

И. И. Осовская

**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ГЛАВЫ
ТЕХНОЛОГИИ ПОЛИМЕРНЫХ
МАТЕРИАЛОВ**

**Физико-химические свойства хитина,
хитозана и волокон на их основе**

Учебное пособие

**Санкт-Петербург
2021**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

**«Санкт-Петербургский государственный университет
промышленных технологий и дизайна»
Высшая школа технологии и энергетики**

И. И. Осовская

**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ГЛАВЫ
ТЕХНОЛОГИИ ПОЛИМЕРНЫХ
МАТЕРИАЛОВ**

**Физико-химические свойства хитина, хитозана
и волокон на их основе**

Учебное пособие

Утверждено Редакционно-издательским советом ВШТЭ СПбГУПТД

Санкт-Петербург
2021

УДК 541.64
ББК 24.5.я7
О352

Рецензенты:

доктор технических наук, зав. кафедрой технологии бумаги и картона ВШТЭ СПбГУПТД

Е. Г. Смирнова;

доктор химических наук, зав. кафедрой общей химии Военно-медицинской академии
им. С. М. Кирова

Н. Н. Химич

Осовская И. И.

О352 **Дополнительные главы технологии полимерных материалов. Физико-химические свойства хитина, хитозана и волокон на их основе: учеб. пособие / И.И. Осовская. — СПб.: ВШТЭ СПбГУПТД, 2021. — 80 с.**
ISBN 987-5-91646-263-0

Учебное пособие соответствует программам и учебным планам дисциплины «Дополнительные главы химической технологии полимеров» для студентов, обучающихся по направлению подготовки 18.04.01 «Химическая технология». В пособии рассматриваются физико-химические, физико-механические свойства хитозана, хитина и волокон на их основе высокая биологическая активность которых при отсутствии токсичности определяет перспективы их использования в медицине, биоинженерии, биотехнологиях, косметической, пищевой, текстильной и многих других отраслях.

Пособие предназначается для бакалавров и магистров очной и заочной форм обучения.

УДК 541.64
ББК 24.5.я7

ISBN 987-5-91646-263-0

© ВШТЭ СПбГУПТД, 2021
© Осовская И. И., 2021

Содержание

Введение	5
1. ХИТИН И ХИТОЗАН — ПОЛИСАХАРИДЫ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	6
1.1. Основные определения.....	6
1.2. Сырье для получения хитина и хитозана	7
1.3. Технология получения хитина и хитозана.....	11
1.4. Технологические схемы выделения хитина химической обработкой ПСС.....	13
1.5. Получение хитина с использованием ферментов	14
1.6. Производство хитозана.....	15
1.7. Низкомолекулярный хитозан и его олигомеры	20
1.8. Совместное производство хитина и хитозана различных марок	22
1.9. Определение свойств хитина и хитозана различными методами	25
1.10. Применение хитина и хитозана	25
1.10.1. Доставка лекарств с пролонгированным высвобождением из полимерной матрицы.....	27
1.10.2. Противовирусные свойства хитозана	30
1.10.3. Влияние хитозана на фаговые инфекции	30
2. ХИТИН-ГЛЮКАНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ	35
2.1. Хитин-глюкановый комплекс как компонент клеточных стенок грибов	35
2.2. Состав хитин-глюканового комплекса.....	36
2.3. Физико-химические свойства ХГК	39
2.3.1. Молекулярные и гидродинамические характеристики ХГК.....	44
2.4. Методы исследования ХГК	45
2.4.1. Результаты исследований ХГК	46
2.5. Биоактивные свойства ХГК	54

3. ПРИМЕНЕНИЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА В ПРОИЗВОДСТВЕ	
ВОЛОКОН	57
3.1. Получение волокон	57
3.2. Свойства волокон из хитозана	61
3.2.1. Механические свойства хитозановых нитей.....	66
Заключение	72
Список рекомендуемой литературы.....	73

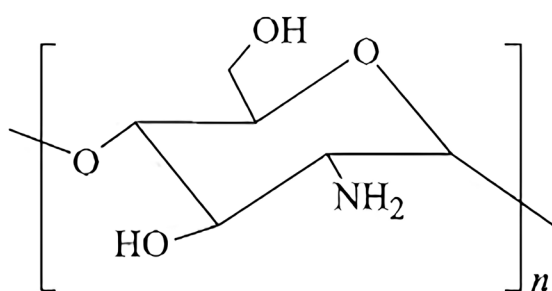
Введение

В настоящее время внимание ученых и технологов привлекают природные полимеры как экологически безопасные вещества, получаемые из возобновляемых источников. Среди них прочное место заняли хитин и его производные. Способность этих полисахаридов к волокно- и пленкообразованию, ионному обмену, высокая биологическая активность при отсутствии токсичности определяют перспективы их использования в медицине, биотехнологиях, косметической, пищевой, текстильной и многих других отраслях. Следует отметить и такие медицинские аспекты, как применение в лечебной практике радиационно-модифицированных гетерополисахаридов, в частности, хитозана. Параллельно с этим при использовании радиационной технологии автоматически решается и проблема обеззараживания материалов, уничтожения патогенной микрофлоры. Хитозан (ХТ) является одним из наиболее эффективным радиопротектором. Важным его отличием являются его биосовместимость (приготавливается из природного хитина) и биоразрушаемость под действием ферментов, что является не всегда желательным фактором. Для обеспечения пролонгированного действия хитозана имеются, как минимум, два возможных пути. Первый путь — это изменение его молекулярной структуры, увеличение плотности упаковки с соответствующим уменьшением доступности звеньев ХТ для ферментов. Второй путь — это перевод ХТ в водонерастворимую форму.

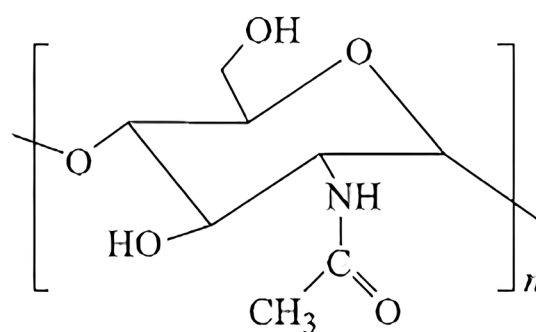
1. ХИТИН И ХИТОЗАН — ПОЛИСАХАРИДЫ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

1.1. Основные определения

Хитин — широко распространенный в природе линейный амино-полисахарид, макромолекула которого построена из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-*D*-гликопиранозных звеньев, связанных β -(1-4)-гликозидными связями. Хитин и синтетически получаемый из него хитозан представляют большой интерес в качестве материалов медикобиологического назначения. Важной особенностью хитина и хитозана является их биосовместимость и биодegradуемость.



ХИТИН



ХИТОЗАН

Из полисахаридов по распространенности в природе хитин уступает только целлюлозе. Основным сырьем для получения хитина в промышленных масштабах служат панцири ракообразных, хитин также содержится и в других природных объектах, например, куколке и кутикуле насекомых, гладиусе кальмара, сепионе каракатиц.

Макромолекулы хитина образуют фибриллярные структуры с линейной конформацией, поддерживаемой водородными связями. Структура, получаемая из практически параллельных пучков, упорядочена в трех измерениях, что характерно для кристаллов. Такое строение во многом определяет свойства хитина, в частности его нерастворимость в воде и обычных растворителях.

Растворимость хитозана определяется степенью его деацетилирования,

т.е. соотношением числа свободных аминогрупп к общему числу звеньев полимера. Обычно растворимостью в кислой среде обладают хитозаны со степенью деацетилирования выше 70 %. Содержание высокорекреакционноспособной первичной аминогруппы, кроме того, расширяет возможности его применения (табл.1).

Таблица 1 — Растворимость хитина и хитозана

Полимер	Растворимость
Хитин	В концентрированных соляной, серной и муравьиной кислотах, а также в некоторых растворах солей при нагревании (с частичной деструкцией); в смеси диметилацетамида, N-метил-2-пирролидона и хлорида лития (без разрушения полимерной структуры)
Хитозан	В воде в виде солей органических и неорганических кислот, кроме серной

ОН группа при C(6), которая имеет свободное вращение, вероятно, связана внутримолекулярной водородной связью с кислородом мостика и атомом азота соседней глюкозаминной единицы.

Рентгенографические исследования последних лет выявили существование хитина в трех кристаллических формах α , β и γ , отличающихся размерами кристаллической решетки. Кристаллическая решетка хитина орторомбическая. Элементарная ячейка решетки содержит фрагменты только двух цепей, идущих в противоположных направлениях.

1.2. Сырье для получения хитина и хитозана

В природных объектах хитин является компонентом гликопептида и химически связан с его белковой частью пептидной связью, образующейся при уча-

стии одной из деацетилованных аминогрупп хитина. Помимо гликопептида, в состав панциря ракообразных также входят неорганические соли, главным образом — карбонат кальция.

Таким образом, панцирь ракообразных построен из трех основных элементов — хитина (жесткой внешней оболочки), белка, минеральных соединений и некоторого количества липидов и пигментов, которые придают ему необходимую прочность и свойства живой ткани.

Химический состав панциря зависит от вида ракообразного и изменяется в зависимости от стадии развития организма. У ракообразных сразу после линьки панцирь мягкий, эластичный и состоит лишь из хитин-белкового комплекса. Со временем панцирь минерализуется, в основном, карбонатом кальция, и его структура становится прочной.

Промышленным сырьем при технологическом получении хитина обычно являются панцири промысловых ракообразных.

Для организации достаточно крупного производства хитина и хитозана из панцирей ракообразных необходим массовый и постоянный источник панцирьсодержащего сырья (ПСС). К таким источникам в России относятся промысловые запасы камчатских крабов и крабов-стригунов на Дальнем Востоке, скопления некоторых видов креветок в северных и дальневосточных морях, большие популяции рачка-бокоплава (гаммаруса) в озерах Южного Урала и Западной Сибири, а также массовые скопления рачков *Euphausia superba Dana* или антарктического криля, общая биомасса которого составляет более 2 млрд тонн, что позволяет добывать до 15 млн тонн ежегодно.

В качестве сырья для получения хитина и хитозана в Японии и Китае используются ПСС от переработки крабов и креветок, а в США — ПСС крабов и омаров. Количество подобных отходов может составлять до 70- 80% от общей массы выловленных ракообразных, что создает устойчивую сырьевую базу для производства хитина и хитозана в этих странах.

Сравнительный химический состав различных видов ПСС приведен в табл. 2.

Таблица 2 — Химический состав различных видов панцирь содержащего сырья (% в пересчете на сухое вещество)

ПСС	Белок	Липиды	Минеральные вещества	Хитин
Панцирь криля сушеный	25-30	1-3	20-22	25-30
Панцирь розовой северной креветки	43-55	10,5-13,5	26-29	17-20
Рачок гаммарус сушеный	50-54	6-8,5	15-18	22-25
Панцирь краба сушеный (крупка)	25-30	2-4	35-40	24-30
Панцирь рака речного сушеный	22-27	3-6	41-51	22-37
Гладиус кальмара (скелетная пластинка)	—	2-5	0,5-2	28-35

Панцирь крабов замораживают, сушат или химически консервируют в зависимости от его вида и качества. Например, панцирь ходильных конечностей, получаемый при глубокой переработке крабов, предпочтительно замораживать. Для заготовки панциря отходы производства консервов промывают в морской воде, отделяют избыточную влагу и дробят в специальных дробилках на кусочки размером не более 4 см. Дробленный продукт замораживают блоками массой не более 10 кг при температуре не выше -18 °С. Продолжительность хранения мороженого панциря краба — не более года. Хитозан, полученный из того же сырья, считается продуктом высшего качества, пользующегося спросом как на внутреннем, так и на внешнем рынке. Также практикуется заготовка ПСС краба в сушеном виде.

Современное состояние крабового промысла диктует необходимость применения в производстве хитина и хитозана целого панциря головогруды (карапакса). Заготовленный на судах-краболовах сыро-мороженный или варено-мороженный карапакс дробят на рыбомучной установке, получая крабовую крупку с размером частиц от 0,6 до 6 мм.

Использование химического консервирования крабового панциря позволяет заготавливать ПСС при небольших объемах промысла и обеспечивает быстрое прекращение автолиза сырья. Из известных методов химического консервирования лучше применять щелочное, так как при этом способе наряду с консервированием сырья протекает и щелочное депротеинирование, что облегчает дальнейшую переработку. Консервирование панциря крабов гидроксидом натрия позволяет получить в условиях промысла ПСС продукт, содержащий 5-8 % белка, и сырье, пригодное для получения качественного хитозана. Похожие методы применяют и при обработке панциря креветок.

Панцирь криля Панцирьсодержащие отходы криля, получаемые при производстве пищевой продукции, после отделения избыточной влаги должны быть высушены или заморожены. Мороженный панцирь в блоках по 10 кг хранят при $t = -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, сушеный — при температуре окружающего воздуха в течение года. Однако в промысловых условиях не всегда можно заморозить или высушить все ПСС. В этом случае панцирьсодержащие отходы химически консервируют.

В качестве консервантов используются препараты, обеспечивающие сохранность консервируемого материала в условиях положительных температур и не оказывающие отрицательного влияния на качество и выход хитина и хитозана. Этим требованиям удовлетворяют соляная, муравьиная и уксусная кислоты, гидроксиды натрия и калия, формальдегид, метабисульфит натрия, нитрат натрия и др.

В связи с тем, что соляная кислота и гидроксид натрия применяются в технологии получения хитина и хитозана, они наиболее предпочтительны для консервирования панцирьсодержащих отходов криля. Добавление соляной кислоты

или гидроксида натрия в количестве 2,5 % от массы панцирьсодержащих отходов обеспечивает их сохранность в течение года.

Гаммарус для получения хитина заготавливают в мороженом и сушеном виде. Целый гаммарус замораживают блоками по 10 кг до $t = -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, или сушат в сушилках с принудительной циркуляцией горячего воздуха. Продолжительность хранения мороженого и сушеного гаммаруса — 1 год.

1.3. Технология получения хитина и хитозана

Хитин и хитозан получают совместно в ходе одного технологического цикла или по отдельности.

В нашей стране первый отечественный опытно-промышленный участок по производству хитина/хитозана из панциря дальневосточных крабов был создан в 1979 г. во Владивостоке. Через 3 года в г. Мурманске на опытном участке Севбыттехцентра были уточнены параметры получения хитина кислотнo-щелочным гидролизом из панциря баренцевоморской креветки.

Как было отмечено выше, хитин, входя в состав белок-хитозанового комплекса и являясь нерастворимым в воде полимером, не поддается выделению непосредственно из панциря, поэтому для его получения необходимо последовательно отделить белковую и минеральную составляющие панциря, т.е. растворить их и удалить. Для создания модификаций хитина медицинского назначения необходимо полное отсутствие белковой и минеральной составляющих панциря, так как остаточный белок может вызвать у больных аллергическую реакцию.

Выбор метода выделения чистого хитина определяется составом компонентов панциря, который может быть использован непосредственно или служить биоматериалом для получения хитозана. Основой любой из применяемых технологических схем выработки хитина из панциря ракообразных является его отделение от остальных составных частей панциря.

Все известные способы извлечения хитина из ПСС можно разделить на две группы: 1) химическая обработка кислотами и щелочами, 2) биотехнологические

методы, предусматривающие применение ферментных препаратов и бактерий, вызывающих протеолиз.

Химическая очистка хитина кислотами и щелочами от белка и минеральных веществ составляет основу большинства современных промышленных технологий получения хитина и хитозана. Многие из них базируются на одно- или двухстадийной очистке хитина от белка и минеральных соединений — депротенировании и деминерализации. В некоторых технологиях также предусмотрено отделение липидов и пигментов.

Химическое депротенирование осуществляется обработкой хитинсодержащего сырья растворами щелочей при значениях температуры от комнатной до температуры кипения раствора. Условия депротенирования зависят от требований к конечному продукту, которые, в свою очередь, определяются областью применения. Так, однократная обработка щелочью используется для обработки мягкого и тонкого панциря криля или гаммаруса. Двукратная обработка нужна для полного удаления белка из хитина.

Деминерализация — важная стадия при производстве хитина. Степень деминерализации определяет вязкостные и прочие физико-химические характеристики как хитина, так и получаемого из него хитозана. Удаление минеральных веществ (в основном карбоната и фосфата кальция) из панциря при производстве хитина обычно происходит при обработке соляной, муравьиной, азотной или сернистой кислотами.

Остаточное содержание минеральных веществ при однократной кислотной обработке панциря обычно не превышает 1 — 3 %, но повторная деминерализация позволяет получать хитин без примесей золы, что также играет важную роль при обработке толстого панциря крабов и раков. Отметим, что воздействие кислоты на хитинсодержащее сырье иногда приводит к частичной деструкции и деацетилированию хитина и снижает вязкость раствора хитозана. Однако наличие в исходном хитине карбоната кальция повышает вязкость получаемого хитозана, так как ионы кальция увеличивают термостабильность хитина и понижают степень его деструкции при деацетилировании. Поэтому в некоторых случаях обра-

ботку кислотой не проводят. Таким образом получают зольный хитозан, содержащий до 30 % гидроксида кальция. Этим способом, при прочих равных условиях, получают хитозан с высокой молекулярной массой и вязкостью. Он применяется для производства сульфатов хитозана с антикоагулянтной активностью, которые используются в медицине в качестве аналогов гепарина.

1.4. Технологические схемы выделения хитина химической обработкой ПСС

Обобщенная блок-схема получения хитина из различных видов ПСС с помощью химических реагентов. В зависимости от вида ПСС и требуемого качества хитина, а также получаемого из него хитозана число стадий депротенирования (ДП) и деминерализации (ДМ) и их последовательность различаются. Наиболее часто используют схемы 1 — 6 (табл. 3). Примеры технологических режимов для этих процессов сведены в табл. 3.

Таблица 3 — Схемы выделения хитина

Схема 1	Схема 2	Схема 3	Схема 4	Схема 5	Схема 6
ДП-1	ДМ-1	ДП-1	ДП-1	ДМ-1	ДП-1
↓	↓	↓	↓	↓	↓
ДМ-1	ДП-1	ДМ-1	ДП-2	ДП-1	ДМ-1
↓	↓	↓	↓	↓	↓
ДП-2	ДП-2	ДП-2	ДМ-1	ДП-2	Хитин
↓	↓	↓	↓	↓	—
ДМ-2	ДМ-2	Хитин	Хитин	Хитин	—
↓	↓	—	—	—	—
ДП-3	Хитин	—	—	—	—
↓	—	—	—	—	—

Схема 1	Схема 2	Схема 3	Схема 4	Схема 5	Схема 6
ДМ-3	—	—	—	—	—
↓	—	—	—	—	—
Хитин	—	—	—	—	—

Хитины, полученные при чередовании стадий ДМ и ДП, обладают лучшими качественными характеристиками. Порядок проведения депротеинирования и деминерализации оказывает большое влияние на качество получаемого хитина и в последующем хитозана. При обработке ПСС по схеме ДМ-ДП крабовый хитозан характеризуется значительно более высокой кинематической вязкостью, чем крабовой хитозан, произведенный по схеме ДП-ДМ.

На эффективность процессов деминерализации и депротеинирования существенное влияние оказывает степень измельчения панциря, обеспечивающая увеличение поверхности соприкосновения полимера с реагентом, но при этом выход готового продукта снижается из-за возрастания технологических потерь при обработке.

