

Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка

Природничо-географічний факультет

Кафедра хімії та методики навчання хімії

Скрипка Анна Олександрівна

**ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО МАТЕРІАЛУ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ ТА
МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО**

Спеціальність: 014 Середня освіта (Хімія)

Галузь знань: 01 Освіта/Педагогіка

Кваліфікаційна робота
на здобуття освітнього ступеню магістра

Науковий керівник

_____ А.М. Скляр

доцент, кандидат хімічних наук

« ____ » _____ 2020 року

Виконавець

_____ А.О. Скрипка

« ____ » _____ 2020 року

Суми 2020

ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1 ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ХІТИНУ ТА ХІТОЗАНУ.....	5
1.1. Історія відкриття.....	5
1.2. Джерела отримання хітину і хітозану та їх структура.....	6
1.3. Методи одержання хітозану з хітину.....	9
1.3.1. Хімічне деацетилювання хітину.....	9
1.3.2. Ферментативне деацетилювання хітину.....	11
1.4. Хімічні властивості хітозану і його похідних та біоматеріали на їх основі.....	12
1.5. Застосування хітозану.....	18
1.6. Антибактеріальні властивості хітозану.....	20
1.7. Хітозан в медицині.....	22
1.8. Біоматеріали на основі хітозану.....	24
1.9. Метиленовий синій – структура та властивості.....	25
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИКА ТА ТЕХНІКА ЕКСПЕРИМЕНТУ.....	27
2.1. Техніка безпеки при роботі в хімічній лабораторії.....	27
2.1.1. Правила роботи з кислотами та лугами.....	28
2.1.2. Правила роботи з вогнебезпечними речовинами.....	29
2.1.3. Надання першої допомоги під час нещасного випадку в лабораторії.....	29
2.2. Методика одержання біоматеріалів на основі хітозану і метиленового синього.....	30
2.3. Основи рентгеноструктурного аналізу та растрової електронної мікроскопії.....	32
2.4. Основа методу температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії.....	34
РОЗДІЛ 3 ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ЕКСПЕРИМЕНТУ.....	35
3.1. Результати експериментального дослідження.....	35
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	45

ВСТУП

Актуальність теми

Друга половина 20 століття ознаменувалась бурхливим процесом дослідження біополімеру хітину, а, особливо, його найпростішого похідного хітозану. Виявилось, що хітозан має комплекс цікавих у прикладному аспекті властивостей, в тому числі і унікальних.

На початку 21 століття хімія хітозану породила новий напрям – одержання та дослідження модифікатів хітозану, а також композиційних матеріалів на його основі. На цьому шляху у різних країнах світу вдалося одержати нові полімерні продукти з заданими властивостями.

При цьому було встановлено, що серед них є значна кількість матеріалів з біологічною активністю. Ними зацікавились спеціалісти медичної галузі і вищевказані полімерні продукти стали називати медичними біоматеріалами.

З даної точки зору, наукова дипломна робота є безумовно актуальною, оскільки в ній розроблена методика одержання нового біоматеріалу, досліджена його структура і рекомендовано на перспективу його використання в медичній сфері.

Мета дослідження. Розробити методику одержання біологічно активного матеріалу на основі хітозану та метиленового синього та дослідити структуру одержанного матеріалу.

Завдання:

1. Проаналізувати наукову літературу в сфері робіт по одержанню біоматеріалів на основі хітозану.
2. Підготувати зразки хітозану для одержання біоматеріалів.
3. Розробити методику одержання біоматеріалів.
4. Схарактеризувати структуру одержаних полімерних продуктів деякими фізико – хімічними методами.

Об'єкт дослідження. Хітин / хітозан антарктичного криля.

Предмет дослідження. Процес утворення біоматеріалу хітозану з метиленовим синім.

Методи дослідження:

- теоретичний і системний аналіз літератури, узагальнення і систематизація виявлених даних для формулювання й обґрунтування висновків за результатами дослідження;

- рентгеноструктурний аналіз;
- мас-спектрометрія;
- електронна мікроскопія.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження опубліковані у збірнику наукових праць «Природничі науки» 2020.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ХІТИНУ ТА ХІТОЗАНУ

1.1. Історія відкриття

Хітозан – це лінійний полісахарид, що складається з хаотично розподілених замісників D-глюкозаміну (деацетильованої ланки) і N-ацетил-D-глюкозаміну (ацетильованої ланки) в макромолекулі. Хітозан – це речовина, отримана з хітину, який міститься в «екзоскелетах» молюсків, креветок, омарів, крабів тощо.

Використання хітозану людством почалося з 1811 року, коли хітин, з якого отримують хітозан, був вперше відкритий професором природничих наук у Франції. За даними істориків, професор Браконот проводив дослідження грибів, виділивши те, що згодом було названо хітином.

Через 20 років була опублікована стаття про комах, в якій відзначалося, що аналогічна речовина, також присутня в структурі комах та деяких рослин. Автор назвав цю речовину "хітин". Взагалі, назва «хітин» від грецького слова означає «туніка» або «конверт». У 1843 році французький хімік Лассайн показав наявність Нітрогену в хітині.

Після відкриття хітину з'явився хітозан. Вперше він був виділений французьким фізіологом Руже під час експерименту на хітині. Він помітив, що хітином, можна маніпулювати за допомогою хімічної та температурної обробки до стану розчину. У 1878 році німецький хірург Ледерхоз показав, що хітин складається з залишків глюкозаміну та оцтової кислоти. У 1894 году німецький лікар та хімік Хоппе-Сейлер назвав цю речовину «хітозаном».

На початку 20-го століття була проведена велика кількість досліджень хітозану, одержаного з хітину панцирів крабів і грибів. Саме робота французького вченого Раммельберга в 1930-х роках показала структуру хітозану. Гідролізуючи хітин, експерти довели, що він є полісахаридом похідного глюкозаміну.

На початку 1950-го року, рентгеноструктурним аналізом досліджували хітозан у грибах. Відносно недавно наука довела присутність хітину та целюлози в клітинних стінках грибів. Перша книга про хітозан була опублікована в 1951 році через 140 років після того, як Браконот зробив свої перші спостереження.

На початку 1960-х рр. хітозан дослідили на здатність зв'язуватися з еритроцитами і показали, що ця речовина є гемостатичним агентом. У ході трьох десятиліть хітозан використовувався на очисних спорудах для детоксикації води, з якої він поглинає жири та інші потенційно токсичні речовини.

Сьогодні він відомий також як дієтична добавка. У Японії та Європі його продають як препарат для схуднення вже близько 20 років і багато хто називає хітозан «блокатором жиру».

1.2. Джерела отримання хітину і хітозану та їх структура

Молекулярна маса хітозану коливається в залежності від джерела - хітину. Основними джерелами хітозану є хітин (комахи, ракоподібних, панцирі крабів і креветок, кальмарів та водоростей). Він зустрічається в природі тільки в обмежених кількостях. Зазвичай його отримують шляхом хімічної або ферментативної обробки.

Більше 40 років, як хітин викликав інтерес наукової спільноти в усьому світі завдяки його потенційним біомедичним застосуванням. Хітин або полі (β - (1 \rightarrow 4) -N-ацетил-D-глюкозамін) є важливим природним полісахаридом, вперше виявлений в 1884 році (рис. 1.1) [1, с. 51–56].

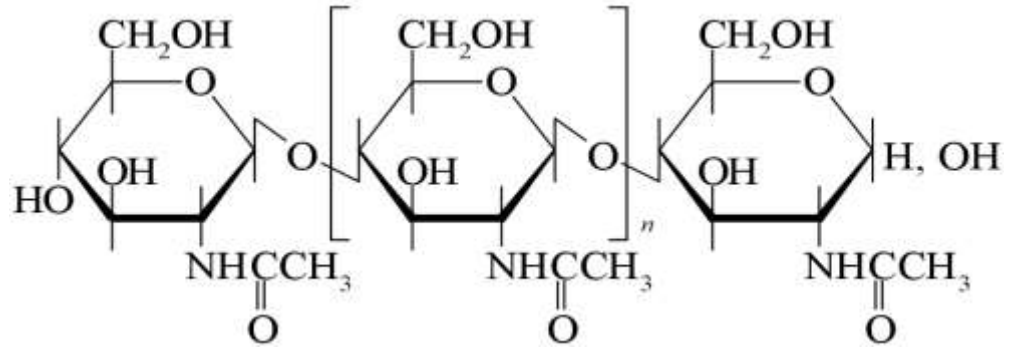


Рис. 1.1. Будова хітину

Цей біополімер синтезується величезною кількістю живих організмів і відноситься до найбільш поширених природних полімерів після целюлози. У звичайному стані, хітин має впорядковані кристалічні мікрофібрили, які утворюють структурні компоненти екзоскелета членистоногих або в клітинних стінках грибів і дріжджів. На даний момент основними комерційними джерелами хітину є панцирі крабів і креветок [2, с. 526–533].

У твердому стані ланцюги хітину зібрані водневими зв'язками, які контролюють розчинність, набухання і реактивність. Хітин не розчиняється у воді через його кристалічну структуру і саме цей фактор впливає на його обмеження у використанні. Існує три поліморфних кристалічних структури хітину: α , β і γ .

Їх можна розрізнити за ступенем гідратації, розміром комірки та числом ланцюгів хітину на елементарну комірку. В α -формі всі ланцюги мають антипаралельну орієнтацію. β -форма включає ланцюги, які паралельно розподілені. γ - хітин включає в себе два паралельні ланцюга, які замінюються з одинарними антипаралельними ланцюгами. Усі три кристалічні модифікації хітину зазвичай зустрічаються у хітинових структурах комах.

Структуру α -хітину можна виявити у членистоногих, грибів, структуру β -хітину отримують з пера кальмарів, а γ -хітин можна виявити в волокнах кокона жуків і в шлунку кальмара. На відміну від α -хітину, β -хітин має слабкі водневі зв'язки. Тож β -хітин характеризується слабкою міжмолекулярною силою і проявляє вищу реакційну здатність [1, с. 51–56].

Хітин разом з його варіантами, особливо його деацетильованим аналогом хітозаном, виявився корисним як перев'язувальний матеріал для ран, носій для доставки ліків і все частіше використовується в тканинній інженерії. Перспективи цього полімеру величезні і будуть продовжувати зростати в міру того, як хімія розширюватиме можливості його практичного застосування.

Хітозан – це кополімер N-ацетил-D-глюкозаміну і D-глюкозаміну. Хітозан, як вже зазначалось, лінійної напівкристалічної природи. Вміст залишків D-глюкозаміну в макромолекулі хітозану виражають ступенем деацетилювання, який зазвичай дорівнює 70-90% (рис. 1.2) [3, с. 19–40].

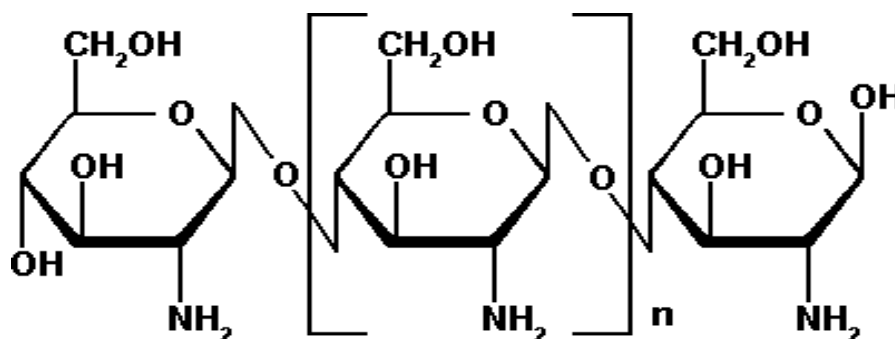


Рис. 1.2. Будова хітозану

Отже, хітозан відрізняється від хітину наявністю вільних аміногруп, що обумовлює розчинність в розбавлених кислотах ($\text{pH} < 6$) та в утворенні комплексів з різними іонами, зокрема, металів.

Хітозан з протонованими аміногрупами стає полікатионом, який згодом може утворювати іонні комплекси з широким розмаїттям природних або синтетичних аніонних речовин, таких як ліпіди, білки, ДНК і деякі негативно заряджені синтетичні полімери [4, с. 1146–1147].

