



УДК 544:[547.917+544.015.4]

Ионная агрегация макромолекул как причина кинетической (не)стабильности физико-химических свойств растворов хитозана



В. И. Фомина, Н. А. Солонина, А. Б. Шиповская

Фомина Валентина Ивановна, старший научный сотрудник отдела высокомолекулярных соединений Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, fomina.oni@yandex.ru

Солонина Нина Алексеевна, ведущий инженер кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, soloninana@info.sgu.ru

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, заведующий кафедрой полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, начальник отдела высокомолекулярных соединений Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, shipovskayaab@yandex.ru

Исследованы гидродинамические, оптические, коллоидно-флокулирующие, пленкообразующие, структурно-морфологические свойства исходных и хранившихся в течение ~1850 сут разбавленных растворов хитозана (50–640 кДа) в ацетатном буфере (0.33 М CH_3COOH + 0.2 М CH_3COONa). Установлено, что понижение во времени предельного числа вязкости растворов в большей степени проявляется для переосажденных и высокомолекулярных образцов хитозана. На эффект падения вязкости не влияет использование для растворения полимера обычной или стерильной дегазированной дистиллированной воды. В процессе хранения обнаружены также понижение значений коэффициента самодиффузии макромолекул и увеличение инкремента показателя преломления растворов. При этом оптические, электрохимические и флокулирующие свойства полимерной системы практически не изменяются. Предложена диаграмма кинетики физико-химических свойств системы хитозан–ацетатный буфер, включающая три временных этапа с различным характером структурообразования. Высказано предположение, что особенности свойств кислотно-солевых растворов во времени контролируются образованием ионных пар поликатиона с ацетат анионами, их мультиплетов с последующей ионной агрегацией сформировавшихся структур и фазовым разделением полимерной системы по типу жидкость–кристалл. Обнаружено, что самопроизвольно выделившаяся фаза представлена высококристаллической полиморфной модификацией полимера с характерными признаками «безводной» кристаллической решетки. **Ключевые слова:** вязкость, кинетика, кристаллизация, разбавленные растворы, хитозан.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-22-38>

Несмотря на продолжительные многочисленные исследования, проблема получения молекулярных растворов хитозана до сих пор актуальна

и вызывает интерес ученых различных областей химии, биохимии, биофизики, а также медицины и фармацевтики. Это обусловлено, прежде всего, получением достоверной информации о фундаментальных характеристиках макромолекул, а также расширяющимися направлениями практического потенциала данного полимера. Известно, что гомогенность растворов зависит от степени деацетилирования и молекулярной массы полимера [1, 2], природы растворителя [3, 4], pH среды [5], химической модификации хитозана [6] и др. Диспергирование хитозана в водных растворах неорганических или органических кислот, кислых буферных средах приводит к растворению образца вследствие солеобразования. Однако даже в визуально прозрачных разбавленных растворах хитозана, особенно высокомолекулярного, зафиксировано наличие агрегатов макромолекул [7, 8] и/или надмолекулярных частиц субмикронного размера [9]. Попытки растворения агрегатов варьированием pH, ионной силы и температуры, а также их удаления методами ультрацентрифугирования и мембранной фильтрации часто не обеспечивали получение молекулярных растворов этого аминополисахарида [7]. Более того, удаление имеющихся агрегатов из раствора приводило к образованию новых.

В этой связи исходный, даже разбавленный раствор хитозана следует рассматривать как структурно-сложную систему, состоящую из раствора макромолекул (молекулярная составляющая – МС) и построенных из них надмолекулярных частиц (надмолекулярная составляющая – НС). Предпосылки данного заключения вытекают из сравнительно высокой степени кристалличности хитозана, которая может достигать 40% даже при традиционном методе щелочного деацетилирования хитина в жестких условиях [10]. Об этом свидетельствует и наблюдаемый разброс констант в уравнении Марка–Куна–Хаувинка для одной и той же растворяющей среды (H_2O + 0.33М CH_3COOH + 0.2М CH_3COONa) [11, 12], а также невозможность достоверного определения молекулярной массы этого полимера методом светорассеяния [7]. Кроме того, доказательством наличия НС может служить улуч-