1.5. Получение хитина с использованием ферментов

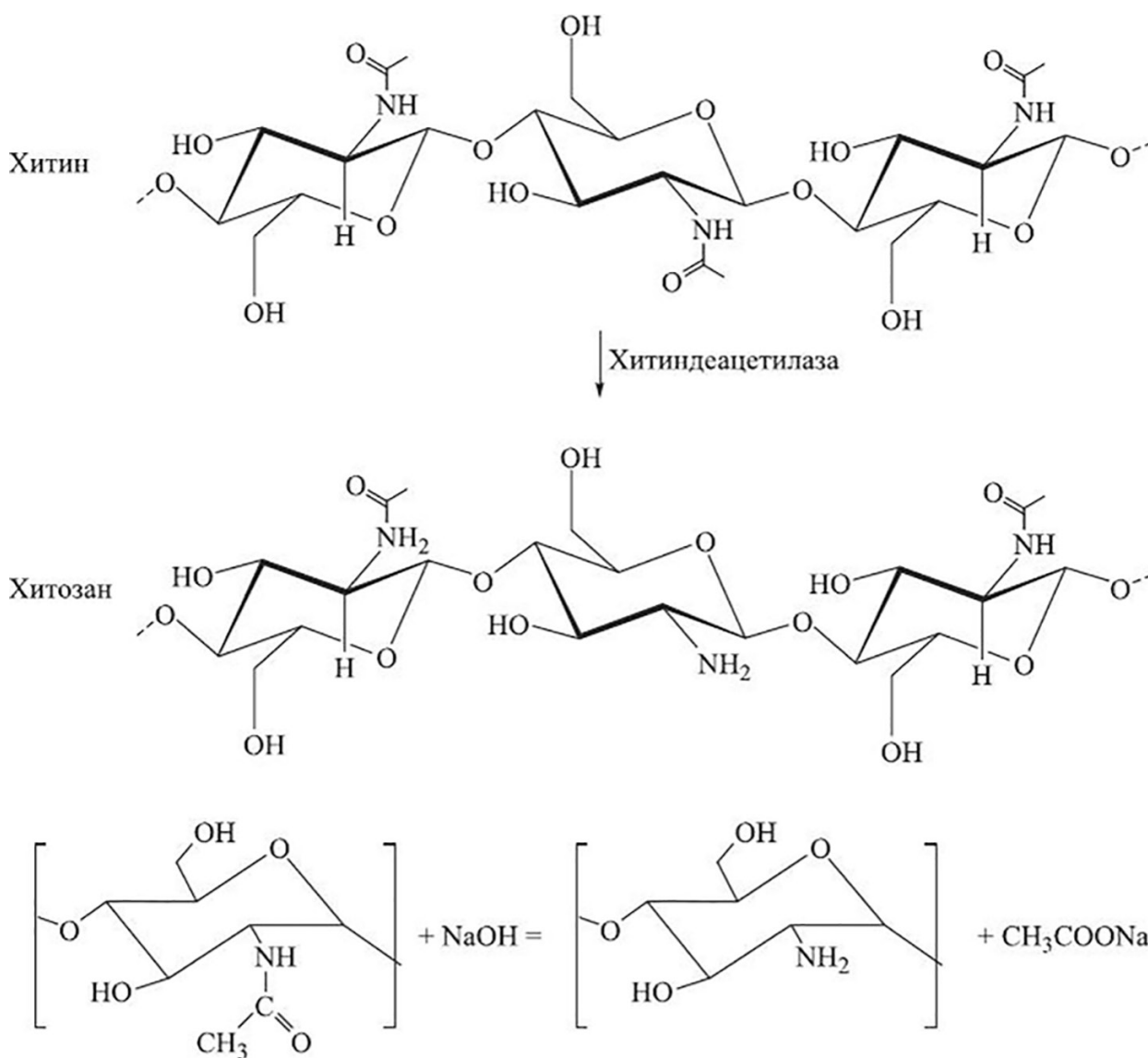
Применение ферментов для депротеинирования панциря позволяет обрабатывать панцирьсодержащее сырье в более мягких условиях. При этом удается совместить несколько технологических стадий, что в целом упрощает процесс. Кроме того, снижается агрессивность реакционной среды и затраты на оборудование, увеличивается срок его службы.

Биотехнологические способы получения хитина позволяют практически полностью удалить белок панциря (до 95 %), что дает возможность получать из хитина хитозан и его производные. Применение ферментных препаратов на стадии депротеинирования позволяет выделять белок, содержащийся в панцире ракообразных, и использовать его в качестве кормов. Однако при ферментативном

методе часть белка (5 — 12 %) может остаться, поэтому требуется дополнительная стадия химического депротеинирования в присутствии щелочи. Набухание хитина после ферментолиза обеспечивает более эффективное воздействие на структуру панциря (это позволяет снижать концентрацию щелочи до 1 %), при этом концентрация белка, оставшегося после щелочного депротеинирования, уменьшается до 1 %.

Ферментативный способ получения хитина из панциря краба почти всегда предусматривает на первой стадии его деминерализацию соляной кислотой.

1.6. Производство хитозана



В основе получения хитозана лежит реакция полного или частичного отщепления от структурной единицы хитина — N-ацетил-D- глюкозамина — ацетиль-

ной группировки в соответствии с химической реакцией либо с участием фермента хитиндеацетилазы, либо под действием щелочи.

Деацетилирование протекает с одновременным разрывом части гликозидных связей полимера, поэтому образующийся хитозан представляет собой полидисперсный по молекулярной массе полимер D-глюкозамина с существенно более низкой средней молекулярной массой, чем у исходного хитина. В большинстве случаев технический хитозан содержит до 5 — 15 % остаточных ацетамидных групп и до 1 % групп, соединенных с аминокислотами и пептидами и находящихся в макромолекуле после депротеинирования липопротеидного комплекса ПСС.

Технический хитозан — продукт в виде чешуек диаметром менее 10 мм или порошок различной степени помола, цветом от белого до кремового, часто с желтоватым, сероватым или розоватым оттенком, без запаха. К характерным свойствам сухого хитозана относятся электризуемость и вязущий вкус. По токсичности хитозан относится к 4 классу и считается безопасным.

Деацетилирование обычно проводят путем добавления к хитину концентрированных растворов щелочей при повышенной температуре. Раньше хитозан получали сплавлением хитина с твердой щелочью при 180 °С. Этим способом производили продукт со степенью деацетилирования 95 %, но деструктурированный до средней степени полимеризации около 20. В последнее время все большее распространение находят методики деацетилирования хитина 30-50%-ми растворами щелочей. Процесс в водных растворах щелочей может обеспечить 100%-ю степень деацетилирования в ступенчатом процессе и значительно меньше деструктурирует хитозан.

Наличие в этом процессе растворов щелочей высокой концентрации в сочетании с высокой температурой реакции диктует необходимость использования оборудования, изготовленного из никелевых сплавов или с никелевым покрытием. Но чаще всего для деацетилирования применяют реакторы, сконструированные из легированных жаропрочных сталей и снабженные перемешивающим устройством и паровой рубашкой.

Определенную сложность представляет регенерация или утилизация сточных вод — щелочных растворов. Обычно щелочное деацетилирование проводят в 30-50%-м растворе щелочи и, хотя в процессе реакции концентрация щелочи снижается, ее слив непосредственно в систему канализации недопустим.

Деацетилирование может быть проведено как в гетерогенных условиях, так и в гомогенных.

Деацетилирование в гетерогенных условиях — более простой процесс, однако качество получаемого продукта ниже.

Щелочное деацетилирование в гетерогенных условиях изучено достаточно хорошо. Высокая устойчивость хитина к деацетилированию объясняется наличием водородной связи между карбонильной группой и азотом амидной группы смежных цепочек хитина в мицеллярной структуре. Для разрушения этой весьма прочной связи процесс проводят при высокой температуре — 80 — 160 °С.

В аморфных участках полимера деацетилирование происходит быстрее, чем в кристаллических, в связи с чем остаточные ацетамидные группы в полученном хитозане, по-видимому, распределяются блоками. Характер распределения может меняться в зависимости от условий проведения реакции, агрегатного состояния и свойств самого хитина (т. е. источника и способа его получения, размера частиц, степени кристалличности и др.). Отметим, что при высоких температурах протекает деструкция полимера, приводящая к полидисперсному по молекулярной массе продукту.

Показано, что с увеличением температуры даже при невысокой концентрации щелочи (30 %) степень деацетилирования достигает почти предельного значения (98 %), однако одновременно снижается молекулярная масса, а значит, и вязкость растворов хитозана. Для сохранения молекулярной массы полимера целесообразно понижать температуру обработки хитина. Реакция деацетилирования наиболее быстро проходит в течение первого часа воздействия щелочью. За это время хитин деацетилирует примерно на 70 % при обработке 50% -й щелочью при $t = 100$ °С. Далее скорость реакции значительно снижается и через 5 ч степень деацетилирования достигает лишь 80 %. Таким образом,

длительная обработка не приводит к резкому повышению степени деацетилирования, в то же время деструкция полимера происходит равномерно на всем протяжении процесса.

Важную роль для получения однородного продукта играет степень измельчения хитина перед деацетилированием. Измельчение облегчает доступ деацетилирующего агента внутрь структуры хитина, поэтому возможно более равномерное протекание реакции деацетилирования и сопровождающей ее деструкции. Если частицы хитина слишком крупные, то процесс проходит не полностью, т.е. поверхностные слои таких частиц деацетилированы в большей степени, внутренние — в меньшей.

При растворении в уксусной кислоте поверхностные слои переходят в раствор, а внутренние не полностью деацетилированные слои частиц лишь набухают. Такая неоднородность снижает качество продукта и ограничивает область его применения. При измельчении хитина до частиц размером менее 0,5 мм все слои деацетилируются одинаково, что приводит к получению более однородного продукта.

Деструкция макромолекулярной цепи протекает быстрее в присутствии кислорода. Самый простой способ его удаления — утряска смоченного щелочью хитина с вытеснением остатков воздуха из тары азотом и последующей герметизацией емкости. Также применяются барботирование реакционной массы азотом, пропускание его над поверхностью и другие приемы. При деацетилировании хитина в инертной среде всегда наблюдается повышение молекулярной массы и вязкости хитозанов без снижения степени деацетилирования в отличие от проведения деацетилирования на воздухе.

Важным фактором при деацетилировании хитозана является перемешивание реакционной массы. Известны способы получения хитозана и в реакторах с перемешиванием, и в емкостях из различных материалов (включая полимерные) без перемешивания. При перемешивании необходимо учитывать консистенцию реакционной массы, которая определяется соотношением жидкой и твердой фаз. Оптимальное соотношение хитин: раствор щелочи — от 1:5 до 1:12. Такая

суспензия хорошо перемешивается в реакторе и не требует избытка щелочи.

Деацетилирование в гомогенных условиях. Для снижения степени влияния полученного хитина (источник и способ получения, размер частиц, степень кристалличности и др.) на воспроизводимость основных характеристик хитозана предпринимаются попытки перехода от гетерогенных условий реакции деацетилирования к гомогенным.

Сухой или размороженный хитин механически измельчают и суспендируют в водном 13 — 24%-м растворе NaOH. Концентрация хитина в суспензии составляет 1 — 10 %. Щелочную суспензию хитина замораживают, а затем размораживают при $t = 22 \pm 2$ °С. При этом хитин сильно набухает, образуя гомогенную систему — вязкую текучую опалесцирующую жидкость от желтого до коричневого цвета.

Щелочной раствор хитина, предназначенный для деацетилирования, выдерживают при $t = 22 \pm 2$ °С или нагревают, из-за этого он теряет текучесть и образует гель, который механически измельчают до частиц размером 3-5 мм и отмывают от щелочи дистиллированной водой до нейтрального значения pH, а полученный хитозан сушат при $t = 50-55$ °С. Хитозаны, произведенные по этому методу, не электризуются при измельчении, имеют высокую молекулярную массу (до $8 \cdot 10^5$) и хорошо растворимы при $pH < 5,5$. Деацетилирование в гомогенных условиях также позволяет регулировать степень деацетилирования хитозанов в широких пределах.

Химический способ получения хитозана без промежуточного выделения хитина. Совмещение стадий депротеинирования и деминерализации с деацетилированием хитина позволяет непосредственно получать хитозан. По одному из способов, панцирьсодержащее сырье размалывают до получения частиц размером 3 — 6 мм. Далее массу загружают в реактор и в противотоке экстрагируют белок 0,5 — 2,0%-м раствором гидроксида натрия в течение 1 — 4 ч при $t = 50 — 70$ °С.

При дальнейшей обработке совмещают стадии деминерализации и деацетилирования, воздействуя на депротеинированный панцирь 30 — 50%-м

раствором гидроксида натрия при $t = 120 — 150$ °С. В этом случае протекает одновременное деацетилирование хитина и превращение карбоната кальция в гидроксид кальция. В сточном растворе после описанной выше операции содержится избыток гидроксида натрия, ацетата натрия и карбоната натрия. Раствор NaOH регенерируют и используют повторно. Смесь хитозана и гидроксида кальция экстрагируют водным раствором сахарозы. Гидроксид кальция переходит в растворимый в воде сахарат кальция и удаляется, в результате получается чистый хитозан.

1.7. Низкомолекулярный хитозан и его олигомеры

При дальнейшей обработке совмещают стадии деминерализации и деацетилирования, воздействуя на депротеинированный панцирь 30 — 50%-м раствором гидроксида натрия при $t = 120-150$ °С. В этом случае протекает одновременное деацетилирование хитина и превращение карбоната кальция в гидроксид кальция. В сточном растворе после описанной выше операции содержится избыток гидроксида натрия, ацетата натрия и карбоната натрия. Раствор NaOH регенерируют и используют повторно. Смесь хитозана и гидроксида кальция экстрагируют водным раствором сахарозы. Гидроксид кальция переходит в растворимый в воде сахарат кальция и удаляется, в результате получается чистый хитозан.

Для получения хитозанов, растворимых при нейтральных значениях pH, исходные хитозаны гидролизуют химически или ферментативно. Иными словами, для уменьшения молекулярной массы хитозана могут быть использованы как химические, так и ферментативные методы.

В качестве химического гидролизующего реагента чаще всего применяют 3 — 10%-й водный раствор пероксида водорода при нагревании до $t = 30 — 50$ °С. Такой способ гидролиза снижает молекулярную массу хитозана и улучшает его растворимость в слабокислых водных растворах. На выходе получают продукт полидисперсный по молекулярной массе и растворимый в разбавленных растворах кислот при $pH < 5,5$.

В качестве препаратов для контролируемой деструкции хитозана и хитина с целью получения полимера заданной молекулярной массы используют комплексы ферментов различного происхождения, например, ферментативные комплексы гепатопанкреаса краба или криля и панкреатин из поджелудочной железы крупного рогатого скота. Часто для этой цели применяют ферментативные комплексы микробиологического происхождения, обладающие хитинолитической активностью. Некоторыми продуцентами хитинолитических ферментных комплексов являются *Streptomyces kurssanovii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Trichoderma sp.*

Использование ферментных препаратов для деструкции хитозана позволяет получать водорастворимые низкомолекулярные хитозаны и олигомеры с гораздо более высокой биологической активностью по сравнению с высокомолекулярными хитозанами.

Сушка хитозана. Хитозан после деацетилирования и отмывки до нейтрального значения рН представляет собой сильно гидратированный, набухший продукт с содержанием воды более 70 %. Для предотвращения ороговения его сушат при $t = 50 — 55^{\circ}\text{C}$. Сушка при более высоких температурах приводит к уплотнению, потемнению и потере растворимости хитозана, что сужает область его применения. Оптимально высушивание хитозана в псевдокипящем слое при $t = 50^{\circ}\text{C}$. Для сушки низкомолекулярного водорастворимого хитозана и олигосахаридов используют распылительные и лиофильные сушилки. В воздушно-сухом хитозане содержание воды составляет не более 8 — 10 %.

Измельчение хитозана. Для использования хитозана, например, в фармацевтике в качестве субстрата для таблетирования и капсулирования его необходимо измельчить до размера частиц 100 — 200 мкм. Хитозан, сохраняя кристаллическую структуру хитина, плохо поддается измельчению и сильно электризуется, поэтому для получения порошкообразного продукта его последовательно измельчают резанием, истиранием и ударно-сдвиговой деформацией с применением дезинтеграторов, мельниц и шаровых мельниц соответственно. Наибольшую

трудность при проведении процесса вызывает плохо высушенный или ороговевший хитозан, поскольку он пластичен и плохо поддается измельчению.

Хранение хитозана. При хранении на свету хитозан приобретает коричневый цвет, а его растворимость снижается. Особенно подвержен этому тонко измельченный, распылительно высушенный и низкомолекулярный хитозан. При хранении в помещениях с повышенной влажностью или при перепадах температур порошковый хитозан может слеживаться, так как данное соединение гигроскопично. Поэтому обычно хитозан герметично укупоривают в светонепроницаемую упаковку (банки, пакеты, мешки) и помещают в теплые сухие закрытые помещения с $t = 15 — 30 \text{ }^\circ\text{C}$.

1.8. Совместное производство хитина и хитозана различных марок

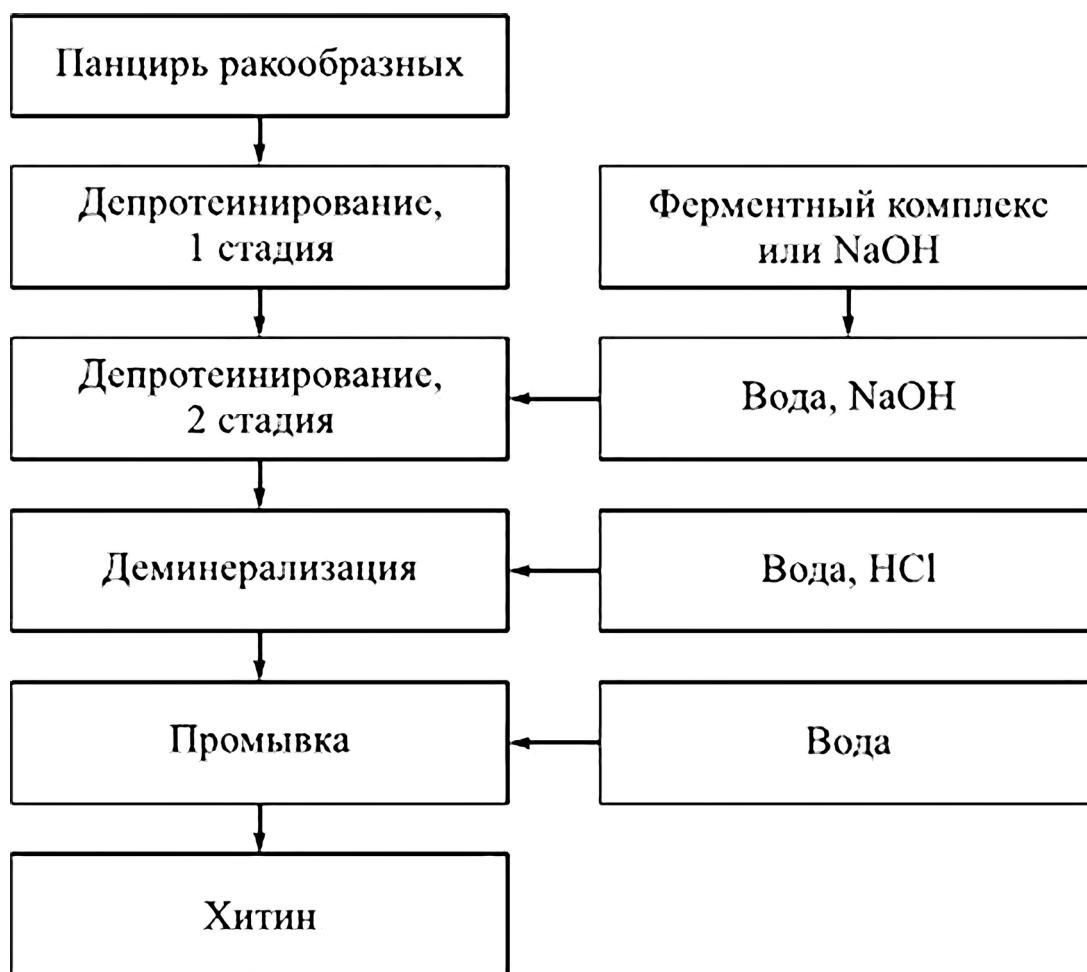


Рис.1. Принципиальная технологическая схема получения хитина, соответствующая типовой схеме совместного производства хитина и хитозана различных марок

На рис. 1 — 3 приведены принципиальные технологические схемы, включающие получение хитина из панциря ракообразных и производство двух марок хитозана — пищевого и медицинского. Основные стадии этих процессов проводятся в условиях, совпадающих с отдельным производством хитина и хитозана. В данном случае применена схема 4 (см. табл. 3), когда хитин выделяют в две стадии: депротоинирования и деминерализации.

Качество продуктов. Важнейшими показателями, определяющими область применения хитина и хитозана, являются чистота полимеров, вязкость растворов и молекулярная масса для растворимых аналогов.

