chen Q., Li Y., Xu Z., He X. // ACS Appl. Nano Mater. 2020. V. 3. P. 9076.
10. Pang Y., Yang J., Curtis T.E., Luo S., Huang D., Feng Z., Morales-Ferreiro J.O., Sapkota P., Lei F., Zhang J., Zhang Q., Lee E., Huang Y., Guo R., Ptasinska S., Roder R.K., Luo T. // ACS Nano. 2019. V. 13. P. 1097.
11. Sarker F., Karim N., Afroj S., Koncherry V., Novoselov K.S., Potluri P. // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2018. V. 10. P. 34502.
12. Chen M., Muniz A.R., Maroudas D. // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2018. V. 10. P. 28898.
13. Gobi N., Vijayakumar D., Keles O., Erogbogbo F. // ACS Omega. 2017. V. 2. P. 4356.
14. Messina E., Leone N., Foti A., Marco G.D., Riccucci C., Carlo G.D., Maggio F.D., Cassata A. // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2016. V. 8. P. 23244.
15. Liu W., Do I., Fukushima H., Drzal L.T. // Carbon Lett. 2016. V. 11. № 4. P. 279.
16. Potts J.R., Daniel R.D., Christopher W.B., Rodney S.R. // Polymer. 2011. V. 52. P. 5.
17. Прут Э.В., Зеленецкий А.Н. // Успехи химии. 2001. Т. 70. № 1. С. 72.
18. Rogovina S.Z., Gasyimov M.M., Lomakin S.M., Kuznetsova O.P., Ermolaev I.M., Shevchenko V.G., Shapagin A.V., Arbuzov A.A., Berlin A.A. // Mech. Compos. Mater. 2023. V. 58. № 6. P. 845.
19. Rogovina S.Z., Aleksanyan K.V., Loginova A.A., Ivanushkina N.E., Vladimirov L.V., Prut E.V., Berlin A.A. // Starch – Starke. 2018. V. 70. № 7. P. 1700268.
20. Rogovina S., Prut E., Aleksanyan K., Krashinnikov V., Perepelitsyna E., Shaskin D., Ivanushkina N., Berlin A. // J. Appl. Polym. Sci. 2019. V. 136. № 22. P. 47598.
21. Rogovina S., Zhorina L., Gatin A., Prut E., Kuznetsova O., Yakhina A., Olkhov A., Samoylov N., Grishin M., Iordanskii A., Berlin A. // Polymers. 2020. V. 12. P. 1088.
22. Rogovina S., Lomakin S., Usachev S., Gasyimov M., Kuznetsova O., Natalya S., Shevchenko V., Prut E., Berlin A. // Polym. Crystallization. 2022. V. 2022. P. 1.
23. Rogovina S.Z., Lomakin S.M., Gasyimov M.M., Kuznetsova O.P., Shevchenko V.G., Melnikov V.P., Berlin A.A. // Polymer Science D. 2023. V. 16. № 1. P. 161.
24. Wu H., Lu C., Zhang W., Zhang X. // Mater. Des. 2013. V. 52. P. 621.
25. Che J., Wu K., Lin Y., Wang K., Fu Q. // Composites A. 2017. V. 99. P. 32.
26. Khanam P.N., AlMaadeed M.A., Ouederni M., Harkin-Jones E., Mayoral B., Hamilton A., Sun D. // Vacuum. 2016. V. 130. P. 63.
27. Hari B.S., Kumar K.V.M., Krishnamurthy K., Kumar P.S., Gobinath V.K., Sachinbala R., Rajasekar R. // Mater. Today. 2020. V. 39. P. 1.
28. Arbuzov A.A., Muradyan V.E., Tarasov B.P., Sokolov E.A., Babenko S.D. // Russ. J. Phys. Chem. 2016. V. 90. № 5. P. 663.
29. Arbuzov A.A., Muradyan V.E., Tarasov B.P. // Izv. RAS Ser. Chem. 2013. V. 62. № 9. P. 1962.
30. Blythe T., Bloor D. Electrical Properties of Polymers. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2008.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 541.64:543.42

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ КАРБОКСИЛЬНЫХ ГРУПП ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОСФЕР КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИМ И ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ ТИТРОВАНИЕМ

© 2023 г. Д. О. Шестакова^{a,b,*}, Н. Н. Санькова^b, Е. В. Пархомчук^{a,b}

^aНовосибирский государственный университет

630090 Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 5, Россия

^bИнститут катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук

630090 Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 5, Россия

*e-mail: d.shestakova@g.nsu.ru

Поступила в редакцию 27.07.2023 г.

После доработки 01.09.2023 г.

Принята к публикации 18.09.2023 г.

Предложена лабораторная методика определения концентрации карбоксильных групп на поверхности полистирольных микросфер при концентрации латекса порядка нескольких сотых массового процента (концентрация групп COOH ниже 4×10^{-4} моль/л). Методика основана на кондуктометрическом и потенциометрическом титровании. Исследовано влияние концентрации полимерных частиц в системе, ионной силы раствора, длительности титрования и инертности системы на получаемые значения концентрации карбоксильных групп и ошибку измерений.

DOI: 10.31857/S2308112023600102, EDN: DCZBWT

ВВЕДЕНИЕ

Методики синтеза полимерных частиц разного размера (от нескольких нанометров до сотен микрометров [1]), формы [2] (от абсолютно гладких сфер до частиц в форме сердца с неровной поверхностью [3]), строения (макропористые, мезопористые, микропористые [4], полые [5], Янус-частицы [6]) и состава (полистирол [7], полиметилметакрилат [8], поли(N-изопропилакриламид) [9], полидивинилбензол и т.д. [10]) активно разрабатываются на протяжении трех последних десятилетий. Широкая вариативность свойств полимерных частиц определяет разнообразие их применений: от лакокрасочной промышленности до систем доставки лекарств [11, 12]. Экспресс-диагностика с использованием полимерных микросфер в качестве носителей все шире входит в повседневную практику клинико-диагностических лабораторий, позволяя быстро диагностировать инфекционные заболевания, диабет, сердечно-сосудистые заболевания, воспаления различной природы, онкологию и т.д. [13–15]. Применение полимерных частиц особенно привлекательно благодаря простоте иммобилизации на них антител, антигенов, фрагментов ДНК и РНК за счет взаимодействия последних с функциональными группами ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$) на поверхности полимерных частиц. Эффективность связывания определяется природой функ-

циональных групп, плотностью их распределения по поверхности и доступностью. В настоящей работе главное внимание будет уделено микросферам с карбоксильными группами в силу их универсальности и наибольшей распространенности среди тест-систем.

Не все функциональные группы, находящиеся на поверхности частицы, могут активно связываться с пептидами, антителами, белками и иными крупными молекулами в силу стерических затруднений. Для определения концентрации доступных в конкретном методе функциональных групп чаще всего используются флуоресцентные метки [16]. В свою очередь для определения общей концентрации поверхностных групп предлагается множество быстрых и точных методов [17]. J. Dai с соавторами разработали комплексометрическую методику, основанную на взаимодействии ионов Fe^{2+} с карбоксильными группами [18]. На похожем принципе, но уже с использованием колориметрического метода, базируется работа А. Hennig и его коллег [19], которые с помощью пирокатехинового фиолетового определили концентрацию свободных ионов двухвалентных переходных металлов (Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+}), не связавшихся с функциональными группами. Помимо этого существует и прямой колориметрический метод, предполагающий использование красителей, например толуидинового голубого О [20].

В своей работе [21] S. Zhu с соавторами продемонстрировали возможность быстрого определения концентрации поверхностных групп с помощью ζ -потенциала.

Тем не менее, несмотря на многообразие методов, кондуктометрическое [22–27] и потенциометрическое [28–31] титрования являются самыми распространенными методами определения концентрации карбоксильных групп и используются в качестве некоего стандарта, с которым сравнивают результаты, полученные посредством других методик [18, 21, 32]. Данные методы не требуют сложного оборудования и дорогостоящих реактивов, а при соблюдении всех условий способны демонстрировать не меньшую точность, чем высокотехнологичный метод твердотельной ЯМР-спектроскопии [32].

Однако исследователь, впервые столкнувшийся с необходимостью определить концентрацию поверхностных групп, обнаруживает ряд экспериментальных сложностей и противоречий в литературе, особенно для систем с концентрацией латекса на уровне нескольких сотых массовых процентов, что обычно соответствует концентрации карбоксильных групп $c_{\text{COOH}} < 4 \times 10^{-4}$ моль/л. В связи с этим в настоящей работе авторы представляют собственную разработку лабораторной методики определения концентрации карбоксильных групп для полистирольного латекса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты

Мономеры стирол (ч, 1% гидрохинона, “Реахим” или “Союзхимпром”) промывали трижды 0.1 М водным раствором NaOH, после чего перегоняли при пониженном давлении и хранили в холодильнике; акриловая (99.5%, “Вектон”) и метакриловая (99.5%, “Ветакхим”) кислоты очищали последовательным вымораживанием. Дивинилбензол (80% смесь изомеров, “Aldrich”) дополнительно никак не очищали.

Инициаторы персульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (х.ч., “Реахим”) и ДАК (98%, “Кемикал Лайн”) дополнительно не очищали, хранили в холодильнике. Бензоил пероксид (98%, “Хем Полимер”) очищали от примесей бензоиновой кислоты перекристаллизацией из этилового спирта и хранили в холодильнике.