шение растворимости хитозана в водно-кислой среде (угольной кислоте, $\text{pH} < 3$) под давлением 200 атм и при температуре 60°C [13]. В работе [14] было обнаружено ускорение растворимости хитозана в водно-кислой среде ($\text{pH} = 3.3\text{--}3.6$) с 5–8 ч до 20–30 с после механической активации гидроакустическим воздействием. При этом наблюдаемое снижение предельного числа вязкости ($[\eta]$) системы, определяющего молекулярную массу и конформацию макроцепи, после активации составило всего лишь 5–7%. В работах [15, 16] наблюдали снижение $[\eta]$ водно-кислотных растворов хитозана после переосаждения полимера. Вместе с тем молекулярная масса, определенная прямым диффузионно-седиментационным методом, до и после 3-кратного переосаждения оставалась постоянной. Авторы [16] объясняют наблюдаемое снижение значений $[\eta]$ растворов переосажденных образцов хитозана перестройкой надмолекулярной структуры полисахарида. По нашему мнению, при этом должно увеличиться число макромолекул в единице объема раствора и, соответственно, количество свободных концевых ОН-групп, что ошибочно можно трактовать как результат деструкции макроцепи. Например, в работе [17], сопоставляя результаты прямого и обратного потенциометрического титрования, зафиксировали разрушение межмолекулярных водородных связей в процессе растворения хитозана и невозможность их после переосаждения.

Еще одним доводом в пользу присутствия надмолекулярных частиц может служить значительное замедление падения вязкости при хранении раствора хитозана после ультразвуковой обработки [18]. Явление нестабильности, проявляющееся в уменьшении вязкости растворов хитозана во времени, хорошо известно в литературе [15–32]. Наиболее распространено объяснение данного эффекта процессом разрыва гликозидных связей макромолекул. Однако авторы [18] вместо ожидаемой деструкции макромолекул наблюдали эффект стабилизации раствора полимера. Другой обнаруженный факт, плохо объяснимый с позиции деструкции макроцепей: эффект падения вязкости разбавленных и умеренно концентрированных уксуснокислых растворов хитозана тем больше, чем выше концентрация полимера в растворе и ниже концентрация кислоты [9, 19]. Установлено также, что вязкость (η) раствора снижается в большей степени, чем предельное число вязкости [20, 21]. Например, через 17 сут η и $[\eta]$ снижаются на 50 и 7% соответственно, молекулярная масса хитозана – всего лишь на 8% [20].

В умеренно концентрированных уксуснокислых растворах хитозана также наблюдается эффект падения вязкости во времени [19, 22, 23]. Установленные закономерности этого процесса во многом аналогичны закономерностям в разбавленных растворах. Особенностью является тот факт, что во времени изменяется степень структурирования системы и вид реограмм вязкости: неньютоновский характер течения трансформируется на ньютоновский. Энергия активации вязкого течения при этом практически постоянна в течение нескольких месяцев наблюдения. Наиболее интенсивно эти изменения происходят в растворе с меньшей концентрацией уксусной кислоты.

Анализ различных взглядов на механизм нестабильности вязкостных свойств растворов хитозана позволяет выделить три основных подхода: деструкцию макромолекул в результате кислотного гидролиза гликозидных связей [20, 21, 24–26], конформационные перестройки [19, 27, 28] и изменение надмолекулярной структуры, в том числе и агрегацию [7–9, 29–31], не затрагивающее молекулярную массу образца. Однако в последнее время появились публикации, позволяющие исключить деструкцию как основную причину снижения вязкости растворов хитозана во времени. Так, в работах [8, 31, 32] проанализирован и обобщен большой массив экспериментальных результатов о поведении хитозана в водно-кислотных растворах. Авторы [32] методом ионного зонда на примере растворов хитозана в уксусной кислоте установили отсутствие деструкции макромолекул и уменьшение вязкости связывают с другими причинами. Авторы работы [8] уделяют большое внимание агрегации макроцепей этого полисахарида и рассматривают основные факторы, влияющие на этот процесс. Способность к фазовому разделению системы хитозан – уксусная кислота – вода по мере ее хранения обсуждается в работе [31]. При этом необходимо учитывать, что в полиэлектролитных системах, к которым относятся и водно-кислотные растворы хитозана, вследствие эффектов ионной ассоциации полимерных цепей (образование ионных пар и их мультиплетов) фазовое разделение может происходить даже в хорошем растворителе [33].