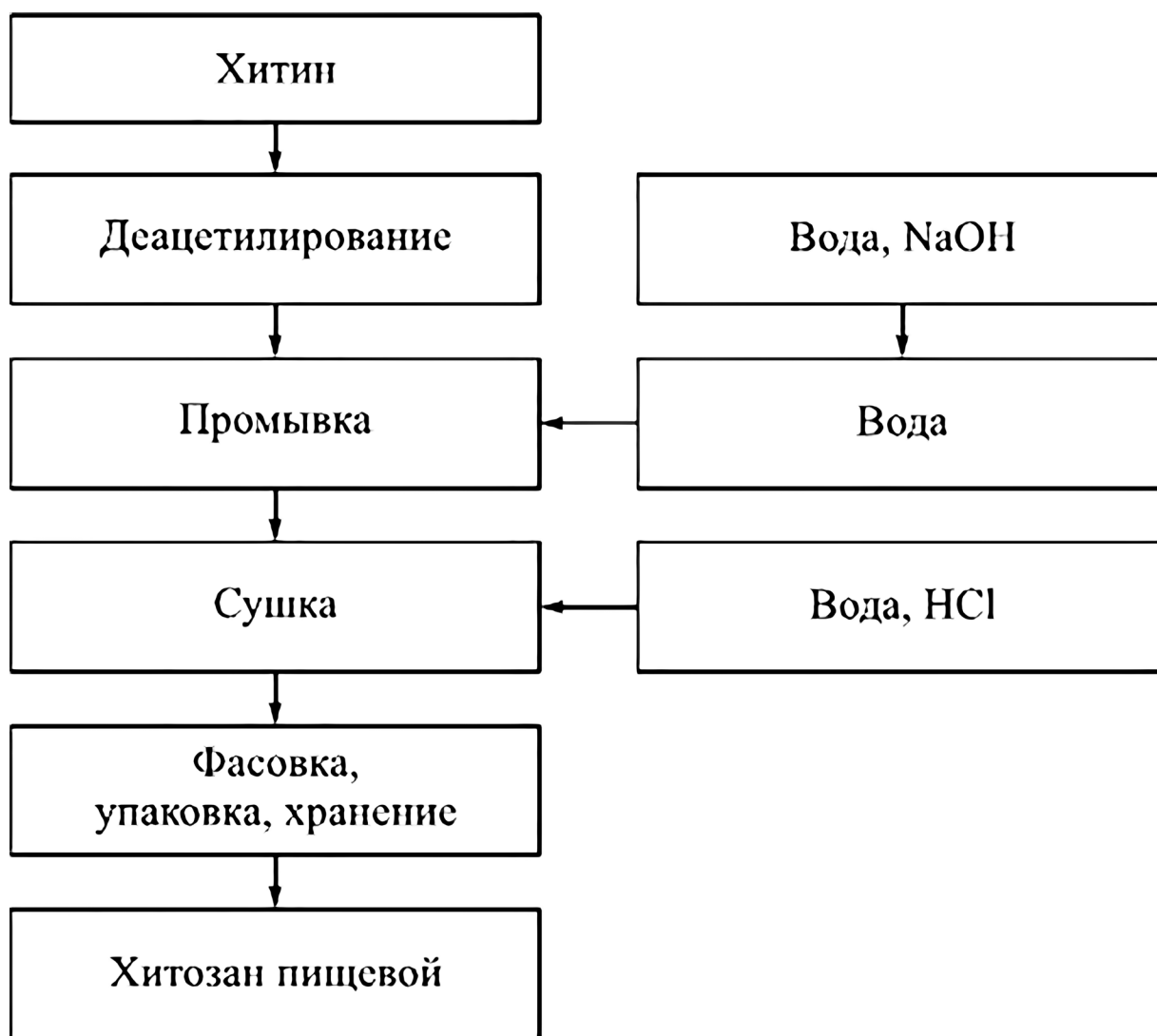


Рис. 2. Принципиальная технологическая схема получения пищевого хитозана

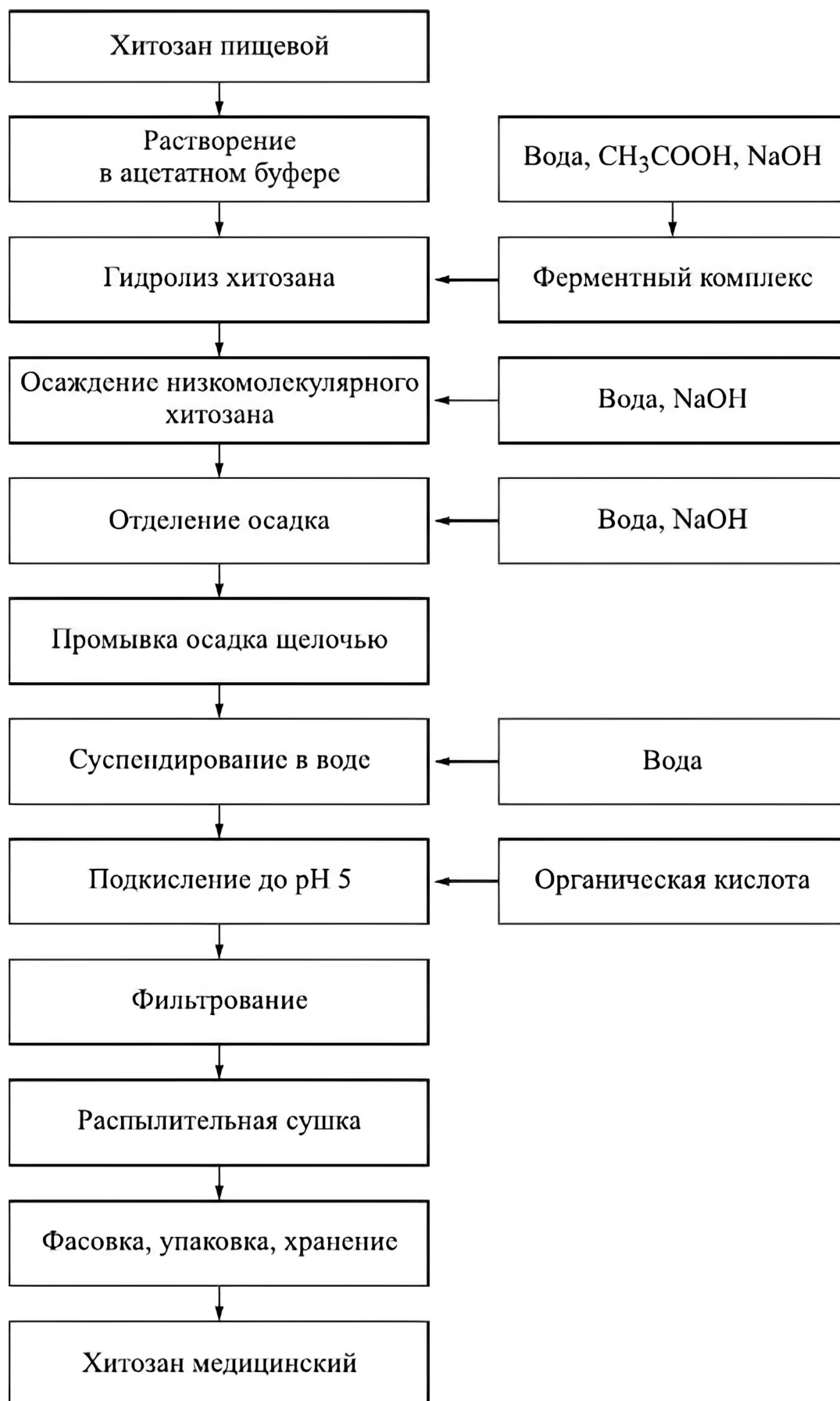


Рис. 3. Принципиальная технологическая схема производства медицинского хитозана

1.9. Определение свойств хитина и хитозана различными методами

Метод кондуктометрического титрования Измерение электропроводности раствора проводят при титровании раствора хитозана раствором NaOH при $t = 25 \pm 0,1$ °C. Этот метод широко используется при анализе высокоацетилированных хитозанов.

Из других способов определения содержания в полимере первичных аминогрупп применяют модифицированный метод Ван-Слайка, основанный на измерении объема азота, выделившегося при реакции полимера с азотистой кислотой, получаемой *in situ* при обработке вводимого в реакционную смесь нитрата натрия уксусной кислотой.

Определение молекулярной массы хитозана Среднечисловая молекулярная масса хитозана может быть определена вискозиметрически с использованием следующих констант: $K_m = 3,860$ и $a = 0,850$. Для определения характеристической вязкости $[\eta]$, как правило, используют вискозиметр Убеллоде с разбавлением и диаметром капилляра 0,5 мм. Вязкость растворов хитозанов измеряют в ацетатном буфере (0,2 М) при $t = 25 \pm 0,05$ °C в диапазоне концентраций 0,025 — 0,1 г/дл. Приготовление раствора концентрацией 0,1 г/дл проводят в течение 2 ч, которых достаточно для растворения высокомолекулярных фракций.

Определение динамической вязкости растворов хитозана Для определения динамической вязкости готовят 1%-й раствор хитозана в 1% -й уксусной кислоте и измеряют его вязкость на ротационном вискозиметре при $t = 20 \pm 2$ °C.

1.10. Применение хитина и хитозана

Улучшенная растворимость низкомолекулярных хитозанов расширяет сферу их применения в качестве полимеров медицинского назначения. Например, на их основе разработаны эффективные радиопротекторы, хиральные селекторы различных субстанций медицинского назначения, антикоагулянты с высокой антигепариновой активностью (табл. 4).

Таблица 4. — Основные области применения хитина и хитозана

Полимер	Применение
Хитин	<p>Порошок и пленки с кровеостанавливающей и ранозаживляющей активностью для обработки ран. Апиrogenные хирургические нити. Исходное сырье для получения компонентов лекарственных препаратов — Л-глюкозамина и олигомеров с противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью</p>
Хитозан	<p>Компоненты композиций перевязочных материалов для заживления ран (тонкоизмельченный хитозан или его смеси с лекарствами, хитозан-коллагеновые комплексы). Биосорбенты. Биологически активные пищевые добавки. Мембраны для аппаратов «Искусственная почка».</p> <p>Носители лекарств и препараты со стерилизующей, дезинфицирующей, антикоагулянтной, антитромбогенной активностью (хитозан и его производные, например аддукт хитозана с иодом, карбоксиметилхитозан)</p>

Самостоятельное применение хитин нашел в медицине. Это хирургические рассасывающиеся шовные нити, матричные материалы для получения трансплантатов, необходимых при лечении обширных ожоговых и раневых повреждений кожных покровов. Для подобных целей требуется высокоочищенный, высокомолекулярный хитин, отвечающий определенным требованиям. Области применения хитозана значительно шире сферы применения хитина. Его исполь-

зование в медицине, в частности, в хирургии, стоматологии, онкологии, иммунотерапии и т.д. предопределяет 28 II. Полиморфизм целлюлозы и хитина высокие требования к качеству препаратов, лекарственных форм и непосредственно к хитозану. В сельском хозяйстве хитозан используют для повышения устойчивости растений к различным заболеваниям. Биоцидная активность хитозана повышается с уменьшением его молекулярной массы. В этом отношении требования к хитину более мягкие, чем к пищевому и медицинскому хитозану. В ветеринарии хитозан применяют для повышения неспецифической резистентности животных к инфекционным заболеваниям. Хитозан используют в пищевой, бумажной, текстильной промышленности. Эти перечисления далеко не исчерпывают направления применения хитозана.

1.10.1. Доставка лекарств с пролонгированным высвобождением из полимерной матрицы

Большинство используемых терапевтических средств, несмотря на безусловную эффективность при лечении того или иного заболевания, вызывают нежелательные побочные эффекты. Идеальная лекарственная система должна осуществлять точную доставку лекарственного вещества в больной орган и его высвобождение в нужный момент, когда организм в нем нуждается, и в минимальном количестве, необходимом для лечения. Создание такой системы позволило бы существенно снизить дозы лекарственных веществ и, следовательно, избежать их побочных воздействий.

Наиболее удобный традиционный способ введения лекарств – пероральный – позволяет избежать связанных с инъекциями боли и риска инфицирования. Более того, лекарственные формы, предназначенные для перорального приема, более дешевы, поскольку для их приготовления не нужны стерильные условия. Скорость выделения контролируется количеством лекарства в матрице, растворимостью его в полимере, степенью гидратации геля, кинетикой набухания-обезвоживания полимера. Скорость сорбции и десорбции можно направленно менять путем введения в гель лигандов, способных специфически связываться с сорбируемым веществом.

Кишечная стенка представляет собой основной барьер, через который терапевтические вещества могут проникать в кровоток. Однако если маленькие молекулы, такие как аминокислоты и сахара могут свободно преодолеть стенку кишечника за счет активного транспорта через клеточную мембрану, то для таких крупных молекул, как белки, мембрана клеток кишечника практически непроницаема. Таким образом, для создания лекарственных форм белков, пептидов, гормонов и других высокомолекулярных гидрофильных соединений необходимо воспользоваться принципом «Троянского коня»: макромолекулы должны быть «замаскированы» (включены внутрь гидрофобных микрочастиц, которые путем эндоцитоза смогут попасть внутрь клетки кишечной стенки).

В настоящее время известны примеры успешного использования целого ряда полимерных систем на основе хитозана для доставки и контролируемого освобождения биологически активных веществ через слизистые и, в частности, при их пероральном введении. Основные требования к лекарственной форме, предназначенной для перорального приема, следующие: обеспечение защиты «начинки» от действия протеолитических ферментов и кислой среде желудка ($\text{pH}=2$) и контролируемое высвобождение лекарства в нейтральной среде ($\text{pH } 7,0 — 7,4$) тонкого кишечника или прямой кишки. Среди множества примеров из литературы приведем лишь несколько. Например, английские ученые предложили разработку новых полимерных микрочастиц на основе гиалуроновой кислоты — хитозана для назальной (через слизистые носовой полости) доставки гентамицина, которая оказалась в 30 — 40 раз эффективнее, чем доставка этого антибиотика в виде раствора или сухого порошка. Польскими учеными предлагается использовать микрокристаллический хитозан в виде гидрогелевых частиц в качестве эффективного средства пролонгированной доставки кетопрофена. Отметим также публикацию испанских ученых, которые предлагают использовать хитозановые носители для доставки доксорубина для терапии рака. В Японии предлагают использовать хитозановые капсулы, нагруженные противовоспалительным лекарством

(5-аминосалициловой кислотой), для лечения колитов в модели на крысах. Наконец, параллельно несколько лабораторий занимаются разработкой хитозановых микрокапсул с инкапсулированным в них инсулином для перорального применения.

Однако не всегда можно достичь желаемого результата пероральным или назальным введением лекарств. Наиболее эффективными, особенно когда пациент находится в критической ситуации, как известно, являются внутримышечные или внутривенные инъекции. Интересно отметить, что в последние годы возникло целое новое направление, изучающее введение внутримышечно пациенту лекарств не в виде растворов, а в виде нано- или микрочастиц (или микрокапсул) на основе биосовместимых биodeградирующих природных или синтетических полимеров, либо в виде полимерных водных растворов, которые образуют гель при попадании в тело пациента. Это так называемые «инъектируемые гели», а научное направление называется клеточной инженерией и представляет собой новый подход к лечению самых различных заболеваний, и в частности для восстановительной хирургии костей и хрящевых тканей. Такие гели имеют преимущества перед традиционным способом введения имплантантов в виде заранее полученных полимерных структур: 1) полимерный раствор легко принимает форму дефекта, 2) может содержать различные терапевтические агенты (например, ростовые факторы, которые вводятся в полимерный раствор непосредственно перед инъекцией) и 3) наконец, что самое существенное, для введения его не требуется хирургической операции. Отметим, что механизмы гелеобразования *in situ* могут быть следующими: желирование при изменении температуры или pH, сшивка различными ионами, изменение растворителя или кристаллизация. Хитозан и здесь находит все более широкое применение благодаря своей биосовместимости, биodeградируемости и относится к pH-обратимым полимерным гелям. Следует особо отметить, что хитозан и его комплексы с гепарином или декстрансульфатом являются прекрасным структурным материалом для репарации тканей, так как обеспечивают хорошую адгезию, распластывание и рост клеток.

1.10.2. Противовирусные свойства хитозана

Одной из уникальных биологических активностей хитозана является его способность индуцировать устойчивость к вирусным заболеваниям у растений, ингибировать вирусные инфекции у животных и предотвращать развитие фаговых инфекций в зараженной культуре микроорганизмов. Ниже будут рассмотрены данные о влиянии хитозана на вирусные инфекции у микроорганизмов, растений и животных, проанализировано влияние на противовирусную активность хитозана таких факторов, как средняя степень полимеризации (средняя молекулярная масса), степень N-деацетилирования, величина положительного заряда и характер химических модификаций молекулы. Обсуждаются возможные механизмы подавления вирусных инфекций хитозаном.

1.10.3. Влияние хитозана на фаговые инфекции

Хитозан, добавленный в питательную среду, препятствует размножению вирулентных бактериофагов в зараженной культуре грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Выход инфекционных ДНК-содержащих фагов в присутствии хитозана может снижаться на несколько порядков.

Степень подавления инфекции зависит от вида бактериофага и вида микроорганизма, от состава питательной среды, а также от концентрации хитозана и его физико-химических свойств. Так хитозаны со степенью полимеризации 250 ч выше значительно сильнее ингибировали колифаговые инфекции, чем их фрагменты со степенью полимеризации $CD = 15-19$. С другой стороны, олигомеры хитозана более эффективно, чем их полимерный предшественник, предотвращали размножение фага 1-97А в культуре *Bacillus thuringiensis*.

Была исследована также активность нескольких дезаминированных производных хитозана, которые отличались степенью дезаминирования (от 10 до 50%) и степенью полимеризации (от 28 до 4, соответственно). Способность этих производных подавлять развитие инфекций, вызываемых бактериофагами Т2, I Г7 и 1-97А, не зависела от степени дезаминирования.

Анионные производные 6-О-сульфат хитозана и N-сукцинат-6-О-сульфат хитозана не влияли на развитие фаговых инфекций. Вероятно, положительный за-

ряд молекулы хитозана имеет важное значение для подавления инфекции. Предполагается, что хитозан препятствует размножению бактериофагов несколькими путями: а) снижая жизнеспособность бактериальной культуры; б) нейтрализуя инфекционность зрелых фаговых частиц в инокулюме и/или дочерних фаговых частиц; в) блокируя процесс репродукции вирулентного фага. Состояние бактериальной культуры имеет первостепенное значение для развития фаговой инфекции, потому что фаги способны размножаться только в жизнеспособных клетках. Вместе с тем, известно, что хитозан обладает бактерицидными свойствами в отношении многих видов микроорганизмов, в том числе в отношении *Escherichia coli* и клеток рода *Bacillus*. Предполагается, что бактерицидная активность хитозана может быть опосредована двумя механизмами. Согласно первому из них связывание хитозана с отрицательно заряженными структурами клеточной поверхности (липидом А, тейхоевыми кислотами, полярной группой фосфолипидов) приводит к усилению проницаемости и дезинтеграции клеточной стенки и плазматической мембраны микроорганизмов. Второй механизм предполагает, что молекулы хитозана проникают в клетку и, электростатически связываясь с ДНК, ингибируют транскрипцию.

Исследование бактерицидной активности различных форм хитозана, эффективно подавлявших фаговые инфекции, показало следующее. Ни один из изученных препаратов хитозана или его производных не влиял на жизнеспособность культуры *B. thuringiensis*. Хитозан CD = 250 обладал заметной бактерицидной активностью в отношении культуры *E. coli*, в то время как его олигомеры ингибировали рост культуры только в первые минуты инкубации, а затем рост возобновлялся и достигал контрольного уровня. Не обнаружено влияния высокополимерного хитозана на рост культуры другого грамотрицательного микроорганизма *Glucanobacter oxydans*. Таким образом, бактерицидная активность хитозана, очевидно, не является фактором, определяющим его способность ингибировать фаговые инфекции.

В то же время было обнаружено, что хитозан, добавленный к фаговой суспензии, снижает ее титр, т.е. каким-то образом нейтрализует инфекцион-

ность фаговых частиц. При этом олигомеры хитозана снижали титр суспензии фагов – Т2, Т4 и Т7 значительно сильнее, чем их полимерный предшественник в такой же концентрации. Наоборот, высокополимерный хитозан намного эффективнее, чем его фрагменты, понижал инфекционность фага 1-97А. Следует отметить, что дезаминированные хитозаны инактивировали колифаги слабее, чем их немодифицированные аналоги с такой же степенью полимеризации. С повышением степени дезаминирования инактивирующая активность в отношении фагов Т2 и Т7 понижалась, так что производное хитозана, дезаминированное на 50 %, вообще не обладало такой активностью.

Электронномикроскопические исследования показали, что добавление хитозана к суспензии фаговых частиц вызывает заметные изменения структуры фагов. У фага 1-97 А наблюдали распад частиц на головку и отросток и выход ДНК из фаговой головки. В случае фага Т2 наблюдали сокращение чехла отростка, не сопровождавшееся инъекцией фаговой ДНК, и утрату длинных хвостовых фибрилл. Очевидно, что такие изменения структуры фаговых частиц ведут к потере их инфекционности. Другим важным результатом взаимодействия хитозана с фагом 1-97А является агрегация интактных частиц или отдельных отростков в районе базальной пластинки. Предполагается, что агглютинирующим агентом является хитозан. Не исключено, что именно связывание хитозана с базальной пластинкой, в которой локализованы рецептор-распознающие фаговые белки, провоцирует выход ДНК из фаговой частицы в отсутствие клетки-хозяина. Обусловлено ли это тем, что остатки глюкозамина являются crucialной структурой фагового рецептора, или имеет место неспецифическое взаимодействие хитозана с базальной пластинкой, еще предстоит выяснить.

