

675.024; 675.047; 547.99

ЗАСТОСУВАННЯ ХІТОЗАНУ У ВИРОБНИЦТВІ ШКІР.**МЕХАНІЗМ ВЗАЄМОДІЇ ХІТОЗАНУ З КОЛАГЕНОМ**

В.П. ПЛАВАН, А.Г. ДАНИЛКОВИЧ, А.С. КАТАШИНСЬКИЙ, О.В. КОВТУНЕНКО

Київський національний університет технологій та дизайну

Комплексні дослідження з використанням квантово-хімічних розрахунків і методу ІЧ-спектроскопії показали, що механізм взаємодії хітозану з колагеном полягає в утворенні водневих зв'язків за участю аміногруп хітозану або внаслідок інтенсивної диполь-дипольної взаємодії між атомами кисню ОН-груп протонованого хітозану і атомами азоту чи водню аміногруп та гідроксильних груп колагену. Крім того, взаємодія хітозану з колагеном може відбуватися за участю кисню груп С-О-С хітозану і функціональних груп білка шляхом утворення водневих зв'язків, а у разі застосування сполук хрому ще й зв'язків координаційних

Хітозан – це похідна сполука від природного полісахариду хітину, широке застосування якого пов'язане з його важливими сорбційними властивостями. Сировиною для одержання хітину є комахи, гриби, ракоподібні [1]. Виділення хітину проводиться хімічним способом. Отриманий хітин переходить у хітозан за допомогою реакції деацетилювання, що здійснюється концентрованим розчином лугу при підвищеній температурі (рис. 1).

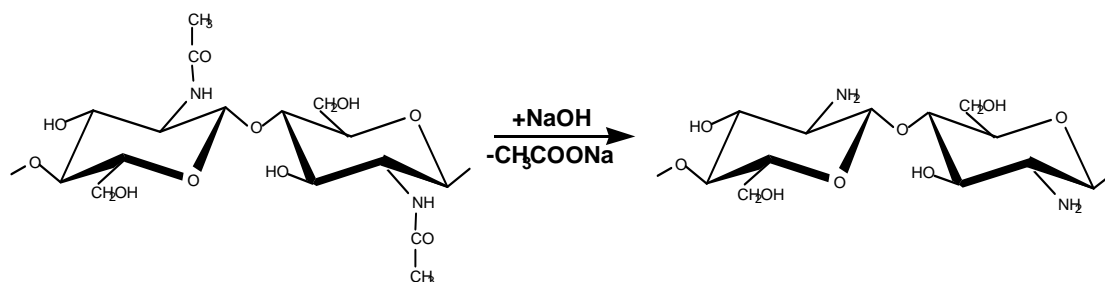


Рис.1. Схема отримання хітозану із хітину

Хітозан широко застосовується в медичній практиці для створення перев'язувальних матеріалів, які використовуються при лікуванні опікових хворих. Подібні плівкові матеріали мають високий противірусний та антимікробний ефекти [2, 3]. Хімічні властивості хітозану пов'язані з його хімічною структурою. Велика кількість вільних аміногруп у молекулі хітозану визначає його властивість зв'язувати іони водню і набувати надмірного позитивного заряду, тому хітозан є ефективним катіонітом [4]. Це пояснює здатність хітозану зв'язувати і міцно утримувати іони металів (зокрема радіоактивні ізотопи та токсичні елементи) за рахунок різноманітних хімічних і електростатичних взаємодій. Крім того, вільні аміногрупи обумовлюють хелатоутворювальні і комплексоутворювальні властивості хітозану.

Велика кількість водневих зв'язків між молекулами хітозану призводить до його низької розчинності у воді, оскільки зв'язки між молекулами хітозану міцніші, ніж між молекулами хітозану і води. Разом з тим хітозан набухає і розчиняється в органічних кислотах – оцтовій, лимонній, щавелевій та інших, причому при набуханні він здатний міцно утримувати в своїй структурі розчинник, а також розчинені і завислі в ньому речовини [5]. Таким чином, висока спорідненість хітозану до основного білка шкіри колагену робить перспективним використання хітозану для дублення шкір.

