

УДК 544.77

Н.Г. Воронько, С.Р. Деркач, Н.И. Соколан

## **Взаимодействие желатины с хитозаном: влияние концентрации полисахарида**

N.G. Voron'ko, S.R. Derkach, N.I. Sokolan

## **Interaction of gelatin with chitosan: The influence of polysaccharide concentration**

**Аннотация.** Методами капиллярной вискозиметрии, УФ спектроскопии и дисперсии светорассеяния исследовано взаимодействие между желатиной и катионным полисахаридом хитозаном с образованием стехиометричных (био)полиэлектролитных комплексов в водной фазе, pH которой меньше изоэлектрической точки желатины. Водные дисперсии комплексов характеризуются увеличением размера частиц дисперсной фазы и, соответственно, относительной вязкости по сравнению с исходными золями отдельных компонентов – желатины и полисахарида. Обсуждаются модели и механизм формирования (био)полиэлектролитных комплексов в результате электростатических взаимодействий между положительно заряженными аминогруппами хитозана и отрицательно заряженными аминокислотными остатками (глутаминовой *Glu* и аспарагиновой *Asp* кислот) желатины.

**Abstract.** The interaction of gelatin and cationic polysaccharide chitosan with stoichiometric (bio)polyelectrolyte complexes formation inside the aqueous phase which pH is less than the isoelectric point of gelatin has been studied by capillary viscosimetry, UV spectroscopy and dispersion of light scattering methods. The aqueous dispersions of complexes show increase in the particle size of disperse phase and accordingly the relative viscosity compared with sols of the individual components – gelatin and polysaccharide. The models and mechanism of (bio)polyelectrolyte complexes formation have been discussed. The formation takes place due to the electrostatic interactions between the positive charged amino groups of chitosan and negative charged aminoacid's residues (glutamic *Glu* and aspartic *Asp* acids) of gelatin.

**Ключевые слова:** желатина, полисахарид, хитозан, (био)полиэлектролитные комплексы, вязкость, спектры поглощения  
**Key words:** gelatin, polysaccharide, chitosan, (bio)polyelectrolyte complexes, viscosity, absorption spectra

### **1. Введение**

В последние годы в пищевой промышленности, биотехнологии и медицине наблюдается увеличение спроса на новые материалы на основе (био)полиэлектролитных комплексов (ПЭК) (Измурдов, 2008; Gubbala, 2012). Подобные комплексы формируются из противоположно заряженных (комплементарных) биополимеров: белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот. Если соотношение между противоположно заряженными группами биополимеров в комплексе составляет 1:1, то ПЭК называют стехиометричными, в противном случае – нестехиометричными (Зезин, Кабанов, 1982; Kramarenko et al., 2006). Теоретические аспекты формирования, физико-химические свойства и направления практического использования полиэлектролитных комплексов, образованных как из природных, так и из синтетических полиэлектролитов достаточно подробно изложены, например в обзорах (Зезин, Кабанов, 1982; Измурдов и др., 1991; Кабанов, 2005; Kramarenko et al., 2006; Измурдов, 2008; Gubbala, 2012).

Использование катионного полисахарида хитозана в качестве своеобразной "матрицы" для формирования (био)полиэлектролитных комплексов является перспективным с точки зрения рационального использования биоресурсов. Биологическим предшественником хитозана является целлюлозоподобный биополимер хитин. Хитин – это основа скелетной системы членистоногих и второй после целлюлозы по распространенности в природе полисахарид. Линейные цепи хитина состоят из связанных (1-4)-гликозидной связью хитобиозных единиц (остатки 2-дезоксидо-2-ацетиамидо-β-D-глюкана) (рис. 1а). В макромолекуле хитозана, в отличие от хитина, значительная часть хитобиозных единиц деацетилирована (рис. 1б) (Быкова, Немцев, 2002; Muzzarelli, Muzzarelli, 2009).

В кислой среде макромолекулы хитозана обладают высокой плотностью положительного заряда благодаря ионизации свободных аминогрупп. По этой причине в кислых растворах хитозана в присутствии отрицательно заряженных полиэлектролитов возникает самосборка (био)полиэлектролитных комплексов (Измурдов, 2008; Измурдов и др., 2011). Формирование и стабильность (био)ПЭК на основе хитозана

зависит от множества факторов: степень ионизации и плотность зарядов полиэлектrolитов, распределение зарядов вдоль полимерных цепей, природа и расположение ионных групп на полимерных цепях, молекулярная масса и массовое соотношение полиэлектrolитов, гибкость полимерных цепей, порядок смешивания и длительность взаимодействия полиэлектrolитов, температура, ионная сила и pH среды (Il'ina, Varlamov, 2005; Краюхина и др., 2008; Hamman, 2010).

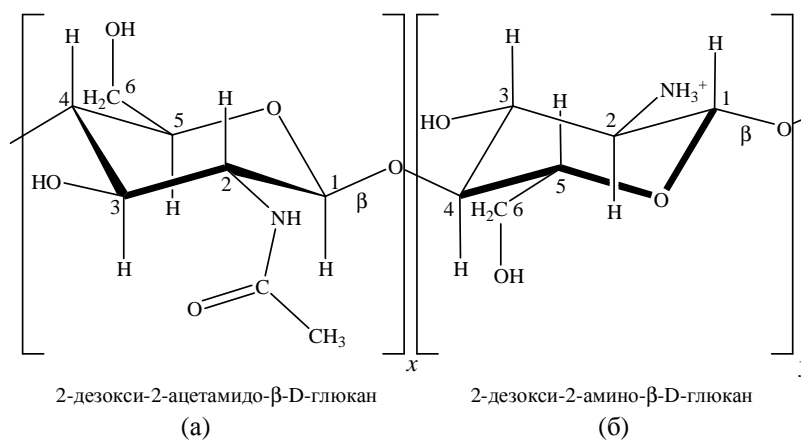


Рис. 1. Структурная формула хитозана

Полиэлектrolитные комплексы хитозана с отрицательно заряженными полиэлектrolитами исследованы достаточно хорошо, например с ДНК (Евдокимов, 2002; Patel et al., 2010), каррагинанами (Mitsumata et al., 2003; Pinheiro et al., 2012; Briones, Sato, 2013; Li et al., 2013), натриевой солью КМЦ (Mitsumata et al., 2003), сульфатом ацетата целлюлозы (Шибайло и др., 2008), полистиролсульфонатами и полиметакрилатами (Изумрудов и др., 2011). В зависимости от условий (главным образом – соотношение компонентов и pH среды) хитозан с данными полиэлектrolитами может образовывать как стехиометричные, так и нестехиометричные комплексы, которые являются предшественниками различных самоорганизующихся (*self-assembling* (Hamman, 2010)) структур (гелей, пленок, нанослоев, нано- и микрокапсул для доставки лекарств и т.д.).