Важно подчеркнуть, что степень выраженности структурных изменений фаговых частиц, наблюдаемых под электронным микроскопом, в целом, соответствовала уровню их инактивации, выявляемому при определении титра фаговой суспензии. Таким образом, инактивация играет важную роль в подавлении фаговых инфекций.

Вместе с тем, очевидно, что способность хитозана предотвращать развитие фаговых инфекций опосредована также и другими механизмами. Так, обнаружены производные хитозана, которые не влияли ни на рост культуры микроорганизмов, ни на фаговые частицы, но, тем не менее, ингибировали инфекционный процесс. Такими свойствами обладали, например, гидрохлорид хитозана и производное, дезаминированное на 50 % (степень полимеризации 4). Обнаружено также, что способности хитозана ингибировать инфекцию и инактивировать фаговые частицы не коррелируют между собой. Так, хитозан со степенью полимеризации 19 эффективно инактивировал фаг T2, однако сравнительно слабо ингибировал размножение фага. Напротив, хитозан со степенью полимеризации 250 практически не инактивировал фаги T2 и T7, однако препятствовал их репродукции. Олигомеры хитозана эффективно ингибировали размножение фага 1-97A в культуре бацилл, но слабо инактивировали зрелые фаговые частицы. В то же время высокополимерный хитозан, возможно, ингибировал фаговую инфекцию в основном за счет инактивации частиц фага 1~97A. Чем бы ни объяснялись эти результаты, они недвусмысленно показывают, что хитозан подавляет фаговые инфекции не только за счет инактивации фаговых частиц, но и препятствуя репродукции бактериофагов.

Пока неизвестно, какой из этапов репродукции является мишенью для действия хитозана. Установлено, что хитозан, добавленный в культуру сразу после завершения адсорбции фага, действует столь же эффективно, как и хитозан, внесенный до заражения. Поэтому представляется маловероятным, что хитозан ингибирует инфекцию, препятствуя адсорбции фага. Ряд данных указывает на то, что хитозан влияет на какие-то внутриклеточные стадии репродукции бактериофагов. Так олигомер хитозана, добавленный к зараженной культуре *B. thuringiensis* после завершения адсорбции фага 1-97A и лишенный возможности, в силу условий опыта, инактивировать дочерние фаговые частицы, полностью блокировал развитие инфекции. В то же время в его присутствии синтезировались неинфекционные фаговые частицы, лишенные ДНК. Кроме того, обнаружено, что хитозан препятствовал индукции профага и предотвращал последующий лизис

культуры *B. thuringiensis*. Учитывая, что репликация фаговой ДНК и морфогенез фаговых частиц тесно связаны с мембранами, можно предположить, что ингибирование репродукции бактериофагов опосредовано влиянием хитозана на клеточные мембраны микроорганизмов.

Таким образом, основными причинами подавления фаговой инфекции хитозаном являются инактивация фаговых частиц и ингибирование репродукции бактериофагов на внутриклеточном уровне. Относительный вклад каждого из этих компонентов зависит от структуры молекулы хитозана и вида бактериофага.

Важно отметить, что, препятствуя размножению вирулентных бактериофагов в зараженной культуре микроорганизмов, хитозан предотвращал фаголизис культуры. При этом хитозан не влиял, например, на сорбозо-продукцирующую активность *G. oxydans*. Вполне вероятно, что хитозан может быть использован для индукции фагорезистентности в культурах промышленных микроорганизмов для предотвращения нежелательного фаголизиса, происходящего из-за контаминации инокулюма вирулентным бактериофагом или спонтанной индукции профага в лизогенной культуре.

2. ХИТИН-ГЛЮКАНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ

2.1. Хитин-глюкановый комплекс как компонент клеточных стенок грибов

Присутствие хитина в грибах было обнаружено в конце XVIII века. Последующие исследования доказали его идентичность с животным хитином. Распространенность грибных организмов в природе и их высокая продуктивность делает этот источник хитина промышленно значимым, особенно при использовании мицелия грибов, применяемых в биотехнологических процессах получения органических кислот, ферментов, антибиотиков. Расположение этих производств в промышленных центрах и крупнотоннажность производств поставили задачу утилизации мицелиальных отходов, а стабильность технологических условий гарантируют стандартность мицелиальных отходов. В этих биотехнологиях используются низшие грибы родов *Allomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Phicomycetes* и др. Наиболее экономически выгодным направлением утилизации мицелиальных отходов является их использование для очистки сточных вод и концентрирования ядерных отходов. Однако хитин-глюкановый комплекс (ХГК), как было показано исследованиями последнего времени, представляет собственную ценность, так как он обладает особыми сорбционными и биоактивными свойствами. Поэтому изучение ХГК, его строения и модификации имеет как научный, так и практический интерес.

Кроме мицелиальных грибов, промышленный интерес представляет большая группа высших грибов *Higher Basidiomycetes*, содержание хитина в которых достигает 50 и даже 65 %, так как они могут культивироваться на отходах лесоперерабатывающей, целлюлозно-бумажной и пищевой промышленности. Перспективны и дереворазрушающие грибы *Phanerochaete sanguinea* и *Ganoderma applanatum*, при культивировании которых образуются ферментные комплексы, разлагающие лигнин. Культуральная жидкость может быть использована для бесхлорной отбелилки целлюлозы, а грибные тела — в качестве источника хитина (содержание хитина составляет 10 — 15 %). При использова-

нии этой эффективной и экологически чистой технологии отбеливания в целлюлозно-бумажной промышленности, количество отходов (грибных тел) также будет иметь промышленное значение.

Хитин-глюкановый комплекс (ХГК), подобно целлюлозе в растениях и хитину в беспозвоночных, является структурообразующим компонентом и входит в состав клеточных стенок грибов. Кроме этого назначения, хитин несет и другие физиологически важные для организма гриба функции. Рост клеточных стенок регулируется синтезом хитина, который идет через образование уридинфосфата-N-ацетил-D-глюкозамина с участием ферментов фосфоацетилглюкозаминмутазы и УДФ-ацетилглюкозаминпирофосфорилазы и в дальнейшем хитинсинтазы и хитинсинтазы. Исследования последнего времени показали важную роль хитиназы, которая регулирует образование кристаллического β -хитина, моделирует микрофибриллы хитина в зависимости от типа клеточных стенок, контролирует образование связей хитина с другими компонентами клеточной стенки, а также процессов автолиза и ветвлений.

Содержание хитина значительно колеблется даже у одного и того же рода грибов, а в пределах одного вида зависит от штамма и от условий культивирования гриба.

Единственный вид грибов *Mucorales* способен синтезировать в клеточной стенке хитозан *in vivo*, количество которого составляет до 10 % от сухой массы грибов. Именно наличие хитозана сообщает мицелию гриба высокую биоактивность.

В клеточной стенке грибов хитин находится не в свободном состоянии, а связан ионными или водородными связями с полисахаридами, липидами, белками и микроэлементами, причем эти комплексы являются более прочными и специфичными, чем природные белковые комплексы хитина в кутикуле беспозвоночных.

2.2. Состав хитин-глюканового комплекса

Биоактивные свойства ХГК определяются наличием в нем хитина и существенно зависят от его количества. В связи с этим анализ состава ХГК, выделенных из биомассы различных грибов важен для обоснования направления исполь-

зования того или иного вида гриба.

Присутствие глюкана в ХГК изменяет свойства этого комплекса по сравнению с чистым хитином животного происхождения. Так, например, глюкановая составляющая понижает термостабильность ХГК по сравнению с хитином; прочность пленок, сформованных из ХГК, ниже прочности пленок из хитина или целлюлозы. Возможно, такие особенности физико-механических свойств связаны с большей дефектностью надмолекулярной структуры ХГК, обнаруженной авторами работы.

Количество хитина можно учитывать либо по содержанию глюкозамина в клеточной стенке, либо выделяя его из грибной биомассы. Как выше упоминалось, в работах ученых разных специальностей, в частности биологов и химиков, наблюдается довольно широкий разброс данных по соотношению хитина и глюкана в ХГК. По-видимому, это обусловлено разным подходом как к выделению ХГК из биомассы, так и к определению его компонентов.

Изучали состав ХГК, выделенного из мицелия *Aspergillus niger* — продуцента лимонной кислоты, *Aspergillus terricola* — продуцента фермента террилитина, из дрожжевой массы *Saccharomyces cerevisiae*, из биомасс дереворазрушающих грибов *Fomes fomentarius*, *Phanerochaete sanguinea* и *Ganoderma applanatum*.

Выбор объектов исследования был обусловлен их промышленной значимостью фактической или перспективной.

Для выделения ХГК из биомассы грибов проводили последовательную экстракцию горячей водой, спирто-бензольной смесью, 6%-м раствором NaOH и для образцов с высокой минерализацией 2%-м раствором HCl. Температура экстракции и ее длительность зависела от морфологии образца.

Выделенный ХГК анализировали по элементному составу, а затем подвергали полному гидролизу. В гидролизате спектрофотометрически определяли глюкозу и глюкозамин. Анализ приведенных данных показывает, что из мицелиальных грибов самое высокое содержание ХГК найдено в *Aspergillus niger*, причем оно зависит и от способа культивирования, и от питательной среды (табл. 5, 6).

Таблица 5 — Характеристика ХГК из различных источников

№ п/п	Источник	Количество ХГК в мицелии, %	Элементный состав ХГК, %			
			С	Н	N	Зола
1	Aspergillus niger	49,8	37,7	5,9	2,7	7,4
2		45,5	—	—	2,4	—
3		41,8	44,1	6,8	2,9	0,9
4	Aspergillus terricola	25,8	44,3	6,7	3,4	0,5
5	Saccharomyces cerevisiae	11,0	44,9	7,2	1,2	0,4
6	Fomes fomentarius	—	41,1	6,4	0,8	2,4
7	Phanerochete sanguinea, 16 — 65	16,7	41,5	6,5	2,2	0,7
8	Ganoderma applanatum 4 — 94	12,2	42,8	7,0	2,2	0
9	Ganoderma applanatum 40 — 90	20,0	42,0	6,6	1,6	0,9

Таблица 6 — Состав ХГК из различных источников

№ п/п	Источник	Состав ХГК, %		
		Хитин	Глюкан	Меланин
	Aspergillus niger	81,6	15,1	3,3
2		97,4	0,5	2,1
3		97,0	2,3	0,7
4	Aspergillus terricola	71,0	25,0	4,0
5	Saccharomyces cerevisiae	57,0	43,0	0
6	Fomes fomentarius	71,8	18,0	10,2
7	Phanerochete sanguinea, 16 — 65	59,0	41,0	0
8	Ganoderma applanatum 4 — 94	74,0	26,0	0
9	Ganoderma applanatum 40 — 90	64,0	36,0	0

Примечание. Обр. 1 и 2 — промышленные, выращены на меласной питательной среде, обр.3 — выращен в лаборатории ВНИИПАК на сахарозо-минеральной среде, обр. 1 и 3 выращены глубинным, обр.2 — поверхностным способом культивирования, обр. 7 — 9 выращены в лабораторных условиях поверхностным способом на глюкозо-минеральной среде.

2.3. Физико-химические свойства ХГК

*Термические свойства ХГК *Aspergillus niger**

При исследовании термических свойств крабового хитина и хитозана и их термоокислительной деструкции было установлено, что термическое разложение хитина зависит от способа его выделения. При этом на ход кривых термогравиметрического анализа (ТГА) и дифференциального термического анализа (ДТА) влияют гетерогенный характер термического разложения и наличие слабых связей в макромолекулах. Возможно также протекание различных химических реакций (конденсации, полимеризации, сшивания) и физических превращений (гидрофобных взаимодействий, конформационных переходов, разрушения водородных связей).

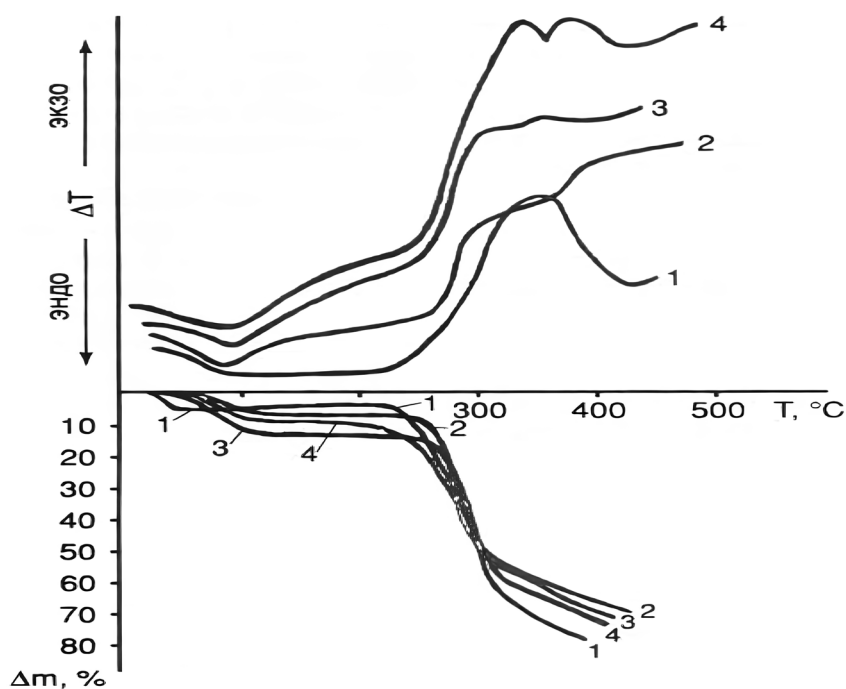


Рис.4. Кривые ДТА (а) и ТГА (б) хитина (1) и ХГК образцы 1,2 и 3 по табл.1 (кривые 2,3 и 4 соответственно)

Кривые динамического ДТА и ТГА крабового хитина и образцов ХГК *Aspergillus niger* (обр.1 — 3 по табл.6), представленные на рис. 4, однотипны. На них можно различить две области от 20 °С до начала потери массы (T_0) и область термоокислительной деструкции при $T > 250$ °С. На кривых ДТА имеется небольшой эндотермический пик при 100-105 °С, соответствующий удалению адсорбированной воды; потеря массы при этом составляет 4 — 8 %. Десорбция связанной воды происходит в температурном интервале до 150 °С вследствие затрудненности разрыва водородных связей с полярными группами полисахаридов. После удаления летучих соединений потеря массы начинается в интервале 210 — 245 °С. При нагревании выше 300 °С быстро развивается термоокислительная деструкция, приводящая к потере массы до 40 %. На кривых ДТА в этой области наблюдается нарастание экзоэффектов, достигающих максимума для крабового хитина при 350 °С, для образца 1 — при 360 °С, для двух других образцов (2 и 4) наблюдается два экзотермических пика (при 340 и 360 °С), характерных для многих образцов целлюлозы. Таким образом, на термограммах проявляется наличие глюкана в ХГК. Нагрев до 400 °С приводит к дальнейшей потере массы вплоть до образования скоксованного остатка, составляющего 33 % для хитина и 35 — 45 % для ХГК.

Сравнение кривых ДТА и ТГА крабового хитина и образцов ХГК показывает, что наличие глюкана приводит к более интенсивной десорбции воды на I стадии потери массы, а также к образованию большего количества кокса, что свидетельствует о повышении содержания сшитой части в ХГК вследствие особенности его строения. Известно, что хитин менее стоек к термическому воздействию, чем целлюлоза. Оценка, проведенная по максимальной скорости выделения H_2O , CO и CO_2 во время длительного нагревания при 260 °С, показала, что за первые 80 мин нагрева хитин теряет в 2 раза больше H_2O и CO , и в 1,4 раза больше CO_2 , чем целлюлоза. Глюкан, согласно его строению, ещё менее термостоек, чем хитин, но существование его в ХГК в ковалентно связанном с хитином состоянии способствует большей коксуемости.

Расчет кажущейся энергии активации термоокислительной деструкции на

начальной стадии по методу Фримена-Кэррола дает значения 115 кДж/моль для крабового хитина и 96 кДж/моль для ХГК (обр.2), что указывает на меньшую термоустойчивость ХГК с высоким содержанием глюкана.

Реология растворов ХГК

Подобно целлюлозе и хитину, ХГК растворяется в комплексном растворителе ДМАА 5% LiCl. Известно, что этот растворитель практически не вызывает деструкции макромолекул полисахаридов, а потому растворы устойчивы во времени и могут быть использованы для формирования плёнок и волокон. Это даёт предпосылки для развития ещё одного направления использования ХГК — получение материалов медицинского назначения, так как оба компонента ХГК хорошо совместимы с организмом и могут быть использованы, например, для шовных хирургических нитей.

Формование волокон и плёнок происходит в условиях действия сдвигового поля. В связи с этим необходимо изучение реологии растворов ХГК различной концентрации. Для исследования умеренно концентрированных растворов был выбран ХГК, выделенный из гриба *Aspergillus niger*, как наиболее крупнотоннажный источник ХГК.

Исследовались 3%-е растворы ХГК в ДМАА 5% LiCl в сопоставлении с эквивалентными растворами хитина и смеси хитин/целлюлоза в соотношении 85/15, равном соотношению хитин/глюкан в ХГК *Aspergillus niger* (обр.1, табл.6).

Кривые течения растворов в логарифмических координатах изображены на рис. 5. Они представляют собой обычные неполные кривые течения неньютоновских жидкостей. Однако ход кривых течения растворов хитин/целлюлоза (кривые 3 и 4). Вязкость растворов ХГК медленно снижается в области напряжений сдвига $l\tau=2,0\div3,0$, после чего наблюдается резкое снижение $l\eta$. В то время как на кривых 3,4 резкое падение $l\eta$ имеет место в области напряжений сдвига $l\tau=1,2\div2,0$, а затем наблюдается постепенное снижение $l\eta$. Это означает, что структура раствора ХГК устойчива в области малых напряжений сдвига, но резко изменяется в условиях высоких сдвиговых напряжений. Для растворов хити-

на и смеси хитин/целлюлоза наблюдается противоположное явление: структура раствора изменяется сразу при приложении тангенциальных напряжений, а затем имеет более устойчивый характер.

Обращает на себя внимание также факт, что вязкость растворов ХГК на два порядка ниже, чем вязкость хитина и смеси хитин/целлюлоза. Эти различия могут быть вызваны как существенным разницей молекулярных масс полисахаридов, так и различной конформацией их в растворе. Методом динамического светорассеяния было найдено, что средняя ММ исследуемого ХГК составляет 50 КД, в то время как ММ образца хитина креветки, взятого для сравнения, в 4 раза больше.

Значения энергии активации вязкого течения, рассчитанные из величин $\lg \eta$ при $\lg \tau = 2,2$, приведены в табл.7. E_a , найденные для ХГК, ниже E_a хитина, но равны E_a смеси хитин/целлюлоза, что заставляет предположить, что изменения, вносимые глюкановой составляющей ХГК в структуру раствора аналогичны изменениям, вызванным в структуре раствора хитина при введении 15 % целлюлозы.