Стабилизаторы лаурилсульфат натрия (х.ч., “Реахим”), поливинилпирролидон $M_w = 4.0 \times 10^4$ (“Sigma-Aldrich”) (ПВП-40); поливиниловый спирт, степень гидролиза 86.7–88.7 мол. %, $M_w = 6.7 \times 10^4$ (Mowiol 8-88, “Aldrich”) использовали без дополнительной очистки.

Растворители этанол (95%, Кемеровская фармацевтическая фабрика), 2-этоксиэтанол (99.9%,

“Реахим”), толуол ($\geq 98.0\%$, “Экос-1”), ацетонитрил ($\geq 99.9\%$, “Koch-Light LTD”).

Набухающий агент дибутилфталат ($\geq 98.0\%$, “Компонент-реактив”).

Ингибитор нитрит натрия (NaNO_2 , $\geq 98.0\%$, “ХлоренХима”).

Для титрования использовали гидроксид натрия NaOH (ч.д.а., “Реахим”), стандарт-титр соляной кислоты HCl и стандарт-титр калий хлористый KCl (оба – Закрытое акционерное общество “Уралхиминвест”).

Синтез полимерных частиц 80 нм

Полимерные частицы 80 нм с карбоксильными группами получали эмульсионной сополимеризацией стирола и акриловой кислоты. В реактор объемом 3 л заливали 2900 мл воды и термостатировали при 60°C , перемешивании 300 об/мин (тефлоновая двухлопастная мешалка, размер лопасти 3×4 см) и барботировании азотом, после чего добавляли 58 мл стирола, 10.8 мл акриловой кислоты и 1.56 г лаурилсульфата натрия. Полученную эмульсию разогревали до 90°C в течение 30 мин, после чего в реакционную смесь вводили 1.5 г $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, предварительно растворенного в 10 мл воды. Начало полимеризации, определенное визуально по опалесценции реакционной смеси, оценивается как 2–5 мин после добавления инициатора. Полимеризацию проводили в течение 24 ч до достижения конверсии не менее 90%. Частицы очищали методом тангенциальной ультрафильтрации с использованием фильтрующих элементов с номинальным пределом молекулярной массы $(300–750) \times 10^3$. Очистка считалась завершенной, когда pH системы достигал 5 (при начальном pH 2.2–2.3), что требовало обычно семикратную смену буфера (деионизованной воды).

Синтез полимерных частиц 900 нм

Полимерные частицы 900 нм с карбоксильными группами получали осадительной сополимеризацией дивинилбензола и метакриловой кислоты. В 100 мл реакторе растворяли 0.11 г ДАК в смеси ацетонитрила (45 мл) и толуола (15 мл). При барботировании азотом к полученному раствору добавляли 1.98 мл дивинилбензола и 0.96 мл метакриловой кислоты. Затем реактор герметично закрывали и оставляли перемешиваться в водяной бане с шейкером в течение 24 ч при 70°C , 150 об/мин. Полученные частицы промывали спиртом методом последовательного центрифугирования и декантации для удаления растворителей, мономеров и олигомеров, после чего диспергировали в деионизованной воде.

Синтез полимерных частиц 5200 нм

Полимерные частицы 5200 нм с карбоксильными группами получали двустадийной затравочной полимеризацией.

В качестве затравочных частиц использовали полистирольные частицы, полученные дисперсионной полимеризацией [33]. Для этого в трехгорлом стеклянном реакторе растворяли 4.25 г ПВП-40 в смеси 150 мл этанола и 50 мл 2-этоксиэтанола. Инициатор (1.3 г ДАК) растворяли в 59 мл стирола, после чего полученную смесь добавляли в реактор. Полимеризацию проводили в течение 24 ч при постоянном перемешивании (200 об/мин, тefлоновая двухлопастная мешалка, размер лопасти 3×4 см) и температуре 70°C. Полученные частицы промывали спиртом методом последовательного центрифугирования и декантации для удаления растворителей, мономеров и олигомеров, а затем диспергировали в деионизованной воде.

На следующем этапе производили набухание затравочных частиц в присутствии дибутилфталата. Для этого получили эмульсию дибутилфталата в воде, поместив смесь 12.6 мл дибутилфталата и 400 мл 0.25%-ного водного раствора лаурилсульфата в ультразвуковую ванну (Сапфир 2.81) на 30 мин. К эмульсии добавляли суспензию затравочных частиц в 0.25%-ном водном растворе лаурилсульфата (3.15 г частиц в 40 мл раствора). Процесс набухания проводили в течение 24 ч при 300 об/мин. На следующем этапе к этой системе добавляли эмульсию мономеров в воде, которую получали диспергированием на ультразвуковой ванне в течение 10 мин смеси мономеров (по 14.4 мл дивинилбензола, стирола и метакриловой кислоты) и 400 мл 0.25%-ного водного раствора лаурилсульфата. Предварительно инициатор (бензоил пероксид 2.16 г) растворяли в смеси мономеров. Процесс набухания проводили в течение 24 ч при 300 об/мин. Затем к системе добавляли 0.198 г нитрита натрия и 5.14 г поливинилового спирта, предварительно растворенного в 75 мл воды. Полимеризацию проводили при постоянной подаче азота в течение 24 ч при температуре 80°C и скорости перемешивания 300 об/мин. Полученные частицы промывали спиртом методом последовательного центрифугирования и декантации для удаления растворителей, мономеров и олигомеров, после чего диспергировали в деионизованной воде.

Методы исследований

Размер частиц, полученных методом эмульсионной полимеризации, определяли методом динамического рассеяния света с помощью анализатора размера частиц “Photocor Compact Z” с параметрами лазера $\lambda = 638$ нм, $P = 25$ мВт.

Измерения проводили в квадратной кювете, используя два режима, различающихся углами рассеяния: 90° или 160°. Размер частиц составил 80 нм (рис. 1).

Размер частиц, полученных путем осадительной и двустадийной полимеризации, определяли методами оптической микроскопии с помощью микроскопа “Biomed-5” и камеры “Levenhuk M1000 Plus”, а также сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа “Hitachi TM-1000”. Снимки анализировали с помощью бесплатного облачного сервиса ParticlesNN (https://t.me/nanoparticles_nsk) [34–36]. Размер частиц, полученных осадительной полимеризацией, составил 900 нм, а для частиц, полученных двустадийным методом – 5200 нм (рис. 2).

Концентрацию латекса определяли гравиметрическим методом, считая, что весь стабилизатор остается в продукте.

Концентрацию карбоксильных групп на поверхности полимерных частиц находили кислотно-основным кондуктометрическим и потенциометрическим титрованием. Концентрация карбоксильных групп, полученная при кондуктометрическом титровании по оптимизированной методике, равна 660 ± 40 мкмоль/г, ее брали в качестве истинной для теоретической оценки концентрации карбоксильных групп в системах с разной массовой долей полимерных частиц.

Кондуктометрическое и потенциометрическое титрования проводили параллельно в одной ячейке с использованием кондуктометра “Анион 4120” и потенциометра “Hanna Instruments HI 2221” (электрод Hanna HI 1131B) соответственно при перемешивании на магнитной мешалке 200 об/мин.

Измеренный объем латекса разбавляли деионизованной водой или раствором KCl необходимой концентрации (10^{-3} – 10^{-2} моль/л) до суммарного объема 80 мл. Растворы KCl получали разбавлением 0.1 М раствора KCl, приготовленного из стандарт-титра. Титрование проводили при перемешивании и для большинства систем барботировании азотом (скорость подачи газа ~30 мл/мин) с использованием 2 мл микробюретки. В силу большой разницы между объемом раствора и объемом добавляемого титранта изменением объема системы пренебрегали. Установление стабильного значения наблюдалось в течение 1 мин в случае кондуктометрии и около 30 с для потенциометрии. В качестве титранта брали свежеприготовленный раствор NaOH (~0.05 М), концентрацию которого определяли в тех же условиях для исключения систематической ошибки. Для этого 1 мл 0.1 М раствора HCl, приготовленного из стандарт-титра, разбавляли деионизованной водой до суммарного объема 80 мл и титровали раствором щелочи до точки эквива-

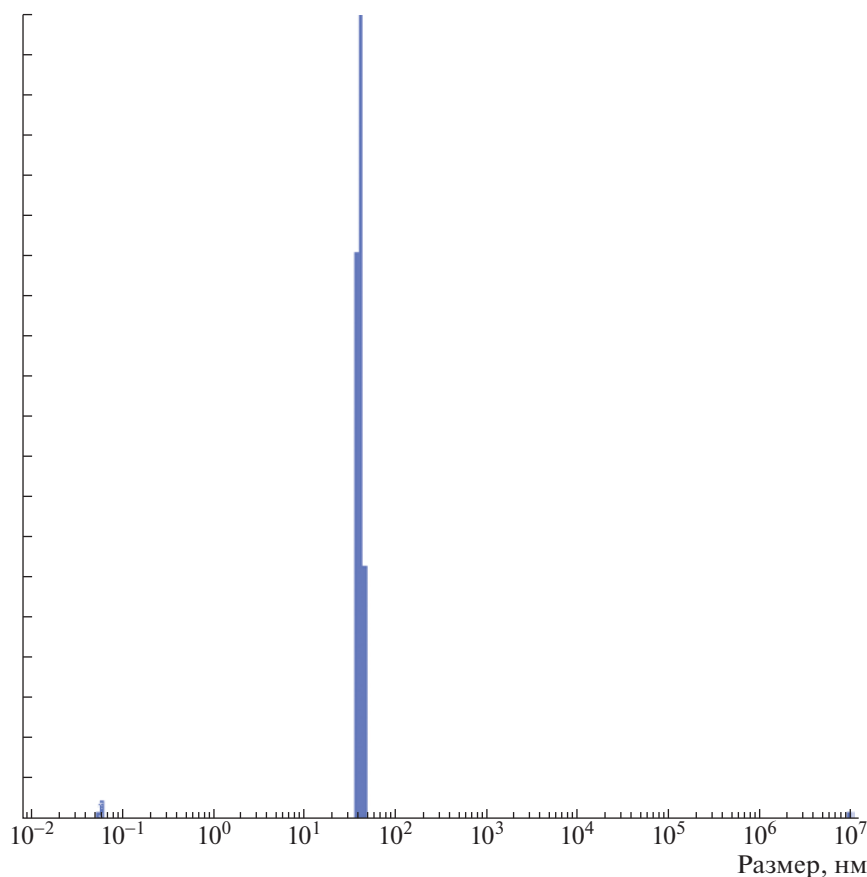


Рис. 1. Динамическое рассеяние света латексных частиц, полученных эмульсионной полимеризацией. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

лентности, определяемой кондуктометрическим и потенциометрическим методами.