Вместе с тем вопросы формирования (био)ПЭК хитозана с полиамфолитами изучены не так подробно. Биополимер желатина – продукт деструкции белка коллагена – имеет положительно и отрицательно заряженные группы в составе макромолекулы. В тканях хордовых коллаген несет те же структурирующие функции, что и хитин в тканях членистоногих. Подобно хитину коллаген имеет практически неисчерпаемый природный источник (до 60 % белковых веществ в тканях млекопитающих). Отрицательный заряд желатины создается остатками глутаминовой *Glu* и аспарагиновой *Asp* кислот, число которых на 1000 аминокислотных остатков полиамфолита из разных природных источников составляет соответственно  $69 \div 72$  и  $47 \div 48$  (Veis, 1964; Yannas, 1972; Haug, Draget, 2009).

Ранее авторы данной статьи исследовали особенности формирования (био)полиэлектrolитных комплексов желатины с анионными полисахаридами из морских водорослей: альгинатом натрия (Derkatch et al., 2001; Воронько и др., 2002; 2004) и к-каррагинаном (Деркач и др., 2014; Маклакова и др., 2014) вблизи изоэлектрической точки (pI) желатины. Согласно некоторым данным (Yin et al., 2005) устойчивые комплексы щелочной желатины с хитозаном формируются в диапазоне pH выше 4.7 (выше pI щелочной желатины) и ниже 6.7 (до начала выпадения хитозана в виде осадка из раствора).

Целью настоящей работы является исследование формирования (био)ПЭК желатины с хитозаном и коллоидно-химических свойств водных дисперсий комплексов при pH ниже pI желатины, где хитозан имеет положительный заряд, а диссоциация остатков *Glu* и *Asp* желатины в значительной степени подавлена. Интерес к данной области pH вызван тем, что хитозан растворяется исключительно в кислой среде (Быкова, Немцев, 2002; Muzzarelli, Muzzarelli, 2009).

## 2. Экспериментальная часть

В работе использовали щелочную желатину типа В из бычьей кожи с твердостью по Блуму 225 (*Gelatin Type B from bovine skin 225 Bloom*) производства *Sigma-Aldrich* (США). В использованном образце желатины массовая доля: белка 75 %, влаги 10.2 %, золы (в сухом остатке) 1.6 %, изоэлектрическая точка pI 4.7 (определяли вискозиметрическим и турбидиметрическим методами).

Использовали хитозан из панцирей креветки (*Chitosan from shrimp shells*) производства *Sigma-Aldrich* (Исландия). В образце хитозана степень деацетилирования составляла 86 %.

Средневязкостную молекулярную массу биополимеров  $\bar{M}_\eta$  определяли по их характеристической (*intrinsic*) вязкости  $[\eta]$  в натрий-ацетатном буфере, используя уравнение Марка – Куна – Хаувинка:

– для желатины при условиях: 35 °С, рН 4.7,  $I \approx 0.1$  (Veis, 1964)

$$[\eta] = 1.66 \cdot 10^{-5} \bar{M}_\eta^{0.885}, \quad (1)$$

– для хитозана при условиях: 25 °С, рН 4.5,  $I \approx 0.2$  (Лопатин, 2010)

$$[\eta] = 13.8 \cdot 10^{-5} \bar{M}_\eta^{0.85}. \quad (2)$$

Эффективный радиус макромолекулярного клубка биополимеров при бесконечном разбавлении  $R_{ef,\infty}^\eta$  рассчитывали по формуле (Tagger, 2007):

$$R_{ef,\infty}^\eta = \sqrt[3]{\frac{3 [\eta] \bar{M}_\eta}{10\pi N_A}}. \quad (3)$$

Экспериментальные исследования показали: для желатины  $\bar{M}_\eta = 96$  kDa,  $R_{ef,\infty}^\eta = 9$  нм; для хитозана  $\bar{M}_\eta = 260$  kDa,  $R_{ef,\infty}^\eta = 29$  нм.

Золи желатины готовили по стандартной методике с предварительным набуханием в воде или 0.1 М растворе уксусной кислоты при 20 °С и последующим растворением при 40 °С. Золи желатины в воде имели рН от 4.8 до 4.9 ( $\approx$  рI), в уксусной кислоте – рН 3.4. Хитозан растворяли в 0.1 М уксусной кислоте при 70 °С с предварительным набуханием в течение суток при 20 °С. Значения рН зольей хитозана лежали в диапазоне от 3.1 до 3.9, незначительно возрастают при увеличении концентрации хитозана.

Исходные золи желатины и хитозана смешивали при температуре 40 °С в пропорциях, соответствующих установленным концентрациям биополимеров в образце. рН полученных смесей от 3.2 до 3.9 ( $<$  рI желатины). В этой области рН во всем исследованном диапазоне концентраций биополимеров фазового разделения и коацервации системы не наблюдалось.

Относительную (*related*) вязкость  $\eta_{rel}$  зольей измеряли методом капиллярной вискозиметрии при температуре  $(30.00 \pm 0.01)$  °С, время термостатирования перед началом измерений 30 мин. Использовали капиллярный вискозиметр ВПЖ (вискозиметр Оствальда – Фенске), внутренний диаметр капилляра 0.56 мм, длина 85 мм. Максимальная скорость сдвига на стенках капилляра  $\dot{\gamma}_r$  составила  $14.0$  с<sup>-1</sup>, а напряжение сдвига  $\tau_r$  – 11.2 мПа. Критерий Рейнольдса для всех исследованных жидкостей был на несколько порядков ниже критического значения  $Re_c = 2300$ , что указывает на ламинарный характер течения (Малкин, Исаев, 2010).