У попередніх дослідженнях [6] автори показали можливість і доцільність використання хітозану для удосконалення процесу хромового дублення за рахунок зменшення витрати солей хрому при одночасному підвищенні температури зварювання шкіри. Встановлено, що витрата хітозану впливає на гідротермічну стійкість голини. Шкіра, отримана з витратою хітозану 4% і в 1,5 рази менше сполук хрому, ніж передбачає традиційна технологія, мала температуру зварювання на 6°C вищу. При цьому ступінь відпрацювання дубильного розчину також на 12 % вищу.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктом є дослідження процесу хітозан–колагенової взаємодії в оцтовокислому середовищі.

Предметом дослідження є структура і властивості хітозану, молекулярна маса якого визначалася за віскозиметричними даними [6] і становить 50 000.

З метою моделювання взаємодії хітозану з колагеном дерми вивчалися його геометричні параметри, особливості хімічної та електронної будови за допомогою напівемпіричного методу МО ЛКАО в наближенні РМ3 з використанням комп'ютерної системи МОРАС. Як основний критерій для кількісної оцінки міцності зв'язку у молекулі хітозану використали силові константи k_0 (А–В) – другі похідні повної енергії системи [7] по довжині валентного зв'язку r_0 (А–В) (рис. 2).

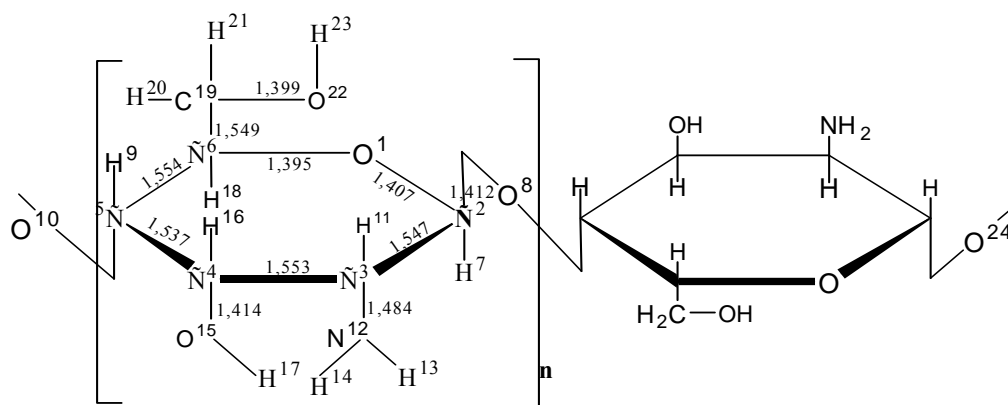


Рис.2. Хімічна структура хітозану з розрахованими силовими константами

Для дослідження природи взаємодії хітозану з колагеном використовувався метод інфрачервоної спектроскопії. Як модель колагену вибрані желатинові плівки, відлиті із 0,5%-го розчину желатину марки П-11 (ГОСТ 11293-89).

Для отримання плівки в 0,5%-вий розчин желатину при температурі 35°C вводили 10% хітозану у вигляді 1%-вого оцтовокислого розчину при рН 4,5.

ІЧ-спектроскопічні дослідження проводили на універсальному Фур'є-ІЧ-спектрометрі TENSOR-37 (BRUKER, Німеччина). ІЧ-спектри поглинання вивчали в ділянці частот 400...4000 cm^{-1} (рис. 3). Інтерпретацію спектрів здійснювали з використанням таблиць характеристичних частот поглинання різних груп атомів [8].

Постановка завдання

Мета дослідження – визначення механізму взаємодії хітозану з колагеном для удосконалення процесу хромового дублення і надання шкірі корисних споживчих властивостей шляхом зменшення витрати сполук хрому у поєднанні з обробкою хітозаном.

Результати та їх обговорення

У результаті квантово-хімічних розрахунків було підтверджено, що в наслідок утворення хімічного зв'язку між протоном водню й вільною аміногрупою, валентна оболонка азоту переходить із sp^2 в sp^3 гібридизацію, при цьому координаційне число азоту збільшується до чотирьох. Внаслідок цього атом азоту утворює три рівноцінні N–H зв'язку.

Як видно з наведених формул (рис. 1,2), молекула хітозану складається з атомів вуглецю, водню, кисню й азоту, які помітно відрізняються за електронегативністю. Це визначає нерівномірний розподіл електронної щільності між функціональними групами, полярність та іонність хімічних зв'язків у молекулах. У кислому середовищі відбувається протонування хітозану, що призводить до помітних змін електронної щільності між його атомами.