Обратное потенциометрическое титрование выполняли с помощью потенциометра “Hanna Instruments HI 2221” при постоянном перемешивании и барботировании азотом (скорость подачи газа ~30 мл/мин). К некоторому объему латекса известной концентрации добавляли 5 мл свежеприготовленного раствора NaOH (~0.05 М), концентрацию которого определяли потенциометрическим титрованием HCl известной концентрации. Полученный раствор герметично закрывали для исключения попадания углекислого газа и оставляли на 1 сутки для установления равновесия, после чего подготавливали для титрования, разбавляя до 80 мл деионизованной водой. Избыток щелочи титровали 0.1 М раствором HCl, приготовленным из стандарт-титра.

Пересчет концентрации карбоксильных групп. В литературе можно встретить различные способы представления данных о концентрации карбоксильных групп.

1. Моль/л — количество (в молях) карбоксильных групп в латексе на один литр латекса. Латекс — водная дисперсия полимерных частиц. Данная

концентрация зависит как от количества карбоксильных групп на самих микросферах, так и от концентрации микросфер в воде. В ходе титрования мы определяли концентрацию карбоксильных групп в моль/л.

2. Моль/г — количество (в молях) карбоксильных групп на грамм сухих полимерных частиц. Характеризует непосредственно количество карбоксильных групп на поверхности микросфер. В литературе также часто можно встретить обозначение мэкв/г, где 1 экв/г = 1 моль групп COOH на 1 г полимерных частиц.

Определенную в ходе титрования концентрацию карбоксильных групп в моль/л по формуле

$$c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{моль}}{\text{г}} \right) = \frac{c_{\text{COOH}} (\text{моль/л})}{c_{\text{лат}}} = \frac{V_{\text{COOH}}}{V_{\text{лат}}} \cdot \frac{V_{\text{лат}}}{m_{\text{микросф}}} = \frac{V_{\text{COOH}}}{m_{\text{микросф}}},$$

V_{COOH} количество (в молях) карбоксильных групп, $V_{\text{лат}}$ — объем латекса, $m_{\text{микросф}}$ масса полимерных частиц) пересчитывали в мкмоль/г, чтобы иметь возможность сравнить полученные результаты с литературными данными.

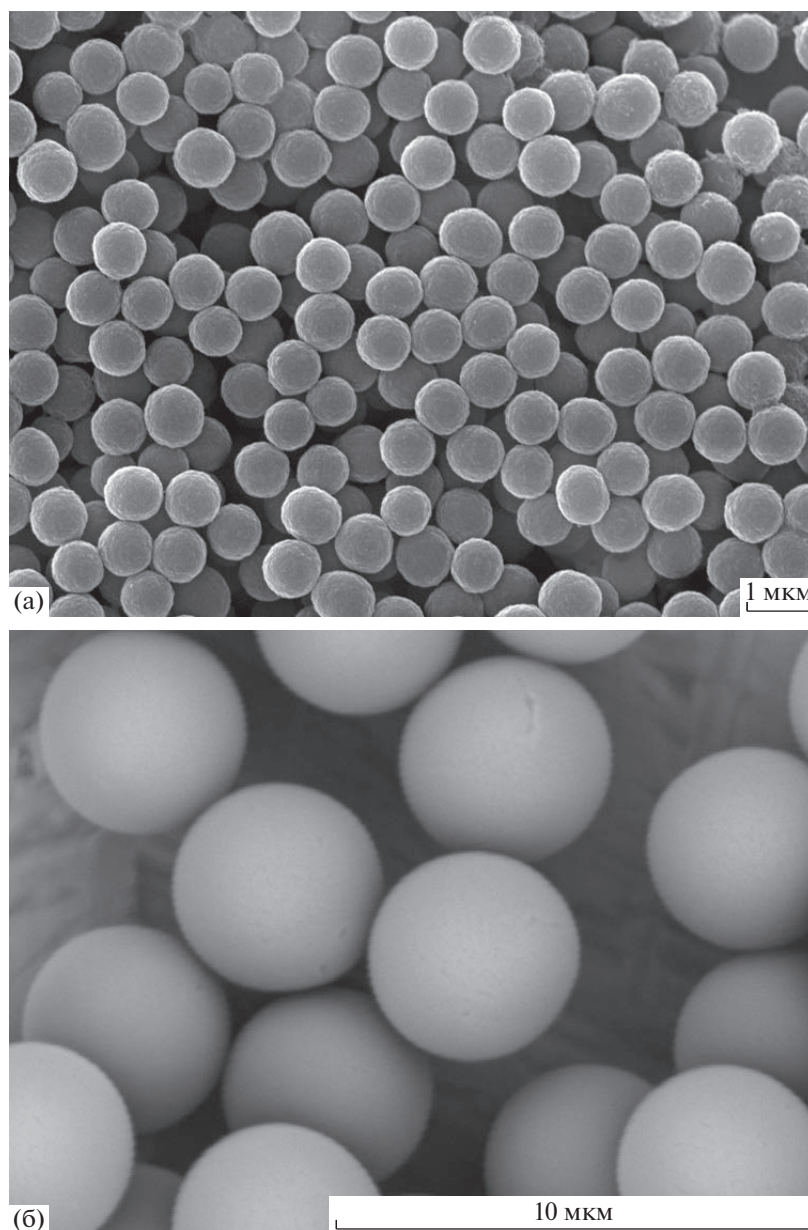


Рис. 2. Снимки СЭМ для образцов, полученных осадительной полимеризацией (а) и двухстадийной полимеризацией (б).

3. Шт/нм² — количество (в единицах) карбоксильных групп на площадь поверхности полимерных микросфер. Также характеризуют количество и плотность карбоксильных групп на поверхности микросфере. Для пересчета использовали формулу

$$\begin{aligned}
 c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{ШТ}}{\text{нм}^2} \right) &= \frac{c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Г}} \right) N_A m_{\text{микросф}}}{S_{\text{микросф}}} = \\
 &= \frac{c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Г}} \right) N_A \rho_{\text{микросф}} \frac{1}{6} \pi d^3}{\pi d^2} = \\
 &= \frac{1}{6} c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Г}} \right) N_A \rho_{\text{микросф}} d,
 \end{aligned}$$

где N_A число Авогадро, $S_{\text{микросф}}$ — площадь поверхности микросфер, $\rho_{\text{микросф}}$ — плотность микросфер (в данном исследовании была использована плотность полистирола, равная 1.06 г/см³, d — диаметр полимерной микросферы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Прямое потенциометрическое и кондуктометрическое титрование

В основе кондуктометрического титрования лежит понятие электропроводности раствора χ . В процессе титрования проводимость раствора меняется, в точке эквивалентности происходит

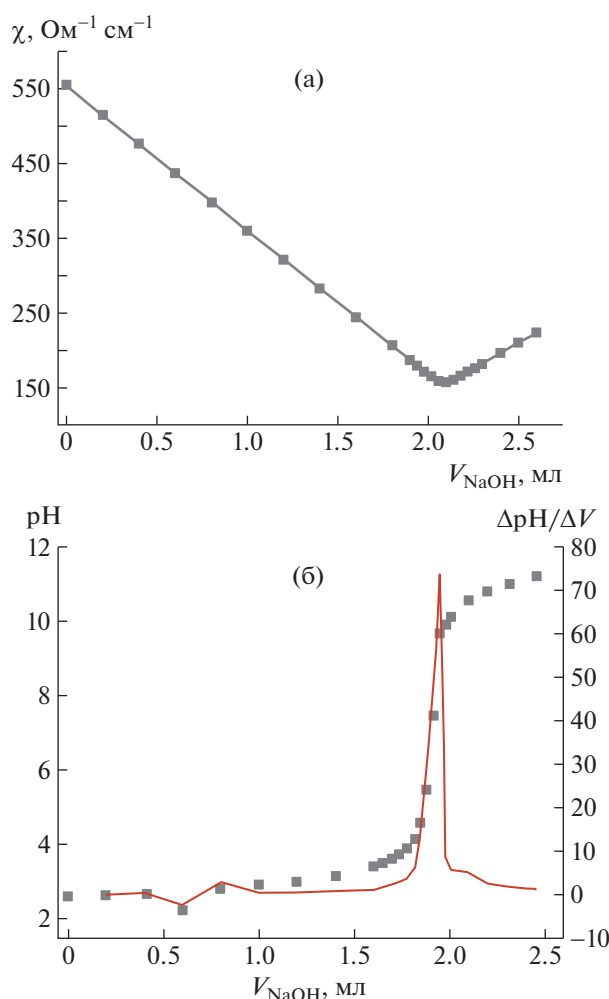


Рис. 3. Кондуктометрическая (а) и потенциометрическая (б) кривая титрования сильной кислоты (HCl) щелочью (NaOH).