УФ-спектры поглощения исследованных систем в области ближнего ультрафиолета (диапазон длин волн  $\lambda$  от 190 до 360 нм) были получены методом абсорбционной спектроскопии (Рабек, 1983).

Эффективный радиус  $R_{ef}$  частиц дисперсной фазы в золях желатины, хитозана и их смесей определяли турбидиметрически методом дисперсии светорассеяния ("спектра мутности") (Klenin, 1999) в диапазоне длин волн  $\lambda$  от 450 до 550 нм. Экспериментально полученные данные аппроксимированы степенными моделями Ангстрема:

$$A = k\lambda^{-n}, \quad (4)$$

где  $A$  – оптическая плотность (*absorbance*);  $\lambda$  – длина волны, нм;  $k$  – константа, не зависящая от размера частиц дисперсной фазы и длины волны падающего света;  $n$  – волновой экспонент (функция размера частицы, не зависящая от длины волны). Коэффициент парной корреляции составил  $r = 0.959 \div 0.998$ .  $R_{ef}$  частиц определяли из рассчитанного по уравнениям Ангстрема (4) значения волнового экспонента  $n$ .

Спектрометрические и турбидиметрические измерения проводили на спектрометре T70 UV/visible (PG Instruments, Великобритания), толщина кюветы 1 см, температура измерений 23 °С. Перед началом измерений растворы выдерживали в кювете спектрометра при данной температуре в течение 2.5 ч, так как предварительно было установлено, что за это время в объеме растворов формируются частицы постоянного размера.

### 3. Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлена кривая турбидиметрического титрования золя желатины золей хитозана. Видно, что при увеличении массового соотношения биополимеров  $Z$  в системе, оптическая плотность  $A$

растет, достигая максимального значения 1.312 при  $Z = 0.78$  г хит./г жел. До этого массового соотношения биополимеров при низком содержании хитозана и избытке желатины формируются стехиометричные (био)полиэлектролитные комплексы постоянного состава. Увеличение оптической плотности связано с увеличением концентрации комплексов в смеси. Дальнейшее увеличение  $Z$  (увеличение содержания хитозана) приводит к уменьшению оптической плотности смесей. При этом формируются нестехиометричные комплексы желатины с хитозаном переменного состава. При уменьшении содержания желатины в комплексе, положительный заряд полисахарида становится нескомпенсированным, растворимость полиэлектролитных комплексов растет и оптическая плотность уменьшается. Все дальнейшие исследования проводили в области  $Z \leq 0.5$  г хит./г жел., где формируются стехиометричные (био)ПЭК "желатина – хитозан".

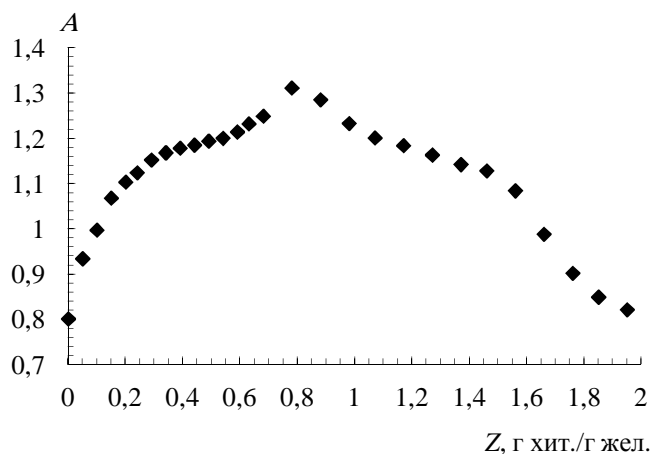


Рис. 2. Зависимость оптической плотности  $A$  смесей желатины с хитозаном в 0.1 М уксусной кислоте от массового соотношения биополимеров  $Z$  при титровании золя желатины ( $C_g = 1.0$  %,  $V_g = 20.5$  см<sup>3</sup>) золей хитозана ( $C_{ch} = 2.0$  %);  $\lambda = 400$  нм,  $l = 5$  см,  $t = 23$  °С

На рис. 3 представлена зависимость относительной вязкости  $\eta_{rel}$  зольей желатины от концентрации желатины  $C_g$  (1), а также зольей хитозана (2) и смесей желатины (1.0 %) с хитозаном (3) от концентрации хитозана  $C_{ch}$ . Из рис. 3 видно, что с увеличением концентрации желатины (кривая 1) и концентрации хитозана (кривая 2) вязкость возрастает. Однако вязкость смесей желатины с хитозаном имеет несколько меньшие значения, чем вязкость золя хитозана без желатины в одной и той же области значений pH и концентрации полисахарида (рис. 3, кривые 2 и 3).

Такое понижение вязкости зольей хитозана при внесении желатины можно объяснить следующим. Макромолекулы хитозана в кислой среде сильно вытянуты благодаря электростатическому отталкиванию положительно заряженных аминогрупп (см. рис. 16). Это благоприятствует взаимной ориентации макромолекул и установлению межмолекулярных водородных связей, что в итоге приводит к высоким значениям вязкости золя хитозана (Гамзадзе, 2002; Muzzarelli, Muzzarelli, 2009). В смеси же хитозана с желатиной отрицательно заряженные группы макромолекул желатины (остатки *Glu* и *Asp*) блокируют положительные заряды аминогрупп хитозана, электростатически взаимодействуя с ними. Такой эффект напоминает влияние низкомолекулярных противоионов в солевых растворах хитозана, которое выражается в экранировании положительных аминогрупп и понижении вязкости (Сафронов, 2002; Muzzarelli, Muzzarelli, 2009). По-видимому, модифицированные желатиной макромолекулы хитозана способны к образованию внутримолекулярных, а не только межмолекулярных связей.

На рис. 4 представлены УФ-спектры поглощения зольей желатины (1.0 %) в уксусной кислоте с добавками хитозана разных концентраций. Там же для сравнения приведены спектры поглощения уксуснокислых зольей биополимеров, взятых в отдельности: желатины (1.0 %, кривая 1) и хитозана (0.5 %, кривая 6). Наблюдается неаддитивное влияние хитозана на спектр поглощения желатины в кислой среде. При введении хитозана происходит bathochromный сдвиг максимума поглощения желатины  $\lambda_{max}$  с 234 нм до 237 нм независимо от концентрации хитозана. Максимальная оптическая плотность  $A_{max}$  увеличивается при увеличении концентрации хитозана. В УФ-спектре золя хитозана длина волны максимальной оптической плотности (кривая 6) лежит в более коротковолновой области ( $\lambda_{max} = 224$  нм).