У табл. 1 приведені дані, що характеризують заряди на атомах хітозану вихідної молекули й протонованої. Дані таблиці показують, що найбільшими значеннями характеризуються заряди на атомах кисню (O^{15} , O^{22} , O^6 , O^{10}).

Слід зазначити, що заряди на атомах кисню, пов'язаних з атомами вуглецю, трохи нижчі від зарядів на атомах кисню OH-груп.

Таблиця 1. Заряди атомів хітозану

Номер по порядку	Атом	Хітозан	
		початковий	після протонізації
1	O	-0,285	-0,217
2	C	+1,192	+0,201
3	C	-0,146	-0,342
4	C	+0,077	+0,097
5	C	-0,009	-0,002
6	C	+0,020	+0,001
7	H	+0,063	+0,099
8	O	-0,259	-0,256
9	H	+0,076	+0,093
10	O	-0,266	-0,277
11	H	+0,102	+0,202
12	N	-0,031	+0,856
13	H	+0,041	+0,039
14	H	+0,038	+0,027
15	O	-0,298	-0,360
16	H	+0,078	+0,086
17	H	+0,207	+0,255
18	H	+0,075	+0,099
19	C	+0,064	+0,059
20	H	+0,058	+0,050
21	H	+0,041	+0,053
22	O	-0,306	-0,347
23	H	+0,196	+0,219

Протонізація молекули хітозану призводить до збільшення зарядів на атомах кисню й пов'язаних з ними атомах водню (O^{15} , O^{22} , H^{17} , H^{23}). Привертає увагу значне суттєве заряду на атомі азоту аміногрупи. Це вказує на можливість участі цих груп в утворенні водневих зв'язків.

У табл. 2 приведено результати розрахунку порядку зв'язків між атомами хітозану та їхні силові константи.

Таблиця 2. Вплив протонування на порядок зв'язків і силові константи хітозану

Зв'язок А-В	Хітозан			
	вихідний		після протонізації	
	Порядок зв'язку, $P(A-B)$	$k_0 (A-B)$, mdin/Å	Порядок зв'язку, $P(A-B)$	$k_0 (A-B)$, mdin/Å
C4-C3	0,948	1,589	0,934	1,411
C4-C5	0,939	1,504	0,949	1,569
C2-C3	0,927	1,414	0,909	1,362
C5-C6	0,951	1,543	0,945	1,499
C6-O1	0,966	2,353	0,965	2,359
C2-O1	0,954	2,506	0,999	3,041
C5-O10	0,970	2,253	0,973	2,191
C4-O15	1,011	2,688	1,007	2,604
C3-N12	1,010	2,232	0,982	1,922
C2-O8	0,984	2,605	0,989	2,609
C3-N9	0,959	2,064	0,959	2,087
C6-N18	0,955	2,059	0,955	2,046
C4-C19	0,953	1,634	0,944	1,559
C19-O22	1,012	2,828	0,983	2,684
O22-H23	0,942	4,121	0,932	4,142
O15-H17	0,932	2,088	0,884	3,807

З наведених даних видно, що здебільшого випадків у протонізованій молекулі хітозану відбувається зниження порядку зв'язків, порівняно зі значеннями для вихідної молекули хітозану. Це свідчить про зниження ковалентності зв'язків у протонізованому хітозані, що приводить до збільшення іонності зв'язків.

У результаті цього окремі групи атомів хітозану стають більш лабільними й реакційно-здатними. Підтвердженням цьому може бути зниження ентальпії утворення (ΔH , кКал) хітозану з 368,6 до 225,6 після протонізації.

Значної величини заряди на атомах кисню ОН-груп створюють електростатичні поля високої напруги. Це буде сприяти виникненню інтенсивної диполь-дипольної взаємодії й утворенню міцних водневих зв'язків.

Під час визначення геометричних параметрів хітозану встановлено, що величина однієї мономерної ланки становить порядку 3 Å. Величина кластера, що складається з двох мономерних ланок, з'єднаних глікозидним зв'язком, становить порядку 9 Å.

Відомо, що відстань між центрами макромолекул, які є в мікрофібрилах, розташованих у високоупорядкованих фібрилах, що утворюють елементарні волокна, становить 12 Å [9].

З урахуванням просторового фактора можна припустити, що ефективний поперечний зв'язок між молекулярними ланцюгами колагену за участю хітозану може включати порядка двох-трьох мономерних ланок.