1.3. Методи одержання хітозану з хітину

Хітозан відноситься до похідного хітину, отриманий деацетилюванням останнього. Фактично, в залежності від ступеня деацетилювання в макромолекулі хітозану має місце баланс між двома типами структурних ланок хітину (рис. 1.3) та хітозану (рис. 1.4).

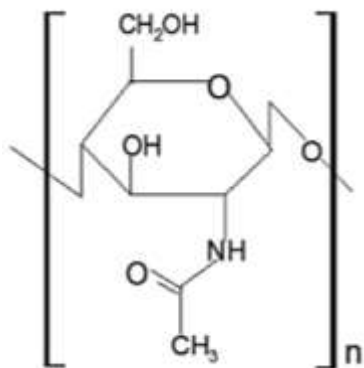


Рис. 1.3. Структурна ланка хітину

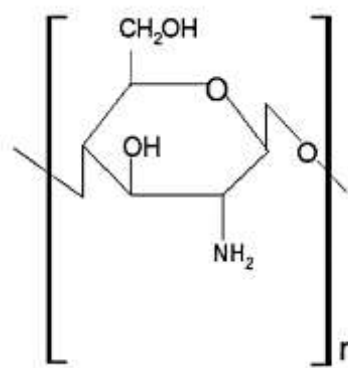


Рис. 1.4. Структурна ланка хітозану

Під час деацетилювання хітину методом лужного гідролізу, ацетильні групи видаляються не повністю, також відбувається реакція деполімеризації, на що вказує зменшення молекулярної маси хітозану.

Проте, хітин може бути перетворений в хітозан і ферментативним способом. Хімічний метод широко використовується з комерційною метою для одержання хітозану, як більш дешевий і тому для більш масового виробництва цього полімеру.

1.3.1. Хімічне деацетилювання хітину

З хімічної точки зору для деацетилювання хітину можуть бути використані як кислоти так і луги. Однак, глікозидні зв'язки макромолекули дуже сприйнятливі до кислот, тому лужне деацетилювання використовується частіше (рис. 1.5).

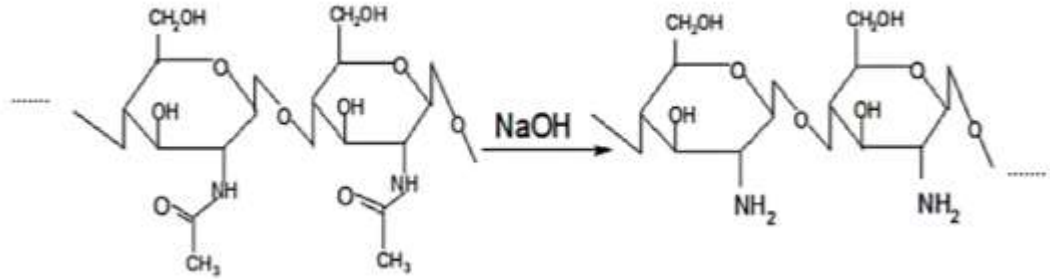


Рис. 1.5. Схема реакції деацетилювання хітину

N-деацетилювання хітину проводиться гетерогенно або гомогенно. Зазвичай, в гетерогенному методі хітин обробляють гарячим концентрованим розчином NaOH протягом декількох годин, а хітозан отримують у вигляді нерозчинного залишку, деацетилюваного до $\sim 85\%$ - 90% . Згідно гомогенного методу, хітин диспергують у концентрованому розчині натрієвого лугу ($W=40\%$) за 25°C протягом 3 годин або більше з наступним витриманням суміші за температурою близько 0°C . Цей метод дає розчинний хітозан із середнім ступенем деацетилювання 48% - 55% . Процес призводить до деацетилювання з ацетильними групами, рівномірно розподіленими по ланцюгах.

Розчинність одержаного хітозану може залежати не тільки від частки залишкових N-ацетамідних ланок в молекулі, але і від їх розподілу в ланцюгу. Реакція деацетилювання, що проводиться в гетерогенних умовах, дає нерегулярний розподіл N-ацетиламідних залишків з деяким блоковим розподілом уздовж полімерних ланцюгів. Таким чином, розчинність і ступінь агрегації макромолекул хітозану може варіювати, що призводить до зміни вказаних середніх характеристик, які також відрізняються від тих же характеристик деацетилюваного хітозану, але отриманого в гомогенних умовах.

Крім того, спосіб одержання хітозану позначається і на зміні його молекулярної маси полімеру та в'язкості в розчинів.

Фактично, багато чинників реакції хімічного деацетилювання можуть впливати на характеристики кінцевого хітозану. На молекулярну масу хітозану, в

основному, впливають концентрація NaOH, час реакції та температура. Відносна молекулярна маса хітозану знижується з підвищенням температури і концентрації NaOH.

Хімічне деацетилювання має також і інші недоліки:

- споживання енергії;
- відходи концентрованого лужного розчину, що призводять до забруднення навколишнього середовища, широкого і неоднорідного асортименту розчинних і нерозчинних побічних продуктів [5, с. 355–359].

1.3.2. Ферментативне деацетилювання хітину

Щоб подолати недоліки хімічного деацетилювання, існує альтернативний ферментативний метод, в якому використовуються ферменти хітиндеацетилази, які є глікопротеїнами за своєю природою. Використання хітиндеацетилаз для перетворення хітину в хітозан, на відміну від існуючого зараз хімічного методу, дає можливість уникнути деструктивних процесів і отримати хітозан з чітко визначеними характеристиками. Цей метод спеціально використовується для приготування хітозанових олігомерів. Хітиндеацетилаза каталізує гідроліз N-ацетамідних зв'язків в хітині з утворенням хітозану. Наявність ферменту подібної активності, була зареєстрована у деяких грибів та видів комах. Крім того, всі ці ферменти демонструють чудову термостабільність за оптимальної температури 50°C. Проте, ці ферменти значно відрізняються за молекулярною масою і будовою вуглеводів, що входять до їх складу.

Використання ферментативного деацетилювання є привабливим альтернативним процесом, який дає можливість отримання нових хітозанових полімерів і, що більш цікаво, олігомерів [6, с. 131–138].

В роботі використовували готовий хітозан промислового виробництва, характеристики якого наведені на сторінці 27.

1.4. Хімічні властивості хітозану і його похідних та біоматеріали на їх основі

Хітозан за своїми хімічними властивостями подібний до хітину, але менш стійкий. Руйнування хітозану відбувається під впливом пероксидів, кислот, лугів та ферментних препаратів. Отримані хітозани з дуже низькою молекулярною масою та олігомери розчиняються у воді і мають на порядок вищу біологічну активність на відміну від високомолекулярних зразків, які є водонерозчинними.

Характерною хімічною властивістю хітозану є його добре розчинення в кислому середовищі. Також для хітозану характерними являються реакції карбоксилування (рис. 1.6).

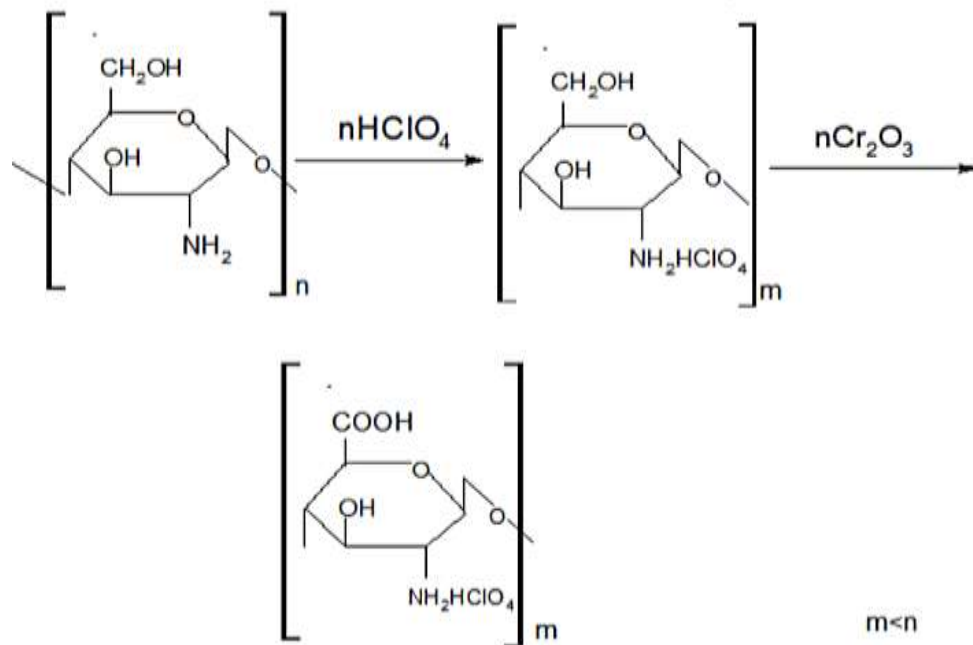


Рис. 1.6. Схема реакції карбоксилування

Для того, щоб отримати карбоксил-модифіковані похідні хітозану, реакції карбоксильованого хітозану зазвичай відбуваються за участю як $-\text{NH}_2$, так і $-\text{OH}$ групи. Карбоксилування може бути досягнуто з використанням гліоксилової кислоти. Хітозан обробляють монохлороцтовою кислотою в різних умовах для отримання карбоксиметилхітозану. Розчинність карбоксиметилхітозану у воді

залежить від умов модифікації і ступеня карбоксиметилування. Карбоксилування хітозану не тільки покращує розчинність хітозану в воді, але також генерує амфіфільні похідні хітозану з групами $-NH_2$ і $-COOH$. Ці похідні мають хорошу розчинність у воді і поверхневу активність. А також мають плівкоутворюючу, вологопоглинаючу та вологоутримуючу здатність. Антибактеріальними, антиоксидантними та іншими біологічними властивостями, які роблять їх корисними для різних застосувань в косметичі, харчових продуктах і в медичній промисловості (рис. 1.7) [7, с. 122–127].

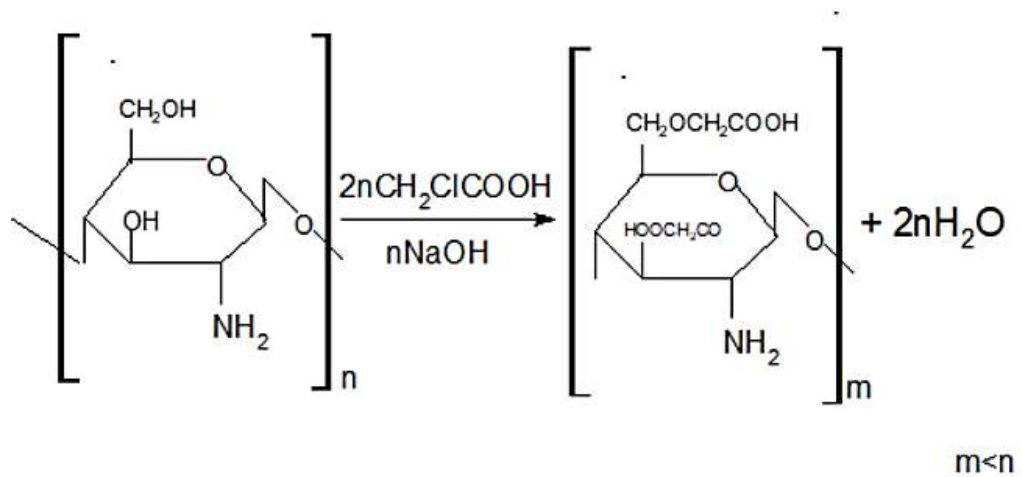


Рис. 1.7. Схема реакції карбоксиметилування

Крім того, для хітозану характерні реакції ацилювання та N-алкілювання. [7, с. 122–127].