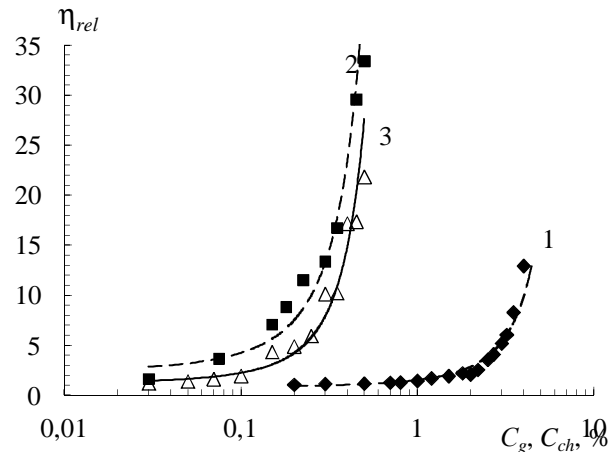


Рис. 3. Зависимость относительной вязкости  $\eta_{rel}$  зелей желатины в воде (рН 4.8 ÷ 4.9 ≈ рI желатины) от концентрации желатины  $C_g$  (1), а также зелей хитозана (рН 3.1 ÷ 3.9) (2) и желатины (1.0 %) с хитозаном (рН 3.2 ÷ 3.9) (3) в уксусной кислоте от концентрации хитозана  $C_{ch}$

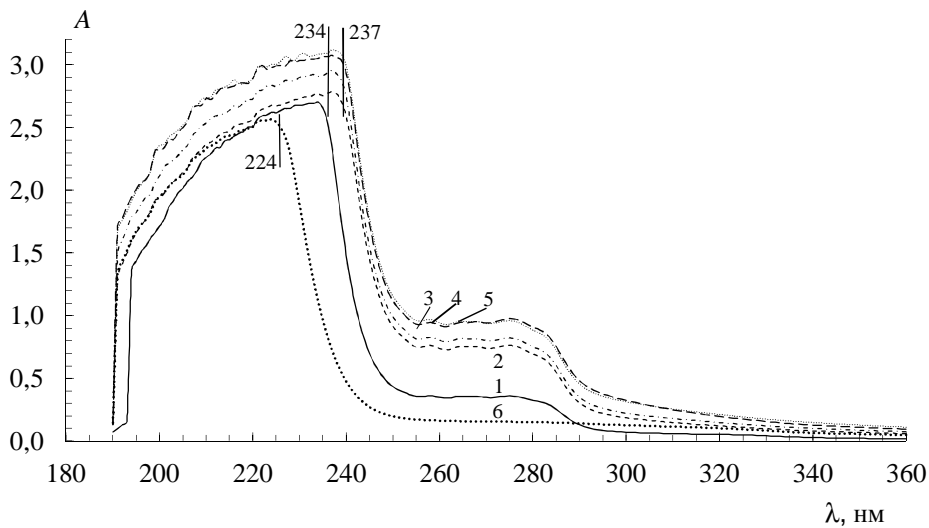


Рис. 4. УФ-спектры поглощения зелей желатины (1), желатины с хитозаном (2 ÷ 5) и хитозана (6).  $C_g = 1.0 \%$ ;  $C_{ch}, \%$ : 0.2 (2), 0.3 (3), 0.4 (4), 0.5 (5, 6). рН 3.4 ÷ 3.9

Батохромный сдвиг в спектре желатины можно объяснить электростатическим взаимодействием аминокрупп хитозана с типичными хромофорами, поглощающими излучение в области ближнего ультрафиолета – карбоксильными группами *Glu* и *Asp* (Рабек, 1983). Полученные результаты подтверждают межмолекулярное взаимодействие желатины и хитозана в объеме зелья в кислой области рН наряду с вискозиметрическими данными.

Подобные эффекты в зелях желатины с другим полисахаридом – анионным биополимером к-каррагинаном авторы наблюдали в работе (Маклакова и др., 2014), используя метод ИК-спектроскопии. Было обнаружено, что благодаря электростатическому взаимодействию желатины с полисахаридом в ИК-спектре желатины возникает сдвиг  $\Delta\nu = 2 \text{ см}^{-1}$  в низкочастотную область независимо от концентрации введенного к-каррагинана  $C_{car}$ , при этом интенсивность полосы пропускания с ростом  $C_{car}$  увеличивается.

На рис. 5 представлена зависимость эффективного радиуса частиц, определенного методом "спектра мутности",  $R_{ef}$  в смесях желатины с хитозаном от концентрации хитозана  $C_{ch}$  в кислой области рН. При увеличении  $C_{ch}$   $R_{ef}$  возрастает от 45 нм ( $C_{ch} = 0 \%$ ) до 260 нм ( $C_{ch} = 0.5 \%$ ). Для сравнения, в золе хитозана без желатины при  $C_{ch} = 0.5 \%$   $R_{ef} = 120$  нм, что указывает на неаддитивный характер укрупнения частиц в смесях желатины с хитозаном. Зависимость  $R_{ef}$  от концентрации хитозана  $C_{ch}$  в исследованном диапазоне при постоянной концентрации желатины  $C_g = 1.0 \%$  хорошо описывается экспоненциальной моделью:

$$R_{ef} = 52.3e^{2.93C_{ch}}, r = 0.954. \quad (5)$$

Ранее установлено, что в гидрозолях желатины с анионными полисахаридами морского происхождения при  $pH \approx pI$  желатины в той же области соотношений желатины и полисахарида  $R_{ef}$  частиц достигал гораздо больших значений: 920 нм для альгината натрия (Воронько и др., 2002) и 1400 нм для к-каррагинана (Деркач и др., 2014). При этом  $R_{ef}$  частиц в гидрозоле желатины (1.0 %) без полисахаридов при данном pH составлял 110 нм (Деркач и др., 2014).