Следует отметить, что в большинстве работ исследования кинетики вязкости проводили с растворами, выдержанными от одной недели до 2–3 месяцев. Между тем для кристаллизующихся полимеров, к классу которых относятся и хитозан, процессы структурообразования в растворах кинетически заторможены и могут протекать более длительное время, даже в тече-



ние нескольких лет. Кроме того, для прояснения природы данных процессов необходимо располагать информацией о кинетической стабильности не только гидродинамических параметров, но и комплекса других физико-химических свойств растворов хитозана как фундаментального, так и прикладного характера. Это позволило бы более глубоко оценить происходящие в этих системах процессы и, соответственно, получить более полную информацию о причинах нестабильности растворов хитозана на разных этапах хранения.

Цель настоящей работы – изучение и сравнительный анализ кинетики гидродинамических, диффузионных, оптических, электрохимических, пленкообразующих и флокулирующих свойств растворов хитозана разной молекулярной массы

в уксуснокислотно-солевых растворах для выявления причин их (не)стабильности.

Материалы и методы

Использовали промышленные образцы водонерастворимого хитозана разной средневязкостной молекулярной массы (\bar{M}_η) и различного способа производства (табл. 1, цифры в обозначении образцов соответствуют \bar{M}_η (кДа) полимера). Образец ХТЗ-50 получали окислительной деструкцией с использованием перекиси водорода. Образец ХТЗ-640 П получали переосаждением образца ХТЗ-640 из 0.5% раствора в 0.1 N HCl в раствор 0.02 N NaOH (соотношение объемов 1:5 соответственно). Выход образца ХТЗ-640 П составил 93%.

Таблица 1

Характеристика образцов хитозана

Обозначение образца	Производитель	Степень деацетилирования, мольн. %	$[\eta]^{25^\circ\text{C}}$ в ацетатном буфере, дл/г	\bar{M}_η , кДа
ХТЗ-640 (исходный)	ЗАО «Биопрогресс», РФ	82.6	11.9	640
ХТЗ-640 П (переосажденный)		84.7	8.5	–
ХТЗ-200		82.0	4.4	200
ХТЗ-520	ЗАО «Сонат», РФ	80.0	10.0	520
ХТЗ-280		80.8	5.8	280
ХТЗ-90	Япония	95.0	2.15	90
ХТЗ-50	Лабораторный образец	88.1	1.41	50

Низкомолекулярные вещества – ледяная уксусная кислота, уксуснокислый натрий, мочевины, 0.1 N стандарт-титры HCl и NaOH – были квалификации х.ч., использовались без дополнительной очистки.

Объектами исследования выбраны исходные и хранившиеся растворы хитозана концентрации $C = 0.01-0.5$ г/дл в ацетатном буфере (0.33 M $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2$ M CH_3COONa , pH = 4.4), смеси ацетатного буфера с 8M мочевиной (pH = 6.0) и, для сравнения, 0.33 M уксусной кислоте (pH = 2.8). В отдельных случаях для приготовления ацетатного буфера использовали дистиллированную воду, освобожденную от растворенных газов (O_2 и CO_2) и микроорганизмов кипячением в течение 3 часов. Исходные растворы готовили растворением навески порошка полимера (с учетом влажности образца) в водно-кислой среде при $\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение суток. Растворы меньшей концентрации получали последовательным разбавлением исходного раствора. Для хранения выбраны разбавленные и умеренно концентрированные растворы полимера концентрации $C = 0.05$ и 0.5 г/дл соответственно. Рас-

творы хранили ~ 1850 сут: сначала при $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение ~ 360 сут, затем при 5°C в течение ~ 1490 сут. По мере выдерживания во времени отбирали пробу растворов для определения физико-химических параметров. Во всех опытах условия приготовления растворов и время начала измерений физико-химических характеристик были одинаковыми. В специальных опытах полимер выделяли нанесением капли исходного или хранившегося раствора на стеклянную поверхность с последующим высушиванием при $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Самопроизвольно выделившуюся полимерную фазу фильтровали, многократно промывали дистиллированной водой и сушили при $22 \pm 2^\circ\text{C}$ до воздушно-сухого состояния.

