**Постнова Ирина Васильевна. Формирование и физико-химические свойства гомогенных альгинатных гелей : Дис. ... канд. хим. наук : 02.00.04 : Владивосток, 2004 146 c. РГБ ОД, 61:04-2/361**

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РФ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ ИНСТИТУТ ХИМИИ

На правах рукописи Постнова Ирина Васильевна

ФОРМИРОВАНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГОМОГЕННЫХ АЛЬГИНАТНЫХ ГЕЛЕЙ

02.00.04. — физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, Щипунов Ю.А.

Владивосток - 2004

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР 9

1. Альгинаты 9
2. Источники, структура, физико-химические свойства 9
3. Гелеобразование, методы получения альгинатных гелей 16

А. Гелеобразование 17

Б. Методы получения гелей 20

1. Реология материалов 23
2. Основные понятия и законы реологии. Механические

модели деформируемых систем 23

1. Реологические свойства гелей альгината 35
2. Полиэлектролитные комплексы 37
3. Фазовое поведение смесей полимеров 37
4. Основные понятия в теории ПЭК 41
5. ПЭК природных полисахаридов, исследованных

в диссертации 47

А. Альгинат натрия 48

Б. Водорастворимые производные целлюлозы 50

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТА 53

1. Материалы 53
2. Приготовление растворов и гелей 54
3. Приготовление растворов и смесей полисахаридов 54
4. Получение гелей альгината 55
5. Метод «внутреннего желирования» (in situ) 55

Б. Метод электродиализа 56

1. Метод диализа 57
2. Методы исследований 58
3. Определение блочного состава альгинатов 58
4. Определение содержание кальция в гелях методом атомной абсорбционной спектроскопии 59
5. Определение вязкости растворов и молекулярной массы альгината натрия методом вискозиметрии 60
6. Реологические измерения 62
7. Определение конформации макромолекул альгината

с помощью атомной силовой микроскопии 63

ГЛАВА 3. ФОРМИРОВАНИЕ АЛЬГИНАТНЫХ ГЕЛЕЙ МЕТОДОМ

«ВНУТРЕННЕГО ЖЕЛИРОВАНИЯ» 64

1. Кинетика процессов 64
2. Реологические свойства гелей 67
3. Роль компонентов системы в гелеобразовании 70
4. Альгинат 70
5. Карбонат кальция 72
6. D-глюконо-б-лактон 74
   1. Диаграмма псевдофазового состояния 76

ГЛАВА 4. АЛЬГИНАТНЫЕ ГЕЛИ, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДАМИ

ДИАЛИЗА И ЭЛЕКТРОДИАЛИЗА 81

1. Характеристика методов 81
2. Факторы, влияющие на свойства гелей, полученных диализом

и электродиализом 82

1. Содержание кальция 82
2. Концентрация альгината натрия 87
3. Продолжительность процессов 90
4. Плотность тока 93

ГЛАВА. 5. ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НА ОСНОВЕ

АЛЬГИНАТОВ НАТРИЯ И КАТИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРООКСИЭТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ 96

1. Влияние характеристик кат-ГОЭЦ на фазовое поведение и реологические свойства смесей с Альг 98
2. Роль плотности заряда макромолекулы 98
3. Смеси Альг с кат-ГОЭЦ с различными степенью

замещения и молекулярной массой 102

1. Смеси альгината Альг с кат-ГФ ГОЭЦ 108
2. Концентрационные зависимости 110
3. Влияние структуры альгината на формирование

и свойства ПЭК 112

1. Фазовое поведение смесей альгинатов с ГОЭЦ

и кат-ГОЭЦ 113

1. Реологические свойства 114
2. Изучение конформации цепей альгинатов с помощью

атомной силовой микроскопии 117

1. Молекулярная модель формирования водорастворимых комплексов на основе альгината натрия и кат-ГОЭЦ 118
2. Роль ПЭК в формировании альгинатных гелей по методу «внутреннего желирования» 121
3. Синерезис и реологические свойства 121
4. Молекулярная модель 124

[ВЫВОДЫ 127](#bookmark17)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 129

ВВЕДЕНИЕ

Гели, называемые в русскоязычной литературе иногда студнями, а в англоязычной - мягкими материалами (soft materials), представляют широ­чайший спектр самых разнообразных функциональных материалов, зани­мающих промежуточное положение между жидкостями и твердыми телами. Они обладают порой уникальными механическими, оптическими и электри­ческими свойствами, что определяет их различное применение в промыш­ленности и быту. В последнее время большое внимание привлекают мате­риалы на основе биополимеров, которые отличаются от синтетических поли­меров отсутствием токсичности и биосовместимостью с живыми системами. Такие гелевые системы находят самое широкое применение в пищевой про­мышленности, фармакологии, косметике, биотехнологии и биоинженерии. Кроме того, они лежат в основе многих тканей и жидкостей в живом орга­низме. В связи с огромной практической и биологической значимостью гелей биополимеров проводятся масштабные исследования в многочисленных ла­бораториях мира, что говорит об актуальности данной темы.