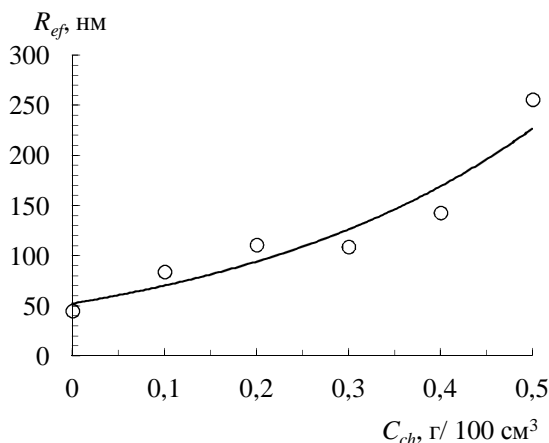


Рис. 5. Зависимость эффективного радиуса частиц  $R_{ef}$  в золях желатины (1.0 %) с хитозаном от концентрации хитозана  $C_{ch}$ . pH 3.4 ÷ 3.9

Образование частиц небольших размеров в случае хитозана можно объяснить влиянием уксусной кислоты. В кислой среде ( $pH\ 3.4 \div 3.9 < pI$ ) количество отрицательно заряженных остатков *Glu* и *Asp* желатины относительно невелико и практически все они вступают в электростатические взаимодействия с хитозаном. Дальнейшее укрупнение частиц в результате взаимодействия концевых цепей желатины по-видимому происходит в незначительной степени из-за отталкивания их положительных зарядов (остатки лизина *Lys*, гидроксизина *Hyl*, гистидина *His* и аргинина *Arg*, число которых на 1000 аминокислотных остатков желатины составляет соответственно  $22 \div 28$ ,  $4 \div 9$ ,  $4 \div 11$  и  $47 \div 49$  (Veis, 1964; Yannas, 1972; Haug, Draget, 2009)). В случае взаимодействия желатины в области  $pI$  с анионными полисахаридами альгинатом натрия или к-каррагинаном эффект взаимного отталкивания частиц отсутствует, так как на концевых цепях желатины остается достаточное количество как положительных, так и отрицательных зарядов.

Размер частиц дисперсной фазы, возникающих в объеме уксуснокислых зелей желатины с хитозаном, оказывает непосредственное влияние на вязкость зелей. На рис. 6 показана корреляция между относительной вязкостью зелей желатины с хитозаном и эффективным радиусом  $R_{ef}$  частиц дисперсной фазы золя. Зависимость  $\eta_{rel}$  от  $R_{ef}$  (нм) частиц хорошо аппроксимируется квадратичной моделью:

$$\eta_{rel} = KR_{ef}^2, r = 0.924, \quad (6)$$

где  $K = 0.001$ .

Совместный анализ результатов вискозиметрических и спектрометрических исследований зелей желатины с хитозаном, а также литературных данных, позволяет осветить общую картину формирования (био)полиэлектролитных комплексов в кислой среде (рис. 7).

Хитозан ( $\bar{M}_n = 260$  kDa) является более высокомолекулярным биополимером, чем желатина ( $\bar{M}_n = 96$  kDa). Макромолекулярные клубки в золях хитозана ( $R_{ef}^n = 29$  нм) значительно крупнее клубков в золе желатины ( $R_{ef}^n = 9$  нм). При смешивании исходных кислых зелей желатины и хитозана в объеме полученной смеси устанавливаются значения pH в диапазоне от 3.2 до 3.9 в зависимости от концентрации хитозана. В данной области pH ниже  $pI$  желатины, аминогруппы хитозана почти полностью ионизированы, а карбоксильные группы остатков *Glu* и *Asp* желатины ионизированы в незначительной степени. Это позволяет предположить, что с положительно заряженной матрицей – макромолекулой хитозана электростатически связывается несколько макромолекул желатины. Учитывая, что верхняя граница формирования стехиометричных (био)ПЭК соответствует соотношению  $Z = 0.78$  г

хит./г жел. (см. рис. 2) и зная молекулярные массы биополимеров, можно определить, что в среднем с одной макромолекулой хитозана связано от 3 до 4 макромолекул желатины.

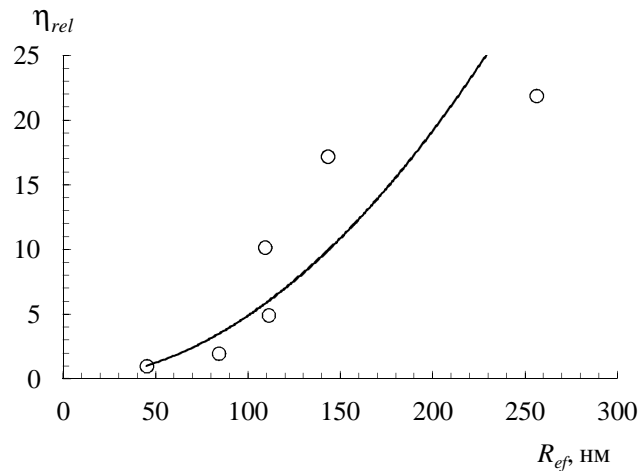


Рис. 6. Корреляция между относительной вязкостью  $\eta_{rel}$  и эффективным радиусом частиц  $R_{ef}$  в уксуснокислых золях желатины с хитозаном. pH 3.4 ÷ 3.9

Высокозаряженный хитозан вызывает дополнительную ионизацию карбоксильных групп желатины в кислой области pH (Измурдов, 2008). Это способствует образованию устойчивого (био)ПЭК "желатина–хитозан", в котором хитозан играет роль лиофилизующего, а желатина – блокирующего полиэлектролита (Зезин, Кабанов, 1982; Измурдов и др., 1991) или, соответственно, полиэлектролита-хозяина (*host-polyelectrolyte*) и полиэлектролита-гостя (*guest-polyelectrolyte*) (Кабанов, 2005; Измурдов, 2008). Так как в исследованной области массовых соотношений биополимеров ( $Z \leq 0.5$  г хит./г жел.) формируются стехиометричные (био)ПЭК "желатина–хитозан" (см. рис. 2), все положительные заряды хитозана нейтрализованы отрицательными зарядами желатины. Поэтому макромолекулы хитозана испытывают тенденцию к формированию внутримолекулярных связей. Это может приводить к компактизации комплекса путем образования внутримолекулярных двойных спиралей лиофилизующего полиэлектролита – хитозана (Гамзадзе, 2002; Muzzarelli, Muzzarelli, 2009).