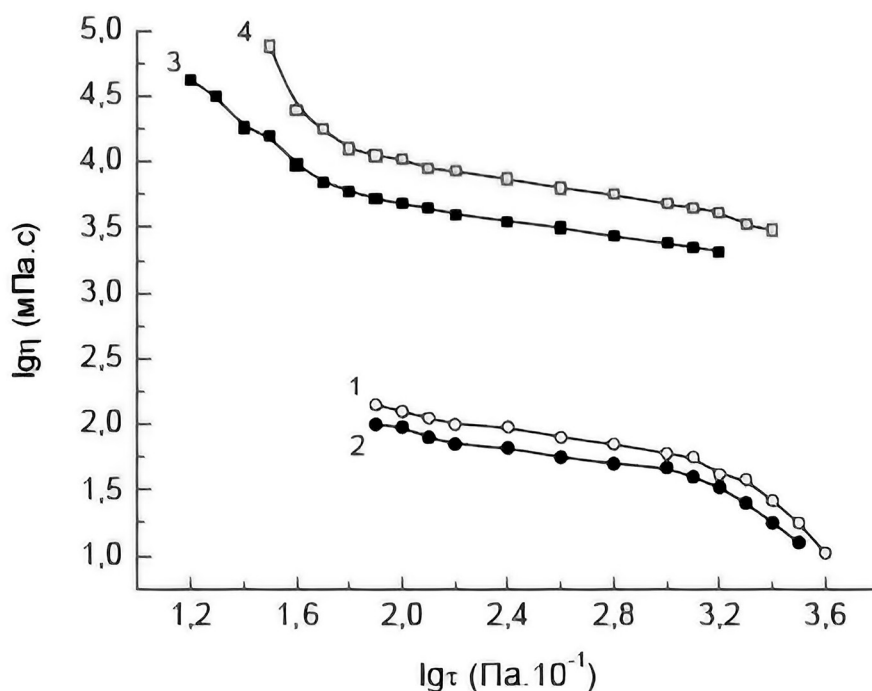


Рис.5. Кривые течения 3%-х растворов ХГК (1 — 20 °C, 2 — 35 °C); хитина (3 — 20 °C); смеси хитин/целлюлоза 85/15 (4 — 20 °C)

Таблица 7 — Энергии активации вязкого течения 3%-х растворов ХГК, хитина и смеси хитин/целлюлоза

Состав раствора	E_a , КДж/моль
ХГК <i>Aspergillus niger</i>	38,4
Хитин креветки	46,6
Хитин/целлюлоза	38,4

Характеристика плёнок, сформованных из раствора ХГК

Из раствора ХГК методом мокрого формования были получены плёнки и определены их прочностные характеристики. В табл. 7 приведены полученные данные в сопоставлении с характеристиками плёнок из хитина, целлюлозы и их смеси, сформованных в аналогичных условиях.

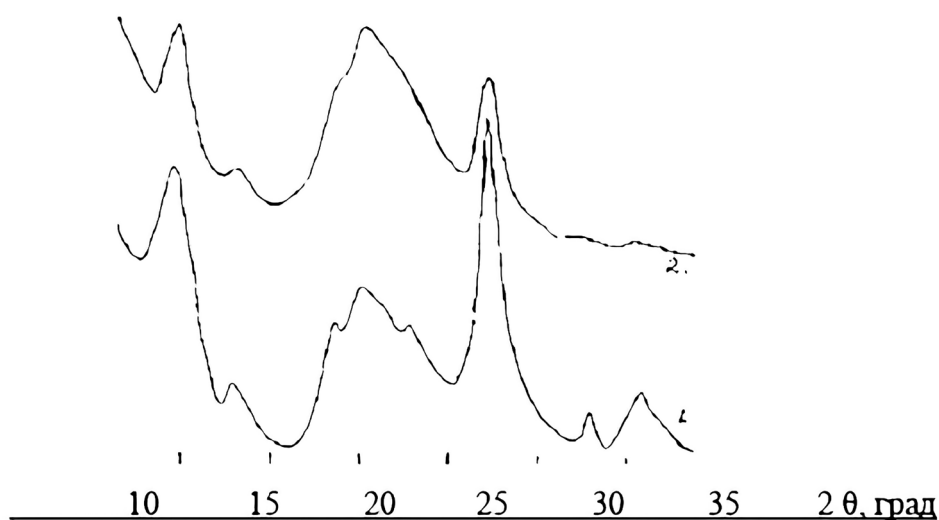


Рис.6. Рентгенодиаграммы плёнок, полученных из хитина креветки (1) и из ХГК (2)

Как прочность, так и деформация при разрыве плёнок из ХГК оказались существенно ниже механических характеристик других пленок, что говорит о меньшей упорядоченности структуры плёнки ХГК.

Это подтверждается рентгенодифрактограммами плёнок ХГК и хитина, полученных в одинаковых условиях (рис.6). Хотя обе дифрактограммы отражают сильную аморфизацию структуры плёнок по сравнению со структурой нативного хитина, и положение рефлексов, ответственных за межмолекулярную упаковку

ку $2\theta = 9^{\circ}30'$ и 20° , сохраняется, но профиль рефлексов уширяется при переходе от хитиновой плёнки к плёнке ХГК.

Таблица 8 — Деформационно-прочностные характеристики пленок полисахаридов, сформованных из 3%-х растворов в ДМАА 5% LiCl

Состав пленки	σ , МПа	ε , %
ХГК <i>Aspergillus niger</i>	3,3	8,9
Хитин/целлюлоза	10,6	10,0
Хитин креветки	9,6	10,8
Целлюлоза	9,1	25,4

2.3.1. Молекулярные и гидродинамические характеристики ХГК

Сведения о молекулярных массах и о поведении макромолекул ХГК в растворе чрезвычайно важны для как для разработки технологических процессов, так и для понимания механизмов биологической активности ХГК. Однако такой информации в литературе крайне недостаточно. Поэтому на изучении молекулярных характеристик ХГК остановимся подробно.

Поскольку физико-химические и другие свойства ХГК и материалов на его основе не в последнюю очередь зависят от его происхождения, для изучения целесообразно выбрать комплексы, полученные из разных источников: например, из грибов *Aspergillus niger* и *Aspergillus terricola* (ХГК-1 и ХГК-4 по табл.6). Растворение ХГК представляет определенную трудность. Для исследования его молекулярных характеристик был использован апротонный диполярный растворитель диметилацетамид, содержащий хлорид лития. Система ДМАА+LiCl, в отличие от кислот и комплексных щелочных растворителей, не деструктурирует полисахарид, образуя комплекс полимер - соль - растворитель за счет специфических взаимодействий молекул LiCl и ДМАА с гидроксильными группами полимера. При этом разрушаются межмолекулярные водородные связи полимера, что и приводит к его растворению.

Изучали свойства ХГК в ДМАА с содержанием LiCl 9 и 4,5 %. Комплексный растворитель ДМАА+9 % LiCl готовили из предварительно высушенного и перегнанного ДМАА и обезвоженного хлорида лития. Перед растворением ХГК подвергали предварительной активации путём последовательной инклюзии водой, метанолом и ДМАА. На первом этапе получали растворы ХГК-1 и ХГК-2 концентрации 3 г/дл в ДМАА+9 % LiCl. Растворы в ДМАА+4,5 % LiCl получали разбавлением исходного раствора чистым ДМАА.

2.4. Методы исследования ХГК

Принимая во внимание сложность структуры изучаемого комплекса, лабильность его конформаций, зависящих от внешних условий (температуры, ионной силы и рН среды), для определения молекулярных масс ХГК следует использовать абсолютные методы, т.е., методы, не требующие молекулярной модели и калибровки. К таким методам можно отнести светорассеяние и седиментационно-диффузионный анализ. Их совокупность, дополненная вискозиметрией, позволяет получить максимум информации о поведении ХГК в разбавленных растворах и сделать заключение о конформационных свойствах ХГК и его надмолекулярной организации в растворах. Как мы увидим в следующем параграфе, растворы ХГК явились чрезвычайно сложными объектами для изучения, и такой комплексный подход позволил интерпретировать на первый взгляд противоречивые данные, полученные разными методами.

Приборы и оборудование, используемые для определения молекулярных масс
Аналитическая ультрацентрифуга MOM 3180.

С помощью этого прибора определяли коэффициенты седиментации S растворов ХГК. Седиментационный анализ проводили на при частоте вращения ротора 40000 об./мин в ячейке с искусственным образованием седиментационной границы.

Поляризационный диффузомер Цветкова Лебедева с высокочувствительной интерферометрической оптической системой регистрации. Коэффициенты поступательной диффузии D рассчитывали по методу площадей и максимальных ординат.

Пикнометр объемом 5 мл использовали для измерения удельного парциального объема полимера v . Гидродинамическую молекулярную массу M_{SD} определяли из седиментационно-диффузионных измерений по формуле Сведберга

$$M_{SD} = \frac{S_0}{D_0} * \frac{RT}{1 - v\rho_0}$$

где T — температура, R — универсальная газовая константа, S_0 — константа седиментации, D_0 — константа диффузии, ρ_0 — плотность растворителя и v — удельный парциальный объем.

Фотоэлектрический прибор

ФПС-3М использовали для измерений светорассеяния. С помощью прибора светорассеяния измеряли молекулярную массу M_w , второй вириальный коэффициент A_2 , а также по измерениям рассеяния поляризованного света изучали надмолекулярную организацию умеренно концентрированных растворов ХГК.

Регистрация интенсивности рассеянного света производилась в интервале углов 40 — 140° . Для определения ММ избыточную интенсивность рассеяния света измеряли под углом 90° при длине волны источника света 546 нм. Калибровку осуществляли по бензолу.

Релеевское отношение для неполяризованного света — $16,4 \cdot 10^{-6} \text{ см}^{-1}$. Предварительно растворы очищали фильтрацией через плотный стеклянный фильтр. Инкремент показателя преломления растворов dn/dc измеряли с помощью рефрактометра ИРФ-23.

Капиллярный вискозиметр

Использовали для измерения характеристической вязкости. Измерения проводили при температуре $21,0$ °С в растворах ДМАА с содержанием хлорида лития 9 и $4,5$ %. Исследовали разбавленные растворы в диапазоне концентраций полимера $0,03$ — $0,7$ г/дл.

2.4.1. Результаты исследований ХГК

Различие молекулярных свойств образцов ХГК, полученных из разного сырья, проявляется уже в результатах измерения характеристической вязкости.

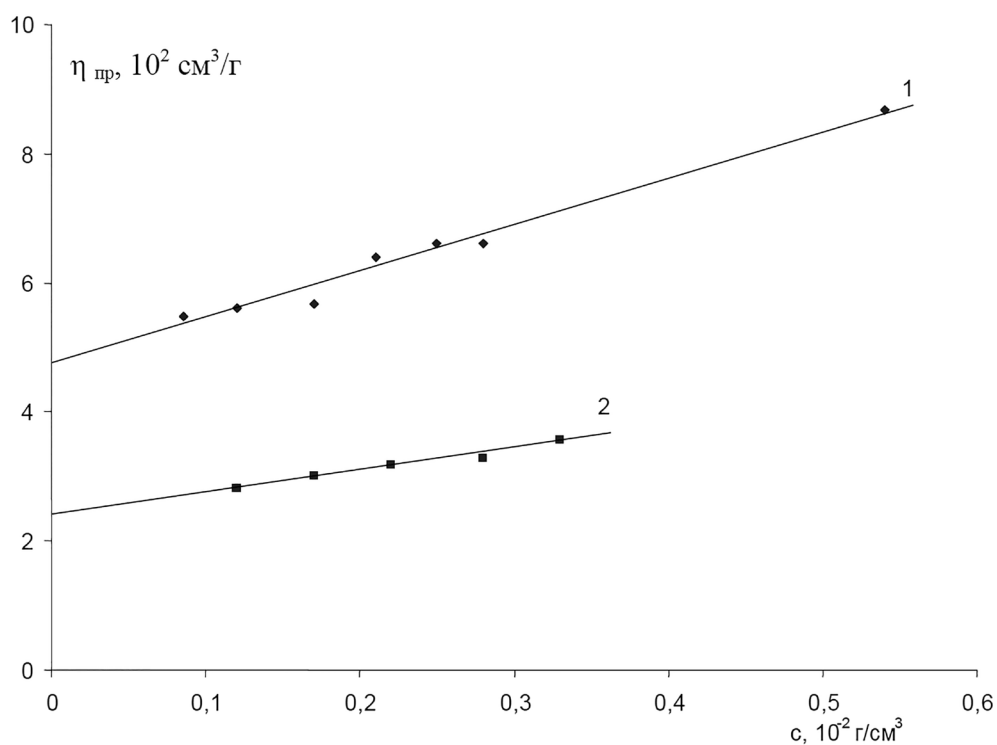


Рис.7. Зависимость приведенной вязкости от концентрации растворов ХГК-1 в ДМАА+9 % LiCl (1) и ДМАА+4,5 % LiCl (2)

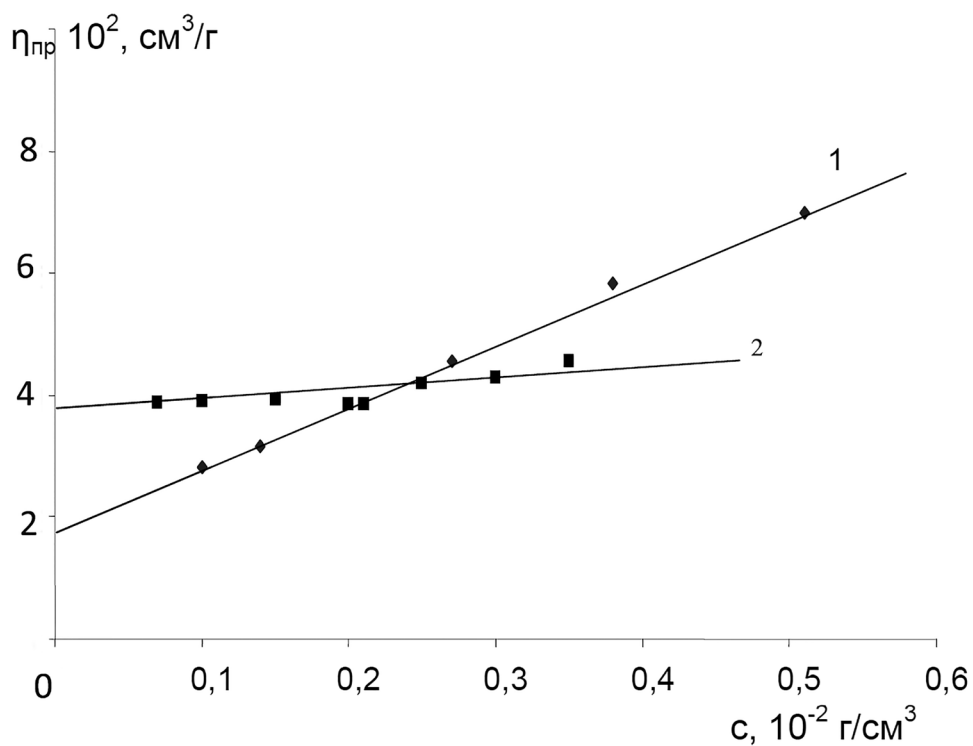


Рис.8. Зависимость приведенной вязкости от концентрации растворов и ХГК-4 в ДМАА+9 % LiCl (1) и ДМАА+4,5 % LiCl (2)

Зависимости приведенной вязкости от концентрации для образцов ХГК, представленные на рис. 7 и 8, линейны в исследуемом диапазоне концентраций полимера. Значение характеристической вязкости ХГК-1 снижается в 2 раза при уменьшении концентрации соли с 9 до 4,5 %. Аналогичное явление наблюдалось для целлюлозы и ее производных, а также для хитина. Это было объяснено меньшей величиной сольватного слоя молекул растворителя и соли вокруг молекулы полимера. Значение константы Хаггинса K' растворов ХГК-1 соответствуют величинам K' для полимеров в хороших растворителях.

Раствор ХГК-4 в ДМАА+9 % LiCl характеризуется меньшим значением $[\eta]$, чем соответствующее значение для ХГК-1, что отражает меньшую по сравнению с ХГК-1 величину эффективного гидродинамического объема. При этом величина K' растворов ХГК-4 имеет аномально высокое значение 3,2 уже при большем содержании соли LiCl 9 %. Это, вероятно, свидетельствует о слабых взаимодействиях полимер-растворитель для образца ХГК-4.

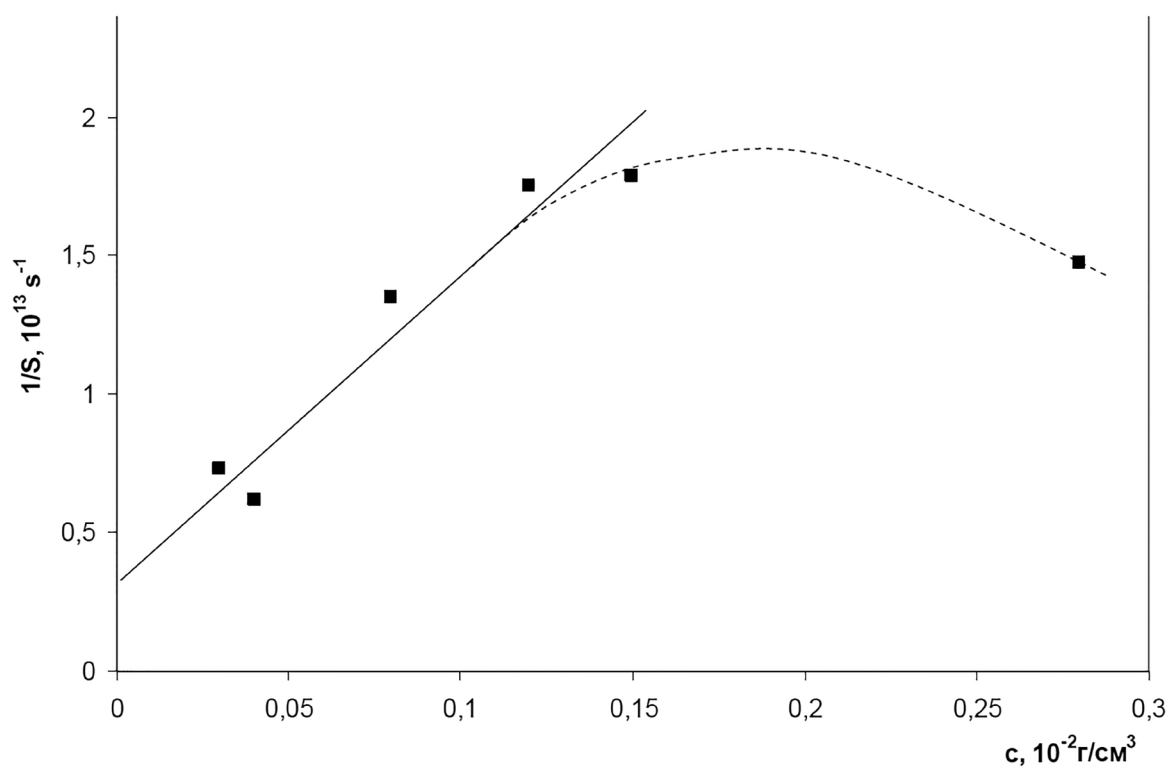


Рис.9. Зависимость обратного коэффициента седиментации растворов ХГК-1 в ДМАА+4,5 % LiCl

С уменьшением содержания соли до 4,5 % $[\eta]$ растворов ХГК-4, в отличие от ХГК-1, резко повышается, по-видимому, из-за структурирования растворов. Структурирование растворов может происходить за счет образования межмолекулярных Н-связей вследствие недостаточности сольватного слоя, окружающего макромолекулу.

Исследование растворов ХГК методом скоростно седиментации подтвердило различие гидродинамических свойств двух изучаемых образцов. Зависимость обратного коэффициента седиментации от концентрации для растворов ХГК-1 (рис. 9) в области концентраций $c < 0,15 \cdot 10^{-2}$ г/см³ прямолинейна. По пересечению этой зависимости с осью ординат была определена константа седиментации S_0 — коэффициент седиментации при бесконечном разбавлении раствора. Однако с повышением концентрации наблюдается уменьшение значения $1/S$. Такой экстремальный ход зависимости $1/S$ характерен для систем, самоассоциирующих с повышением концентрации. Отклонение от линейности обусловлено тем, что при концентрациях раствора выше $0,15 \cdot 10^{-2}$ г/см³ в нем присутствуют, наряду с индивидуальными макромолекулами, ассоциативные надмолекулярные образования. Следует отметить, что самоассоциация происходит в пределах концентраций, соответствующих критерию Дебая $c < 1/[\eta]$ ($c < 0,4$ г/дл), и лишь при уменьшении становится молекулярно дисперсным, и выполняется линейная зависимость $1/S(c)$. Для раствора ХГК-4 в ДМАА+4,5 % LiCl наблюдается мультимодальная седиментационная картина. При этом можно выделить три основных пика; их константы седиментации равны 1; 2,6; $6,7 \cdot 10^{-13}$ с, соответственно. Применяя известное соотношение $S_0 \sim M^{0.5}$, справедливое для θ -растворителя, получаем соотношение между молекулярными массами $M_1:M_2:M_3=1:6:45$, то есть массы компонент раствора ХГК-4 могут отличаться более чем на порядок. Можно полагать, что высокомолекулярные пики соответствуют надмолекулярным структурам различного размера, устойчивым к воздействиям гидродинамических полей. Наличие надмолекулярных структур, как видно, отражается и в результатах вискозиметрических измерений ХГК-4 при концентрации LiCl 4,5 %. Таким образом, седиментационный анализ под-

тверждает предположение о микрогетерогенности растворов ХГК-4 при содержании соли 4,5 %, сделанный на основе вискозиметрии.