Среди биополимеров наиболее широкое использование находят поли­сахариды, а в их ряду альгинат, являющийся анионным полиэлектролитом, относится к числу основных. Он формирует гели в водных растворах при до­бавлении солей кальция или противоположно заряженных полимеров. При этом обычно происходит фазовое разделение систем в результате сокраще­ния объема (синерезиса) геля. Это находит самое широкое применение для получения мембран, сорбентов, формирования оболочки микрокапсул, выде­ления и иммобилизации белков, создания имплантантов и искусственных тканей для живого организма. Однако осаждение гелей при добавлении же- лирующих агентов ограничивает области применения альгината. Существует настоятельная потребность в разработке методов получения гомогенных ге­левых систем, гелеобразование в которых не сопровождалось бы фазовым расслоением.

В настоящее время метод «внутреннего желирования» является основ­ным для промышленного производства гомогенных альгинатных гелей. Он заключается в разложении карбоната кальция при медленном подкислении раствора гидролизующимся Б-глюконо-б-лактоном (ГЛ). Главным недостат­ком метода является наличие синерезиса в гелевых системах, заключающего­ся в медленном сокращении их объема и выделении воды. Систематического изучения условий получения гомогенных гелей, в которых отсутствует сине­резис, проведено не было.

Проблема получения гомогенных, несинерезисных гелей представляет не только практический, но и теоретический интерес, поскольку она связана с выяснением механизма гелеобразования и перестройки структуры во вре­мени.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы заключалась в выяснении условий и механизма формирования гомогенных альгинатных ге­лей при добавлении солей кальция и/или катионного полисахарида. Для ее достижения были поставлены следующие основные задачи:

* Определить условия формирования, фазовое поведение, роль каждого компонента системы и взаимосвязь между ними, свойства и структуру гелей, полученных по методу «внутреннего желирования». Выяснить зависимость гелеобразования от блочной структуры полисахарида.
* Изучить возможности синтеза альгинатных гелей с помощью электро­диализа как альтернативы диализу, используемому в настоящее время. Сопоставить свойства материалов, полученных двумя методами в ре­зультате поступления катионов кальция из внешней камеры, для выяв­ления возможных отличий между ними.
* Установить условия гелеобразования и свойства водорастворимых по- лиэлектролитных комплексов (ПЭК) альгината с катионными произ­водными гидрооксиэтилцеллюлозы (кат-ГОЭЦ) в зависимости от плот­ности заряда на макромолекуле, молекулярной массы (ММ), гидрофоб- ности и блочного состава полисахаридов.
* Провести исследование смешанных альгинатных гелей, полученных сочетанием метода «внутреннего желирования» с формированием ПЭК в системе.

Поставленные задачи решались с привлечением динамической реоло­гии, вискозиметрии, атомной силовой микроскопии, ^-ЯМР-спектроскопии, атомной абсорбционной спектроскопии, методов диализа и электродиализа. Их совокупность позволила охарактеризовать фазовое поведение систем, вы­яснить распределение кальция в полученных материалах, провести процессы во внешнем электрическом поле, установить зависимость гелеобразования от блочного состава альгинатов, определить механические свойства и структуру гелей и на этой основе составить общую картину поведения систем и пред­ложить механизмы гелеобразования альгината в водных растворах.

Научная новизна работы

* Проведено систематическое изучение роли каждого из компонентов гелеобразующей системы и взаимосвязи между ними при получении альгинатных гелей по методу «внутреннего желирования», что позво­лило построить псевдофазовую диаграмму состояния, на которой опре­делены области существования гелевых фаз с разными фазовым пове­дением, оптическими и механическими свойствами.
* Впервые синтезированы гели с применением электродиализа. Его со­поставление с методом диализа выявило ряд достоинств, обусловлен­ных контролированием процесса переноса и распределения кальция в системе внешним электрическим полем.
* Получены новые водорастворимые ПЭК альгината с различными кати­онными производными гидрооксиэтилцеллюлозы. Установлены зави­симости их формирования, свойств и структуры от плотности заряда на макромолекуле, ММ, гидрофобности и блочного состава полисахари­дов, что позволило предложить молекулярную модель комплексов.
* Впервые ПЭК альгината применены для устранения синерезиса в ге­лях, приготовленных по методу «внутреннего желирования». Изучение условий получения, фазового поведения и свойств привело к понима­нию механизма формирования гомогенных смешанных гелевых сис­тем.