Ацетилювання хітозану проводять сумішшю оцтового ангідриду і хлорної кислоти. Реакція відбувається по С6 та аміногрупі (рис. 1.8)

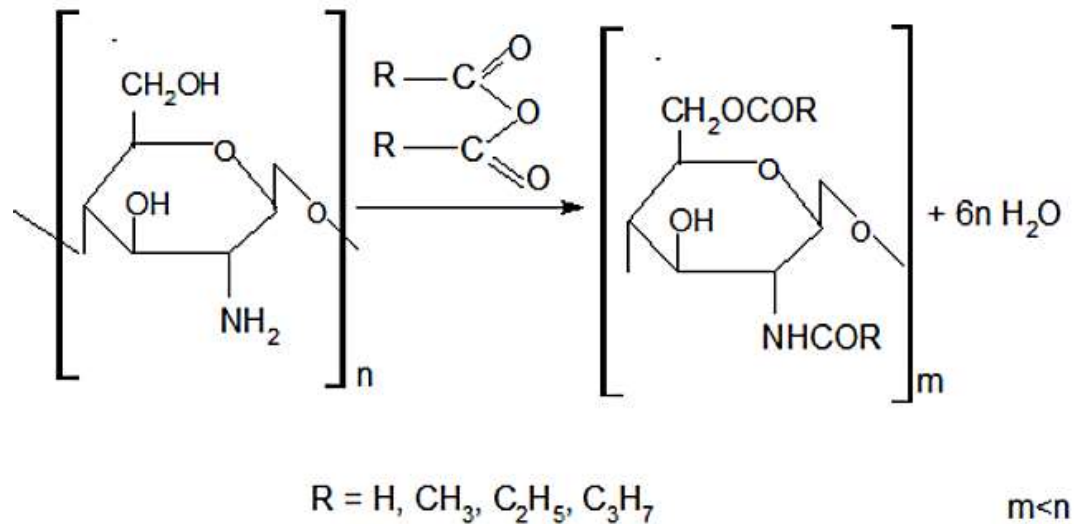


Рис. 1.8. Схема реакції ацетилювання хітозану

Під час ацилювання хітозану групи $-NH_2$ і $-OH$ в молекулі хітозану можуть брати участь в реакції з ангідридом або хлорангідридом органічної кислоти. При отриманні ацильованого хітозану слід звернути увагу на температуру реакції і тип каталізатора. Розчинність ацильованого хітозану в воді або в органічному розчиннику зазвичай поліпшується шляхом введення різних молекулярних мас жирів або ароматичних ацильних груп. Ацильований хітозан володіє технологічними властивостями і ефектом уповільненого вивільнення. Це новий тип допоміжного матеріалу, який можна використовувати для оральних нерозчинних складів скелету (рис. 1.9) [8, с. 7–23].

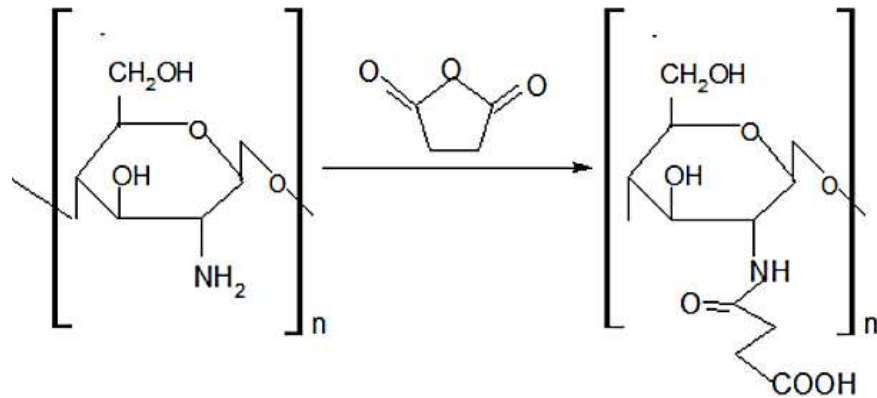


Рис. 1.9. Схема реакції ацилювання хітозану

N-алкілювання хітозану проводять алкілюванням хітозану галоїдним алкілом в присутності органічних основ, які зв'язуючи утворюють в результаті реакції йодидну кислоту. Реакція відбувається по аміногрупі з утворенням N – триметилхітозану (рис. 1.10) [9, с. 327–338].

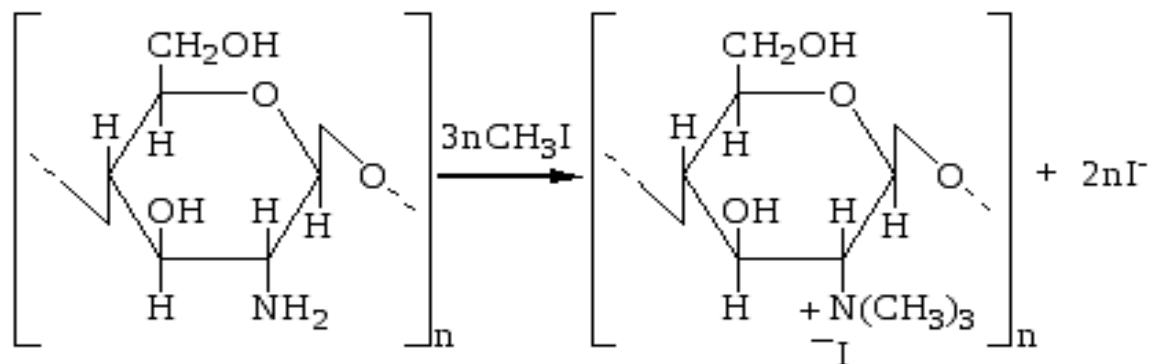


Рис. 1.10. Схема реакції N-алкілювання хітозану

Тож, можна зробити висновок, що ці реакції модифікують хітозан, руйнуючи його кристалічну структуру і збільшуючи розчинність такого модифікованого хітозану. Похідні хітозану з поліпшеними фізико-хімічними та біологічними властивостями краще підходять для використання носіями в медичній області.

До хімічних властивостей хітозану також відносяться реакції етерифікації та кополімеризації.

При алкілюванні хітозану аміногрупа і гідроксогрупа можуть брати участь в реакції. Однак реакції за участю аміногрупи відбуваються з більш високою швидкістю в порівнянні з реакціями за участю гідроксильних груп. Отже, алкілювання хітозану відбувається в основному через аміногрупу з утворенням N-алкільованих похідних хітозану (рис. 1.11) [9, с. 327–338].

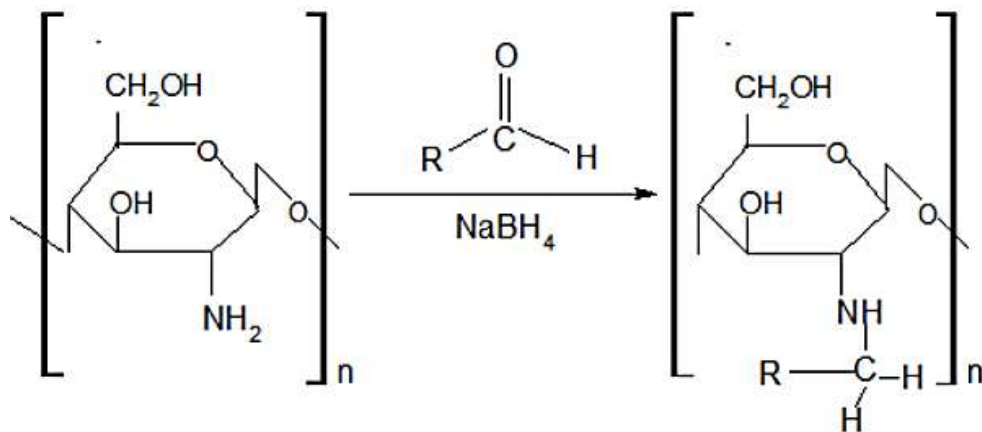


Рис. 1.11. Схема реакції алкілювання

Кополімеризація хітозану надає йому деяких нових властивостей, завдяки введенню інших бічних груп в ланцюги. Модифікований хітозан може бути використаний для модифікації поверхні тканин або целюлози, а також для поліпшення антибактеріальних властивостей хітозану. Кополімеризація хітозану має великі перспективи для широкого використання у виробництві ліків і інших біофармацевтичних препаратів (рис. 1.12) [21, с. 18–34].

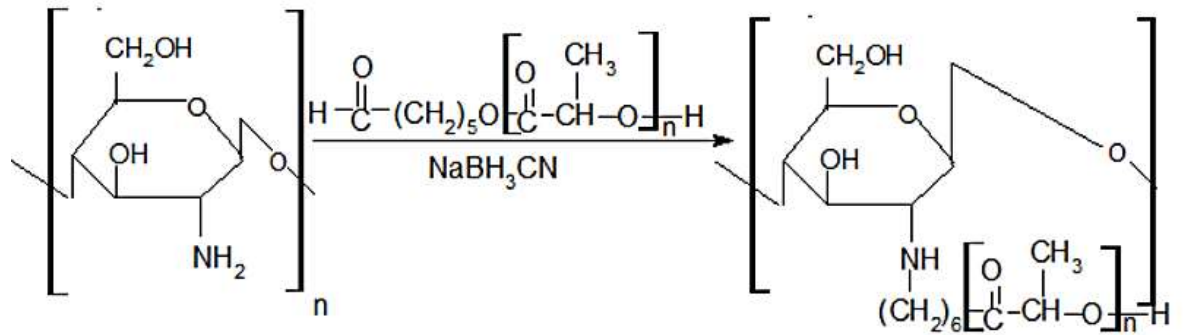


Рис. 1.12. Схема реакції кополімеризації хітозану

Реакція естерифікації хітозану відбувається через ОН-групу, що призводить до утворення відповідного алкілюючого агента. Отримані похідні потім піддають реакції деацетилювання з отриманням похідних етеру хітозану. Похідні етеру не є цитотоксичними, помітно не впливають на зростання фібробластів і не викликають значного роздратування, але вони викликають сповільнену гіперчутливість. Гідроксиетилхітозан володіє чудовою біологічною сумісністю та біорозкладанням і підходить для застосування в області медицини. Також володіє чудовим бактеріостатичним і гігроскопічним зволожуючим ефектом і безпечний для використання у вигляді натурального пом'якшуючого матеріалу. Гідроксиетилхітозан також можна використовувати у вигляді консерванту в косметиці, де він проявляє антибактеріальну дію на поширені бактерії (рис. 1.13) [20, с. 151–209].

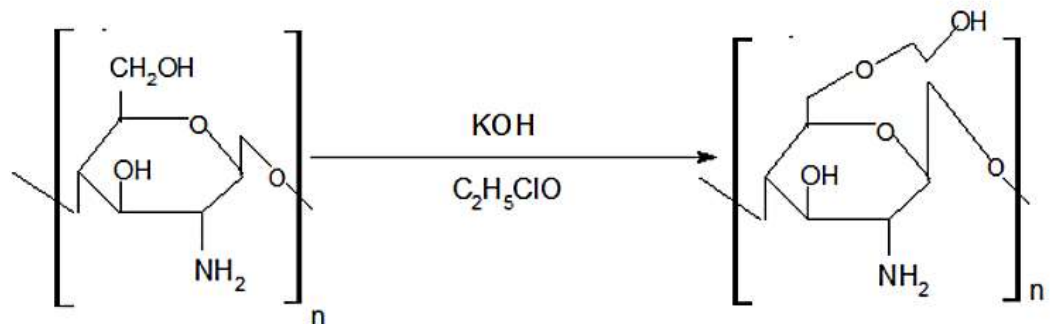


Рис. 1.13. Схема реакції естерифікації хітозану

1.5. Застосування хітозану

Хітозан володіє різноманітними фізико-хімічними та біологічними властивостями, що обумовлює його використання в таких сферах, як очищення води та стічних вод, сільське господарство, виробництво тканин і текстилю, косметика та обробка харчових продуктів. Крім того, відсутність токсичності і алергенності, біосумісність і здатність до біорозкладання та біологічна активність обумовлюють його привабливість як речовини для різноманітних застосувань біоматеріалом у фармації та медицині, де він використовується для системної та локальної доставки ліків і вакцин.

Хелатні властивості хітозану та висока функціональність підкреслюють його цінність в харчовій промисловості, для зв'язування і видалення певних речовин, таких як барвники і жири, з харчових продуктів. Антибактеріальні та протигрибкові властивості хітозану використовують при зберіганні продуктів.

