

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САРАТОВСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ»

Физико-химические свойства водных растворов *D*-аспарагиновой кислоты

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента(ки) 4 курса 412 группы

направления (специальности) 04.03.01 «Химия»

Института химии

Игнатъевой Марии Викторовны

Научный руководитель

к.х.н., доцент

подпись

С.Л. Шмаков

Саратов 2022

Введение

Актуальность темы. Для исследования физико-химических свойств водных растворов использовали хитозан (ХТЗ) – линейный гетероаминополисахарид, представляющий собой полимер *D*-глюкозамина, построенный главным образом из звеньев остатков 2-амино-2-дезоксид- β -*D*-глюкопиранозы, соединённых β -(1→4)-гликозидной связью, содержащий до 30 и менее % ацетамидных групп, а также до 1% групп, соединённых с аминокислотами и пептидами [1].

Хитозан растворим в уксусной, муравьиной, лимонной, молочной и соляной кислоте и нерастворим в большинстве органических растворителей. Он обладает биосовместимостью, биоразлагаемостью, антибактериальностью, ранозаживляющими свойствами, способностью создавать поликатионы в кислой среде, высоким сродством к металлам, красителям и белкам, гидрофильностью, пленкообразующей способностью и др. [2, 3]. Эти особенности делают его применимым в медицине и фармации, в различных отраслях промышленности, в охране окружающей среды, в том числе в процессах водоподготовки и разделения [4].

Для формования пленок, а также изучения биodeградации был выбран разветвленный гетерополисахарид растительного происхождения глюкоманнан (ГМ), состоящий из *D*-маннозы и *D*-глюкозы, соединённых β -(1→4)- и β -(1→3)-гликозидными связями. ГМ обладает хорошими влагоудерживающими, гелеобразующими свойствами, и, как хитозан, является биосовместимым и биоразлагаемым полисахаридом [5].

На кафедре полимеров были исследованы антибактериальная активность и биосовместимость водных растворов аспарагината хитозана [6], цитотоксичность наночастиц аспарагината хитозана [7], биологическая активность на примере биостимулирования при прорастании семян [8]. Как видно, данные производные ХТЗ были получены с использованием *L*-аспарагиновой кислоты (*L*-Asp).

За счет наличия хирального атома С, молекулы аспарагиновой кислоты существуют в 2-х изомерных формах. Оба изомера проявляют биологическую активность, *L*-форма участвует в синтезе белков и связывает избыток аммиака в организме, а *D*-форма отвечает за выработку ряда гормонов. Для оценки влияния хиральности аспарагиновой кислоты, используемой для получения аспарагината хитозана, в данном исследовании был выбран *D*-изомер, который является биологически активной добавкой к спортивному питанию для стимуляции роста мышечной ткани.

Цель работы - получение *D*-аспарагината ХТЗ, изучение физико-химических свойств водных растворов *D*-аспарагиновой кислоты (*D*-Asp) и *D*-аспарагината ХТЗ.

Задачи:

1. Изучение физико-химических свойств индивидуальных водных растворов *D*-аспарагиновой кислоты и хитозана в *D*-аспарагиновой кислоте: показатель преломления, рН, поверхностное натяжение, удельная электропроводность;
2. Изучение вязкости систем «хитозан –*D*-аспарагиновая кислота – вода» с разной концентрацией кислоты в системе;
3. Получение плёнок на основе ХТЗ-*D*-Asp и ГМ-*D*-Asp и исследование способности к биодegradации и биотестирование.

Объектами исследования служили водные растворы хитозана с *D*-аспарагиновой кислотой и образцы плёнок глюкоманна с *D*-аспарагиновой кислотой. При проведении исследования использовали промышленный образец хитозана со средневязкостной молекулярной массой 200 кДа и степенью деацетилирования 82 мол% (ЗАО «Биопрогресс», РФ), образец глюкоманна с молекулярной массой 1100 кДа (ООО «УСПЕХ», РФ) и *D*-аспарагиновую кислоту аналитической степени чистоты (ЗАО «ВЕКТОН», РФ).

Структура и объем работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения, списка используемых источников, включающего 55

наименований. Работа изложена на 48 листах машинописного текста, содержит 20 рисунков, 1 таблицу.

Основное содержание работы

1. Методика приготовления растворов и пленок, методы их исследования

Для приготовления исследуемых растворов навески порошка хитозана (0.3 г) и *D*-аспарагиновой кислоты (0.8 г) растворяли в 100 мл дистиллированной воды при 60°C и перемешивании механической мешалкой в течение 1–2 ч. Далее из полученного раствора методом разведения готовили серию растворов, в которых диапазон изменения концентраций для хитозана составлял 0–0.3 г/дл и 0.3–0.8 г/дл — для *D*-аспарагиновой кислоты.