Практическая значимость работы. Предложены методы получения и направленного регулирования свойств гомогенных альгинатных гелей, кото­рые могут найти разнообразное применение, включая пищевую промышлен­ность, фармакологию, биотехнологию и биоинженерию.

На защиту выносятся:

* псевдофазовая диаграмма состояния альгинатных гелей, синтезируе­мых по методу «внутреннего желирования»;
* электродиализный метод получения гелей;
* молекулярная модель формирования ПЭК альгината с катионными производными гидрооксиэтилцеллюлозы;
* механизм формирования гомогенных смешанных гелей, составленных из альгината кальция и ПЭК.

Апробация работы. Основные положения и результаты работы доло­жены на пяти Международных конференциях и симпозиумах, в том числе на 74th Colloid and Surface Science Symposium (Bethlehem, Pennsylvania, USA, 2000), The 2nd International Rhodia Conference «Physical Chemistry of Polymeric Systems» (Bristol, Great Britain, 2002), 2-м и 3-ем Международных симпозиумах «Химия и химическое образование» (Владивосток, 2000; 2003), 18th European Conference on Biomaterials (Stuttgart, Germany, 2003).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи:'три — в научных журналах и одна - в материалах международной конференции.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, пяти глав, выводов и списка цитируемой литературы (167 ссылок). Общий объем дис­сертации составляет 146 страниц, в том числе 4 таблицы, 57 рисунков.