Природне походження та нетоксичність хітозану дозволяють широко використовувати його в сільському господарстві, не боячись забруднення довкілля. Обробка хітозаном насіння, листя, добрив є одними із прикладів застосування хітозану в сільському господарстві. Це збільшує кількість культур поліпшеної врожайності, забезпечує збереження вологи в ґрунті, одночасно знижуючи кількість грибкових інфекцій та захворювань.

Природні хелатоутворювальні властивості хітозану ефективні при очищенні стічних вод від сполук важких та радіоактивних металів, таких як купрум, плумбум, меркурій, уран. Він також може бути використаний для розщеплення частинок їжі, які містять білок, і видалення барвників та інших негативно заряджених твердих частинок з потоків стічних вод.

Хітозан має високий ступінь водопоглинання та водоутримання, тому входить до складу різних косметичних засобів, таких як пом'якшувальні креми, гелі для душу тощо.

А ще більш ефективним косметологічним засобом виявився карбоксиметилхітозан – повністю водорозчинний, здатний до плівкоутворення, оскільки має більш високий ступінь розгалуження макромолекул [21, с. 18–34].

Використання хітозану у інших сферах життєдіяльності людини.

Хітозан в сільському господарстві і садівництві в першу чергу використовують для захисту рослин і підвищення їх врожайності. При цьому полімер впливає на біохімію і молекулярну біологію рослинної клітини. Клітинними мішенями є плазматична мембрана і ядерний хроматин. Зміни відбуваються в клітинних мембранах, хроматині, ДНК, активних формах кисню, генах. Вперше хітозан був зареєстрований в 1986 році, як активний інгредієнт.

А ще, у сільському господарстві хітозан використовується для обробки насіння і підсилювачем росту рослин, а також як екологічно чистий біопестицид, для підвищення вродженої здатності рослин протистояти грибковим інфекціям.

Хітозан посилює фотосинтез, прискорює ріст рослин, стимулює споживання поживних речовин, активізує проростання, а також підвищує в цілому життєздатність рослин.

Застосування хітозану в сільському господарстві допомагає знизити навантаження на навколишнє середовище з боку посухи і нестачі ґрунту та підвищити життєздатність насіння, а також уповільнити гниття плодів, овочів, фруктів. Застосування хітозану в садівництві інтенсифікує цвітіння і продовжує «життя» зрізаних квітів та різдвяних ялинок [19, с. 87–93].

Хітозан вже давно використовується як освітлюючий засіб у виноробстві. Хітозан продемонстрував підсилення осаджуючої активності, що знижує вміст окислених поліфенолів в соках і вині.

Як відомо, мікробне зараження харчових продуктів прискорює процес псування і збільшує ризик хвороб харчового походження, викликаних потенційно небезпечними для життя патогенами. Зазвичай забруднення харчових продуктів відбувається на поверхні, тому належне обробка поверхні і упаковка мають

вирішальне значення для забезпечення якості та безпеки харчових продуктів. Останнім часом харчові хітозанові плівки викликали великий інтерес з точки зору збереження різних харчових продуктів, збереження їх твердості і обмеження втрати ваги, яка відбувається через втрату вологи. Крім того, їстівні плівки, що містять протимікробні агенти, можна використовувати як безпечну альтернативу консервації харчових продуктів.

Хітозан можна використовувати для проведення процесів фільтрації. Він зв'язує дрібні частинки домішок і згодом видаляється разом з утвореним осадом під час фільтрації через пісок. Він також видаляє з води важкі метали, барвники, мастила тощо. Як добавка при фільтрації води хітозан у поєднанні з піском знижує її каламутність до 99%. Хітозан входить в число біологічних адсорбентів, які використовуються для видалення важких металів без негативного впливу на навколишнє середовище, що надзвичайно важливо [11, с. 18–22].

1.6. Антибактеріальні властивості хітозану

Мішенню антимікробної дії хітозану, є клітинна оболонка бактерій, де хітозан порушує нормальні функції мембрани, шляхом стимулювання витоку внутрішньоклітинних компонентів, а також шляхом пригнічення транспорту поживних речовин в клітину.

На антимікробну активність хітозану впливають температура і рН - середовище, в якому протікає реакція, фаза зростання бактерій клітини, а також наявність солей, здатних утворювати комплекси з хітозаном. Антимікробна і протигрибкова активність хітозану пов'язана з позитивно зарядженими аміногрупами, які реагують з негативно зарядженими групами ліпополісахаридів і білків на поверхні мікробних клітин, що призводить до руйнування клітинної мембрани і пошкодження клітинної стінки бактерій.

Значення рН нижче рКа хітозану (<6,3) призводять до утворення полікатіонної сполуки, яка здатна взаємодіяти з негативно зарядженими групами на

поверхні мікробних клітин. Хітозан при рН вище 7 втрачає свої антимікробні властивості через відсутність протонованої аміногрупи і низької розчинності.

Отже, в кислому середовищі хітозан характеризується високою розчинністю і здатністю реагувати з негативно зарядженими поверхнями бактеріальних клітин.

Антимікробна активність хітозану добре відома для різних бактерій і грибів і її пов'язують з його полікатіонною природою. З іншої точки зору, хітозан зв'язуючись з ДНК, пригнічує синтез мРНК в ядрах мікроорганізмів, втручаючись в її синтез, синтез білків і в кінцевому підсумку, гальмує ріст бактерій.

Комплекси хітозану з деякими металами (в основному аргентумом, цинком та купрумом) мають широкий антибактеріальний спектр і більш ефективно діють на деякі грамнегативні бактерії, включаючи кишкову паличку. На антибактеріальну активність хітозану також впливають:

а) «вік» бактеріальної клітини (фаза її зростання), що пов'язують зі змінами в мембранному потенціалі на поверхні клітин.

Отже, найбільш сприйнятливі до антибактеріальної дії хітозану «молоді» клітини, а найменш сприйнятливими є клітини, які вже входять в стаціонарні фази.

б) температура, також впливає на взаємодію бактерій з хітозаном. Найбільш оптимальною є температура в діапазоні 4-37°C. Більш низькі або більш високі температури можуть викликати зміни в структурі поверхні комірочки.

в) наявність солей натрію, кальцію або магнію може мати негативний вплив на антимікробну активність хітозану, утворюючи комплекси з полімером, звідси зменшується кількість і, таким чином, послаблюється взаємодія між хітозаном і клітинною стінкою.

г) ступінь деацетилювання хітозану і його молекулярна маса. Вважають, що високомолекулярний хітозан здатний утворювати полімерну плівку зі стінкою мікробної клітини, яка перешкоджає транспорту поживних речовин і загибелі бактеріальних клітин. Оптимальна молекулярна маса хітозану високої антимікробної активності становить близько 92 кДа.

На граммпозитивних бактерій через більшу товщину клітинної стінки високомолекулярний хітозан виявляє краще бактерицидний ефект, утворюючи оболонку, інкапсулюють бактеріальні клітини.

У бактерій набагато тонші клітинні стінки, тому низькомолекулярний хітозан діє найбільш ефективно, проникаючи в клітини і руйнуючи їх генетичний матеріал.

Хітозан активний проти грамнегативних і граммпозитивних бактерій, а також міцеліальних грибів і дріжджів.

Хітозан – нетоксичний, біосумісний природний полімер з бактерицидною і фунгіцидною активністю – предмет інтересу багатьох вчених. Його антимікробні властивості можуть застосовуватися в багатьох областях, таких як медицина, сільське господарство, а також харчова, текстильна і паперова промисловості [10, с. 129–136].

1.7. Хітозан в медицині

У медичній сфері хітозан використовувався як фізіологічний матеріал, завдяки своїм протипухлинним, імуномодулюючим, антимікробним і антихолестеринемічним властивостям. Виявлено, що ці характеристики залежать від хімічної структури і молекулярної маси полімеру.

У фармацевтичному виробництві хітозан використовується як наповнювач в пігулках, носій ліків з контрольованим вивільненням для поліпшення розчинення певних ліків та маскування гіркого смаку розчинів, для внутрішнього вживання [9, с. 327–338].

Хітозан також використовується для лікування ожиріння, бо він знижує вміст жиру в організмі, гальмуючи його всмоктування в дванадцятипалій кишці і збільшує екскрецію ліпідів, що сприяє зниженню маси тіла.

Він використовується для лікування ускладнень, що виникають у пацієнтів з нирковою недостатністю, включаючи високий рівень холестерину та для боротьби з безсонням.

Хітозан пришвидшує згортання крові. Його використовують у пов'язках як засіб з гіпоалергенними, антибактеріальними та знеболюючими властивостями завдяки чому, рани швидко загоюються [11, с. 18–22].

У спробі допомогти «донорській тканині» прижитися, пластичні хірурги іноді застосовують хітозан безпосередньо в тих місцях організму, звідки взяли тканину, для пересадки.

Деякі вчені дійшли до висновку, що для деяких тварин застосування хітозану та його похідних показало позитивні результати при виправленні дефектів кісток.

Було знайдено цікаве застосування хітозан-кальцій-фосфатного цементу. Хітозан гліцерофосфат змішували з кальцій фосфатом і лимонною кислотою, при цьому утворювалась ін'єкційна самозастигаюча система для відновлення кісток.

Хітозан – це також новий біоматеріал для стоматологічних застосувань, починаючи від реставраційної стоматології та закінчуючи тканинними каркасами для альвеолярного відростка і комплексного лікування парадонту. Деякі люди застосовують хітозан безпосередньо для лікування ясен, щоб позбутися запалення, яке може привести до втрати зубів або жувати жувальну гумку, з хітозану, щоб запобігти карієсу [18, с. 315–327].

Дуже поширеною хірургічною процедурою є лікування грижі з використанням звичайних протезів. Однак вони викликають утворення перитонеального інтерфейсу, що не зовсім бажано. Доведено, що нові біоматеріали з хітозаном є чудовими засобами з точки зору регенерації очеревини та сприяють швидкому відкладенню колагену, що має вирішальне значення для механічної поведінки регенерованої тканини [9, с. 327–338].

Тривалий час для лікування хвороби Паркінсона використовували психоделічний препарат, який викликає вивільнення лактатдегідрогенази. Пізніше вчені виявили, що вивільнення може бути зменшено хітозаном, що збільшує життєздатність клітин за рахунок пригнічення потенціалу мітохондріальної мембрани.

Хвороба Альцгеймера викликає загибель холінергічних нейронів, відкладення амілоїду, ацетилхоліну, порушення динамічної рівноваги між іонами металів. Хітозан має позитивний вплив на нейрони, оскільки він пригнічує запалення. На відміну від цього біополімеру, сучасні синтетичні засоби неефективні. Вчені виявили, що перацетильовані хітозанові олігосахариди знижують вивільнення лактатдегідрогенази та активних форм кисню, а також послаблюють втрату мітохондріального мембранного потенціалу [1, с. 51–56].

1.8. Біоматеріали на основі хітозану

Хітозан, як природний полімер, став дуже поширеним матеріалом для розробки похідних сполук з поліпшеними або новими властивостями. Цей напрям досліджень особливо помітний останні 10 років. У багатьох країнах світу отримують і досліджують різні біоматеріали на основі хітозану, в тому числі, і на кафедрі хімії та методики навчання хімії Сумського державного педагогічного університету ім. А.С.Макаренка, під керівництвом доцента кафедри – Скляра Анатолія Михайловича.

Лише за останні два роки були синтезовані біоматеріали на основі хітозану та діамантового зеленого, деяких антибіотиків, аргентум (I) нітрату тощо, які висвітлили біологічну активність і мають перспективи використання в медичній практиці, як антибактеріальні та антисептичні засоби [12, с. 52–57].

Крім перспективних біологічних матеріалів на основі хітозану, з нього отримують сорбенти, які використовують для:

- очищення питної води;
- очищення крові;
- виведення важких металів та радіонуклідів.

Таким чином, можна зробити висновок, що отримання та дослідження різних матеріалів на основі хітозану, в тому числі, біологічно активних, є перспективним напрямом досліджень в хімії хітозану.

1.9. Метиленовий синій – структура та властивості

Метиленовий синій або метиленова синь, є темно-зеленою кристалічною речовиною. Брутто-формула – $C_{16}H_{18}ClN_3S$ і називається N,N,N',N' - тетраметилтионін хлорид тригідрат (рис. 1.14). Молекулярна маса – 319,85 г/моль.