Надлишкова кількість хітозану може виконувати функцію наповнювача, який не бере участі у взаємодії з колагеном з утворенням поперечного зв'язку, але здатний взаємодіяти з іншими речовинами, наприклад із солями хрому. Дипольний момент μ молекули дубителя є одним з важливих молекулярних параметрів, що може характеризувати здатність дубителя до взаємодії з колагеном. Цей параметр залежить від величини зарядів на атомах молекули й геометричної будови молекули, тобто відносного розташування атомів молекули в просторі.

У табл. 3 приведені значення μ молекул дубителів, визначені під час раніше проведених квантово-хімічних розрахунків [10]. Як видно з наведених даних, величина дипольного моменту протонованого хітозану перевищує аналогічні величини для багатьох рослинних дубителів, що підтверджує його високу дубильну активність.

Таким чином, хітозан протонований має високу здатність до взаємодії з колагеном за рахунок утворення водневих зв'язків за участю аміногруп хітозану або внаслідок інтенсивної диполь-дипольної взаємодії між атомами кисню ОН-груп протонованого хітозану і атомами азоту чи водню аміногруп та гідроксильних груп колагену.

Для підтвердження результатів квантово-хімічних розрахунків можливий механізм взаємодії хітозану з колагеном визначали за допомогою методу ІЧ-спектроскопії. Характерні смуги поглинання ІЧ-спектрів вихідної желатинової плівки (рис. 3) мають такі значення: смуга поглинання 1230 см^{-1} належить валентним коливанням групи CO (III амідна смуга), 1340 см^{-1} належить деформаційним коливанням ОН-груп желатину. Смуга $1400\text{--}1420\text{ см}^{-1}$ відповідає коливанням карбоксильної групи, 1450 см^{-1} – деформаційним коливанням групи $-\text{CH}_2$, 1545 см^{-1} деформаційним коливанням групи $=\text{N}-\text{H}$ пептидного зв'язку (II амідна смуга), 1660 см^{-1} відповідає коливанням групи $-\text{C}=\text{O}$ пептидного зв'язку (I амідна смуга). Смуга поглинання 2950 см^{-1} відповідає валентним коливанням $-\text{CH}_2$ і має відносно низьку інтенсивність. Смуги поглинання 3080 і 3300 см^{-1} можуть відповідати валентним коливанням N–H аміногрупи.

Таблиця 3. Дипольні моменти дубителів

Дубитель	Дипольний момент μ , D:
Мімоза	2,973
Квебрахо	3,530
Міраболан	3,361
Комплекс алюміній–танід	38,864
Хітозан:	
– початковий	1,885
– після протонізації	9,086