Число вязкости ($\eta_{\text{уд}}/C$) и предельное число вязкости ($[\eta]$) определяли по традиционной методике при 25°C . Использовали вискозиметр Уббелюде с диаметром капилляра 0.54 мм. При реализации прямолинейной зависимости $\eta_{\text{уд}}/C - C$ предельное число вязкости определяли по уравнению Хаггинса, криволинейной – по уравнению Фуосса. Значение предельного числа вязкости свежеприготовленного раствора прини-



мали за начальное ($[\eta]_0$). Эффект падения вязкости во времени характеризовали относительным предельным числом вязкости ($[\eta]/[\eta]_0$).

Водородный показатель измеряли методом потенциометрии на автоматическом титраторе Mettler Toledo G20 (Германия).

Электропроводность определяли на стандартной установке, состоящей из датчика, 2 серебряных электродов и микроамперметра, при $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Удельную электропроводность ($\kappa_{\text{уд}}$) вычисляли по формуле: $\kappa_{\text{уд}} = K/R$, где K – постоянная ячейки, см^{-1} ; R – сопротивление раствора, Ом.

Разность показателей преломления (Δn) определяли дифференциальным методом на интерферометре ЛИР-2 (РФ), используя стеклянную кювету длиной $\ell = 2$ см, точность измерения 10^{-6} . Инкремент показателя преломления dn/dC рассчитывали с учетом калибровки $\Delta n - C$ по водному раствору сахарозы. Мутность (τ) при длине волны $\lambda = 490$ нм определяли по формуле $\tau = 2.3 \cdot A/\ell$, где A – оптическая плотность, измеренная на КФК-2 (РФ); $\ell = 5$ см.

Спектры удельного оптического вращения снимали на автоматическом спектрополяриметре СПУ-Е (РФ) в диапазоне длины волны $\lambda = 300\text{--}700$ нм при $T = 25^\circ\text{C}$. Источник света – ртутная лампа высокого давления ДРШ-250. Использовали стеклянные термостатируемые кюветы длиной 10 см с кварцевыми окошками. Удельное оптическое вращение определяли по формуле $[\alpha]_{\lambda, \text{нм}}^{20^\circ\text{C}} = ((\alpha - \alpha_0) \cdot 100) / C \cdot \ell$, где α и α_0 – наблюдаемый угол вращения раствора и растворителя, г; ℓ – длина оптического пути, дм; C – концентрация, г/мл. Кривую дисперсии оптического вращения (ДОВ) строили по результатам 3 параллельных опытов.

Самодиффузию макромолекул оценивали методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля на ЯМР-диффузомере ООО «Магнитный резонанс» (г. Казань РФ). Коэффициент самодиффузии (D_s) определяли по наклону зависимости $A(g^2) = A(T_1, T_2) A(0) \exp(-\gamma^2 \delta^2 g^2 D_s t_d)$, где $A(0)$ и $A(g)$ – амплитуда сигнала спин-эхо без и в градиенте магнитного поля; $A(T_1, T_2)$ – амплитуда сигнала релаксационных вкладов; γ – гиромагнитное отношение; δ – длительность импульса градиента магнитного поля; $t_d = (\Delta - \delta/3)$ – время диффузии, Δ – расстояние между градиентными импульсами.