скачкообразное изменение (рис. 3а), что позволяет определить концентрацию аналита в системе даже в случае окрашенных или мутных растворов. Изменение электропроводности происходит в силу изменения концентрации ионов, поэтому в ходе титрования необходимо учитывать вклад увеличения общего объема системы при добавлении титранта, либо подбирать такие условия, чтобы изменение общего объема было пренебрежимо малым.

Потенциометрическое титрование основывается на изменении потенциала индикаторного электрода в зависимости от количества прибавляемого титранта. В точке эквивалентности наблюдается перегиб кривой титрования (рис. 3б, точки), который соответствует нейтрализации всех протонов в системе. Точку эквивалентности удобнее всего определять, построив зависимость $d\text{pH}/dV$ от объема добавленной щелочи (рис. 3б,

кривая). Для этого мы здесь и далее использовали формулу численного дифференцирования

$$f'(x) \approx \frac{f(x+h) - f(x)}{h}.$$

Карбоксильные группы на поверхности полимерной частицы можно рассматривать в самом общем случае как слабую кислоту. При кондуктометрическом титровании слабой кислоты может наблюдаться не только перегиб, соответствующий точке эквивалентности, но и минимум, обусловленный исчезновением в системе свободных протонов (рис. 4а). В то же время потенциометрическая кривая титрования такой системы мало отличается от случая титрования сильной кислоты (рис. 4б).

На практике замечается некоторое различие между раствором слабой кислоты и латексом в силу иммобилизации карбоксильных групп на поверхности частицы и, как следствие, их меньшей подвижности [37]. Из-за этого вид и кондуктометрической, и потенциометрической кривых может существенно отличаться. На кондуктометрической кривой можно заметить нелинейность участка, отвечающего за кислотную область, а также менее четкий переход в точке эквивалентности (рис. 4в), что может вносить существенную погрешность при определении координат точки эквивалентности. Потенциометрическая кривая может и вовсе не иметь перегиба или иметь едва заметный перегиб [38] и скорее напоминать кривую с насыщением (рис. 4г), не дающую никакой информации о концентрации функциональных групп. Такие изменения вида кривых, вероятнее всего, обусловлены значительно более медленной диффузией протонов из глубин двойного электрического слоя, окружающего заряженную полимерную частицу, и необходимостью большего времени для установления равновесия: от нескольких часов до нескольких дней [39]. Обеспечить это время возможно, прибегнув к методике обратного титрования, когда образец готовят за несколько часов/суток до самого титрования, добавляя к латексу избыток щелочи.

Обратное потенциометрическое титрование

Классическая кривая обратного титрования избытка щелочи кислотой изображена на рис. 5а и представляет собой два перегиба, первый из которых относится к избытку щелочи, а второй — к протонированию карбоксильных групп. Расположение и размер перегибов может изменяться в зависимости от природы и концентрации представленных групп.

Проблема с определением концентрации может возникнуть, если наблюдаемые перегибы накладываются друг на друга или не полностью разделены, что может мешать однозначному опреде-

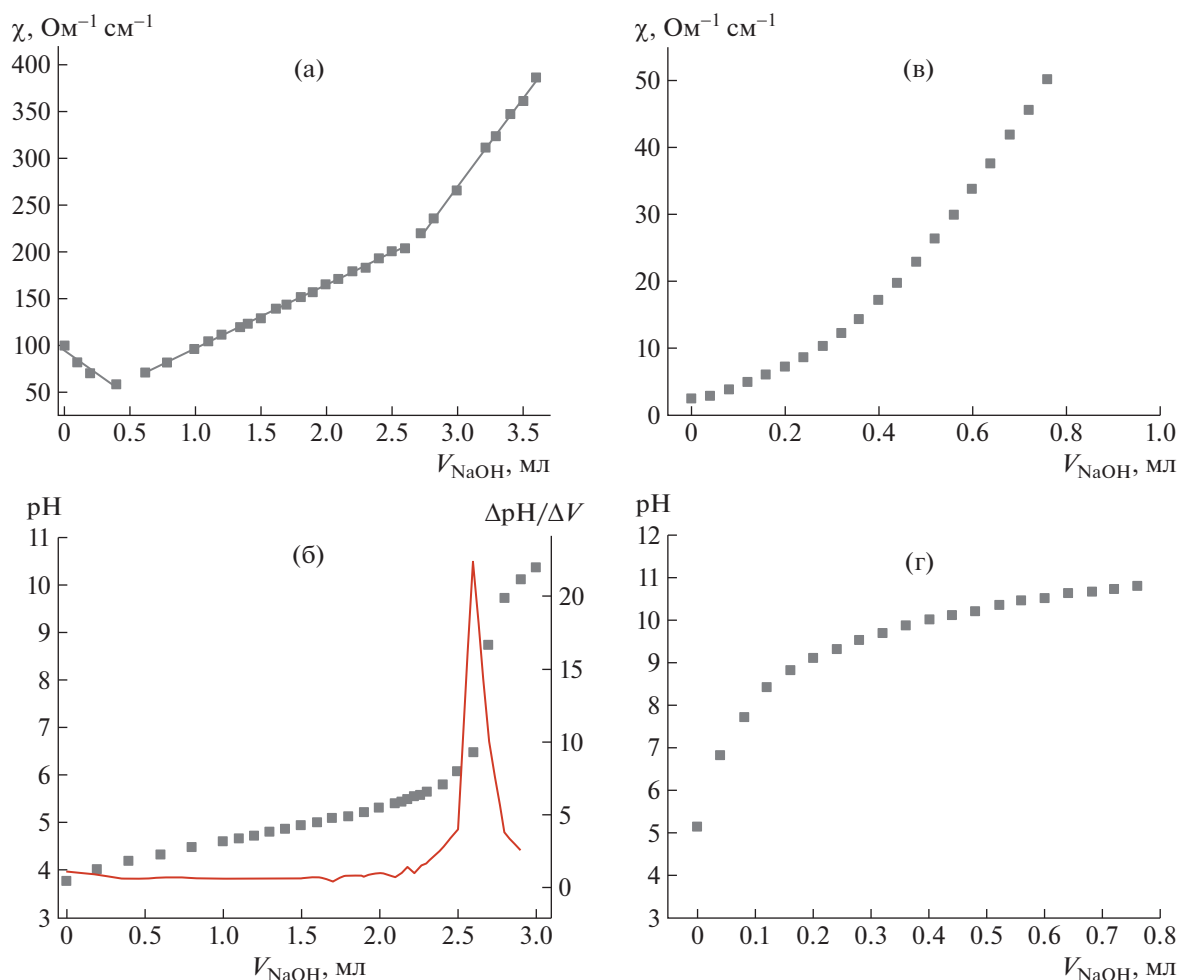


Рис. 4. Кондуктометрическая (а, в) и потенциметрическая (б, г) кривые титрования слабой (пропионовой) кислоты (а, б) и полимерных частиц (в, г) щелочью (NaOH).

лению точек эквивалентности. Такую ситуацию мы можем наблюдать на рис. 5б при титровании сополимерных частиц (полистирол/акриловая кислота), где перегибы на кривой титрования близки. Изменение концентрации латекса не оказывает существенного влияния на вид кривой (рис. 5в). И хотя применение данной методики возможно для охарактеризации полимерных частиц, близость перегибов может вносить ошибки в получаемые результаты. В связи с этим был разработан альтернативный подход измерения концентрации карбоксильных групп на поверхности латекса, который может быть использован как независимо, так и совместно с обратным потенциометрическим титрованием.

Влияние параметров системы на величину определяемой концентрации карбоксильных групп

Для возможности точного определения концентрации карбоксильных групп методами прямого кондуктометрического и потенциметриче-

ского титрования необходимо выполнение нескольких условий: отсутствие в системе примесей, влияющих на точность результата титрования (в первую очередь углекислого газа), и получение кривых титрования, позволяющих однозначно интерпретировать результаты. Нивелированию ошибки, связанной с растворенным или сорбированным на поверхности полимерных частиц CO_2 , может способствовать предварительное барботирование смеси инертным газом или титрование латекса с высокой концентрацией полимерных частиц. Вид кривых титрования можно корректировать, увеличив концентрацию карбоксильных групп в системе или добавив в раствор нейтральную соль, что позволит заострить перегибы на кондуктометрической кривой и сделать их более выраженными на потенциметрической кривой [40]. Ниже будет подробно рассмотрено влияние этих параметров на вид кривой титрования, а главное, на величину определяемой концентрации карбоксильных групп.