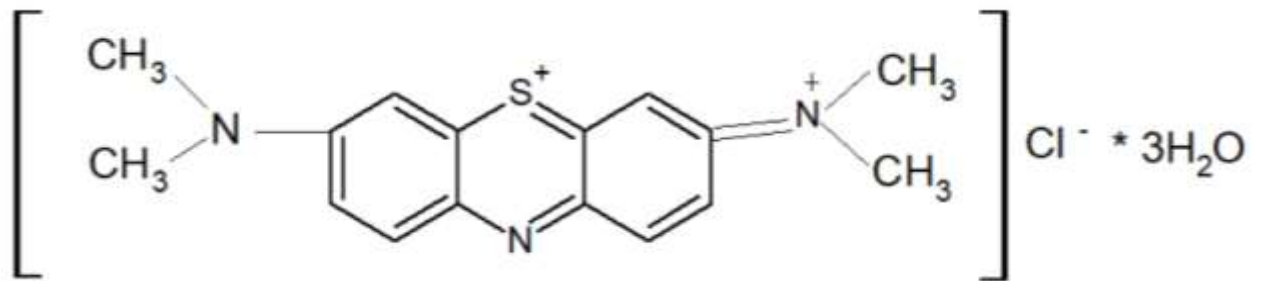


Рис. 1.14. Структурна формула метиленового синього

Найчастіше метиленовий синій використовують в медицині у вигляді спиртового розчину темно-синього кольору. Метиленовий синій погано розчиняється у воді (1:30), мало в етиловому спирті. Метиленовий синій використовують як окисно-відновний індикатор. Реакція відновлення метиленового синього (рис. 1.15) оборотна за $pH = 0$.

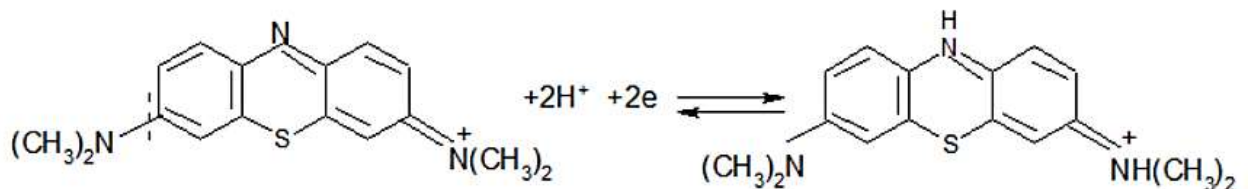


Рис. 1.15. Схема реакції відновлення метиленового синього

Як ароматичне гетероциклічна сполука барвник добре поглинає випромінювання в діапазоні 600 - 700 нм.

Метиленовий синій вперше був синтезований у 1867 році Генрихом Каро – німецьким хіміком-органіком.

Синтез метиленового синього відбувається за наступною схемою.

У порцеляновому або товстостінному скляному стакані місткістю 250 мл, оснащеному мішалкою, краплинною воронкою і термометром розчиняють розмішуючи 12,7 мл диметиланіліну в 35 мл концентрованої хлоридної кислоти з додаванням 100 г льоду. Охолоджують розчин до 0-2°C і вносять 7,3 г натрій нітриту, додаючи краплями його 20%-вий розчин. Температура не повинна підійматися вище 4°C.

Коли внесено весь натрій нітрит, суміш розмішують ще протягом години. Потім додають 35 мл концентрованої хлоридної кислоти. Утворену нітрозосполуку, відновлюють, додаючи в реакційну масу невеликими порціями 16 г цинкового пилу при інтенсивному перемішуванні. Відновлення ведуть за 15-20°C протягом 20 хвилин. Після цього реакційну масу фільтрують від домішок. У фільтрат вносять харчову соду до рН = 7 [13, с. 166].

Метиленовий синій використовувався як антисептик і стимулятор слизових поверхонь при лікуванні циститу і уретриту, для цього використовували водний розчин – 0,02%.

Метиленовий синій володіє окисно-відновними властивостями і може виступати акцептором і донором гідрогену в організмі. На цьому засноване його використання, як протиотрутного засобу. Метиленовий синій використовують при опіках та різних захворюваннях шкіри у вигляді 1-3%-вого спиртового розчину.

Також метиленовий синій використовується як протимікробна речовина в пластикових матеріалах, а саме, в упаковках харчових продуктів, хірургічних простирадлах, масках для обличчя тощо [17, с. 5–29].

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИКА ТА ТЕХНІКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

2.1. Техніка безпеки при роботі в хімічній лабораторії

В хімічних лабораторіях проводять безліч експериментів, отримують різні речовини, проводять їх аналіз, але перш за все не варто забувати про те, що неправильне використання різних приладів, а також робота з хімічними реактивами може привести до певних факторів ризику, як для людини так і для самої лабораторії (опік, пошкодження слизової оболонки, отруєння, можливі вибухів при роботі з вибухонебезпечними речовинами). Тому, під час роботи в лабораторії необхідно дотримуватися певних правил:

Загальні правила:

1. Під час роботи в лабораторії на робочому місці не повинно бути зайвих речей.
2. Забороняється користуватися невідомими реактивами, які без позначок та відповідних назв.
3. Під час роботи в лабораторії повинно перебувати декілька людей одразу, на випадок, якщо треба надати певну допомогу одному з лаборантів.
4. В кожній лабораторії повинні знаходитись вогнегасник та аптечка.
5. В лабораторії забороняється їсти, палити, також кожен працюючий повинен бути одягнутий в лабораторний халат та інші засоби безпеки (в окремих випадках).
6. Перед початком роботи, дослідник повинен прочитати та засвоїти методику роботи.
7. Перед проведенням дослідів, треба перевірити посудину на чистоту та після завершення роботи посуд потрібно одразу вимити.

8. Під час роботи з реактивами слід зберігати спокій та дотримуватися певних правил роботи з ними, слід зберігати чистоту та акуратність, щоб реактиви не потрапили на шкіру, одягу тощо.

9. Категорично забороняється пробувати речовини на смак. Якщо треба зрозуміти запах речовини, то обережно направляючи на себе пари або газу рухом руки. Також забороняється затягувати ротом в піпетки розчини.

10. В лабораторії всі реактиви повинні бути підписані певною назвою.

11. Під час прибирання слід виливати концентровані розчини, вогнебезпечні речовини в спеціальний посуд.

12. Якщо трапилось потрапляння на одяг токсичний рідин, необхідно його зняти та швидко прополоскати.

13. Перед роботою з певним обладнанням, необхідно перевірити його стан, усі електронагрівальні прилади треба установлювати на листовому азбесті товщиною 8-10 мм. Не в якому випадку не можна залишати робочі прилади без нагляду у разі запобігання пожежі, вибуху, тощо.

2.1.1. Правила роботи з кислотами та лугами

Концентрована сульфатна кислота H_2SO_4 та луги NaOH і KOH. Перед вливанням концентрованої сульфатної кислоти в посуд, необхідно вдосконалитися в його чистоті та сухості, тому що при потраплянні кислоти в вологий посуд відбувається сильний розігрів, що приводить часто до опіків шкіри. Під час розведення концентрованої сульфатної кислоти, слід її вливати в воду, а не навпаки, перемішуючи склянкою паличкою.

- Під час роботи з кислотами та лугами необхідно знаходитися в захисному хімічному одязі (халат, захисні окуляри або маска).
- Відпрацьовані кислоти та луги забороняється зливати в одну посудину, щоб не відбувався розігрів, який супроводжується інтенсивним випаровуванням.

- Розчинення NaOH та КОН проводити з додаванням їх до води. Шматочки лугу треба брати тільки щипцями, не в якому випадку не руками.

2.1.2. Правила роботи з вогнебезпечними речовинами

1. Вогнебезпечні речовини повинні мати якомога далі від вогню та електроприладів.
2. Забороняється виливати вогнебезпечні речовини в каналізацію, щоб уникнути пожежі.
3. Під час перегонки, необхідно уважно слідкувати за тим, щоб небагато речовини залишалось, так як чимало з них утворюють вогнебезпечні пероксиди при взаємодії з повітрям.

2.1.3. Надання першої допомоги під час нещасного випадку в лабораторії

Надання першої допомоги при опіках:

- Якщо опіки незначні та є почервоніння, тоді необхідно на опечене місце накласти вату попередньо змочену в етиловому спирті.
- Якщо під час опіків виявлені пухирі на шкірі, слід опечене місце обробляти 5% -м розчином KMnO_4 або 5%-ним розчином таніну.
- Якщо під час опіків відбувається руйнування тканин необхідно одразу викликати лікаря та покрити рану антибактеріальною пов'язкою.
- Якщо опіки відбулися під час роботи з кислотами, хлором або бромом, необхідно одразу промити опечене місце водою, а далі 5%-ним розчином NaHCO_3
- Якщо опіки виникли під час роботи з лугами, необхідно ретельно промити місце вод великим об'ємом.
- Якщо з'явився опік очей кислотами, необхідно промити їх 3% -вим розчином Na_2CO_3 , а при опіку лугами - 2%-ним розчином оцтової кислоти.

Надання першої допомоги при отруєннях:

- При потраплянні їдких речовин в ротову порожнину та органи травлення, а саме, кислот, необхідно випити кашку з магній оксиду. При потраплянні лугів випити розчин лимонної кислоти або дуже розбавленої оцтової кислоти.
- Якщо відбулося отруєння твердими або рідкими речовинами, необхідно звільнити шлунок, викликавши блювоту 1% -й розчином купрум (II) сульфатом.
- При отруєнні газами, необхідно людину вивести на свіже повітря.

2.2. Методика одержання біоматеріалів на основі хітозану і метиленового синього

Вихідним хітозаном у дипломній роботі був імпортований полімер російського виробництва з датою виготовлення 23.03.2011 року. Масова частка вологи в якому складає 9,85%, мінеральних речовин – 0,6 %, нерозчинних речовин 0,09%, вміст основної речовини – 92,3 %. Молекулярна маса хітозану складала 500кДа, ступінь деацетилювання – 80,5%.

1. Методика одержання розчину хітозану в йодидній кислоті

Реактиви:

- хітозан;
- дистильована вода;
- концентрована йодидна кислота (W = 55 %).

Обладнання:

- хімічний стакан;
- скляна паличка;
- крапельна воронка;
- магнітна мішалка.

Наважку хітозану з молекулярною масою 500 кДа і масою 3 г заливали у хімічний стакан об'ємом 150 мл приблизно 50 мл дистильованої води і залишали після перемішування на 1 годину для активації функціональних груп макромолекул хітозану. Після цього при активному перемішуванні краплями додавали розчин конц. йодидної кислоти ($W = 55\%$) до встановлення рН утвореного розчину хітозану приблизно 4,5. Після чого, перемішування продовжували ще 20 хвилин до повного розчинення хітозану і утворення прозорого розчину.

2. Методика одержання розчину хітозан йодиду з метиленовим синім.

Реактиви:

- метиленовий синій;
- дистильована вода;
- розчин хітозан йодиду.

Обладнання:

- хімічний стакан;
- скляна паличка;
- магнітна мішалка.

Наважку метиленового синього 0,4 г розчиняли у 100 мл води до її повного розчинення отримавши 0,4% розчину метиленового синього при інтенсивному перемішуванні протягом 20 хв, після чого об'єм одержаного розчину доводили водою до 100 мл.

Аналогічно виготовляли розчин з більшим вмістом метиленового синього. А саме, до 50 мл розчину хітозан йодиду додавали 30 мл 0,4% розчину цього барвника і доводили об'єм кінцевого розчину водою до 100 мл.

2.3. Основи рентгеноструктурного аналізу та растрової електронної мікроскопії

Метод рентгеноструктурного аналізу заключається в дослідженні будови тіл, для чого використовують явище дифракції рентгенівських променів. Іншими словами, це метод дослідження структури речовини за розподілом в просторі розсіяного на аналізованому об'єкті рентгенівського випромінювання.

Для дослідження атомної структури використовують випромінювання з довжиною хвилі - розмірів атома.

Цим методом вивчають метали, сплави, мінерали, неорганічні і органічні речовини, полімери, аморфні матеріали, молекули білків, також нуклеїнові кислоти, рідини та гази. Рентгеноструктурний аналіз являється основним методом визначення структури кристалів.