При исследовании вязкостных свойств системы разведение растворов хитозана проводили раствором аспарагиновой кислоты той же концентрации для поддержания общей концентрации кислоты постоянной в каждой точке измерения. Физико-химические свойства растворов устанавливали в изотермических условиях при температуре 25°C и исследовали методами кондуктометрии, потенциометрии, рефрактометрии, сталагмометрии и вискозиметрии.

Для получения плёнок использовали раствор глюкоманнана в *D*-аспарагиновой кислоте с концентрациями $C_{ГМ} = 0.5$ г/дл, $C_{Асп} = 0.8$ г/дл и раствор ПВС с $C_{ПВС} = 7$ мас.%. Для приготовления 100 мл формовочного раствора взяли навески воздушно-сухого глюкоманнана (0.5 г) и *D*-аспарагиновой кислоты (0.8 г), приготовили водный раствор *D*-аспарагиновой кислоты путём растворения навески в дистиллированной воде при 60°C и перемешивании механической мешалкой в течение 1–2 часов, соединяли с глюкоманнаном, предварительно смоченным этиловым спиртом, прогревали систему с использованием СВЧ-излучения по 5–10 секунд с периодом 1 раз в минуту, перемешивая между нагреваниями. Полученный раствор перемешивали при помощи магнитной мешалки при 72°C и частоте оборотов 450 в течение 3 часов. Формовочный раствор смешивали с раствором ПВС. Из полученной системы пленки формовали поливом на горизонтальную подложку

в условиях комнатной температуры и нормальном атмосферном давлении. Формование пленок происходило в течение 48–72 часов. Полноту испарения растворителя фиксировали визуально, по откреплению пленки от подложки.

Процесс биодegradации оценивали по потере массы образцов и по визуальным изменениям. Продукты биодegradации тестировали на фитотоксичность по отношению к семенам льна. Для этого в качестве поливочного материала использовали водные вытяжки почв исходной для контроля и после проведенной биодegradации.

2. Физико-химические свойства водных растворов *D*-аспарагиновой кислоты

При концентрациях *D*-аспарагиновой кислоты до 0.05 г/дл наблюдается увеличение поверхностного натяжения. Согласно литературным данным [9], поверхностные свойства аспарагиновой кислоты в водном растворе тесно связаны с замыканием карбоксильных групп внутримолекулярными водородными связями. Возрастание σ свидетельствует о формировании нестабильной замкнутой конформации молекул аспарагиновой кислоты.

В исследуемом диапазоне концентраций (0-0.4 г/дл) рост показателя преломления имеет характер, близкий к линейному. Отклонения от линейности связаны, возможно, с различными межмолекулярными взаимодействиями, то есть среднестатистическая конформация молекул кислоты оказывает влияние на показатель преломления в той же мере, как и на поверхностное натяжение.

При проведении исследований методом потенциометрии, наблюдается закономерное снижение водородного показателя с ростом концентрации кислоты. При опускании pH ниже значения 3.9 при концентрации 0.05 г/дл раствор становится пригодным для перевода высокомолекулярного хитозана в солевую форму.

Кондуктометрическим методом был установлен степенной характер роста значений удельной электропроводности. Причем, аналогичная зависимость наблюдалась и для водных растворов *L*-Asp [9].

Снижение величины эквивалентной электропроводности с увеличением концентрации кислоты в системе подтверждает, что *D*-аспарагиновая кислота является слабым электролитом, однако ее растворы могут использоваться в качестве биологически активного растворителя для высокомолекулярного хитозана.

3. Физико-химические свойства водных растворов ХТЗ в *D*-аспарагиновой кислоте

В присутствии хитозана растворимость аспарагиновой кислоты при комнатной температуре возрастает. Смешение хитозана и аспарагиновой кислоты с водой приводит к взаимодействию обоих компонентов и растворению продукта взаимодействия (аспарагината хитозана). Нагревание ускоряет процесс растворения, но не является обязательным.

Проведя исследования методом сталагмометрии, было выявлено, что поверхностное натяжение остается практически постоянным во всем исследуемом диапазоне при концентрации ХТЗ от 0 до 0.3 г/дл и *D*-Asp от 0.3 до 0.8 г/дл.

Для каждой исследуемой системы наблюдается немонотонный рост значений показателя преломления.

Введение хитозана в систему повышает рН, поскольку он относится к слабым органическим основаниям.

Удельная электропроводность системы увеличивается с повышением концентрации как хитозана, так и кислоты за счет повышения ионной силы растворов.

На концентрационных зависимостях числа вязкости растворов хитозана в *D*-аспарагиновой кислоте отсутствует выраженный минимум, имеется ниспадающая ветвь, что не характерно для типичных полиэлектролитов. Это говорит о том, что полисоль хитозана и *D*-аспарагиновой кислоты проявляет свойства полиэлектролита с частично компенсированным зарядом.