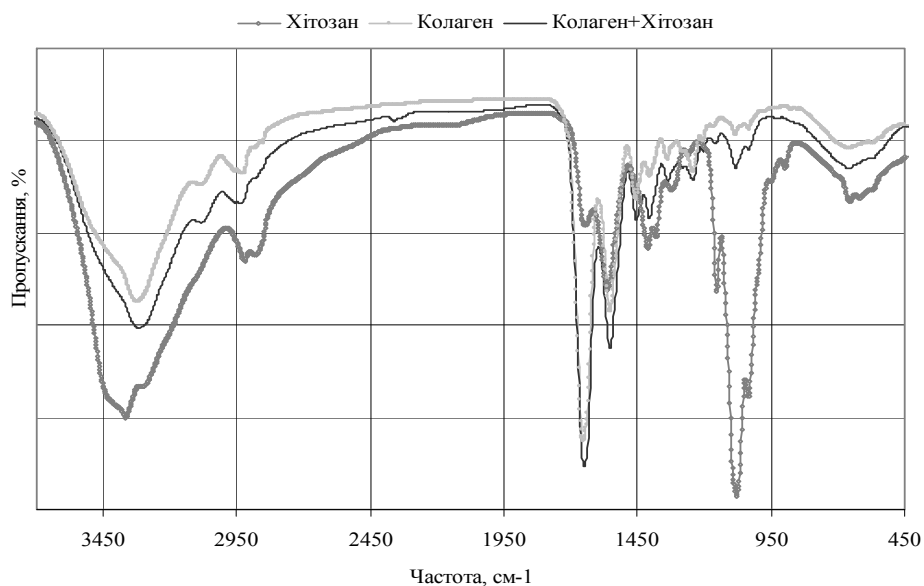


Рис.3. Результати ІЧ-спектроскопічних досліджень взаємодії хітозану з колагеном

Характерні смуги поглинання ІЧ-спектрів вихідної плівки хітозану мають такі значення: смуга $894, 944 \text{ см}^{-1}$ відповідає деформаційним коливанням груп С–Н, які наявні в структурі полісахаридів і глюкопіраноз, лежить у ділянці їхніх відбитків пальців, смуги поглинання $1150, 1080, 1020, 950 \text{ см}^{-1}$ відповідають валентним коливанням групи С–О. Це можуть бути асиметричні валентні коливання С–О–С піранозного кільця або –С–ОН глікозидного гідроксилу [11]. Смуга поглинання $600 \dots 650 \text{ см}^{-1}$ відповідає деформаційним неплоским коливанням спиртової гідроксильної групи (С)–О–Н, а ділянка $1400 \dots 1380 \text{ см}^{-1}$ ймовірно відповідає деформаційним площинним коливанням спиртової гідроксильної групи С–О–Н.

У височастотній ділянці спектра ($2900 \dots 3600 \text{ см}^{-1}$) проявляються широкі смуги поглинання вільних, асоційованих і зв'язаних водневими зв'язками ОН груп.

Взагалі інтерпретація спектрів у ділянці $3000 \text{--} 3700 \text{ см}^{-1}$ доволі ускладнена через те, що тут відбувається накладання смуг валентних коливань гідроксильної групи і деформаційних коливань аміногрупи.

Смуги поглинання 3360 см^{-1} і 3292 см^{-1} відповідають асиметричним і симетричним валентним коливанням аміногрупи. Значення нижчої частоти симетричного коливання, розраховане за допомогою рівняння $\nu_s = 345,5 + 0,876 \nu_{as}$, при підстановці 3360 см^{-1} становить 3289 см^{-1} , що майже повністю збігається з нашими результатами. Доволі широка смуга поглинання в ділянці $2960 \dots 2820 \text{ см}^{-1}$ ймовірно відповідає валентним коливанням СН метиленової групи.

Взаємодія між колагеном желатину і хітозаном призводить до певних змін у спектрах обох речовин. Привертають увагу зміни форми і ширини смуги $3000 \dots 3500 \text{ см}^{-1}$. Зменшення інтенсивності поглинання смуги з максимумом 3300 см^{-1} для желатинової плівки, обробленої хітозаном, порівняно із вихідною плівкою хітозану, та водночас збільшення поглинання смуги з максимумом

3300 cm^{-1} для желатинової плівки, обробленої хітозаном, порівняно із вихідною плівкою желатину, може свідчити про участь аміногруп колагену і хітозану у взаємодії шляхом утворення водневих зв'язків.

Зникнення смуги поглинання 600...650 cm^{-1} , яка відповідає деформаційним, неплосинним коливанням спиртової гідроксильної групи хітозану, також може свідчити про їх участь у взаємодії з функціональними групами колагену.

Суттєве зменшення інтенсивності смуги поглинання 1150...950 cm^{-1} з максимумами при 1150, 1030, 1080 cm^{-1} може пояснюватись участю груп C–O–C у взаємодії між молекулами хітозану і колагену шляхом утворення зв'язків різних типів. Отже, взаємодія хітозану з колагеном може відбуватися і за участю глікозидних груп C–O–C чи гідроксильних та аміногруп хітозану і функціональних груп білка шляхом утворення зв'язків різних типів (водневих, координаційних).

Висновки

Комплексні дослідження з використанням квантово-хімічних розрахунків і методу ІЧ-спектроскопії показали, що механізм взаємодії хітозану з колагеном полягає в утворенні водневих зв'язків за участю аміногруп хітозану або внаслідок інтенсивної диполь-дипольної взаємодії між атомами кисню ОН-груп протонованого хітозану і атомами азоту чи водню аміногруп та гідроксильних груп колагену. Крім того, взаємодія хітозану з колагеном може відбуватися за участю кисню груп C–O–C хітозану і функціональних груп білка шляхом утворення водневих зв'язків, а у разі застосування сполук хрому ще й зв'язків координаційних.

За допомогою квантово-хімічних розрахунків встановлено, що хітозан протонований має дипольний момент майже втричі вищий відносно таких дубителів широкого застосування, як квебрахо, мімоза, міраболан, і відповідну підвищену реакційну здатність.