Метод рентгеноструктурного аналізу найчастіше використовують для визначення структури кристалів, тому що, кристали самі по собі мають сувору періодичність будови і являють собою дифракційні ґрати для рентгенівських променів, які створені самою природою. Але також метод надає інформацію і при дослідженні тіл з менш впорядкованою структурою, а саме, рідин, аморфних тіл, рідких кристалів, полімерів. Не є виключенням вітаміни, антибіотики, координаційні сполуки [14, с. 428].

Електронно-мікроскопічний метод застосовують в різних областях науки і техніки. Електронний мікроскоп завдяки своїй роздільній здатності, дозволяє більш глибоко спостерігати деталі структури мікрооб'єктів, на атомно-молекулярному рівні.

Растрова електронна мікроскопія дозволяє проводити вивчення мікроморфології і тонкої структури поверхні, за допомогою сфокусованого електронного пучка, скануючого поверхню зразка. Електронний мікроскоп дозволяє вивчати зразки, які в десять тисяч разів перевершує дозвіл світооптичного

мікроскопу, тому за допомогою растрової електронної мікроскопії можливо вивчення об'єктів нанометрових розмірів.

Мікроскоп складається з наступних основних частин:

- вакуумна система;
- електронно-оптична колона;
- джерело електронів;
- блок електромагнітних лінз;
- пристрій формування зображення;
- пристрої для введення, виведення і переміщення зразка під електронним пучком.

електронним пучком.

Пучок електронів падає на поверхню зразка, взаємодіючи з речовиною. Виникаючі при цьому відображені і вторинні електрони, а також фотони реєструються відповідними детекторами. Сучасні растрові електронні мікроскопи дозволяють вивчати як провідні, так і непровідні зразки, а оснащення мікроскопа аналітичними приставками значно розширює можливості методу.

Растрова електронна мікроскопія дозволяє:

- аналізувати мікро- і наноморфологію поверхні зразків;
- вивчати структуру;
- досліджувати розподіл фаз в зразку;
- проводити якісний і кількісний елементний аналіз в точці, уздовж лінії і по площі;
- будувати карти розподілу елементів за обраною площею зразка;
- досліджувати структури зразків під дією механічних навантажень - розтягування і стиснення;
- досліджувати структури зразків при нагріванні або охолодженні;
- вивчати катодолюмінесценцію;
- досліджувати струми, індуковані в зразках електронним пучком;

- проводити електронно-променеву літографію [15, с. 18].

2.4. Основа методу температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії

Основна мета температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії полягає в досліджуванні зразка, який піддається дії температури, та змінюється за лінійним законом. Швидкість зростання температури обирається повільно, щоб уникнути температурних градієнтів у зразку. Леткі продукти термічного розкладу та термічної десорбції, що виділяються із зразка під дією температури, реєструються та досліджуються за допомогою мас-спектрометра. Така схема дає змогу, по-перше, надійно ідентифікувати леткі продукти, відстежити кінетику неізотермічного розкладу поверхневих комплексів у зразку.

Обладнання для температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії включає в себе, монопольний мас-аналізатор, вакуумну систему на основі насоса, терморегулятор з підігрівальним елементом, кварцево-молібденову трубку для зразків та комп'ютерну систему реєстрації спектрів [16, с. 92–93].

РОЗДІЛ 3

ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ЕКСПЕРИМЕНТУ

3.1. Результати експериментального дослідження

Під час одержання розчину хітозану в йодидній кислоті відбувається розчинення полімеру (рис. 3.1)

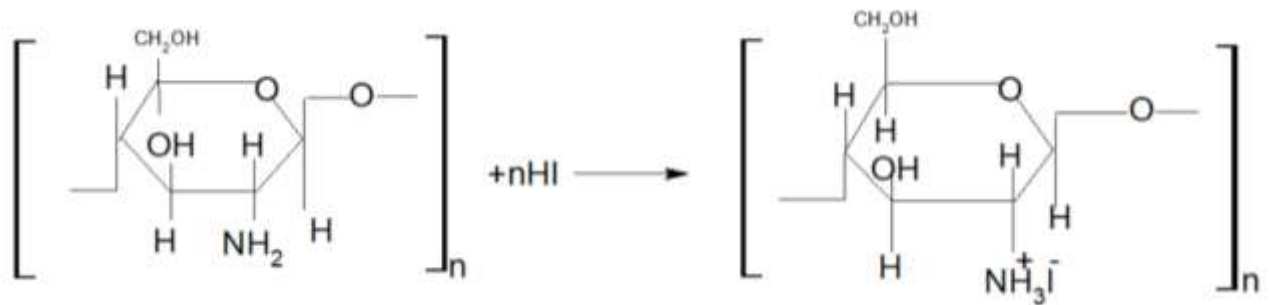


Рис. 3.1. Схема утворення хітозан йодиду

Хітозан переходить у розчинний стан у зв'язку з утворенням добре розчинної солі хітозан йодиду. За наведеною в роботі методикою 2.2 після одержання розчину хітозан йодиду з метиленовим синім ми отримали два зразки, в першому випадку (зразок IX – 500 – M1), що містив 0,04 г метиленового синього, а в другому (зразок IX – 500 – M2) з 0,12 г метиленового синього. Далі зразки піддали ліофільному висушуванню, після чого вони мали вигляд пористих губок (рис. 3.2. та рис. 3.3. фото матеріалів).



Рис. 3.2. Зразок IX – 500 – М1



Рис. 3.3. Зразок IX – 500 – М2

Зразки біоматеріалів з різним вмістом метиленового синього – вміст метиленового синього на рис. 3.2. і рис. 3.3. відноситься як 1 до 3.

Далі губки піддавали рентген-дифракційним дослідженням, які були виконані на автоматизованому дифрактометрі ДРОН-4-07. Система автоматизації ДРОН-4-07 заснована на мікропроцесорному контролері, який забезпечує керування гоніометром ГУР-9 та передачі даних у цифровому вигляді на персональний комп'ютер. Використовувалося випромінювання $\text{CoK}\alpha$ (довжина хвилі 0,179 нм), фокусування по Бреггу-Брентано θ - 2θ (2θ – бреггівський кут). Експериментальні результати передавались до програмного пакету підтримки експерименту DifWin-1 для попередньої обробки. Ідентифікація кристалічних фаз проводилась за допомогою програмного пакету Crystallographica Search-Match. При накладених обмеженнях на елементний склад зразків шляхом порівняння експериментальних результатів з картками бази даних PDF-2 та наступною ручною вибіркою (рис. 3.4)

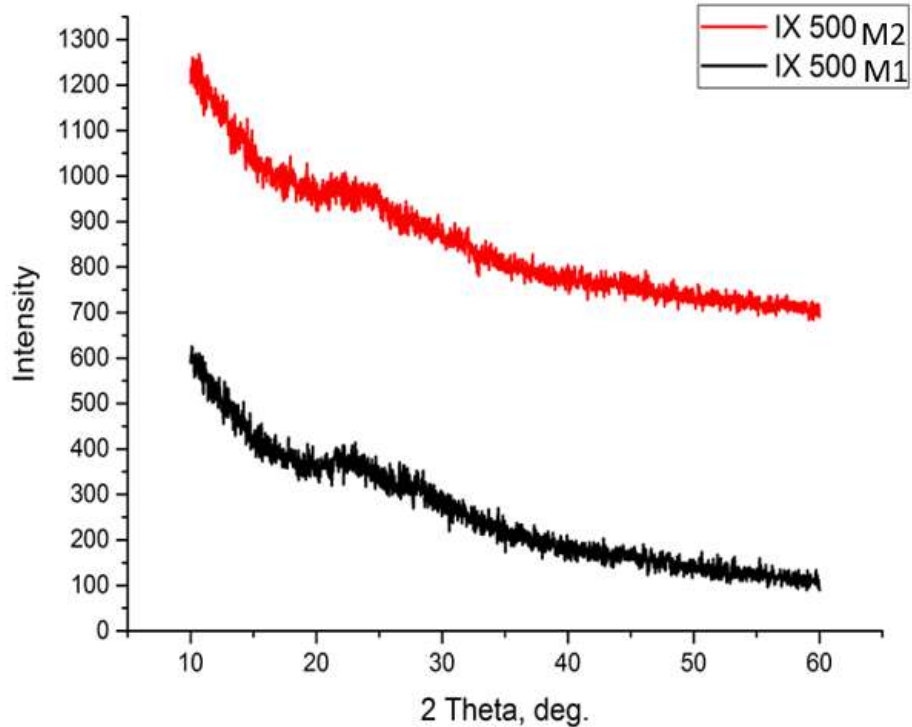


Рис. 3.4. Дифрактограми зразків IX – 500 – M1 та IX – 500 – M2

З рисунку видно, що губчасті хітозанові матеріали мають аморфну структуру, без виразних кристалічних фаз. Усі зразки мають широке слабке гало у районі 20 градусів 2 тета, яке характерне для аморфних матеріалів (скло, полімери).

На дифрактограмі чистого метиленового синього (рис. 3.5) спостерігаємо рефлекси, характерні для кристалічної фази метиленового синього, що збігається з даними стандартної бібліотеки дифрактограм JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

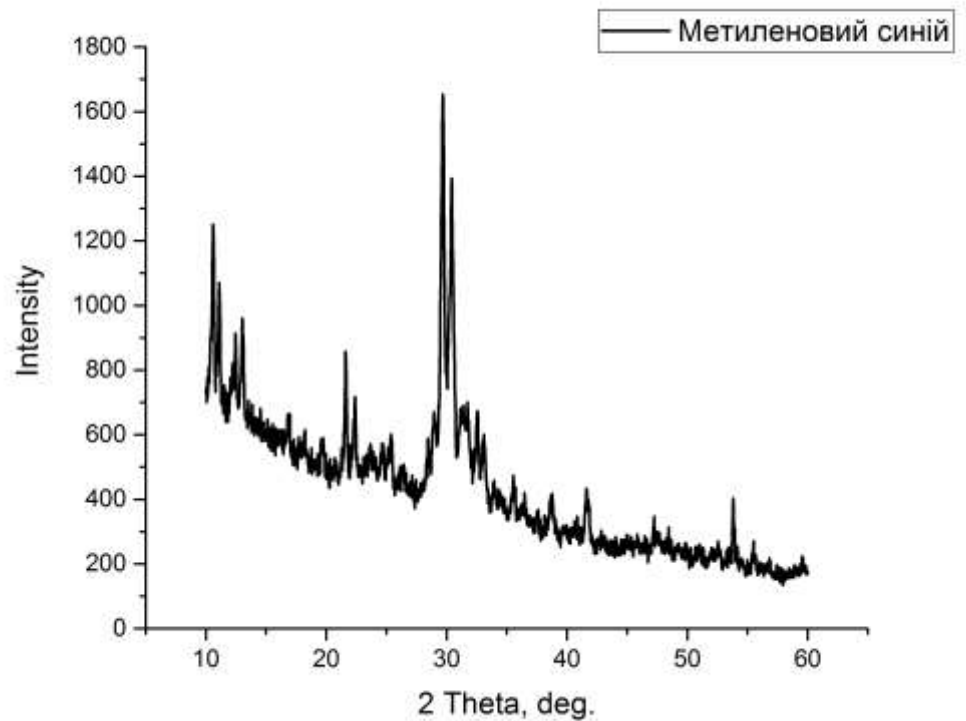


Рис. 3.5. Дифрактограма метиленового синього

За умови кристалізації метиленового синього, у зразках біоматеріалів на їх дифрактограмах спостерігали б такі ж рефлекси, що і на дифрактограмі метиленового синього. Отже, відсутність кристалічних фаз свідчить про те, що додаткові компоненти зразків знаходяться у зв'язаному з матрицею стані.

Електронно мікроскопічні дослідження були проведені на растровому мікроскопі РЕММА-102, який призначений для дослідження морфології мікрочастинок і топографії поверхонь в твердому стані та визначення хімічного складу мікрооб'єктів. Для запобігання накопичування поверхневого заряду при електронно-зондовому експерименті діелектричні зразки покривали тонким шаром (30-50 нм) карбону у вакуумній установці ВУП-5М.