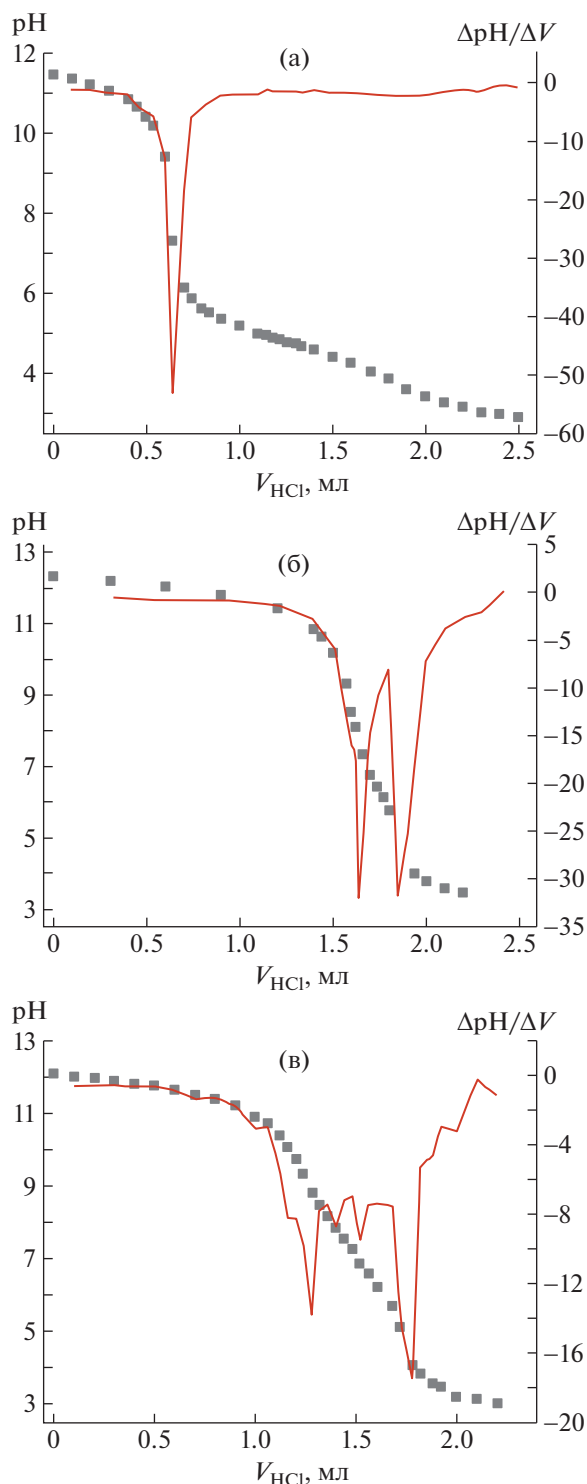


Рис. 5. Кривые обратного потенциометрического титрования пропионовой кислоты (а), латекса 0.04 мас. % ($c_{\text{COOH}} = 2.8 \times 10^{-4}$ моль/л) (б), латекса 0.1 мас. % ($c_{\text{COOH}} = 6.5 \times 10^{-4}$ моль/л) (в). В обоих случаях концентрация карбоксильных групп $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт/нм²).

Барботирование азотом. В работе [41] авторы указывают, что при массовой доле латекса в системе менее 2 мас. % и концентрации карбок-

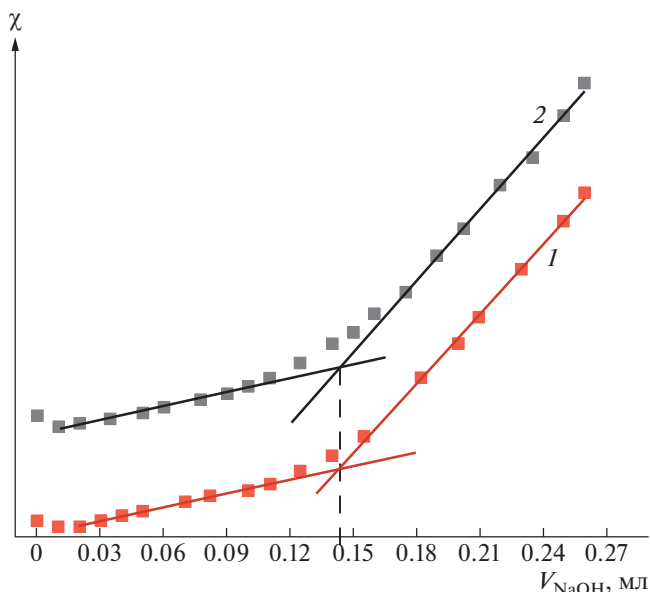


Рис. 6. Кривые кондуктометрического титрования в условиях наличия (1) или отсутствия (2) барботирования азотом латекса (сополимерных частиц стирол/акриловая кислота), с массовой долей частиц 0.013 мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт/нм²) ($c_{\text{COOH}} = 8.6 \times 10^{-5}$ моль/л), концентрация KCl равна 10^{-3} моль/л.

сильных групп на поверхности $\sim 2-3$ мкмоль/г ($c_{\text{COOH}} = 6 \times 10^{-5}$ моль/л), не удается получить воспроизводимые результаты титрования, а получаемые величины зачастую завышены. Эти и другие исследователи [42, 43] видят причину в загрязнении титруемого латекса углекислым газом и в качестве решения предлагают барботирование инертным газом в течение нескольких минут/часов перед началом титрования и в ходе него [41, 44].

В своей практике нам часто приходится сталкиваться с системами с ожидаемой концентрацией карбоксильных групп в указанном диапазоне, поэтому мы провели кондуктометрическое титрование после барботирования азотом (скорость подачи газа ~ 30 мл/мин) в течение 30 мин до начала и в процессе титрования и без барботирования для системы, содержащей 0.013 мас. % сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г ($c_{\text{COOH}} = 8.6 \times 10^{-5}$ моль/л). Результаты, представленные на рис. 6, свидетельствуют об отсутствии существенных отличий кондуктометрических кривых.

В некоторых работах утверждается, что только очень интенсивное барботирование способно удалить CO₂ [45], и, вероятно, выбранная в данном исследовании скорость подачи газа недоста-

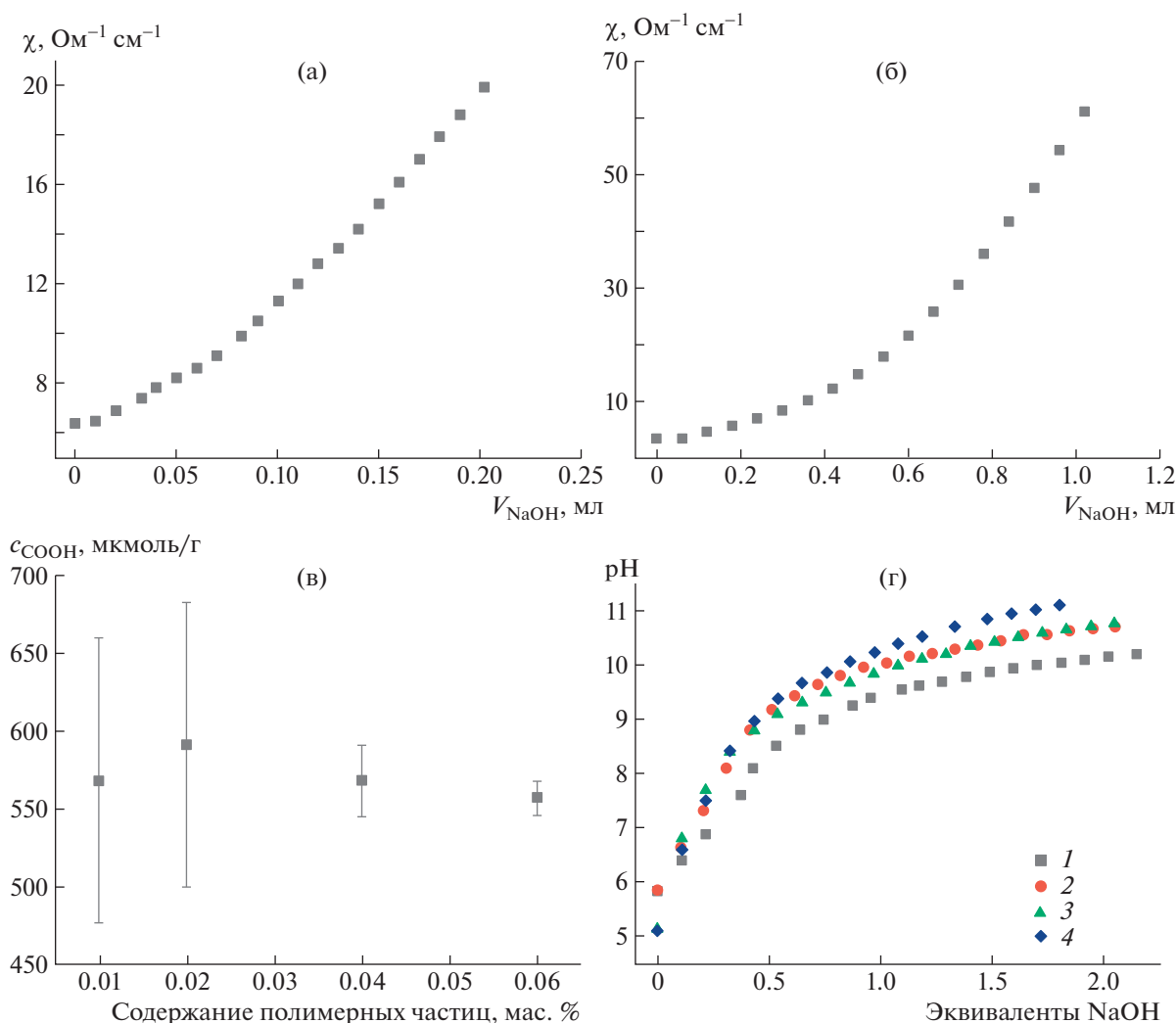


Рис. 7. Кривые кондуктометрического титрования с массовой долей частиц: 0.01 (а), 0.06 мас. % (б), зависимость величин определяемой концентрации карбоксильных групп от массовой доли полимерных частиц в системе (в) и кривые потенциометрического титрования (массовая доля 0.01 (1), 0.02 (2), 0.04 (3) и 0.06 (4)) (г). Данные приведены для латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт./ nm^2) без добавления KCl.