З урахуванням встановленого розміру мономерної ланки хітозану 3Å визначили, що утворення ефективних поперечних зв'язків між макромолекулами колагену можливе за участю двох-трьох мономерних ланок хітозану. При цьому незв'язана частина хітозану може виконувати функцію наповнювача, який не бере участі у взаємодії з колагеном з утворенням поперечного зв'язку, але здатний взаємодіяти із солями хрому. Це пояснює високий ступінь поглинання сполук хрому з відпрацьованих розчинів під час хромового дублення у разі попередньої обробки голини хітозаном.

ЛІТЕРАТУРА

1. Muzzarelli R.A.A. Alginic acid, chitin and chitosan. – New York: Pergamon Press Inc., 1973, pp. 120–124, 144–174.
2. Харкевич Э.С., Москаленко Т.М., Сахарова Т.Г., Федченко В.А., Жданова Н.Н. Грибостойкость хитина и хитозана: критерии ее оценки //Микология и фитопатология. – 2002. – т.36. – №1. – с. 48–54.
3. Чирков С.Н. Противовирусная активность хитозана //Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – Т. 38. – № 1. – с. 5–13.
4. Гальбрайт Л.С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение // Соросовский образовательный журнал. – 2001. т. 7. – № 1.
5. Rinaudo M. and Domard A. Solution properties of chitosan // Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. Proceedings from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan held in Trondheim, Norway, August 22–24, 1988, p. 71–86.

6. Плаван В.П., Ковтуненко О.В., Каташинський А.С. Застосування хітозану у виробництві шкір. Удосконалення процесу хромового дублення // Вісник КНУТД, 2009, №3.
7. Пиментел Г., Спратли Р. Как квантовая механика объясняет химическую связь. – М.: Мир. – 1973. – с. 88–191.
8. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир. 1965. – 216 с.
9. Данилкович А.Г. Ефективність використання колагену при його структуруванні // Вісник КНУТД, 2002, №1.
10. Plavan V.P., Katashinsky A.S., Barsukov V.Z. Quantum-chemical modeling for interaction of collagen with structure-forming agents // Scientific Proceedings of Riga Technical University. – 2007. – p. 121–131.
11. Цеменко І.Р., Данилкович А.Г., Цеменко Г.В. Кополімер ксантанакриламід–колаген–сполуки хрому. Дослідження взаємодії у системі методом ІЧ-спектроскопії // Вісник КНУТД. – 2005. №6. – с. 100–103.

Надійшла 06.07.2009

УДК 677.014

КОЕФІЦІЄНТ РОЗПОДІЛУ ПРИ ФАРБУВАННІ ДИСПЕРСНИМИ БАРВНИКАМИ

Я.О. РОМАНКЕВИЧ, О.О. ГАРАНІНА

Київський національний університет технологій та дизайну

Показано, що величина коефіцієнта розподілу залежить від величин теплових ефектів розчинення барвника у воді та в аморфних ділянках полімеру

При фарбуванні дисперсними барвниками склалося в ділянках прийнято термодинамічну спорідненість барвника до волокна оцінювати з використанням виразу [1]:

$$\Delta\mu^o = -RT \ln K_D \quad (1)$$

де $\Delta\mu^o$ – зміна хімічного потенціалу барвника при фарбуванні (для стандартного стану). Рівняння (1) виведено для атермічних ідеальних розчинів низькомолекулярних сполук [3]. Аналогічний вираз використовується при розгляді термодинаміки екстракції. Проте, процес фарбування – екзотермічний, зміна ентропії при змішуванні полімеру з розчинником описується складніше, зокрема, залежить від ступеня полімеризації і об'ємної частки полімеру [4].

Об'єкти та методи дослідження

Уявлення про термодинамічну спорідненість при протіканні хімічної реакції принципово різні [3, 5]. В першому випадку характеристика термодинамічної спорідненості розглядається зміна вільної енергії ΔG^o при завершенні реакції до стану рівноваги, якій властива константа рівноваги (K_p) [3]. У другому випадку термодинамічна спорідненість при рівновазі дорівнює нулю [5]. Для процесу фарбування, що відбувається в часі, характеристикою спорідненості барвника, принаймні для дисперсних барвників, могла б бути здатність поглинати барвник з фарбувальної ванни. Подібною кількісною величиною є коефіцієнт розподілу, зокрема процес фарбування дисперсним барвником можна розглядати як процес екстракції барвника волокном з водного розчину.