На рис. 3.6. та рис. 3.7. видно, що препарати, одержані з усіх трьох розчинів, мають пористу, досить регулярну структуру з розміром пор порядку 50-150 мікрометрів. Великої різниці в морфології не спостерігається.

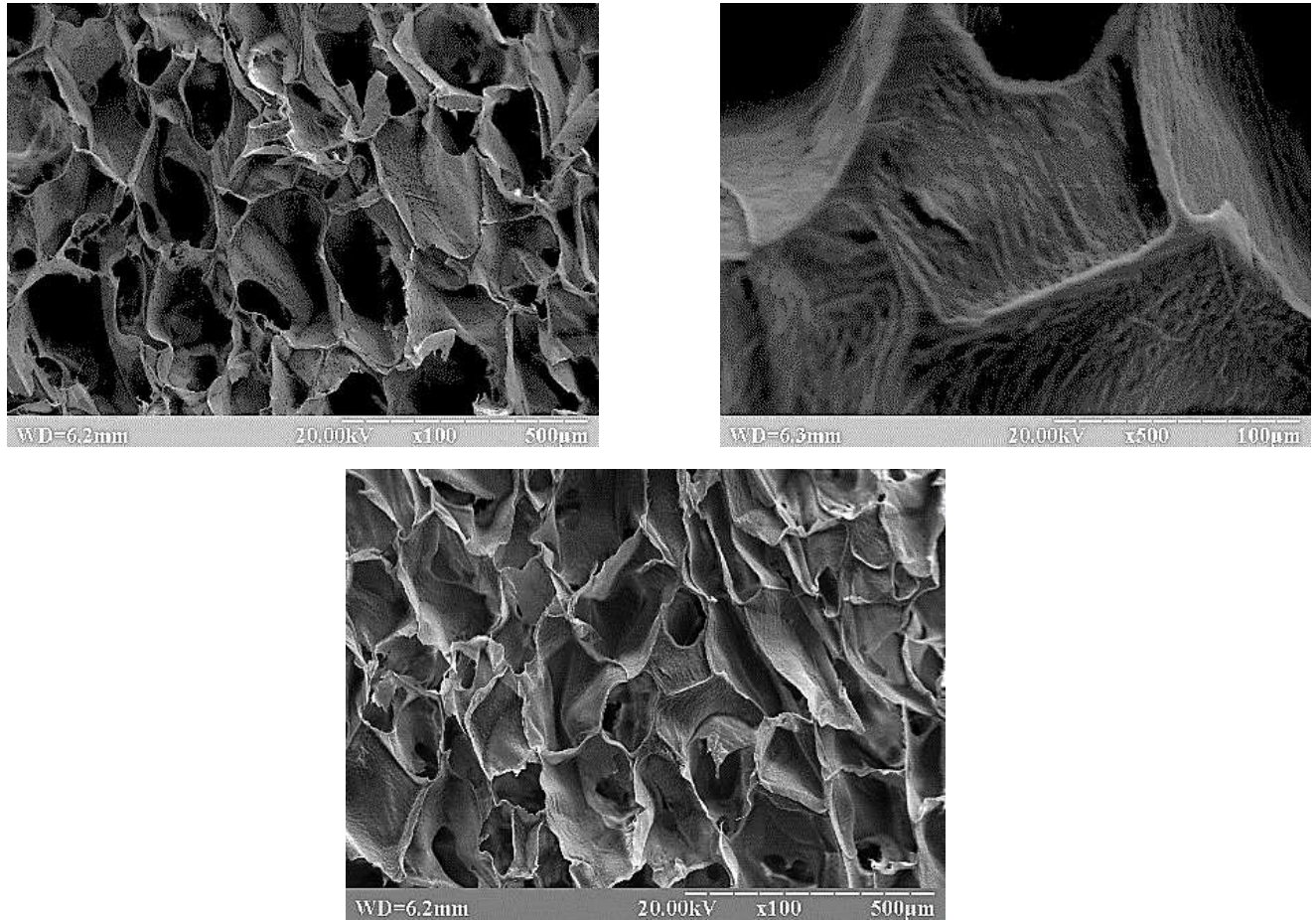


Рис. 3.6. Мікрофотографії електронномікроскопії зразка IX 500 M1

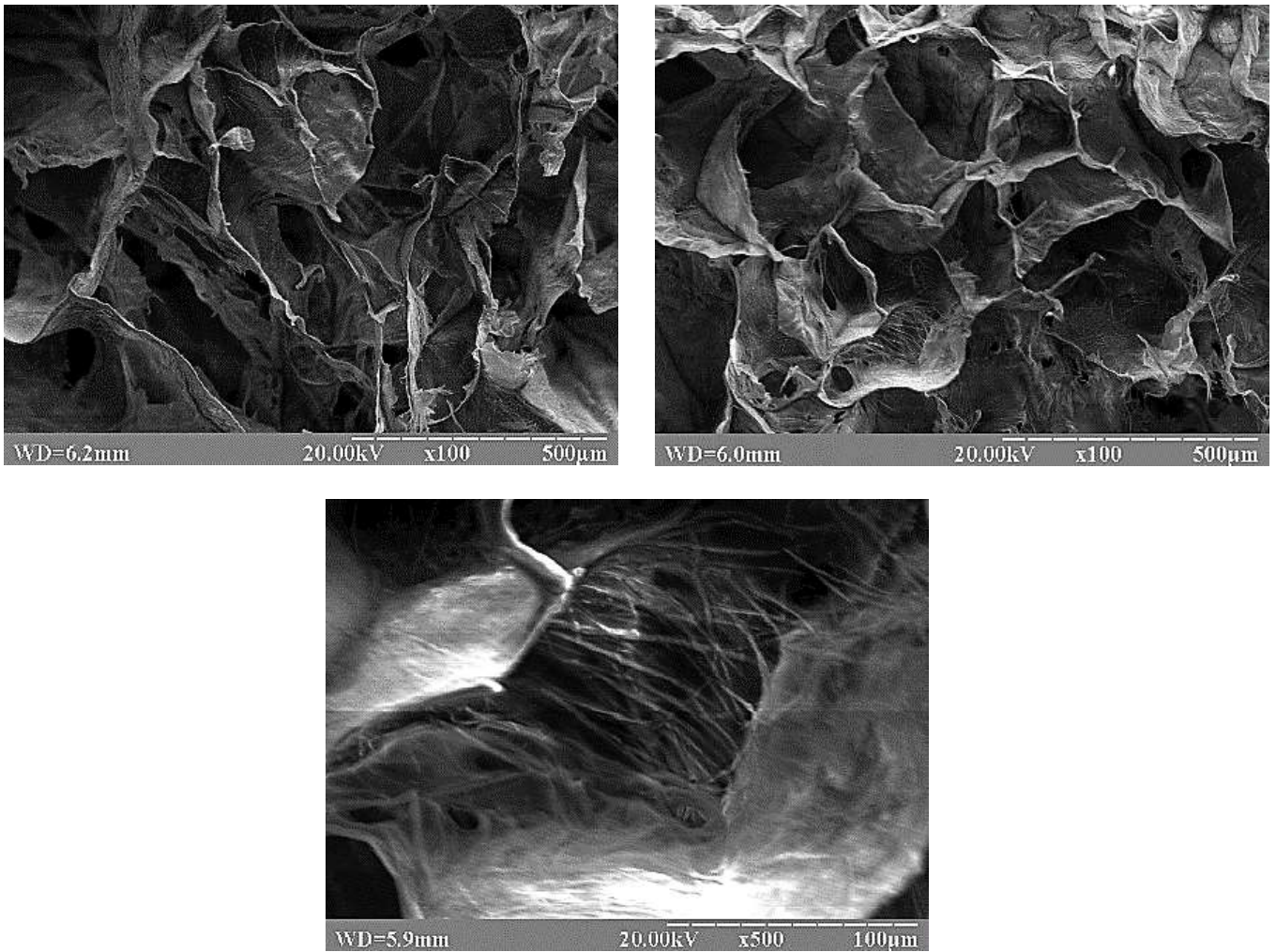


Рис. 3.7. Мікрофотографії електронномікроскопії зразка IX 500 M2

Також зразки було досліджені на установці для температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії. Для цього, проводився нагрів зразка від кімнатної температури до 900°C з мас-спектрометричним аналізом газофазних продуктів (мас-спектри записувалися в діапазоні мас від 1 до 200 Дальтон).

На рис. 3.8. та рис. 3.9. бачимо температурний профіль виходу іонів m/z 18 (вода) зі зразка IX 500 M1 та температурний профіль виходу іонів m/z 127 ($[I]^+$) та 143($[IO]^+$) зі зразка IX 500 M1.

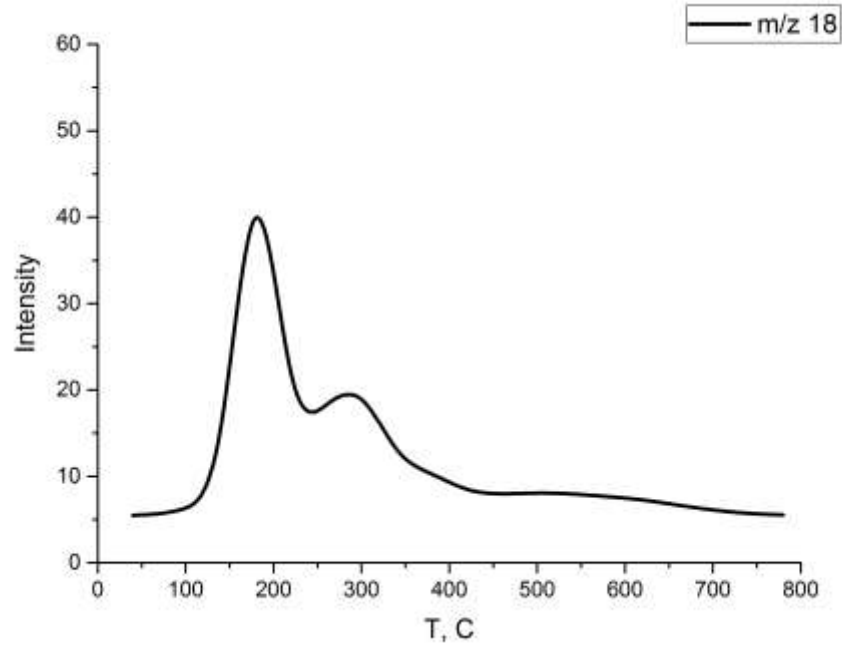


Рис. 3.8. Крива температурного профілю виходу іонів m/z 18 (вода) зі зразка IX 500 M1

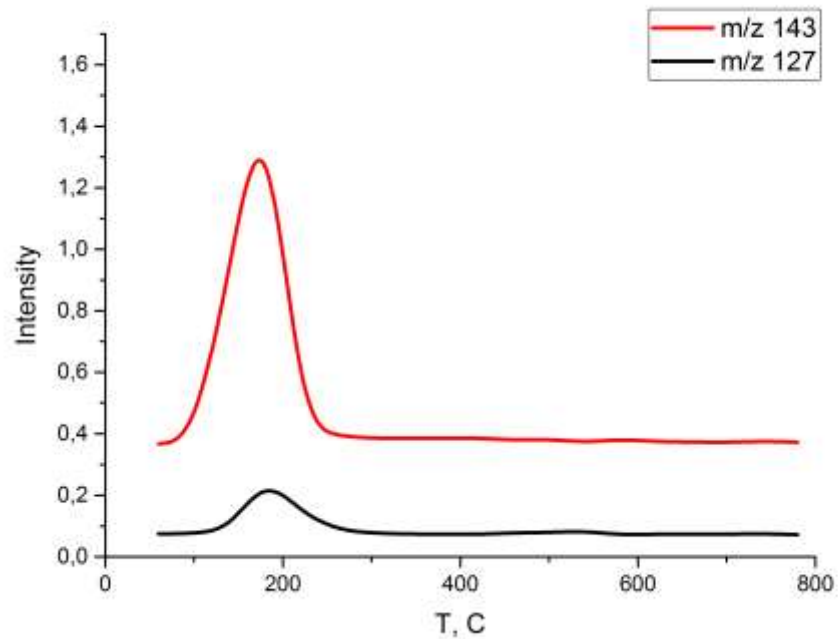


Рис. 3.9. Крива Температурного профілю виходу іонів m/z 127 ($[I]^+$) та 143 ($[IO]^+$) зі зразка IX 500 M1 (коливання в високотемпературній області – це не значущі піки, а шум фоновому сигналу, бо інтенсивність піків виходу йоду при 200°C мала).