точна. Однако в литературе также можно встретить работы, показывающие, что барботирование инертным газом вовсе не способно очистить систему [39].

Тем не менее, титрование в инертной атмосфере или в условиях барботирования латекса инертным газом является общепринятой практикой [46, 47], в связи с чем все дальнейшие исследования мы проводили в тех же условиях.

Концентрация карбоксильных групп. Концентрация CO_2 в воде в стандартных условиях и в предположении, что содержание углекислого газа в воздухе около 400 м.д., составляет около 1.4×10^{-5} моль/л (константа Генри для CO_2 равна 0.034 моль/(кг_{воды}·бар) [48]). Таким образом, если концентрация карбоксильных групп в системе в 5–10 раз превышает теоретическую концентра-

цию CO_2 [41–43], то получаемые результаты можно считать достоверными. Чтобы убедиться в этом, мы исследовали растворы, содержащие от 1.0×10^{-2} до 6.0×10^{-2} мас. % сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с концентрацией карбоксильных групп на поверхности $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г ($c_{\text{COOH}} \approx 6.4 \times 10^{-5} - 3.9 \times 10^{-4}$ моль/л). Титрование латекса с меньшей концентрацией полистирольных частиц было невозможно ввиду отсутствия видимого перегиба на кондуктометрической кривой титрования.

При увеличении концентрации полимерных частиц в системе происходит плавное увеличение глубины перегиба на кондуктометрической кривой, которое хорошо заметно при сравнении кривых с массовой долей частиц 0.01 (рис. 7а) и 0.06 мас. % (рис. 7б). Отчетливый перегиб упро-

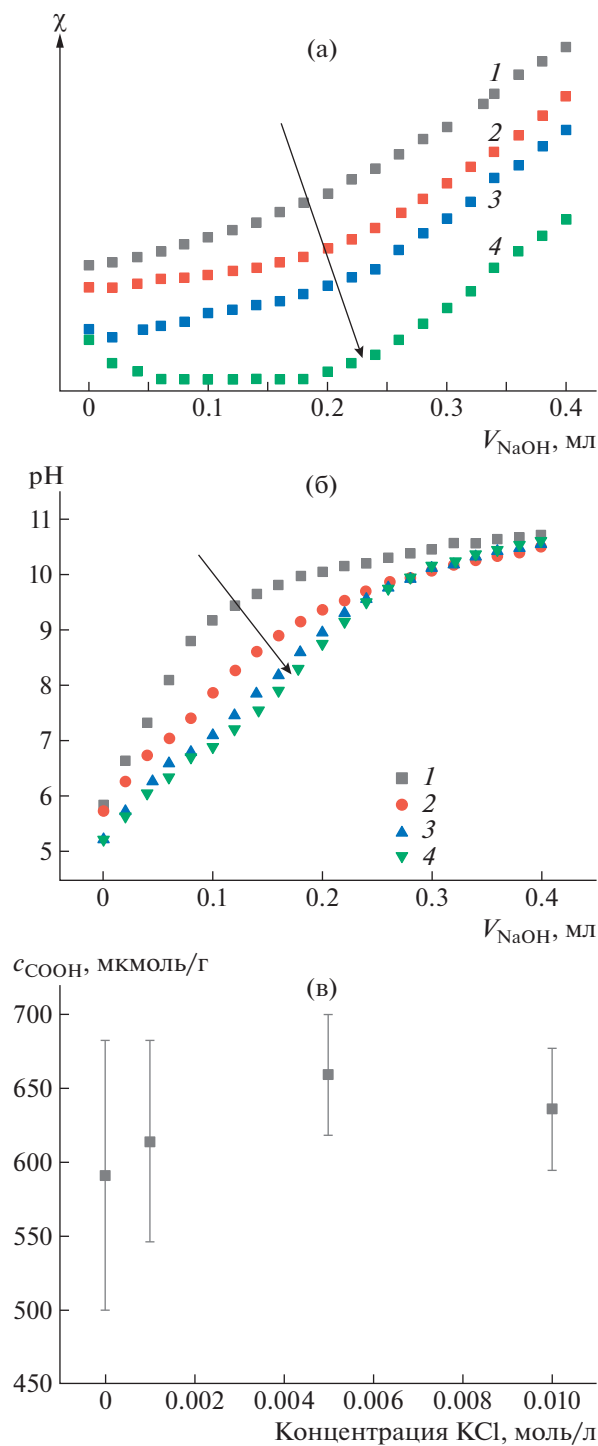


Рис. 8. Кривые кондуктометрического (а) и потенциометрического титрования (б), а также зависимость величины определяемой концентрации карбоксильных групп методом кондуктометрического титрования (в). а, б: 1 – без KCl, 2–4 – в присутствии 10^{-3} , 5×10^{-3} и 10^{-2} соответственно. Данные приведены для латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с массовой долей частиц 0.02 мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт./ nm^2).

щает определение точки эквивалентности и уменьшает погрешность ее определения (рис. 7в) с 15% при 0.01 мас. % до 2% при 0.06 мас. %. Изменение концентрации в выбранном диапазоне не приводит к каким-либо существенным изменениям вида потенциометрической кривой титрования (рис. 7г). При этом для разбавленного латекса не наблюдается завышение концентрации карбоксильных групп, и она остается приблизительно одинаковой (557–591 мкмоль/г) для всех концентраций латекса. Можно сделать вывод, что влияние растворенного углекислого газа для данной системы незначительно.

Таким образом, можно утверждать, что повышение концентрации латекса приводит к увеличению перегиба кондуктометрической кривой, что позволяет уменьшить ошибку определения карбоксильных групп, а влияние примесного CO_2 отсутствует.

Концентрация электролита. Увеличение ионной силы раствора (введение в раствор нейтральной соли) способствует высаливанию (уменьшению) двойного электрического слоя [37] вокруг полимерных частиц, что в свою очередь ускоряет процесс установления равновесия в системе. В своем исследовании мы варьировали концентрацию KCl в системе в диапазоне 10^{-3} – 10^{-2} моль/л, что является стандартными величинами при кондуктометрическом титровании латексов [37]. Считается, что влияние меньших концентраций незначительно, а большие концентрации приводят к увеличению приборной погрешности.

Повышение ионной силы раствора изменяет вид как кондуктометрических (рис. 8а), так и потенциометрических (рис. 8б) кривых титрования, делая перегибы в обоих случаях более выраженными. Величина значений, определяемых кондуктометрическим титрованием, при этом существенно не изменяется, однако ошибка измерений уменьшается (рис. 8в). Последнее является следствием лучшей выраженности точки эквивалентности на кондуктометрических кривых титрования. Определение точки эквивалентности также становится возможным и по потенциометрическим кривым при концентрации KCl, равной 10^{-2} моль/л, при этом получаемое значение 620 ± 40 мкмоль/г находится в хорошем соответствии со значениями, полученными кондуктометрически (640 ± 40 мкмоль/г).

Увеличение ионной силы раствора также позволяет различать перегибы кондуктометрической кривой в случае более низких концентраций латекса (рис. 9а) по сравнению со случаем отсутствия электролита в системе (рис. 7а). При концентрации латекса менее 0.01 мас. % величина определяемой концентрации карбоксильных групп увеличивается, что может свидетельствовать о влиянии примесного CO_2 при столь малых

количества полимерных частиц [39]. Таким образом, оптимальными условиями титрования являются концентрация карбоксильных групп не менее 6.6×10^{-5} моль/л (что соответствует 0.01 мас. % латекса для представленной системы), концентрация KCl $\sim 10^{-3}$ – 10^{-2} моль/л для кондуктометрического титрования и концентрация KCl $\geq 10^{-2}$ моль/л для потенциометрического титрования.

Скорость титрования. Добавление нейтральных солей ускоряет процесс установления равновесия в системе. Однако можно рассмотреть и другой путь — увеличить время титрования и дождаться установления равновесия [39]. На рис. 10 представлены две кондуктометрические кривые, полученные за 30 и 120 мин, значения каждой точки в которых фиксировались через 1–2 и 3–4 мин после добавления титранта соответственно. Приведенный график (рис. 10) однозначно демонстрирует, что две кривые никак не отличаются между собой. Это может свидетельствовать как о том, что равновесие в системе устанавливается в обоих случаях, так и о том, что требуется значительно больше времени, возможно, несколько суток, для его установления.

Однако предыдущие данные о влиянии изменения ионной силы и концентрации латекса показывают, что равновесие в системе успевает установиться за 1–2 мин после добавления титранта. Более того, в ходе медленного титрования сам титрант (раствор щелочи) может насытиться углекислым газом, что может вносить существенную погрешность в измерения. Вследствие всего сказанного выше в качестве оптимального времени титрования мы предлагаем 1–2 мин ожидания для записи каждой точки и суммарно не более 60 мин для всего процесса.

Применимость метода. Полимерные микросферы, используемые в диагностических тест-системах, зачастую могут достигать несколько микрон в диаметре и не ограничиваются наночастицами, использованными для разработки методики титрования. Чтобы убедиться, что разработанная лабораторная методика может быть применена к частицам больших размеров, были синтезированы и проанализированы микросферы 900 и 5200 нм в диаметре. Полученные кривые титрования представлены на рис. 11. Они не имеют существенных отличий от кривых титрования, полученных ранее при титровании латекса 80 нм частиц при той же концентрации KCl в растворе. Данные результаты имеют хорошую сходимость с ошибкой не более 10%.