Ввиду нелинейности полученных зависимостей в координатах Хаггинса, для оценки предельного числа вязкости использовали метод Иржака–Баранова

[10]. Результаты исследований показали, что с увеличением концентрации аспарагиновой кислоты в растворе предельное число вязкости и, соответственно, эффективный радиус уменьшаются. Предположительно, это связано с увеличением числа противоионов, участвующих в формировании полисоли хитозана.

4. Биодegradация и биотестирование

Пленки на основе глюкоманнана и *D*-аспарагиновой кислоты с добавкой ПВС в качестве структурообразующего компонента были исследованы на способность к биодegradации. На поверхности пленки во время ее формирования были видны небольшие образования кристаллической формы. В виду того, что глюкоманнан плохо растворим в кислой среде, можно предположить, что они являются кристаллами *D*-аспарагиновой кислоты.

На кривых изменения массы во времени при биодegradации замечен почти двукратный рост массы в первые 7 суток, далее наблюдается немоноктонное снижение массы. Было отмечено, в ходе биодegradации в течение 40 суток пленки претерпевают незначительные изменения, таким образом, являются устойчивыми в условиях эксперимента.

Продукты биодegradации тестировали на фитотоксичность по отношению к семенам льна. Для этого в качестве поливочного материала использовали водные вытяжки почв исходной для контроля и после проведенной биодegradации. Найдено, что всхожесть тестируемых семян для аспарагината хитозана превышает как контроль, так и систему сравнения.

Заключение

Таким образом, методами кондуктометрии, потенциометрии, рефрактометрии и вискозиметрии исследованы физико-химические свойства систем «*D*-аспарагиновая кислота – вода» и «хитозан – *D*-аспарагиновая кислота – вода».

При исследовании физико-химических свойств водных растворов *D*-аспарагиновой кислоты установлено, что аспарагиновая кислота является слабым электролитом, ее растворы могут использоваться в качестве биологически активного растворителя высокомолекулярного хитозана.

Исследование вязкостных свойств водных растворов *D*-аспарагината хитозана показало, что полисоль проявляет свойства полиэлектролита с частично компенсированным зарядом. Предельное число вязкости и эффективный радиус клубка уменьшаются с увеличением концентрации кислоты в системе.

Исследование плёнок на способность к биодegradации показало, что пленки являются устойчивыми в течение 40 сут. Продукты деградации нефитотоксичны. Всхожесть семян для пленок на основе *D*-аспарагината хитозана, превышает как контроль, так и систему сравнения.

Список используемых источников

1. Гальбрайт Л.С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение // Соросовский образовательный журнал. – 2001. Т. 7, №1. С. 51–56.
2. No HK, Meyers SP, Lee KS. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. // J. Agric. Food Chem. 1989. 37: 575-579. DOI: 10.1021/jf00087a001. - Яз. англ.
3. Mucha M. Chitosan: a versatile polymer from renewable sources, WNT, Warsaw, 2010. – Яз. англ.
4. Struszczyk H. Mint: Chitin and Chitosan, Part I. Properties and Production. // Polimery. 2002; 47: 316-325. - Яз. пол.
5. Ning Zhou, Shengxuan Zheng, Wanzhen Xie, Guoyu Cao, Lin Wang, Jie Pang. Konjac glucomannan: A review of structure, physicochemical properties, and wound dressing applications // J Appl Polym Sci. 2022. - Яз. Англ.
6. Луговицкая, Т. Н., Зудина, И. В., & Шиповская, А. Б. (2020). Получение и свойства аспарагиновокислых растворов хитозана. *Журнал прикладной химии*, 93(1), 90-99.
7. Сбитнева, С. В., Луговицкая, Т. Н., & Шиповская, А. Б. (2020). СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ АСПАРАГИНАТА ХИТОЗАНА.
8. Шипенок, К. М., Луговицкая, Т. Н., & Шиповская, А. Б. (2020). ВЛИЯНИЕ АСПАРАГИНАТА ХИТОЗАНА НА ВСХОЖЕСТЬ ТЕСТ-СЕМЯН. In *СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИИ* (pp. 153-156).
9. Луговицкая, Т. Н., & Шиповская, А. Б. (2017). Физико-химические свойства водных растворов L-аспарагиновой кислоты с добавкой хитозана. *Журнал общей химии*, 87(4), 650-656.
10. Чернова В.В., Туктарова И.Ф., Кулиш Е.И. Об особенностях вискозиметрического исследования хитозана в растворе уксусной кислоты // Бутлеровские сообщения. 2013. Т.34. №4. С.102-106. ROI: jbc-01/13-34-4-102.