Криві (рис. 3.10. та рис. 3.11) показують температурний профіль виходу іонів m/z 18 (вода) зі зразка IX 500 M2 та температурний профіль виходу іонів m/z 127 ($[I]^+$) та 143 ($[IO]^+$) зі зразка IX 500 M2.

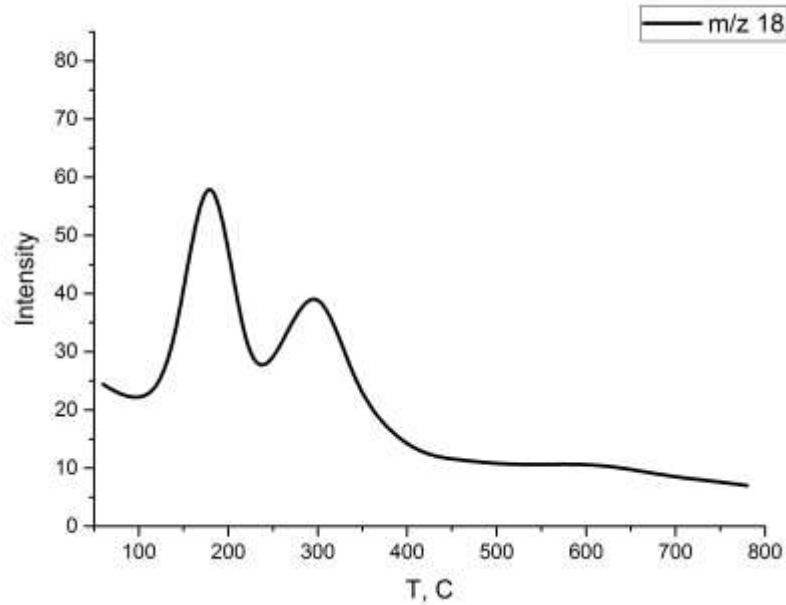


Рис. 3.10. Крива температурного профілю виходу іонів m/z 18 (вода) зі зразка IX 500 M2

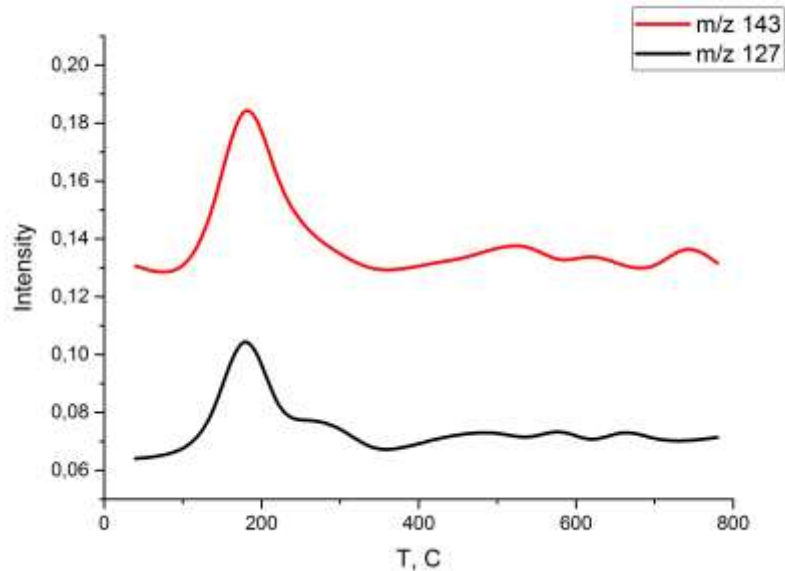


Рис. 3.11. Крива температурного профілю виходу іонів m/z 127 ($[I]^+$) та 143 ($[IO]^+$) зі зразка IX 500 M2

З наведених термограм видно, що характер виходу молекул води і іонів, що містять йод, однаковий для обох зразків. Вода виходить при 200°C і 300°C, що свідчить, що вода у зразках знаходиться у двох формах, зв'язаній з речовиною по-різному. В обох зразках спостерігається один максимум виходу йоду при 200°C, в мас-спектрах спостерігаються іони з масою 127 ($[I]^+$) та 143 ($[IO]^+$), але в зразку IX 500 M2 інтенсивність сигналу цих іонів (іонний струм) значно вища.

Оптичну густина розчинів досліджених зразків до ліофілізації, вимірювали на фотометрі з дифракційною решіткою КФК-3-01 «30МЗ» в скляних кюветах (товщина шару 0,3 см). З довжиною хвилі 305-800 нм. На рис. 3.12. бачимо, що максимум спектру поглинання видимого світла зразками припадає на 600-700 нм і пов'язаний з метиленовим синім, а в області 400 нм не ідентифіковано (можливо, це пов'язано з утворенням якоїсь ще сполуки).

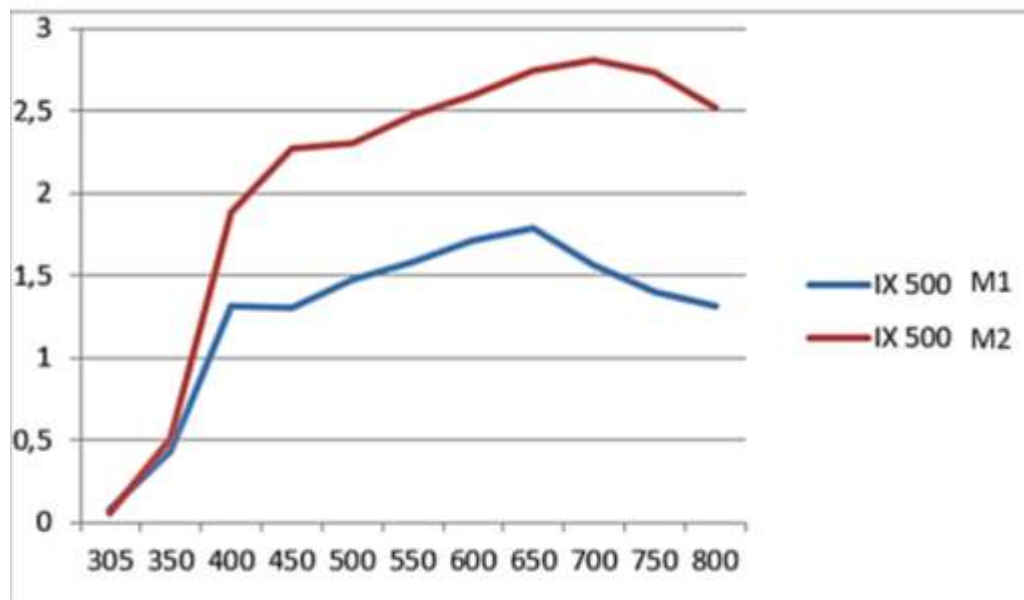


Рис. 3.12. Спектр поглинання видимого світла зразками розчинів біоматеріалів

Отже, проведені дослідження структури одержаних полімерних матеріалів на основі хітозану та метиленового синього у розчиненому та твердому стані дозволили зробити такі висновки.

ВИСНОВКИ

1. Вперше розроблена методика синтезу біологічно активних матеріалів з хітозану та метиленового синього і знайдені оптимальні умови їх одержання.
2. Результати дослідження показали, що дані біоматеріали мають у твердому стані аморфну структуру і містять певну кількість адсорбційної та хімічно зв'язаної води.
3. Встановлено, що метиленовий синій як компонент біоматеріалу, знаходиться в хімічно зв'язаному з хітозаном стані і не утворює самостійної кристалічної фази.
4. Встановлено можливість використання біоматеріалів в практичній медицині за умови подальших їх клінічних досліджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Гальбрайт Л. В. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение. *Соросовский образовательный журнал*. 2001. Т. 7. № 1. С. 51–56.
2. Урод В. И., Солодовник Т. В. Хитин и хитозансодержащие комплексы из мицелиальных грибов. *Биополимеры и клетки*. 2001. № 6. С. 526–533. URL: <http://dspace.nbuu.gov.ua/handle/123456789/155887> (дата обращения: 12.10.2020).
3. Нудьга Л.А. Производные хитина и хитозана та их свойства: автореф. дис. на получение науч. степени д-ра хим. наук: 02.00.06. Санкт-Петербург, 2002. С. 19–40.
4. Anthonsen L. T. Chitin and Chitosan: Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and application. *Chitin and chitosan*. 1990. № 31. P. 1146–1147. URL: <https://drgudinho.files.wordpress.com/2017/04/rinaudo-2006-chitin-and-chitosan-properties-and-applications.pdf> (дата обращения 1.11.2020).
5. Chen X. G., Park H. J. Химические характеристики О-карбоксиметилхитозанов в зависимости от условий получения. *Углеводные полимеры*. 2003. № 4. С. 355–359.
6. Сан С., Ван К., Ван А. Адсорбционные свойства ионов Cu (II) на N-сукцинил-хитозане и сшитой матричной смоле N-сукцинил-хитозана. *Биохимия*. 2007. № 4. С. 131–138.
7. Чой С.Ю., Ким С.Б., Пак П.К., Чунг Ю.С. Влияние N-ацелирования на структуру и свойства хитозановых волокон. *Углеводные полимеры*. 2007. № 68. С. 122–127.
8. Сировинні джерела і способи отримання хітину та хітозану / за ред. К. Г. Скрябина, Г. А. Вихревой, В. П. Варламова. Москва: Наука, 2002. С. 7–23.
9. Чирков С.Н. Противовирусные свойства хитозана. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2002. № 1. С. 327–338.

10. Полюдова Т. В., Шагдарова Б. Ц., Коробов В. П., Варламов В. П. Бактериальная адгезия и образование биопленок в присутствии хитозана и его производных. *Микробиология*. 2018. № 2. С. 129–136.
11. Илларионова Е. Л. Волокнистые, пленочные и пористые материалы на основе хитозана. *Химические волокна*. 1995. № 6. С. 18–22.
12. Степура Н. О., Скляр А. М. Одержання біоматеріалів на основі хітозану та аргенум (I) нітрату. *Збірник Сумського державного педагогічного університету ім. А. С. Макаренка. Природничі науки*. 2018. Вип. 15. С. 52–57.
13. Ельцов А. В. Синтез промежуточных продуктов и красителей: лабораторный практикум. Ленинград: Учебное пособие для ВУЗОВ, 1985. 166 с.
14. Приборы и методы физического металловедения / за ред. Ф. Вейнберга. Москва: Мир, 1973. 428 с.
15. Гоулдстейн Дж., Ньюбери Д., Эчлин П. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ: монографія. Москва, 1984. 18 с.
16. Мельник, Л. М. Температурно-програмована десорбційна мас-спектрометрія природних дисперсних мінералів і синтетичного цеоліту в технологічному процесі зневоднення та очищення водно-спиртових розчинів. *Харчова промисловість*. 2004. № 3. С. 92–93.
17. Шелковский В. С. Использование окислительно-восстановительных и агрегационных свойств красителя метиленового синего в нанобиофизических исследованиях. *Вестник физико-технического института низких температур им. Б.И. Веркина. Биофизика*. 2015. Вип. 33. С. 5–29.
18. Хитозан и его производные в биоинкапсулировании. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение / под ред. К. Г. Скрыбина, Г. А. Вихревой, В. П. Варламова. Москва: Наука, 2006. С. 315–327.
19. Dodgson, J. L. Comparison of effects of chitin and chitosan for control of *Colletotrichum* sp. on cucumbers. *Microbiology*. 2017. № 11. P. 87–93.

20. Muzzarelli R. A. Chitosan Chemistry: Relevance to the Biomedical Science. *Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives*. 2004. Vol. 104, № 186. P. 151–209.

21. Чернышова Е. Б. Модификация пленочных материалов на основе хитозана низкомолекулярными и полимерными альдегидами: автореф. дис. на получение науч. степени канд. хим. наук: 02.00.06. Волгоград, 2018. С. 18 - 34.