Эта микрогетерогенность явилась препятствием для измерения коэффициента диффузии макромолекул ХГК-4, и диффузионные опыты проводились только для растворов ХГК-1 в ДМАА+4,5 % LiCl. Полученные значения $D=1,21 \cdot 10^{-6}$ см²/с при $c=0,086 \cdot 10^{-2}$ г/см³ и $D=1,0 \cdot 10^{-6}$ см²/с при $c=0,04 \cdot 10^{-2}$ г/см³ были экстраполированы к 0 концентрации, чтобы получить константу диффузии D_0 . Молекулярная масса M_{sd} , рассчитанная для образца ХГК-1, составила 27000 (табл. 9).

Таблица 9 — Молекулярные, гидродинамические и оптические характеристики растворов ХГК-1 и ХГК-4 в ДМАА с содержанием LiCl 9 и 4,5 %

Характеристика	[LiCl], %			
	9		4,5	
	ХГК-1	ХГК-4	ХГК-1	ХГК-4
$[\eta] \cdot 10^{-2}$, см ³ /г	4,8	1,8	2,4	3,8
K'	0,3	3,15	0,5	0,16
$S_0 \cdot 10^{13}$, s	—	—	2,7	1,1; 2,6; 6,7
$D \cdot 10^6$, см ² /с	—	—	0,8	—
dn/dc , см ³ /г	0,215	0,195	0,145	—
$A_2 \cdot 10^4$, см ³ /г ²	23	—	4	—
M_{sd}	—	—	23 000	—
M_w	64	40	270	—

Молекулярная масса ХГК-1 в растворах ДМАА с содержанием LiCl 9 и 4,5 % была определена методом светорассеяния из графиков зависимости величины Hc/R_{90° от концентрации (рис.10), где R_{90° — обратная избыточная интенсивность рассеяния, H — оптическая постоянная. Значения ММ, полученные из экстраполяции величин Hc/R_{90° к нулевой концентрации, а также величины вторых вириальных коэффициентов A_2 , полученных из наклонов рассматриваемых зависимостей, и инкрементов показателей преломления исследуемых растворов, приведены в табл. 9. Молекулярные массы ХГК-1, полученные в ДМАА с содержанием соли 9 и 4,5 %, различаются в 4 раза. Вероятно, это различие обусловлено ухудшением растворимости полимера при снижении концентрации LiCl. При этом наблюдается рост интенсивности рассеяния света за счет вклада ассоциативных образований, размеры которых сопоставимы с длиной волны падающего света. С этим фактом согласуется уменьшение значения параметра $A_2=3,8 \cdot 10^{-4} \text{ см}^3/\text{г}^2$ для растворов в ДМАА+4,5 % LiCl по сравнению с $A_2=25 \cdot 10^{-4} \text{ см}^3/\text{г}^2$ в ДМАА+9 % LiCl. Снижение величины второго вириального коэффициента A_2 указывает на ухудшение взаимодействия между полимером и растворителем в растворе с более низким содержанием соли.

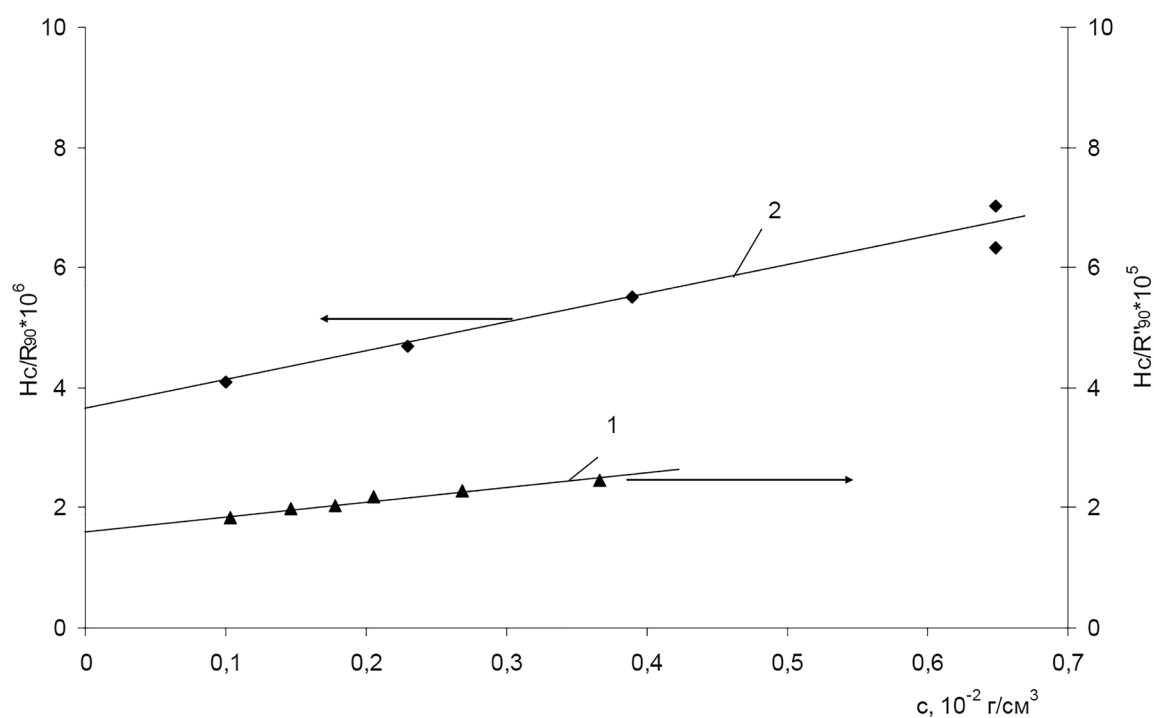


Рис.10. Зависимость величины Hc/R_{90° от концентрации c для растворов ХГК-1 в ДМАА+9 % (1) и ДМАА+4,5 % LiCl (2)

Для ХГК-4 в ДМАА+9 % LiCl из зависимости $Hc/R_{90^\circ}(c)$, приведенной на рис.11, было получено значение $M_w=40000$. Меньшая по сравнению с ММ ХГК-1 величина ММ ХГК-4 согласуется с меньшим значением характеристической вязкости этого образца.

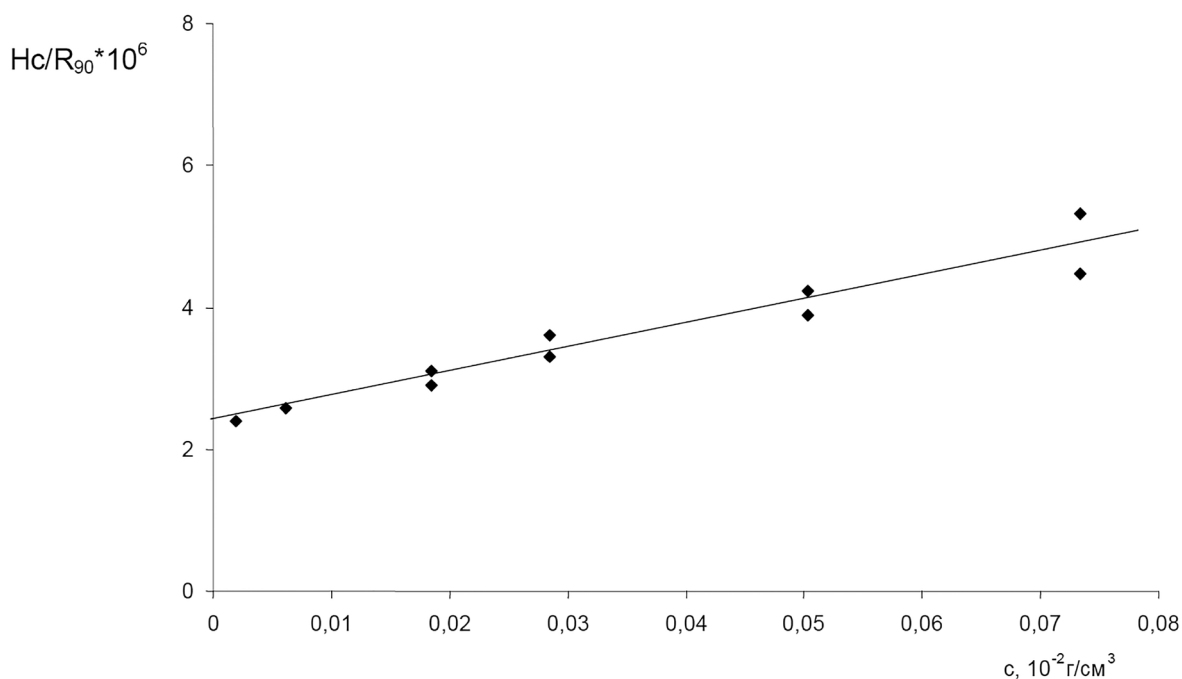


Рис.11. Зависимость величины Hc/R_{90° от концентрации c для растворов ХГК-1 в ДМАА+9 % (1) и ДМАА+4,5 % LiCl (2)

Методом рассеяния поляризованного света (РПС) были изучены структурные особенности умеренно концентрированных растворов ХГК в ДМАА/LiCl, включая микроупорядоченность и микрогетерогенность, а также статистические размеры упорядоченности областей и размеры микронеоднородностей. Для этого угловые зависимости интенсивности вертикальной и горизонтальной составляющих рассеянного света были проанализированы с применением статистической теории Дебая — Штейна. Структурная организация растворов ХГК изучалась на примере ХГК-1, растворенного в ДМАА+9 % LiCl, обеспечивающим хорошее термодинамическое сродство полимера и растворителя.

Предварительно исследовали ДМАА с различным содержанием LiCl. Оказалось, что сам растворитель неоднороден по структуре и характеризуется наличием микроупорядоченных областей флуктуационной природы. При

увеличении концентрации LiCl до 9 % интенсивность анизотропного рассеяния возрастает в два раза. Флуктуирующие домены ДМАА-LiCl имеют максимальные размеры около 60 — 70 нм при концентрации соли 4,5 %.

Исследования рассеяния поляризованного света подтвердили флуктуационно неоднородную структурную организацию растворов ХГК в ДМАА, которая в известной степени подготовлена структурированным растворителем. Было обнаружено, что в растворе ХГК присутствуют как изотропные, так и анизотропные флуктуационные надмолекулярные образования. Причиной флуктуационной неоднородности растворов ХГК в ДМАА с содержанием LiCl являются процессы ассоциации в результате межмолекулярных взаимодействий. При уменьшении концентрации соли до 4,5 % и, как следствие, ослаблении сольватации, флуктуационные ассоциаты, зафиксированные методом РПС, при малых концентрациях разрушаются в слабых гидродинамических полях, что показано методом скоростной седиментации. В случае ХГК-4 процессы самоассоциации и упорядочения происходят сильнее, образуя стабильные структуры, не разрушающиеся в гидродинамических полях.

Таким образом, растворимость ХГК зависит от его происхождения. Если растворы ХГК-1 в ДМАА+4,5 % LiCl еще практически гомогенны, то взаимодействия между молекулами в ХГК-4 настолько сильны, что раствор ХГК-4 в большей степени состоит из ассоциированных надмолекулярных структур. Структурные элементы различны по массе и характеру межмолекулярного взаимодействия и, как следствие, самоорганизуются в сложную систему. Поэтому крайне затруднено определение ММ этого образца гидродинамическими методами. Образец ХГК-1 удалось охарактеризовать достаточно полно.

Величины ММ, полученные гидродинамическим ($M_{SD}=23000$) и статическим ($M_w=64000$) методами, довольно сильно отличаются. Однако, как было установлено, в разбавленных растворах ХГК-1 содержится некоторое количество ассоциативных надмолекулярных образований флуктуационной природы, статистические размеры которых определяются из асимметрии светорассеяния, порядка 60 — 70 нм, и присутствие даже небольшого

их количества должно заметно сместить интегральное значение M_w в сторону больших масс. Поэтому полученное соотношение между M_{sd} и M_w можно считать удовлетворительным.

Большая величина $[\eta]$ при малых значениях ММ, несомненно, свидетельствуют о том, что ХГК — полимер с достаточно высокой жесткостью молекул, как и целлюлоза и хитин. Действительно, система проявляет свойства высокой упорядоченности, что характерно для жесткоцепных полимеров. О высокой упорядоченности свидетельствуют высокая интенсивность анизотропного рассеяния растворов и ее асимметрия. Статистические размеры упорядоченных областей составляют 50 нм, а оптически наиболее плотных областей — 60 нм. Это дает возможность предполагать существование внутриассоциативных образований системы ХГК-1 – ДМАА+9 % LiCl упорядоченности за счет укладки жестких участков макромолекул.

Таким образом, согласно данным светорассеяния, седиментационно-диффузионного анализа и вискозиметрии, ХГК различного происхождения

Aspergillus niger и *Aspergillus terricola*, несмотря на близкий химический состав, отличаются по молекулярным свойствам. Образец ХГК-1, содержащий меньшее количество глюкана, имеет большую ММ и лучшую растворимость в ДМАА+LiCl по сравнению с образцом ХГК-4.

2.5. Биоактивные свойства ХГК

Хитин грибов находит пока ограниченное практическое использование по сравнению с хитином ракообразных. Однако интенсивные исследования последнего времени выявляют все новые основания для прогнозирования его конкурентноспособности с животным хитином в разных областях хозяйственной деятельности человека, а особенно в качестве биологически активных веществ и вспомогательных материалов.

Открытие противоопухолевой активности биополимеров клеточной стенки японского гриба *Lentinus edodes* вызвало создание на основе этих соединений препарата «Лентинан» (Япония) для лечения онкозаболеваний. Уста-

новлено, что и другие высшие грибы (*Neomycota*) содержат в клеточной стенке высокомолекулярные гетерогликаны и полиаминосахариды, обладающие выраженной противоопухолевой активностью.

К настоящему времени установлено наличие ранозаживляющей активности мицелия хитина низших грибов (*Eomycota*), в частности мукоровых грибов. На основе хитина мукорового гриба *Blakeslea trispora* создан препарат «Микоран» (Россия), рекомендованный в качестве ранозаживляющего средства противоожогового назначения. Ранозаживляющее действие выявлено и у других низших грибов *Mucorales* — *Phycomyces blakesleeanus*. Ускорение заживления ран под действием мицелия низших грибов объясняют стимулированием активности пролиферации фибробластов кожи человека, которые прикрепляются к микрофибриллам хитина. Активному заживлению ран способствует также свойство хитина грибов генерировать микроколичества перекиси водорода. Предполагается, что использование мицелия *Mucorales* обеспечит одновременно и защиту от опасного микроорганизма — синегнойной палочки.

На основе ХГК высших грибов (*Basidiomycetes*) создан препарат «Микотон», состоящий из хитина, глюкана и меланина, для лечения ряда заболеваний, вызываемых бактериями и вирусами. Особый интерес ХГК вызывает как аналог пищевых волокон, которые сорбируют в желудочно-кишечном тракте канцерогенные вещества, ионы тяжелых и радиоактивных металлов, активируют деятельность желудка.

На основе ХГК грибов разработаны препараты для предпосевной обработки семян, что увеличивает урожайность и устойчивость к грибковым заболеваниям сельскохозяйственных культур. Показано, что устойчивость к корневой гнили и головне у ячменя значительно возрастает при применении препарата «Микосан», содержащего глюканы базидиомицетных грибов и хитозан. В Японии разработан стимулятор роста растений, состоящий из хитозана, органических кислот и аминокислот. Хитозан действует на *Fusarium solani*, останавливая рост этих патогенных для растений грибов.

Еще одним направлением в практическом использовании ХГК грибов является получение на его основе сорбентов.

Мицелий муконовых грибов, содержащий природный хитозан, используется для создания «нетканых» материалов. Эти мицелиальные материалы обладают токсическим действием в отношении ряда патогенных грибов, вызывающих кожные микозы, а также ранозаживляющей активностью. Такие материалы благодаря наличию положительного заряда могут также найти применение в качестве фильтров для очистки жидких и газообразных сред от аэро- и гидрозолей.

Применение ХГК в качестве добавок в хлебобулочные изделия удлиняет сроки хранения хлеба и препятствует его черствлению. Сорбционные свойства такого хлеба обуславливают его использование для выведения ионов тяжелых металлов из организма, что важно для лечебно-профилактического питания лиц, занятых в металлургических, гальванических и тому подобных производствах.

Успехи в выявлении биологической активности мицелия и ХГК различных грибов привело к появлению новой области медицины — микологической фармакопеи.

3. ПРИМЕНЕНИЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА В ПРОИЗВОДСТВЕ ВОЛОКОН

3.1. Получение волокон

Волокна на основе хитина и хитозана. Хитиновые волокна и нити, как и пленки, могут быть получены по мокрому (коагуляционному) способу из растворов полимера в ряде органических амидных растворителей, содержащих добавки солей, в частности, хлорида лития. В патентах в качестве растворителя предлагается использовать смесь LiCl и N-метилпирролидона. Сформованное со скоростью 10 м/мин в осадительную ванну из ацетона или спиртов волокно имеет низкую прочность ($\sigma_p = 36$ МПа), что, возможно, обусловлено низкой концентрацией полимера в растворе ($< 2\%$) и низкой ММ хитина. Хитиновое волокно, сформованное по вязкозному способу, также обладает низкой прочностью (разрывное напряжение 38 МПа). В цитируемой работе не приводятся данные о ММ исходного хитина и в готовом волокне, что важно, так как данный способ переработки в волокно полисахарида целлюлозы предполагает существенную деструкцию в ходе всего технологического процесса.

Значительно более прочное хитиновое волокно получено из 3 — 3,5%-х растворов хитина с ММ 500 кД в тернарном растворителе: N-метил-пирролидон-диметилацетамид + LiCl с использованием в качестве осадительной ванны смеси ДМАА + этиленгликоль + этанол в объемном соотношении, равном 40:20:20. Установлен оптимальный состав растворителя — 5%-й раствор LiCl в смеси равных объемов N-метилпирролидона и ДМАА, обеспечивающий минимальную вязкость формовочного раствора и получение наиболее прочного волокна. Интересно отметить, что в данном растворителе хорошо растворяется лишь хитин с СД менее 30 %, содержащий достаточное количество сольватируемых растворителем ацетильных групп. Из данных табл. 10 видно, что снижение СД исходного хитина с 38 до 13 % и, соответственно, повышение регулярности химического полимера, приводит к увеличению прочности получаемого волокна. Дополнительная пластификационная вытяжка в спиртогли-

колевой ванне позволяет получить волокно с разрывным напряжением 390 МПа при удлинении 3 %. По мнению авторов, такие высокие физико-механические показатели обусловлены характерной для жесткоцепных полимеров хорошо организованной ленточно фибриллярной надмолекулярной структурой Волокна. На основании данных электронно-микроскопического и рентгеноструктурного исследования сделано предположение о жидкокристаллическом состоянии формовочных растворов. В то же время волокно характеризуется значительной (около 80 %) потерей прочности в мокром состоянии при одновременном увеличении удлинения более, чем в пять раз.

Таблица 10 — Физико-механические показатели хитинового волокна

Пленка	1	2	3
СД, хитина, %	38	29	22
s	172	252	232
E, ГПа	5,7	7,8	9,4
E _p , %	9,9	8,7	6,4
Пленка	4	5	6
СД, хитина, %	18	16	13
s	205	218	241
E, ГПа	9,8	9,6	13,2
E _p , %	5,2	5,1	5,7

Таблица 11 — Основные параметры процесса формования и свойства волокна из бутирилхитина

Параметр	Способ	
	мокрый	сухой
Растворитель	ДМФ	Ацетон
Концентрация формовочного раствора, %	16 — 20	20 — 22
Осадитель	Вода (10 — 30 °С)	Обдув воздухом (80 — 45 °С)
Скорость формования, м/мин	40	70
Длина пути нити, м	0,8	6,0
Линейная плотность, текс	0,2	1,5
Плотность, г/см ³	1,24	1,21
Относительная разрывная нагрузка P_0 , сН/текс	14, — 16,5	8,3 — 7,4
Разрывное удлинение E_p , %	7,4 — 5,9	36,9

Аналогичным способом было сформовано хитиновое волокно, модифицированное добавками эфиров целлюлозы. Методами рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии установлено, что при модификации сохраняется первоначальная кристаллическая структура хитина, а наблюдаемый эффект улучшения прочностных свойств (повышение в 1,5 — 2,5 раза) обусловлен межфибриллярной пластификацией полимера.