ВЫВОДЫ

В рамках настоящей работы были рассмотрены методики прямого кондуктометрического и

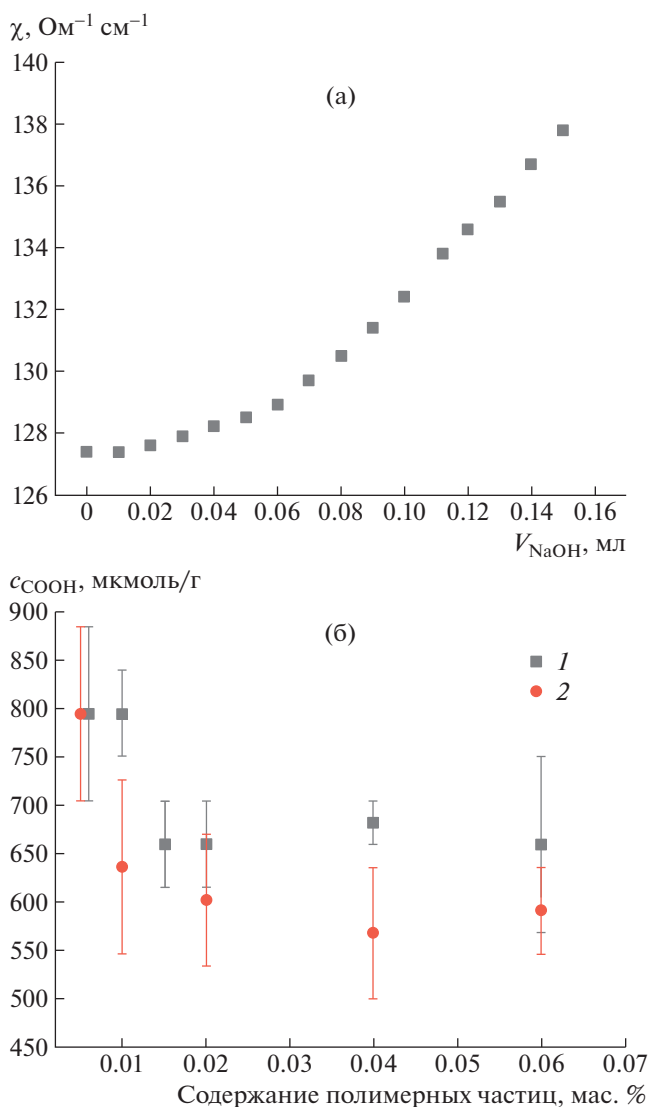


Рис. 9. Кривая кондуктометрического титрования (5×10^{-3} мас. % латекса, 10^{-3} моль/л KCl) (а) и зависимость величины определяемой концентрации карбоксильных групп от массовой доли полимерных частиц при концентрации KCl 5×10^{-3} мас. % (1) и 10^{-3} моль/л (2) (б). Данные приведены для латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с массовой долей частиц 5×10^{-3} мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт/нм²).

потенциометрического титрования, а также методика обратного потенциометрического титрования сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота). Изучено влияние различных параметров на вид кондуктометрических и потенциометрических кривых, а также на величину определяемой концентрации карбоксильных групп. Показано, что как повышение концентрации латекса, так и увеличение ионной силы раствора способ-

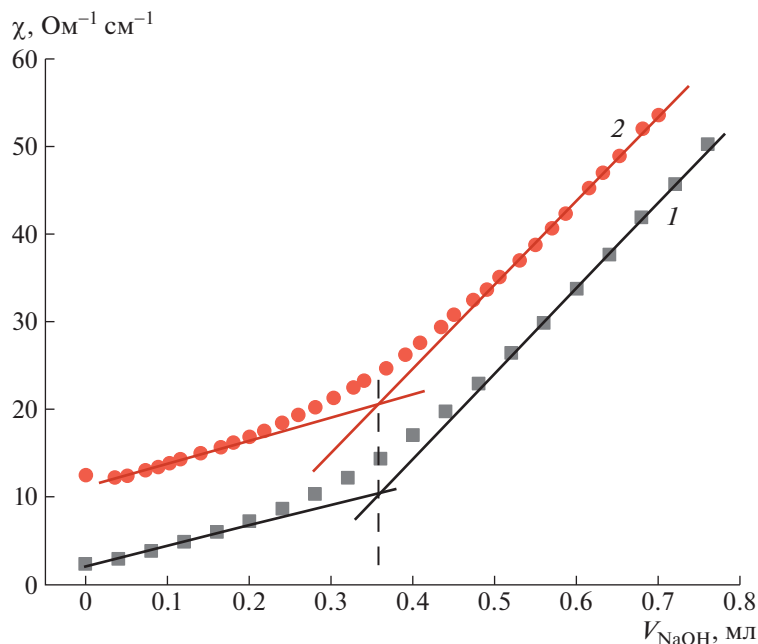


Рис. 10. Кривые кондуктометрического титрования латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с массовой долей частиц 0.02 мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт./нм²) ($c_{\text{COOH}} = 1.3 \times 10^{-4}$ моль/л) без добавления KCl. 1—30 мин, 2—2 ч.

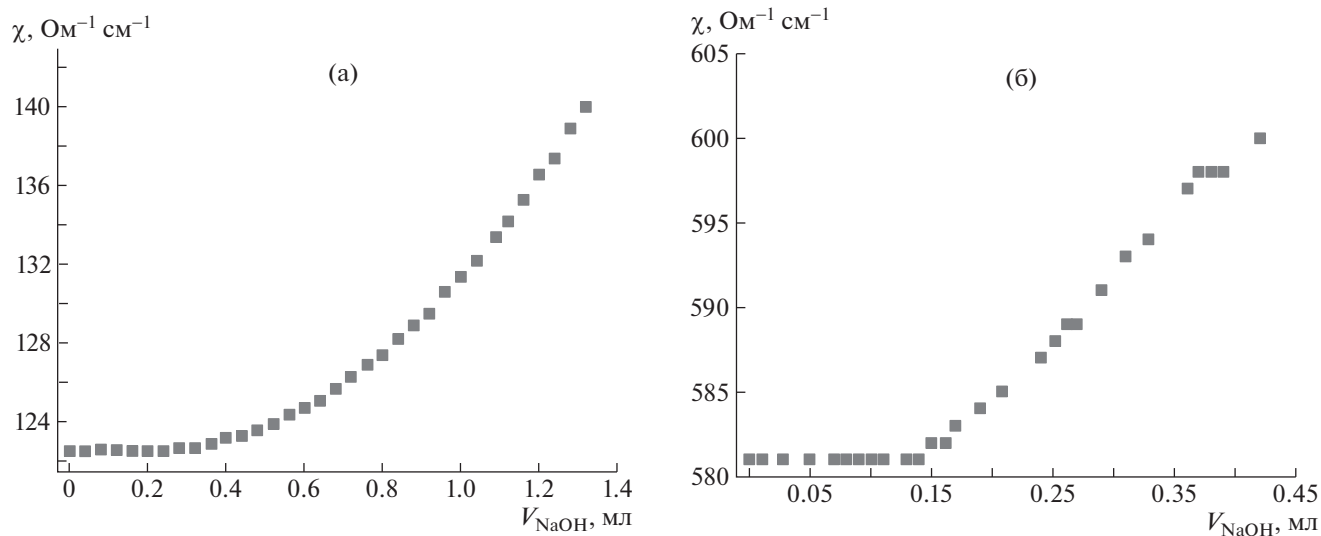


Рис. 11. Кривые кондуктометрического титрования полимерных частиц 900 нм с массовой долей частиц 0.12 мас. % в присутствии KCl с концентрацией 10^{-3} моль/л (полученная концентрация карбоксильных групп на поверхности частиц 340 ± 20 мкмоль/г или 29 ± 2 шт./нм²) (а); полимерных частиц 5200 нм с массовой долей частиц 0.07 мас. % в присутствии KCl с концентрацией 5×10^{-3} моль/л (полученная концентрация карбоксильных групп на поверхности частиц 150 ± 10 мкмоль/г или 80 ± 5 шт./нм²) (б).

ствуют проявлению выраженного перегиба на кривых титрования и уменьшению погрешности измерений. В то же время не обнаружено существенного влияния барботирования азотом или увеличения продолжительности титрования на определяемые значения.

Было показано, что методика обратного потенциометрического титрования, описанная в данной работе, может быть использована в качестве метода анализа концентрации карбоксильных групп на поверхности частиц, однако следует заметить, что близость перегибов может приво-

доть к искажению результатов титрования, в связи с чем авторы рекомендуют использовать данную методику с особой аккуратностью.

Прямое кондуктометрическое и потенциометрическое титрование являются более надежными методиками. В результате проведенной работы могут быть сформулированы следующие рекомендации для лабораторного определения концентрации карбоксильных групп в латексе полистирольных микрофер.

— В качестве титранта необходимо использовать свежеприготовленные растворы щелочи — гидроксида натрия. Эксперименты показывают, что при достаточно герметичном хранении раствора с концентрацией 0.05 моль/л концентрация раствора не меняется в течение недели, а результаты титрования, полученные в ходе этого времени, согласуются между собой.

— Определение концентрации щелочи должно происходить теми же методами и с применением того же оборудования, которые будут использованы для титрования латекса.