Образовавшиеся стехиометричные (био)полиэлектролитные комплексы "желатина–хитозан" в исследованной области соотношений биополимеров и pH имеют высокую плотность положительного заряда за счет ионизированных свободных концов макромолекул желатины. Поэтому в смесях желатины с хитозаном не наблюдалось фазового разделения и коацервации, что происходило бы, если бы стехиометричные комплексы не несли заряда (Зезин, Кабанов, 1982; Измурдов и др., 1991).

#### 4. Заключение

Исследовано взаимодействие между макромолекулами хитозана и желатины при образовании (био)полиэлектролитных комплексов "желатина–хитозан" при постоянной концентрации желатины 1.0 % в диапазоне концентраций полисахарида от 0.03 до 0.5 % при pH от 3.2 до 3.9 (< pI желатины). Установлено, что в данном диапазоне массовых соотношений биополимеров и pH среды формируются стехиометричные комплексы. Методами капиллярной вискозиметрии, УФ-спектроскопии и дисперсии светорассеяния показано, что введение хитозана в золь желатины приводит к значительному увеличению относительной вязкости водных дисперсий и размера частиц дисперсной фазы. Корреляция между этими параметрами хорошо описывается квадратичной моделью.

Показано, что (био)полиэлектролитные комплексы "желатина–хитозан" формируются в результате электростатических взаимодействий между положительно заряженными аминокислотными остатками *Glu* и *Asp* желатины. Несмотря на стехиометричный состав образовавшихся (био)ПЭК во всем исследованном диапазоне массовых соотношений биополимеров не наблюдалось фазового разделения и коацервации благодаря высокой плотности положительного заряда на свободных концах макромолекул желатины.

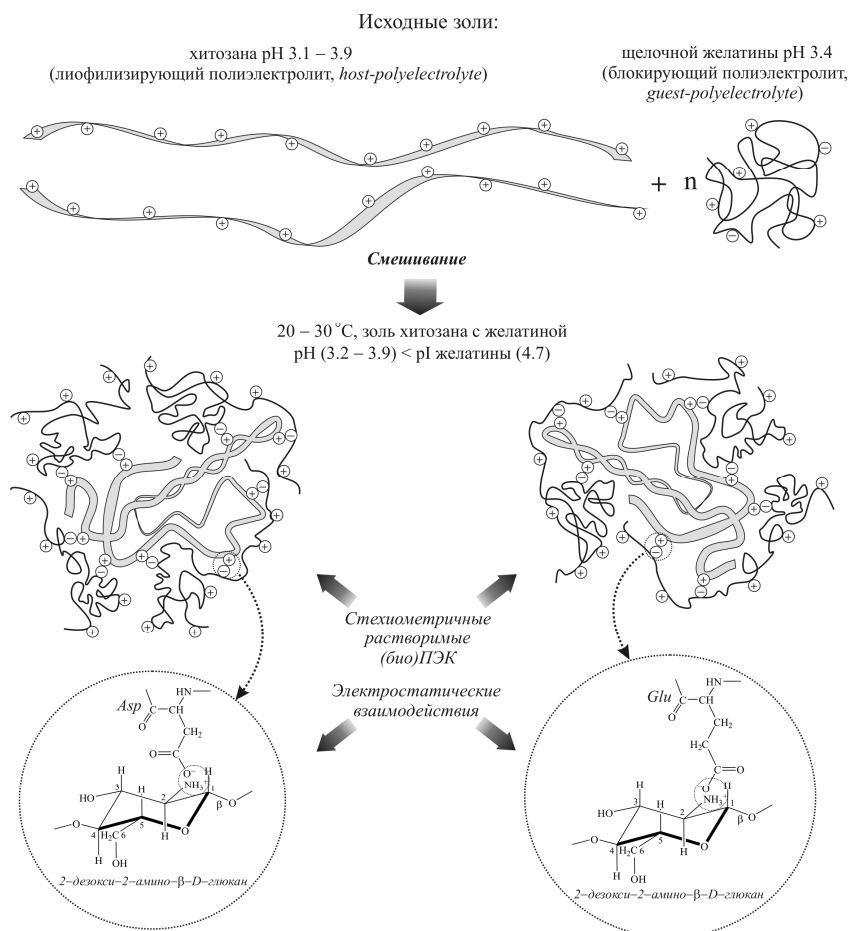


Рис. 7. Качественная схема образования стехиометричных (био)ПЭК "желатина – хитозан" в кислой среде

## Литература

- Briones A.V., Sato T.** Ability of chitosan/carrageenan complex to encapsulate bovine serum albumin (BSA) for potential use in protein delivery. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*. 2013. V. 2, N 2. P. 163-169.
- Derkatch S.R., Voronko N.G., Izmailova V.N.** Rheological properties of gelatin gels with sodium alginate. *International J. Applied Mechanics and Engineering*. 2001. V. 6, N 3. P. 659-673.
- Gubbala S.K.** Polyelectrolyte complex: A pharmaceutical review. *Review Article Pharmaceutical Sciences*. 2012. V. 2, N 3. P. 399-407.
- Hamman J.H.** Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. *Marine Drugs*. 2010. V. 8. P. 1305-1322.
- Haug I.J., Draget K.I.** Gelatin. *Handbook of hydrocolloids*. G.O. Phillips, P.A. Williams (Edition). Boca Raton, Boston, New York, Washington DC: CRC Press, 2009. P. 142-163.
- Пина A.V., Varlamov V.P.** Chitosan-based polyelectrolyte complexes: A review. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2005. V. 41. P. 5-11.
- Klenin V.J.** *Thermodynamics of systems containing flexible-chain polymers*. Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Shannon, Singapore, Tokyo, Elsevier, 1999. 850 p.
- Kramarenko E.Y., Khokhlov A.R., Reineker P.** Stoichiometric polyelectrolyte complexes of ionic block copolymers and oppositely charged polyions. *J. Chem. Phys.* 2006. V. 125. P. 1-8.
- Li C., Hein S., Wang K.** Chitosan – carrageenan polyelectrolyte complex for the delivery of protein drugs. *Hindawi Publishing Corporation. ISRN Biomaterials*. 2013. V. 2013. P. 1-6.
- Mitsumata T. et al.** pH-response of chitosan, κ-carrageenan, carboxymethyl cellulose sodium salt complex hydrogels. *Polymer*. 2003. V. 44. P. 7103-7111.
- Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C.** Chitin and chitosan hydrogels. *Handbook of hydrocolloids*. G.O. Phillips, P.A. Williams (Edition). Boca Raton, Boston, New York, Washington DC, CRC Press, 2009. P. 849-888.
- Patel M.P., Patel R.R., Patel J.K.** Chitosan mediated targeted drug delivery system: A Review. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2010. V. 13, N 3. P. 536-557.