Ограниченный круг растворителей хитина стимулировал синтез его производных, растворимых не только в водной среде (хитозан, карбоксиметилхитин), но в доступных органических растворителях. Одним из таких производных является эфир хитина и масляной кислоты, в частности, дибутирилхитин, хорошо растворимый в ацетоне, ДМФ, спиртах и других органических растворителях. Польскими учеными предложены и реализованы в лабораторных и опытно-промышленных условиях мокрый и сухой способы формования волокна из бутирилхитина, основные параметры процесса формования которого приведены в табл. 8.

Полученные волокна характеризуются прочностными характеристиками, находящимися на уровне таковых ацетатных волокон. Важно отметить, что при обработке такого волокна раствором щелочи происходит омыление бутирильных групп и регенерация хитина без нарушения его волокнистой формы. Этот процесс имеет прямую аналогию с омылением тиокарбонных групп при производстве гидратцеллюлозного волокна по вискозному способу. Прочность хитинового волокна, полученного омылением бутирилхитинового, существенно выше ($P_0 = 25,1 — 26,6$ сН/текс), чем у исходного бутирилхитинового и у хитинового, сформованного из растворов хитина ($P_0 = 11,3-12,2$ сН/текс), находясь на уровне и даже немного превышая прочность обычных вискозных волокон. Водо- и щелочерастворимые производные хитина (метил-, этил-, бутил-, изобутилхитин) могут быть переработаны в относительно прочные ($\sigma_p \sim 100$ МПа) волокна по мокрому способу в ванны из этил ацетата с последующим ориентационным вытягиванием.

Таблица 12 — Условия формования и свойства хитозанного волокна

СД хитозана, %	Формовочный раствор		Вытяжка, %		Свойства волокна		
	концентрация хитозана, %	вязкость, Па·с	фильерная	пластификационная	линейная плотность, текс	P_p , сН/текс	E_p , %
75,0	3	121	-45	40	0,72	11,5	10,4
85,0	3	38	6	70	0,98	7,2	15,8
99,5	3	10	0	20	1	9,8	10,4
99,5	4	28,4	90	40	0,61	18,7	16,2
99,5	4	28,4	90	60	0,52	14,2	18,5
99,5	4	28,4	90	80	0,53	14,7	16,8
99,5	4	28,4	90	110	0,65	8	14,6

К сожалению, в литературе очень мало данных о получении и свойствах хитозанового волокна, хотя его формирование из уксуснокислотных растворов по мокрому или сухому способам принципиально является самым экономичным и экологически чистым способом. Характеристики хитозанового волокна, сформированного из 3 — 4%-х растворов полимера в 2%-й уксусной кислоте в осадительную ванну, содержащую 2 % NaOH и 10 % Na_2SO_4 , с последующим пластификационным вытягиванием на воздухе, промывкой водой и сушкой при 100 °С, приведены в табл. 12. Авторами отмечено, что наиболее устойчиво процесс формирования протекал из растворов высоко деацетилированного хитозана, образующего и наиболее прочное волокно. Приведенные в табл. 11 данные не позволяют дифференцированно оценить влияние различных параметров формирования на свойства полученного волокна. Хитозановое волокно, сформированное из щелочных растворов ксантогената хитозана и, очевидно, частично сшитое в осадительной ванне серной кислотой, обладает прочностью на уровне 260 МПа, что превышает прочность хитинового волокна, полученного в аналогичных условиях, и соответствует уровню прочности лучшего образцов.

3.2. Свойства волокон из хитозана

Большой интерес к хитозану, производному природного полисахарида хитина, обусловлен его биосовместимостью, биodeградируемостью, бактерицидностью, высокими сорбционными характеристиками, а также экологичностью переработки. Хитозан широко используется в фармакологии, косметологии, пищевой, текстильной, кожевенной промышленности и ряде других областей. Перспективными материалами на основе хитозана являются хирургические шовные нити, матрицы для клеточных технологий — адгезии, пролиферации и дифференцировки клеток.

Рассмотрим структуру и свойства волокон из хитозана, полученных коагуляционным методом. Установлено, что оптимальным растворителем является 2%-й водный раствор уксусной кислоты. Осаждение, как правило, проходит в растворах

едкого натра, либо смеси спирта и воды, либо смеси спирта и водного раствора NaOH, водного раствора NaOH и серной кислоты в различных процентных соотношениях.

Целью работы является исследование влияния условий формования: скорости сдвига при прохождении раствора хитозана через фильеру, величины фильерной вытяжки на прочностные и деформационные свойства волокон из хитозана.

Для получения хитозановых и композитных волокон использовали хитозан (поли-N-ацетил-D- глюкозамин), производства фирмы Fluka Chemie, BioChemika line, MM 255 — кДа, степень деацетилирования — 80 %, зольность 0,5 %.

Хитозан растворяли в 2%-м водном растворе уксусной кислоты при постоянном перемешивании, не менее 120 мин, концентрация полимера в растворе составляла 4 масс.%. Полученные растворы фильтровали, затем обезвоздушивали в течение трех часов при давлении 0,1 атм.

Волокна формовали по коагуляционному методу на лабораторной установке ИВС РАН. Установка позволяет получать поли- и монофиламентные нити, варьировать величины фильерной и пластификационной вытяжек, температуру и время сушки, скорости подачи раствора полимера и приемки готового волокна. Осадителем являлась спиртощелочная смесь, содержащая 10%-й водный раствор NaOH и C₂H₅OH в соотношении 1:1. Формование моноволокон проводили через фильеру диаметром 0,6 мм, скорость истечения раствора из фильеры V варьировали от 0,05 до 0,5 мм/с, время осаждения — 80 — 200 с. Степень фильерной вытяжки λ изменяли от -40 % до 120 %. Волокно промывали в дистиллированной воде, затем сушили при T = 20 °C в течение трех часов.

Микроскопические исследования проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа фирмы Carl Zeiss (Supra-55 VP). Реологические свойства раствора хитозана в уксусной кислоте проводили на реометре MCR-301 фирмы Anton Paar.

Измерения механических свойств волокон проводили на установке УМИВ, база испытания — 15 мм, скорость нагружения — 1 мм/мин. Перед испытани-

ями волокна были выдержаны при нормальных климатических условиях не менее 24 ч.

Зависимости условной вязкости η растворов хитозана разной концентрации от скорости сдвига dV приведены на рис. 12. Эти зависимости в широком интервале величин dV имеют сложный нелинейный характер, их вид близок для растворов разной концентрации.

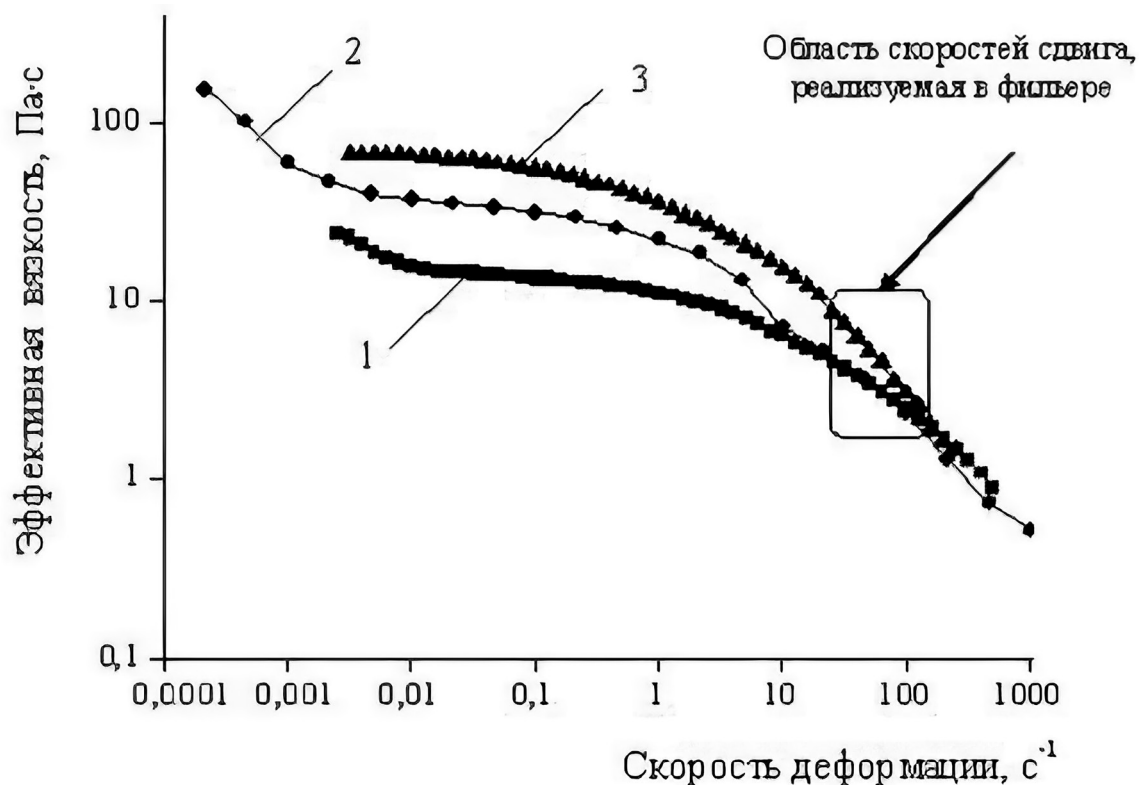


Рис. 12. Зависимость вязкости η растворов хитозана с концентрацией 3,0; 3,5; 4,0 мас. % от скорости сдвига

С повышением содержания полимера в растворе значения вязкости увеличиваются, максимальная концентрация хитозана в 2%-м растворе уксусной кислоты составляет 4 масс. %. Такой раствор обладает необходимыми гидродинамическими свойствами, позволяющими подавать его через фильеру в широком диапазоне скоростей, сохраняя ламинарность струи в осадителе.

В данной работе проведено исследование влияния скорости сдвига раствора полимера при прохождении его через фильеру dV , а также величины фильерной вытяжки волокна λ на их свойства и структуру.

Из соотношения скоростей подачи раствора и его истечения, а также толщины и диаметра фильера была оценена величина скорости сдвига раствора хитозана, возникающего при формировании волокна.

Подставив значения V_1 , $D = 20$ мм, $d = 0,6$ мм, $l = 20$ мм, нетрудно сосчитать величину скорости сдвига, возникающего в фильере. В табл. 13 приведены значения dV , при которых проводилось формирование волокон, а также их свойства.

Таблица 13 — Значения dV , при которых проводилось формирование волокон

№ п/п	Скорость сдвига, dV , c^{-1}	Скорость подачи полимера, V , мм/мин	Фильерная вытяжка, λ , %	Диаметр расчетный, d , мкм	Прочность, σ , МПа	Модуль, E , кг/мм ²	Удлинение при разрыве, ϵ , %
1	0,15	0,05	–44	150	74	168	37,2
2	0,30	0,1	–44	150	102	336	44,9
3	0,60	0,2	–40	160	60	161	48,4
4	1,5	0,5	–42	180	58	214	31,4
5	0,3	0,1	0	120	168	683	12,1
6	0,3	0,1	50	80	218	746	8,3
7	0,3	0,1	100	70	240	511	5,5
8	0,3	0,1	120	70	225	720	4,9

Прочность получаемых волокон зависит от скорости сдвига раствора. Сопоставление полученных значений механических свойств с данными реологических исследований свидетельствует в пользу структурирования раствора хитозана при прохождении его через фильеру, ориентации макромолекул полимера, и, как следствие, образования упорядоченной анизотропной структуры волокна, что ха-

рактенно для средне- и жесткоцепных полимеров. Как правило, структурообразование происходит уже при небольших скоростях сдвига.

Увеличение скорости сдвига приводит к упорядочиванию его структуры, о чем свидетельствует уменьшение эффективной вязкости раствора. Но в то же время увеличение скорости сдвига сокращает время пребывания полимера в осадительной ванне.

Для изучения влияния величины фильерной вытяжки на свойства волокон, формование велось при скорости сдвига $0,3 \text{ с}^{-1}$ (скорости подачи раствора $0,1 \text{ мм/мин}$).

Образцы № 1–4 получены в равновесных условиях, в процессе осаждения, промывки и сушки на них не действовали растягивающие напряжения. Усадка при осаждении составляла 40–44 %. Полученные волокна обладают ровной, гладкой поверхностью, их поперечное сечение однородно имеет правильную круглую форму. Это свидетельствует о полном осаждении волокна, равномерной коагуляции полимерной струи по всему объему.

С увеличением степени вытяжки до 100 % уменьшается диаметр волокон d , увеличивается их прочность σ , уменьшается удлинение при разрыве ε (см. табл. 13). Изменение механических свойств носит экспоненциальный характер. Формование волокон в этом режиме идет стабильно, без разрыва струи или осажденного волокна. Дальнейшее увеличение степени вытяжки приводит к разрыву волокна при формовании, нестабильности процесса формования. Максимальная вытяжка при данной скорости сдвига составляет 120 %.

Поверхность вытянутых волокон гладкая, просматривается образование фибрилл. Поперечное сечение волокон, полученных с вытяжкой, имеет бобовидную форму, что характерно для большинства волокон, получаемых коагуляционным методом. Это связано с действием на влажное волокно, находящееся в приемном ролике, сжимающих напряжений, возни кающих при вытяжке.

Волокна на основе хитозана перспективны для получения рассасывающихся шовных нитей; матриц для клеточных технологий — адгезии, пролифе-

рации и дифференцировки клеток. В текстильной промышленности применение смесовых нитей, содержащих хитозановые волокна, позволяет получить текстильные материалы и изделия с улучшенными гигиеническими характеристиками, повышенными бактерицидными свойствами.

Получены волокна из хитозана из 4%-го раствора полимера в 2%-й уксусной кислоте, осадитель — спирто-щелочная смесь.

Структурирование раствора хитозана происходит в поле сдвиговых напряжений, возникающих при прохождении его через фильеру.

Механические свойства волокна зависят от скорости сдвига. Максимальной прочностью обладают волокна, полученные при $4V = 0,3 \text{ с}^{-1}$.

С увеличением степени вытяжки наблюдается увеличение прочности волокон, снижение величины удлинения при разрыве. Зависимость изменения механических свойств носит экспоненциальный характер. Максимальная вытяжка при скорости сдвига $4V = 0,3 \text{ с}^{-1}$ составляет 120 %.

Волокна на основе хитозана имеют упорядоченную анизотропную структуру с однородным сечением.

3.2.1. Механические свойства хитозановых нитей

Одним из наиболее перспективных полимеров для использования в биомедицине является хитозан, получаемый из природного полисахарида хитина путем его деацетилирования. Хитозан обладает рядом уникальных свойств, таких как биосовместимость, биodeградируемость, бактерицидность, отсутствие цитотоксичности. В настоящее время активно проводятся исследования по получению биоматериалов из хитозана, в том числе раневых тканевых покрытий, волокнистых, пленочных и блочных пористых материалов для клеточных технологий, а также биорезорбируемых хирургических нитей, позволяющих исключить повторные операции по их удалению. Оптимальным растворителем для хитозана является 2%-й водный раствор уксусной кислоты; осадителем — спиртово-щелочная смесь, подобраны скорости подачи и скорости сдвига раствора полимера, время осаждения, параметры сушки готового волокна. Кратко описаны структура и свойства, получаемых монофила-

ментных нитей из хитозана. Целью настоящей работы является исследование влияния молекулярной массы хитозана, скорости подачи раствора хитозана, величины фильерной вытяжки волокон в осадительной ванне на механические свойства получаемых моно- и полифиламентных нитей.

Методы и оборудование. Для получения нитей использовали хитозан фирмы "Биопрогресс" (г. Мытищи) с молекулярной массой $65 \cdot 10^3$ и степенью деацетилирования 95 %, а также хитозан фирмы "BiologHerpe" (Германия) с молекулярной массой $210 \cdot 10^3$ и степенью деацетилирования 92 %. Хитозан растворяли в 2%-м растворе уксусной кислоты, концентрация хитозана в растворе составляла от 5 до 7 % для хитозана фирмы "Биопрогресс" и 4 % для хитозана фирмы "BiologHerpe". Растворы были отфильтрованы и обезвоздушены в течение 24 h. Ориентированная структура волокон из хитозана формируется на стадии прохождения раствора хитозана через фильеру в результате возникающих в ней сдвиговых напряжений. Поэтому для выбора оптимальных параметров формования нитей, обеспечивающих его максимальные прочностные и упругие характеристики, были проведены исследования реологических свойств растворов хитозана. Реологические измерения проводились на реометре Physica MCR 301 фирмы Anton Paar при 20 °C по методу "цилиндр в цилиндре" в режиме сдвигового течения при скоростях сдвига $1-4000 \text{ s}^{-1}$

Нити формовали по коагуляционному методу, осадителем являлась спиртово-щелочная смесь, содержащая 10%-й водный раствор NaOH и C₂H₅OH в соотношении 1:1. Формование полифиламентных нитей проводили с использованием фильер с количеством отверстий 12, 24, 30 и диаметром отверстий 200 μm , а также фильеры с количеством отверстий 100 и диаметром отверстий 100 μm . Для формования мононитей использовали фильеру диаметром 0.6 mm. Скорость подачи раствора зависела от типа фильеры и варьировала от 3 до 5.0 mm^3/s , время осаждения составляло 150 s; степень фильерной вытяжки (λ) изменялась от -20 (усадка) до +120 % (растяжение), пластификационная вытяжка составляла 20 %. Нить промывали в дистиллированной воде, во вторую

промывочную ванну добавляли катионный ПАВ. Затем нити сушили на воздухе при температуре 50 °С. Измерения механических свойств (разрывного напряжения, модуля Юнга и деформации при разрушении) проводили с использованием комплекса для исследования механических свойств фирмы ”Инстрон“ 5943. Зажимная длина составляла 100 mm. Перед испытаниями нити выдерживались при нормальных климатических условиях (относительной влажности 66 %) не менее 24 h.

Результаты и обсуждения. Исследования реологических свойств растворов хитозана показали, что исследуемые растворы являются неньютоновскими жидкостями; с увеличением скорости сдвига вязкость растворов уменьшается, что свидетельствует об ориентации макромолекул хитозана и формировании анизотропной структуры растворов под действием сдвигового поля. При этом вязкость растворов возрастала при увеличении молекулярной массы хитозана и с увеличением концентрации хитозана в растворе.

Так, растворы хитозана с небольшой молекулярной массой (”Биопрогресс“) при концентрации хитозана менее 5 wt.% являются низковязкими жидкостями, при увеличении концентрации хитозана до 7 wt.% раствор представляет собой гель с высоким условным пределом текучести. Формование волокон и нитей из таких растворов невозможно. Растворы с содержанием хитозана 5.5–6.5 wt.% обладают необходимыми реологическими и гидродинамическими свойствами, позволяющими подавать их через фильеру, сохраняя ламинарность струи в осадителе. Механические свойства нитей, полученных из растворов хитозана с концентрациями 5.5, 6 и 6.3 wt.%, представлены на рис. 13.

Очевидно, что разрывное напряжение нитей возрастает при увеличении концентрации хитозана в растворе, нити с наилучшими механическими свойствами были получены из растворов с концентрацией хитозана 6.3 wt.%. Аналогичные исследования были проведены для хитозана с большей молекулярной массой (фирмы ”BiologNeppe“). Установлено, что для данного полимера оптимальной является концентрация 4 wt.%. В результате проведенных исследова-

ний было также показано, что скорость сдвига, возникающая при прохождении раствора через фильеру, и соответственно скорость подачи раствора влияют на механические свойства получаемых нитей. Ранее был определен диапазон скоростей сдвига $\dot{\gamma}$, возникающих в фильере: от 20 до 190 s^{-1} . Используя формулу $\dot{\gamma} = 2Q \pi R^3$, где Q — скорость подачи раствора, R — радиус фильеры, можно рассчитать необходимую скорость подачи раствора. При использовании фильеры радиусом $R = 0.3 \text{ mm}$ необходимая скорость подачи раствора будет находиться в интервале от 0.8 до 8 mm^3/s . На рис. 13 представлены значения механических свойств нитей из хитозана фирмы "Биопрогресс", полученных при скоростях подачи раствора 3.3 и 5.0 mm^3/s , что соответствует скоростям сдвига 77.8 и 118 s^{-1} . Наилучшими прочностными характеристиками обладают нити, сформованные при скорости подачи 3.3 mm^3/s .