— Следует учитывать разбавление системы в ходе титрования либо нивелировать его, добавляя объем титранта существенно меньший по сравнению с объемом системы.

— Концентрация карбоксильных групп в системе должна быть не менее 6.6×10^{-5} моль/л (не менее 0.01 мас.% для частиц 80 нм, рассмотренных в данной работе), чтобы избежать влияния растворенного углекислого газа. Оптимальная концентрация определяется по виду кривой кондуктометрического титрования: перегиб должен быть однозначно определяемым.

— Для увеличения четкости перегиба как на кондуктометрической, так и на потенциометрической кривой возможно добавление нейтральных солей, с концентрацией $\sim 10^{-3}$ – 10^{-2} моль/л (в случае однозарядных ионов).

— Барботирование азотом титруемых растворов при скорости подачи газа ~ 30 мл/мин не оказывает какого-либо влияния на кривые титрования, однако является повсеместно принятой практикой. В случае использования, барботирование должно проводиться за несколько минут (15–30 мин) до начала титрования и на всем его протяжении.

— В ходе титрования равновесие в системе должно успевать установиться. Поэтому при работе с новой, незнакомой системой рекомендуется провести по меньшей мере два титрования с разной продолжительностью, после чего выбрать оптимальное время либо оптимизировать систему, добавив большее количество нейтральной соли.

— Использование одновременно кондуктометрического и потенциометрического титрования

позволяет получить более надежные результаты, подтвержденные двумя методиками, и удобно даже в случае отсутствия перегиба на потенциометрической кривой. Потенциометрическое титрование помогает в определении конца титрования (переход в щелочной буфер с малым изменением pH при добавлении титранта), что облегчает сам процесс титрования.

Представленная методика определения концентрации карбоксильных групп отработана на суспензиях частиц размером 80 нм и опробована для частиц размером 900 нм, полученных сополимеризацией дивинилбензола и метакриловой кислоты, и размером 5 мкм, синтезированных сополимеризацией стирола и метакриловой кислоты. Во всех случаях удалось получить согласующиеся данные с ошибкой не более 10%.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания Института катализа Сибирского отделения Российской академии наук.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Arshady R.* // Colloid Polym. Sci. 1992. V. 270. № 8. P. 717.
2. *Yu B., Cong H., Peng Q., Gu C., Tang Q., Xu X., Tian C., Zhai F.* // Adv. Colloid Interface Sci. 2018. V. 256. P. 126.
3. *Li M., Joung D., Hughes B., Waldman S.D., Kozinski J.A., Hwang D.K.* // Scientific Reports. 2016. V. 6. № 30463. P. 1.
4. *Gokmen M.T., Prez F.E. Du.* // Progr. Polym. Sci. 2012. V. 37. № 3. P. 365.
5. *Shevchenko N.N., Evseeva T.G., Shevaldysheva D.I., Pankova G.A., Shabsel's B.M., Men'shikova A.Yu.* // Colloid J. 2013. V. 75. № 4. P. 460.
6. *Onishi S., Tokuda M., Suzuki T., Minami H.* // Langmuir. 2015. V. 31. № 2. P. 674.
7. *Sun K., Wang Q., Huang X.H., Zhen M.C., Li W., Zhang L.J.* // Acta Pharmacol. Sinica. 2007. V. 28. № 12.
8. *Lee K.C., Lee S.Y.* // Macromol. Res. 2007. V. 15. № 3. P. 244.
9. *Kondo A., Fukuda H.* // J. Ferment. Bioeng. 1997. V. 84. № 4. P. 337.
10. *Newman D.J., Henneberry H., Price C.P.* // Ann. Clinical Biochem. 1992. V. 29. № 1. P. 22.
11. *Warson H., Finch C.* // Applications of Synthetic Resin Latices, Latices in Diverse Applications. New York: Wiley, 2001.
12. *Roy D., Cambre J.N., Sumerlin B.S.* // Progr. Polym. Sci. 2010. V. 35. № 1–2. P. 278.
13. *Chou J., Wong J., Christodoulides N., Floriano P.N., Sanchez X., McDevitt J.* // Sensors (Switzerland). 2012. V. 12. № 11. P. 15467.

14. Jokerst J.V., Chen Z., Xu L., Nolley R., Chang E., Mitchell B., Brooks J.D., Gambhir S.S., Kumar-Sinha C. // PLoS ONE. 2015. V. 10. № 9.
15. Sankova N., Shalaev P., Semeykina V., Dolgushin S., Odintsova E., Parkhomchuk E. // J. Appl. Polym. Sci. 2021. V. 138. № 8. P. 49890.
16. Qi K., Ma Q., Remsen E.E., Clark C.G., Wooley K.L. // J. Am. Chem. Soc. 2004. V. 126. № 21. P. 6599.
17. Geißler D., Nirmalanathan-Budau N., Scholtz L., Tavernaro I., Resch-Genger U. // Microchim. Acta. 2021. V. 188. № 10.
18. Dai J., Liu Y., Li J., Lu Z., Yang W. // Surface Interface Analysis. 2009. V. 41. № 7. P. 577.
19. Hennig A., Hoffmann A., Borchering H., Thiele T., Schedler U., Resch-Genger U. // Analyt. Chem. 2011. V. 83. № 12. P. 4970.
20. Rödiger S., Ruhland M., Schmidt C., Schröder C., Grossmann K., Böhm A., Nitschke J., Berger I., Schimke I., Schierack P. // Anal. Chem. 2011. V. 83. № 9. P. 3379.
21. Zhu S., Panne U., Rurack K. // Analyst. 2013. V. 138. № 10. P. 2924.
22. Zwetsloot J.P.H., Leyte J.C. // J. Colloid Interface Sci. 1994. V. 163. № 2. P. 362.
23. Hen J. // J. Colloid Interface Sci. 1974. V. 49. № 3. P. 425.
24. Kamel A.A., El-Aasser M.S., Vanderhoff J.W. // J. Dispersion Sci. Technol. 1981. V. 2. № 2–3. P. 183.
25. James R.O., Davis J.A., Leckie J.O. // J. Colloid Interface Sci. 1978. V. 65. № 2. P. 331.
26. Kim J.W., Park J.G., Ryu J.H., Chang I.S., Suh K.D. // Colloid Polym. Sci. 2005. V. 283. № 11. P. 1233.
27. Song S., Zhang W., Hu Z., Zhang Z. // Colloids Surfaces A. 2009. V. 348. № 1–3. P. 1.
28. Bastos D., De Las Nieves F.J. // Colloid Polym. Sci. 1993. V. 271. № 9. P. 860.
29. Stone-Masui J., Watillon A. // J. Colloid Interface Sci. 1975. V. 52. № 3. P. 479.
30. Saija L.M., Stefanoli V., Umiski M., Cozzi M. // J. Dispersion Sci. Technol. 1995. V. 16. № 3–4. P. 273.
31. Tuncel A., Tuncel M., Ergun B., Alagöz C., Bahar T. // Colloids Surfaces A. 2002. V. 197. № 1–3. P. 79.
32. Hennig A., Borchering H., Jaeger C., Hatami S., Würth C., Hoffmann A., Hoffmann K., Thiele T., Schedler U., Resch-Genger U. // J. Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. № 19. P. 8268.
33. Sankova N., Vyvdenko D., Luzina E., Shestakova D., Babina K., Malakhova Y., Yakush E., Parkhomchuk E. // Colloid Polym. Sci. 2022. V. 300. № 6. P. 625.
34. Okunev A.G., Mashukov M.Yu., Nartova A.V., Matveev A.V. // Nanomaterials. 2020. V. 10. № 7. P. 1.
35. Okunev A.G., Mashukov M.Yu., Sankova N.N., Nartova A.V., Matveev A.V. // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. 2021. V. 1155. № 1. P. 012015.
36. Матвеев А.В., Машуков М.Ю., Нартова А.В., Санькова Н.Н., Окунев А.Г. // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов. 2021. V. 13. P. 300.
37. Labib M.E., Robertson A.A. // J. Colloid Interface Sci. 1980. V. 77. № 1. P. 151.
38. Sakota K., Okaya T. // J. Appl. Polym. Sci. 1976. V. 20. № 7. P. 1735.
39. Everett D.H., Gültepe M.E., Wilkinson M.C. // J. Colloid Interface Sci. 1979. V. 71. № 2. P. 336.
40. Kissa E. // Dispersions: Characterization, testing, and measurement. Routledge, 2017.
41. Polymer Colloids II / Ed. by R.M. Fitch. Springer Science & Business Media, 2012.
42. Everett D.H., Gültepe M.E., Wilkinson M.C. // J. Colloid Interface Sci. 1979. V. 71. № 2. P. 336.
43. Wilkinson M.C., Hearn J., Steward P.A. // Adv. Colloid Interface Sci. 1999. V. 81. № 2. P. 77.
44. Chainey M., Hearn J., Wilkinson M.C. // J. Colloid Interface Sci. 1987. V. 117. № 2. P. 477.
45. Kamel A.A., El-aasser M.S., Vanderhoff J.W. // J. Colloid Interface Sci. 1982. V. 87. № 2. P. 537.
46. Moser M., Nirmalanathan N., Behnke T., Geißler D., Resch-Genger U. // Analyt. Chem. 2018. V. 90. № 9. P. 5887.
47. Gong Y.K., Nakashima K., Xu R. // Langmuir. 2000. V. 16. № 22. P. 8546.
48. Carbon dioxide [Electronic resource]. — URL: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C124389&Units=SI&Mask=10#Solubility> (дата обращения: 12.03.2023).