- Pinheiro A.C. et al.** Interactions between  $\kappa$ -carrageenan and chitosan in nanolayered coatings – Structural and transport properties. *Carbohydrate Polymers*. 2012. V. 87. P. 1081-1090.
- Veis A.** The macromolecular chemistry of gelatin. New York, London, Academic Press, 1964. 478 p.
- Yannas I.V.** Collagen and gelatin in the solid state. *Polymer Review*. 1972. V. 7, N 1. P. 40-106.
- Yin Y., Li Z., Sun Y., Yao K.** A preliminary study on chitosan/gelatin polyelectrolyte complex formation. *J. Mater. Sci. (Letters)*. 2005. V. 40. P. 4649-4652.
- Быкова В.М., Немцев С.В.** Сырьевые источники и способы получения хитина и хитозана // Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М., Наука, 2002. С. 7-18.
- Воронько Н.Г., Деркач С.Р., Беляевский А.Т.** Структурные свойства пищевых многокомпонентных гелей по данным растровой электронной микроскопии. *Вестник МГТУ*. 2004. Т. 7, № 1. С. 47-49.
- Воронько Н.Г., Деркач С.Р., Измайлова В.Н.** Реологические свойства гелей желатины с альгинатом натрия. *Журнал прикладной химии*. 2002. Т. 75, Вып. 5. С. 808-812.
- Гамзадзе А.И.** Структурная неоднородность как фактор изменчивости свойств хитина и хитозана // Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М., Наука, 2002. С. 112-118.
- Деркач С.Р., Воронько Н.Г., Маклакова А.А., Кондратюк Ю.В.** Реологические свойства гелей желатины с  $\kappa$ -каррагинаном: роль полисахарида. *Коллоидный журнал*. 2014. Т. 76, № 2. С. 164-170.
- Евдокимов Ю.М.** Нуклеиновые кислоты и хитозан // Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М., Наука, 2002. С. 178-200.
- Зезин А.Б., Кабанов В.А.** Новый класс комплексных водорастворимых полиэлектролитов. *Успехи химии*. 1982. Т. 51, Вып. 9. С. 1447-1483.
- Изумрудов В.А.** Явления самосборки и молекулярного "узнавания" в растворах (био)полиэлектролитных комплексов. *Успехи химии*. 2008. Т. 74, Вып. 4. С. 401-415.
- Изумрудов В.А., Волкова И.Ф., Григорян Э.С., Горшкова М.Ю.** Водорастворимые нестехиометричные полиэлектролитные комплексы модифицированного хитозана. Высокомолекулярные соединения, Серия А. 2011. Т. 53, № 4. С. 515-524.
- Изумрудов В.А., Зезин А.Б., Кабанов В.А.** Равновесие интерполиэлектролитных реакций и явление молекулярного узнавания в растворах интерполиэлектролитных комплексов. *Успехи химии*. 1991. Т. 60, Вып. 7. С. 1570-1595.
- Кабанов В.А.** Полиэлектролитные комплексы в растворе и в конденсированной фазе. *Успехи химии*. 2005. Т. 74, № 1. С. 5-23.
- Краюхина М.А., Самойлова Н.А., Ямсков И.А.** Полиэлектролитные комплексы хитозана: формирование, свойства и применение. *Успехи химии*. 2008. Т. 77, № 9. С. 854-869.
- Лопатин С.А.** Проблемы определения молекулярно-массовых характеристик хитозана. *Рыбпром*. 2010. № 2. С. 82-85.
- Маклакова А.А., Воронько Н.Г., Деркач С.Р., Кадырова Г.И., Зогова К.В.** Взаимодействие желатины с  $\kappa$ -каррагинаном по данным ИК-спектроскопии. *Вестник МГТУ*. 2014. Т. 17, № 1. С. 53-60.
- Малкин А.Я., Исаев А.И.** Реология: концепции, методы, приложения. СПб., ЦОП "Профессия", 2010. 560 с.
- Рабек Я.** Экспериментальные методы в химии полимеров. В 2 ч. Ч. 1. М., Мир, 1983. 384 с.
- Сафронов А.П.** Термохимия водных растворов солей хитозана: суперпозиция межмолекулярных взаимодействий и структурных особенностей полимера // Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М., Наука, 2002. С. 132-141.
- Татер А.А.** Физико-химия полимеров. М., Научный мир, 2007. 576 с.
- Шибайло Т.Н. и др.** Комплексообразование хитозана и сульфата ацетата целлюлозы в уксуснокислых растворах. *Коллоидный журнал*. 2008. Т. 70, № 5. С. 709-714.

## References

- Bykova V.M., Nemtsev S.V.** Syrevye istochniki i sposoby polucheniya hitina i hitozana [Sources of raw materials and processes for the preparation of chitin and chitosan] // Hitin i hitozan: poluchenie, svoystva i primeneniye. Pod red. K.G. Skryabina, G.A. Vihorevoy, V.P. Varlamova. M., Nauka, 2002. P. 7-18.
- Voronko N.G., Derkach S.R., Belyaevskiy A.T.** Strukturnye svoystva pischevykh mnogokomponentnykh geley po dannym rastrovoy elektronnoy mikroskopii [Structural properties of food multicomponent gels according to scanning electron microscopy]. *Vestnik MGTU*. 2004. T. 7, N 1. P. 47-49.
- Voronko N.G., Derkach S.R., Izmaylova V.N.** Reologicheskie svoystva geley zhelatiny s alginatom natriya [Rheological properties of gelatin gels with sodium alginate]. *Zhurnal prikladnoy himii*. 2002. T. 75, Vyp. 5. P. 808-812.
- Gamzadze A.I.** Strukturnaya neodnorodnost kak faktor izmenchivosti svoystv hitina i hitozana [Structural heterogeneity as a factor in the variability of the properties of chitin and chitosan] // Hitin i hitozan:

- poluchenie, svoystva i primeneniye. Pod red. K.G. Skryabina, G.A. Vihorevoy, V.P. Varlamova. M., Nauka, 2002. P. 112-118.
- Derkach S.R., Voronko N.G., Maklakova A.A., Kondratyuk Yu.V.** Reologicheskie svoystva geley zhelatiny s  $\kappa$ -karraginanom: rol polisaharida [The rheological properties of gelatin gels  $\kappa$ -carrageenan: The role of the polysaccharide]. Kolloidnyi zhurnal. 2014. T. 76, N 2. P. 164-170.
- Evdokimov Yu.M.** Nukleinovye kisloty i hitozan [The nucleic acids and chitosan] // Hitin i hitozan: poluchenie, svoystva i primeneniye. Pod red. K.G. Skryabina, G.A. Vihorevoy, V.P. Varlamova. M., Nauka, 2002. P. 178-200.
- Zezin A.B., Kabanov V.A.** Novyi klass kompleksnykh vodorastvorimyykh polielektrolitov [A new class of complex water-soluble polyelectrolytes]. Uspehi himii. 1982. T. 51, Vyp. 9. P. 1447-1483.
- Izumrudov V.A.** Yavleniya samosborki i molekulyarnogo "uznavaniya" v rastvorah (bio)polielektrolitnykh kompleksov [Phenomenon of self-assembly and molecular "recognition" in the solutions of (bio)polyelectrolyte complexes]. Uspehi himii. 2008. T. 74, Vyp. 4. P. 401-415.
- Izumrudov V.A., Volkova I.F., Grigoryan E.S., Gorshkova M.Yu.** Vodorastvorimyye nestehiometrichnyye polielektrolitnyye komplekсы modifitsirovannogo hitozana [Water-soluble nonstoichiometric polyelectrolyte complexes of modified chitosan]. Vysokomolekulyarnyye soedineniya, Seriya A. 2011. T. 53, N 4. P. 515-524.
- Izumrudov V.A., Zezin A.B., Kabanov V.A.** Ravnovesiye interpolielektrolitnykh reaktsiy i yavlenie molekulyarnogo uznavaniya v rastvorah interpolielektrolitnykh kompleksov [Equilibrium of interpolyelectrolyte reactions and the phenomenon of molecular recognition in solutions of interpolyelectrolyte complexes]. Uspehi himii. 1991. T. 60, Vyp. 7. P. 1570-1595.
- Kabanov V.A.** Polielektrolitnyye komplekсы v rastvore i v kondensirovannoy faze [Polyelectrolyte complexes in solution and in the condensed phase]. Uspehi himii. 2005. T. 74, N 1. P. 5-23.
- Krayuhina M.A., Samoylova N.A., Yamskov I.A.** Polielektrolitnyye komplekсы hitozana: formirovaniye, svoystva i primeneniye [Chitosan polyelectrolyte complexes: Formation, properties and applications]. Uspehi himii. 2008. T. 77, N 9. P. 854-869.
- Lopatin S.A.** Problemy opredeleniya molekulyarno-massovykh harakteristik hitozana [The problems of determining the molecular weight characteristics of chitosan]. Rybprom. 2010. N 2. P. 82-85.
- Maklakova A.A., Voronko N.G., Derkach S.R., Kadyrova G.I., Zotova K.V.** Vzaimodeystviye zhelatiny s  $\kappa$ -karraginanom po dannym IK-spektroskopii [Interaction of gelatin with  $\kappa$ -carrageenan according to IR spectroscopy]. Vestnik MGTU. 2014. T. 17, N 1. P. 53-60.
- Malkin A.Ya., Isaev A.I.** Reologiya: kontseptsii, metody, prilozheniya [Rheology: Concepts, methods, and applications]. SPb., TsOP "Professiya", 2010. 560 p.
- Rabek Ya.** Eksperimentalnyye metody v himii polimerov [Experimental methods in polymer chemistry]. V 2 ch. Ch. 1. M., Mir, 1983. 384 p.
- Safronov A.P.** Termohimiya vodnykh rastvorov soley hitozana: superpozitsiya mezhmolekulyarnykh vzaimodeystviy i strukturnykh osobennostey polimera [Thermochemistry of aqueous solutions of chitosan salts: Superposition of intermolecular interactions and structural features of the polymer] // Hitin i hitozan: poluchenie, svoystva i primeneniye. Pod red. K.G. Skryabina, G.A. Vihorevoy, V.P. Varlamova. M., Nauka, 2002. P. 132-141.
- Tager A.A.** Fiziko-himiya polimerov [Physics and chemistry of polymers]. M., Nauchnyi mir, 2007. 576 p.
- Shibaylo T.N. i dr.** Kompleksoobrazovaniye hitozana i sulfata atsetata tsellyulozy v uksusnokislykh rastvorah [The complexation of chitosan and cellulose acetate sulfate in acetic acid solutions]. Kolloidnyi zhurnal. 2008. T. 70, N 5. P. 709-714.

#### Информация об авторах

**Воронько Николай Георгиевич** – Естественно-технологический институт МГТУ, кафедра химии, канд. техн. наук, доцент, стар. науч. сотрудник, e-mail: voronkonikolay@mail.ru

**Voron'ko N.G.** – Institute of Natural Science and Technology MSTU, Chemistry Department, Cand. of Tech. Sci., Associate Professor, Senior Researcher, e-mail: voronkonikolay@mail.ru

**Деркач Светлана Ростиславовна** – Естественно-технологический институт МГТУ, кафедра химии, д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой химии, e-mail: derkachsr@mstu.edu.ru

**Derkach S.R.** – Institute of Natural Science and Technology MSTU, Chemistry Department, Dr of Chem. Sci., Professor, Chairman of Chemistry Department, e-mail: derkachsr@mstu.edu.ru

**Соколан Нина Ивановна** – Естественно-технологический институт МГТУ, кафедра химии, аспирант, e-mail: super\_sheldon@mail.ru

**Sokolan N.I.** – Institute of Natural Science and Technology MSTU, Chemistry Department, Ph.D. Student, e-mail: super\_sheldon@mail.ru