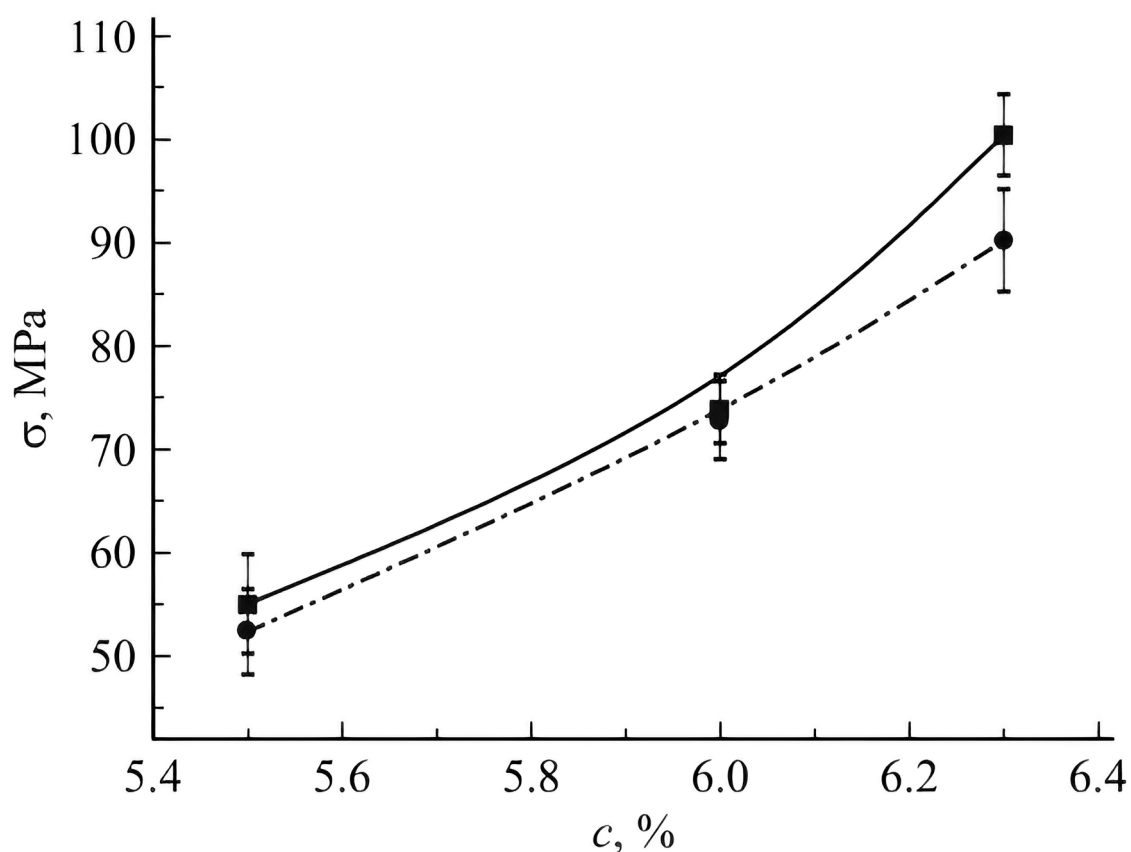


Рис. 13. Зависимость разрывного напряжения σ от концентрации s хитозана с молекулярной массой $65 \cdot 10^3$ в растворе при значениях фильерной вытяжки λ , равных 10% (штрихпунктирная линия) и 30% (сплошная линия), при скорости подачи раствора $v = 5 \text{ mm}^3/s$

Значительное влияние на механические свойства нитей оказывает величина фильерной (ориентационной) вытяжки λ . Структурирование раствора хитозана и ориентация макромолекул хитозана происходят при прохождении раствора через фильеру и, как следствие, образуется упорядоченная анизотропная структура волокна, что характерно для полужестко- и жесткоцепных полимеров. Для хитозана с небольшой молекулярной массой ("Биопрогресс") вытяжка 20 — 30 % уже является достаточной для образования ориентированной структуры нити, дальнейшее увеличение вытяжки не сопровождается улучшением механических свойств, а лишь приводит к обрыву нити при формовании. Иная ситуация наблюдается для хитозана с большей молекулярной массой (фирмы "BiologHerpe"). Механические свойства нитей из данного полимера в значительной степени зависят от величины фильерной вытяжки: ее увеличение приводит к росту разрывного напряжения σ и модуля Юнга E и снижению удлинения при разрыве ε . Максимальным значением вытяжки является $\lambda = 120$ %. При этом разрывное напряжение и модуль Юнга для нитей, сформованных из растворов хитозана с большей молекулярной массой, значительно выше, чем для нитей, полученных из хитозана с меньшей молекулярной массой. Таким образом, в результате проведенных исследований были определены оптимальные условия формования хитозановых нитей коагуляционным методом: скорость подачи раствора $3.3 \text{ mm}^3/\text{s}$, что соответствует скорости сдвига раствора в фильере 77.8 s^{-1} , фильерная вытяжка 20 — 40 % для хитозана с молекулярной массой 65 — 103 и 100 — 120 % для хитозана с молекулярной массой 210 · 103. Учитывая подобранные условия формования, были получены полифиламентные нити. При формовании полифиламентных нитей скорость подачи устанавливалась таким образом, чтобы скорость сдвига раствора в фильере находилась в интервале $70 — 90 \text{ s}^{-1}$. Фильерная вытяжка составляла 20 % для хитозана с меньшей молекулярной массой ("Биопрогресс") и 50 % для хитозана с большей молекулярной массой ("BiologHerpe").

Показано, что разрывное напряжение и модуль Юнга для полифиламентной нити ниже, чем для мононити, полученной при аналогичных условиях, вследствие неодновременности разрыва элементарных нитей в пучке. Количе-

ство элементарных нитей не оказывает существенного влияния на разрывное напряжение и модуль Юнга, при этом значение абсолютной разрывной нагрузки возрастала при увеличении количества элементарных нитей.

Получены моно- и полифиламентные нити из водных растворов хитозана в 2%-й уксусной кислоте, осадитель — спиртово-щелочная смесь. Механические свойства полученных нитей зависят от молекулярной массы хитозана — с увеличением молекулярной массы прочность нити увеличивается. Механические свойства волокон зависят также от условий их формования. Так, максимальной прочностью обладают волокна, полученные при скорости подачи раствора $3.3 \text{ mm}^3 / \text{s}$. Кроме того, прочность волокон растет с увеличением степени их вытяжки в осадительной ванне: максимальная вытяжка составляет 20 — 40 % для хитозана с меньшей молекулярной массой и 120 % для хитозана с большей молекулярной массой. Получены полифиламентные нити с различным количеством элементарных нитей и показано, что разрывное напряжение и модуль Юнга полифиламентной нити практически не зависят от количества элементарных нитей.

Разрабатываемые моно- и полифиламентные нити могут быть использованы в качестве резорбируемых шовных нитей, а также в качестве матриц для клеточных и тканезамещающих технологий, восстановления поврежденной нервной ткани.

Заключение

Большой интерес науки и промышленности к поиску и использованию полимеров природного происхождения, таких как хитин и хитозан является вполне закономерным. Эти полимеры обладают рядом интереснейших свойств, высокой биологической активностью и совместимостью с тканями человека, животных и растений, не загрязняют окружающую среду, поскольку полностью разрушаются ферментами микроорганизмов, могут широко применяться в проведении природоохранных мероприятий.

Хитин, как и целлюлоза, могут быть получены из возобновляемых природных ресурсов. Запасы хитина огромны, среди природных полимеров он занимает второе место после целлюлозы по биомассе. Особенно перспективным является использование грибного хитина, выделяемого из мицелия низших грибов. Исследования последних лет выявляют все новые его полезные свойства и, соответственно, новые области применения. По физико-химическим и молекулярным свойствам грибной хитин, существующий в природе в виде хитин-глюкановых комплексов, может отличаться в зависимости от источника его получения. Исследование ХГК различного происхождения имеет важное значение для понимания механизмов его биологической активности и развития технологичных методов его переработки.

Список рекомендуемой литературы

Агаджанян В.В., Пронских А.А., Демина В.А. и др. Биodeградируемые импланты в ортопедии и травматологии. Наш первый опыт // Политравма. 2016. С. 85—93.

Агеев Е. П., Вихорева Г. А., Зоткин М. А. и др. Структура и транспортные свойства хитозановых пленок, модифицированных термообработкой // Высокомолекул. соед. 2004. Т. 46. — С. 2035–2041.

Вихорева Г. А., Гольбрайх Л. С. Пленки и волокна на основе хитина и его производных // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. — М.: Наука, 2002. — С. 54 — 278.

Давыдова В.Н., Ермак И.М., Горбача В.И. и др. Взаимодействие бактериальных эндотоксинов с хитозаном. Влияние структуры эндотоксина, молекулярной массы хитозана и ионной силы раствора на процесс комплексообразования // Биохимия. 2000. Т. 65. № 9. — С. 1278-1287.

Добровольская И. П./Попрядухин П. В., Хоменко А. Ю., Дресвянина Е. Н., Юдин В. Е., Елоховский В. Ю., Чвалун С. Н., Сапрыкина Н. Н., Масленникова Т. П., Корыткова Э. Н. // Высокомолекул. соед. 2011. Т.15. № 5. — С. 1 — 7.

Дресвянина Е.Н., Добровольская И.П., Внучкин А.В., Попрядухин П.В. Получение и свойства волокон из хитозана // Изв. вузов. Технология легкой промышленности. 2011. Т. 11. № 1. — С. 48 — 511.

Евмененко Г.А., Алексеев В.Л., Нудьга Л.А., Петрова В.А. Конформация цепей хитин-глюканового комплекса по данным малоуглового нейтронного рассеяния // ВМС. Сер.Б.1998.Т.40. №8. — С. 1398 — 1402.

Илларионова Е. Л., Калинина Т. Н., Чуфарова Т. И., Хохлова В. А. Волокнистые пленочные и пористые материалы на основе хитозана // Хим. волокна. 1995. № 6. — С. 18 — 22.

Кочкина. З.М., Поспешны Г., Чирков С.Н. Ингибирование хитозаном продуктивной инфекции бактериофагов Т-серии в культуре *Escherichia coli* II // Микробиология 1995. Т. 64. № 2. С. 211 — 215.

Кочкина З.М., Поспешны Г., Чирков С.Н. Ингибирование хитозаном фаго-

лизиса культуры *Bacillus thuringiensis* // Прикл биохимия и микробиология. 1996. Т. 32. №2. — С. 247 — 250.

Кочкина З.М., Чирков С.Н. Влияние производных хитозана на репродукцию колифагов T2 и T7 // Микробиология. 2000. Т. 69. №2. — С. 258 — 260.

Кочкина З.М., Чирков С.Н. Инактивация колифагов производными хитозана // Микробиология. 2000. Т. 69. №2. — С. 266-269.

Кочкина З.М., Сургучева Н.А., Чирков С.Н. Инактивация колифагов производными хитозана // Микробиология. 2000. Т. 69. № 2. С. 261 — 265.

Кочкина З.М., Чирков С.Н. Влияние олигомера хитозана на фаговые частицы и репродукцию фага 1-97А в культуре *Bacillus thuringiensis* // Микробиология. 2001. Т. 70. № 6. — С. 820 — 824.

Михайлов Г.М., Лебедева М.Ф., Нудьга Л.А. и др. Структура и механические свойства волокон из хитина, модифицированных эфирамицеллюлозы // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана материалы V конф. М.: ВНИРО, 1999. — С. 51

Молекулярные характеристики и особенности надмолекулярной организации растворов хитин-глюкановых комплексов/ Е.Б. Тарабукина., Н.А Калинина., А.В Адамов., В.А Петрова., Л.А Нудьга., С.И. Кленин // ВМС.сер. А.2005. Т.47. №5. — С.778 — 786.

Немцев С.В. Комплексная технология хитина и хитозана из панциря ракообразных. — М.: ВНИРО, 2006. 134 с.

Нудьга Л.А., Петрова В.А., Ганичева С.И. и др. Физико-химические характеристики хитин-глюкановых комплексов различного происхождения // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана: материалы V конференции, Москва-Щелково / М.: ВНИРО, 1999 — С.242 — 245.

Нудьга Л.А., Петрова В.А., Ганичева С.И., Баклагина Ю.Г., Карбоксиметилирование хитин-глюкановых комплексов грибного происхождения и сорбционные свойства продуктов // Журн. прикл. химии, 2000.Т. 73. № 2. — С. 297 —301.

Нудьга Л.А., Баклагина Ю.Г., Петропавловский Г.А. и др. Надмолекулярная организация и физико-механические свойства волокна из хитина с низкой

степенью дезацетилирования// 1991. Т. 33Б. № 11. - С. 864-868.

Осовская И.И., Полторацкий Г.М. Гидрофильные свойства целлюлозы, обработанной насыщенным паром // Журн. прикл. Химии, 2005. Т. 78. Вып. 7. — С.1203 — 1205.

Сазанов Ю.Н., Федорова Г.Н., Плиско Е.А., Нудьга Л.А. Изучение термостабильности хитина, хитозана и некоторых его производных методом ДТА и ТГ // Журн. прикл. химии, 1980. Т.53. № 9. — С.2143 — 2146.

Суханова Т.Е., Сидорова А.В., Горяйнов Г.И. и др. Исследование морфологии хитинового волокна // Высокомол. соед. 1989. Т. 31Б. № 5. — С. 381 — 384.

Счосланд Л., Стружчик Г. Некоторые аспекты модификации хитина и хитозана // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана материалы V конф. М.: ВНИРО, 1999. — С. 71.

Феофилова Е.П. Хитин грибов: распространение, биосинтез, физико-химические свойства и перспективы использования. Хитин и хитозан.— М.: Наука, 2002 — 365 с.

Феофилова Е.П., Терешина В.М., Меморская А.С. и др. Новая отрасль биотехнологии. Ранозаживляющие препараты на основе полиаминосахаридов // Микробиология. 1999. Т.68. N 6 — С 834-837.

Цветков В.Н., Эскин В.Е., Френкель С.Я. Структура макромолекул в растворах. — М.:Наука,1964.

Целлюлоза и ее производные / под ред. Н. Байклза и Л. Сегала.- М.: Мир,1974. Т.2. — 540 с.

Abdou E.S., Nagy K.S., Elsabee M.Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources // Bioresource Technol. 2008. Vol. 99. N 5. P. 1359–1367. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.01.051

Agboh O. C., Qin Y. Chitin and Chitosan Fibers// Polymers for Advanced Technologies. 1997. Vol. 5 — P. 355–365.

Barrette J., Champagne C.P., Goulet J. Development of Bacterial Contamination during Production of Yeast Extracts // Appl. Environmental Microbiol. 1999. Vol. 65. № 7. P. 3261 — 3263.

Bodek K.H. Evaluation of microcrystalline chitosan properties as a drug carrier. Part II. The influence of microcrystalline chitosan on release rate of keto-profen // *Acta Pol. Pharm*, 2001. Vol. 58. N. 3. — P. 185 — 194.

Chupa J.M., Foster A.M., Sumner S.R. et al. Vascular cell responses to polysaccharide materials: in vitro and in vivo evaluations. // *Biomaterials*. 2000. Vol. 21. N 22. — P. 2315 — 2322.

East G. C., McIntyre J. E. and Qin Y. The production of fibers from chitosan // Elsevier Applied Science, London. 1989. — P. 757 — 763.

Furuike T., Nagahama H., Chaochai T., Tamura H. Preparation and Characterization of Chitosan-Coated Poly(l-Lactic Acid) Fibers and Their Braided Rope // *Fibers*. 2015. Vol. 3. — P. 380 — 393. DOI: 10.3390/fib3040380

Gutovska A., Jeon B., Jasionowski M. Injectable gels for tissue engineering // *The Anatomical Records*. 2001. Vol. 263. — P. 342 — 349.

Hachett C. Experiments and Observation on Shell and Bone // *Phill. Trans. Roy. Soc. London*, 1799 — P. 315 — 334.

Hoffman A.S., Afrassiabi A., Dong L.C. Thermally Reversible Hydrogels: II. Delivery and Selective Removal of Substances from Aqueous Solutions [J] // *J. Controlled Release*. 1986. Vol. 4. — P. 213 — 222.

Islam S., Rahman Bhuiyan M.A., Islam M.N. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering // *J. Polym. Environ*. 2017. Vol. 25. N 3. — P. 854 — 866. DOI: 10.1007/s10924-016-0865-5.

Janes K.A., Fresneau M.P., Marazuela A. et al.. Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin // *J. Control Released* 2001. Vol. 15. N. 73 (2-3). — P. 255 — 267.

Kokufata E., Zhang Y.-Q., Tanaka T. Saccharide-sensitive phase transition of a lectin-loaded gel // *Nature*. 1991. Vol. 351. P. 302-304.

Lim S.T., Forbes B., Berry D.J. et al. In vivo evaluation of novel hyaluronan/chitosan microparticulate delivery systems for the nasal delivery of gentamicin in rabbits // *Int. J. Pharm*. Vol. 23. N. 1. — P. 73 — 82.

Liu Y., Liu Z., Yu J., Hu Z. Effect of Hydroxyethylation on Structure and Proper-

ties of Chitosan Fibers // *Journ. of Macromolec. Science. Physics*, 2008. Vol. 47. — P. 392 — 400.

Matsukata M., Takei Y., Aoki T. et al. Temperature modulated Solubility-Activity Alterations for Poly (N-Isopropylacrylamide) – Lipase Conjugates // *J. Biochem. (Tokyo)*, 1994. Vol. 116. — P. 682— 686.

Muzzarelli R. A. A. *Natural Chelating polymers* pergamon Press. New York, 1973. — P. 150.

Nirokawa Y., Tanaka T. Volume phase transition in nonionic gel // *J. Chem. Phys.* 1984. Vol. 81. — P.6379 — 6380.

Ramados M., Paul W., Dillep K.J. et al. Lipoinsulin encapsulated alginate-chitosan capsules: intestinal delivery in diabetic rats // *J. Microencapsul.* 2000. Vol. 17. N 4. — P. 405 — 411.

Rathke Thomas D., Hudson Samuels M. Fiber spinning from chitosan xanthate solutions // *J. Macromol. Sci.-Rev. Macromol. Chem. and Phys.* 1994. Vol. 34. N 3. — P. 422 — 437.

Rathke D. T., Hudson S. M. // *J. M. S. — Rev. Macromol. Chem. Phys.* — 1994. — C.34 (3). — P. 375–437.

Ravi M. N. V. Kumar Chitin and chitosan: A review // *Bull. Mater. Sci.* 1999. Vol. 22. № 5, August. — P. 905 — 915.

Siegel P.J., Schaechter M. The Role of the Host Cell Membrane in the Replication and Morphogenesis of Bacteriophages // *Annu Revs Microbiol.* 1973. Vol. 27. P. 261 — 282.

Sudarshan N.R. Hoover D.G., Knorr D. Development of Bacterial Contamination during Production of Yeast Extracts // *Appl. Environmental Microbiol.* 1999. Vol. 65. № 7. — P. 3261 — 3263.

Szosland L. // *Chemical Fibers Intematiol.* 1998. N 4 Sept. — P. 316.

Tanaka T. Collapse of Gels and the Critical Endpoint // *Phys. Rev. Lett.* 1978. Vol. 40. — P. 820 — 823.

Tomura H., Tsuruta Yu, Itoyamab K. et al. Preparation of chitosan filament applying new coagulation system // *Carbohydrate polymers.* 2004. Vol. 56. — P. 205 — 211.

Tokura S., Nishimura S., Nishi N. et al. Preparation and some properties of variously deacetylated chitin fibers // *Sen i Gakkaishi*. 1987. Vol. 43 (6). — P. 288 — 293.

Tozaki H., Fujita T., Terabe A., Okabe S. et al. Validation of a Pharmacokinetic Model of Colon-specific Drug Delivery and the Therapeutic Effects of Chitosan Capsules Containing 5-Aminosalicylic Acid on 2,4,6-Trinitrobenzenesulphonic Acid-induced Colitis in Rats // *J Pharm. Pharmacol.* 1999. Vol. 51. N 10. — P. 1107 — 1112.

Tozaki H., Komoike J., Tada C. et al. Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from the rat colon // *J. Pharm Sci.* 1997. Vol. 86 N 9. — P. 1016 — 1021.

Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane // *Microbiol. Revs.* 1992. Vol. 56. №3. — P. 395 — 411

Учебное издание

Ираида Ивановна Осовская

**Дополнительные главы технологии
полимерных материалов
Физико-химические свойства хитина, хитозана
и волокон на их основе**

Компьютерная верстка Д. А. Романова
Техн. редактор Л. Я. Титова

Учебное электронное издание сетевого распространения

Системные требования:
электронное устройство с программным обеспечением
для воспроизведения файлов формата PDF

Режим доступа: http://publish.sutd.ru/tp_get_file.php?id=202016, по паролю.
- Загл. с экрана.

Дата подписания к использованию 03.06.2021 г. Рег. № 29/21

Высшая школа технологии и энергетики СПбГУПТД
198095, СПб., ул. Ивана Черных, 4.