выводы

1. Проведено систематическое исследование условий и кинетики геле­образования по методу «внутреннего желирования», фазового поведения и свойств полученных гелей альгината кальция, что позволило установить роль и взаимосвязь между компонентами реакционной системы и на этой основе построить диаграмму псевдофазового состояния, определяющую области существования гелей с различными синерезисом, оптическими и механиче­скими свойствами гелей. Показано, что гелеобразование имеет место только при наличии остатков гулуроновой кислоты в альгинате. Оно отсутствовало в случае полисахарида, содержащего остатки маннуроновой кислоты.
2. Предложен новый метод получения альгинатных гелей, основанный на электродиализе, и проведено его сопоставление с методом диализа, широ­ко используемым в настоящее время. Показано, что внешнее электрическое поле позволяет регулировать перенос катионов кальция из внешней камеры и их распределение в системе, обеспечивая достижение гомогенности, в то время как диализ обычно приводит к формированию гетерогенных материа­лов.
3. Определены закономерности образования водорастворимых поли- электролитных комплексов альгината с катионными производными гидроок- сиэтилцеллюлозы в зависимости от плотности заряда, молекулярной массы и присутствия гидрофобного заместителя в макромолекуле катионного произ­водного гидрооксиэтилцеллюлозы. Впервые установлено, что блочная струк­тура альгината оказывает значительное воздействие на растворимость, свой­ства и структуру водорастворимых полиэлектролитных комплексов. Пред­ложена молекулярная модель полиэлектролитных комплексов, учитывающая различия в конформации и гибкости гулуронатных и маннуронатных блоков в макромолекуле альгината.
4. Изучены смешанные альгинатные гели, составленные из альгината кальция и полиэлектролитных комплексов с катионными производными гид- рооксиэтилцеллюлозы. Впервые обнаружено, что полиэлектролитный ком­плекс устраняет развитие фазового разделения и синерезис гелей, сформиро­ванных методом «внутреннего желирования», позволяя получить гомогенные материалы. Предложена молекулярная модель, которая объясняет эффект по- лиэлектролитных комплексов разделением сшитых линейных участков цепей альгината клубками макромолекул катионных производных гидрооксиэтил- целлюлозы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Усов А. И., Чижов А. **О.** Полисахариды водорослей. XL. Углеводный со­став бурой водоросли chorda filum // Биорган, химия. - 1989. - Т. 15, № 2. -С. 208-216.
2. Miller I. J. Alginate composition of some New Zeland brown seaweeds // Phytochem. - 1996. - V. 41, № 5. - P. 1315-1317.
3. Усов А. И., Билан М. И. Полисахариды водорослей. 49. Выделение аль­гината, сульфатированного ксилогалактана и фторидного крахмала из известковой красной водоросли Bossiella cretacea (P. et R.) Johansen (Rhodophyta, Corallinaceae) // Биорган, химия. - 1996. - Т. 22, № 2. - С. 126-133.
4. Day D. F. Alginates. In: Biopolymers from renewable resources. / Eds. Kap­lan D. L., Berlin.: Springer, - 1998. - P. 119-143.
5. Мое S. Т., Draget К. I., Skjak-Braek G., Smidsrod O. Alginates. In: Food polysaccharides and their applications. / Eds. Stephen, A. M. New York.: Marcel Dekker, - 1995. - P. 245-266.
6. Усов А. И. Альгиновые кислоты и альгинаты: методы анализа, опреде­ления состава и установления строения // Усп. хим. - 1999. - Т. 68, №11. -С. 1051-1061.
7. Calumpong Н. P., Маура А. P., Magbanua М. М. Population and alginate yield and quality assessment of four Sargassum species in Negros Island, cen­tral Philippines // Hydrobiologia. - 1999. - V. 398/399. - P. 211-215.
8. Haug A., Myklestad S., Larsen B., Smidsrod O. Corellation between chemical structure and physical properties of alginate // Acta Chem. Scand. - 1967. - V. 21, №3.-P. 768-778.
9. Clare K. Algin. In: Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives. / Eds. Whistler R. L., BeMiller J. N. New York, San Diego.: Academic Press, - 1993.-P. 105-143.
10. Onsoyen E. Alginates. In: Thickening and gelling agents for food. / Eds. Imerson A. London.: Blackie academic and professional, - 1997. - P. 22-43.
11. Liu Y., Jiang X., Cui H., Guan H. Analysis of oligomannuronic acids and oli- goguluronic acids by high-performance anion-exchange chromatography and electrospray ionization mass spectrometry // J. Chromatogr. A. - 2000. - V. 884.-P. 105-111.
12. Grasdalen H., Larsen B., Smidsrod O. A P.M.R. study of the composition and sequence of uronate residues in alginates // Carbohydr. Res. - 1979. - V. 68. - P. 23-31.
13. Аминина H .М., Подкорытова А. В. Альгинаты: состав, свойства, приме­нение//Изв. ТИНРО. - 1995. - Т. 118. - С. 130-136.
14. Aliste A. J., Vieira F. F., Del Mastro N. L. Radiation effects on agar, alginates and carrageenan to be used as food additives. // Rad. Phys. Chem. - 2000. - V.
15. - P. 305-308.
16. Kelly B. J., Brown М. T. Variations in the alginate content and composition of Durvillaea antarctica and D. willana from southern New Zealand // J. Appl. Phycology. - 2000. - V. 12. - P. 317-324.
17. Franz G., Alban S., Kraus J. Novel pharmaceutical applications of polysac­charides //Macromol. Symp. - 1995. - V. 99. - P. 187-194.
18. Sime **W.** J. Alginate. In: Food gels. / Eds. Harris P. London.: Elsevier Applied Science, - 1990. - P. 53-77.
19. Меркин А. П., Таубе П. P. Непрочное чудо. М.: Химия, - 1983. 224 с.
20. Cottrell I., Kovacs P. Algin. In: Food Colloids. / Eds. Graham H.D. West port, Connecticut.: The AVI Publishing. - 1977. - P. 438-463.
21. Cottrell I. W., Kovacs P. Alginates. In: Handbook of water-soluble gums and resins. / Eds. Davidson, R. L. New York.: McGraw-Hill Book Company, - 1980.-P. 2-1-2-43.
22. Бреслер C.E., Ерусалимский Б.JI. Физика и химия макромолекул. Москва -Ленинград: Наука, - 1965. 509 с.
23. Dates С. G., Ledvard D. A. Studied on the effect of heat on alginates. // Food Hydrocoloids. - 1990. - V. 4, № 3. - P. 215-220.
24. Толстогузов В. Б. Искусственные продукты питания. М.: Наука, - 1978. 231 с.
25. Smidsrod **О.** Solution properties of alginate // Carbohydr. Res. - 1970. V. 13. - P. 359-372.
26. Park H.-J., Khang Y.-H. Production of cephalosporin С by immobilized Cephalosporium acremonium in polyethyleneimine-modified barium alginate // Enzyme Microb. Technol. - 1995. - V. 17. - P. 408-412.
27. Honghe Z. Interaction mechanism in sol-gel transition of alginate solutions by addition of divalent cations // Carbohydr. Res. - 1997. V. 302. - P. 97-101.
28. DeRamos С. М., Irwin A. E., Nauss J. L., Stout В. E. ,3C NMR and molecular modeling studies of alginic acid binding with alkaline earth and lanthanide metal ions // Inorgan. Chem. Acta. - 1997. - V. 256. - P. 69-75.