Флокулирующую способность изучали на модельной дисперсной системе ацетатный буфер – каолин с концентрацией частиц дисперсной фазы 1%. Каолин предварительно отмывали от низкомолекулярных включений, сушили при 100°C до постоянной массы, хранили в эксика-

торе. Чистоту каолина контролировали методом интерферометрии. Флокулирующую активность характеризовали относительной мутностью (τ_1/τ_0 , $\lambda = 490$ нм) системы ацетатный буфер – каолин – хитозан до (τ_0) и после введения хитозана (τ_1).

Рентгеновские дифрактограммы воздушно-сухих образцов получали на дифрактометре ДРОН-3 (РФ) с излучением Cu-K_α при $U = 22$ кВ и $I_a = 20$ мА. Степень кристалличности (χ , %) рассчитывали по методике [34].

Морфологию поверхности тонкопленочных структур оценивали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе MIRA\LMU «Tescan» (Czech Republic) при напряжении 15 кВ и проводящем токе 400 пА. На образец напыляли слой золота толщиной 5 нм на установке K450X Carbon Coater (Германия).

Результаты и их обсуждение

Исследование свойств растворов хитозана проводили в кислотно-солевой среде, в частности в ацетатном буфере, наиболее часто используемом для определения средневязкостной молекулярной массы этого полимера [6, 11]. Выбор ацетатного буфера обусловлен, во-первых, возможностью полного подавления электростатических взаимодействий протонированных аминогрупп макроцепей, во-вторых, постоянными значениями ионной силы и pH среды при разбавлении раствора. Кроме того, для проводимых экспериментов было важно, что значение pH раствора хитозана в ацетатном буфере значительно превышает pH его воднокислотных растворов (табл. 2).

Закономерности, выявленные при изучении свойств растворов во времени, позволили выделить три временных этапа, различающихся характером структурообразования хитозансодержащей системы. Рассмотрим особенности кинетики физико-химических свойств растворов хитозана на каждом этапе.

На первом этапе, при хранении растворов в течение 30–50 сут, оценивали влияние надмолекулярной структуры исходного полимера, кислотности среды и ее «чистоты», молекулярной массы хитозана, а также акцептора водородной связи на гидродинамические свойства макромолекул и их оптическую активность.

На рис. 1, а, б представлены концентрационные зависимости числа вязкости растворов исходного ХТЗ-640 и переосажденного ХТЗ-640 П в ацетатном буфере при разном времени хранения, на рис. 2 (кривые 1, 2) – кинетика изменения предельного числа вязкости и относительного



Таблица 2

Физико-химические характеристики исходных и хранившихся растворов хитозана

Образец	Растворитель	C, г/дл	t, сут	$\tau_{490 \text{ нм}}, \text{M}^{-1}$	pH	$[\eta], \text{дл/г}$	$\frac{[\eta]}{[\eta]_0}$	$\alpha_{\text{уд}}, \text{кОм}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$
ХТЗ-640	0.33 М CH_3COOH	0.05	–	0.020	2.80	35.00	1.00	0.059
			230	0.020	2.80	27.50	0.79	0.050
		0.50	–	0.090	3.30	35.00	1.00	0.091
			231	0.070	3.30	19.00	0.54	0.083
	0.33 М CH_3COOH + 0.2 М CH_3COONa	0.05	–	0.010	4.40	11.90	1.00	0.645
			230	0.010	4.40	1.90	0.16	0.667
		0.50	–	0.080	4.40	11.90	1.00	0.714
			231	0.080	4.45	3.10	0.26	0.714
ХТЗ-280	0.33 М CH_3COOH	0.05	–	0.010	2.80	19.90	1.00	0.069
			229	0.005	2.70	11.70	0.59	0.067
		0.50	–	0.030	3.30	19.90	1.00	0.091
			236	0.015	3.35	11.00	0.55	0.083
	0.33 М CH_3COOH + 0.2 М CH_3COONa	0.05	–	0.010	4.40	5.80	1.00	0.667
			229	0.010	4.45	1.90	0.33	0.690
		0.50	–	0.030	4.45	5.80	1.00	0.714
			236	0.030	4.45	2.30	0.40	0.714
ХТЗ-90	0.33 М CH_3COOH + 0.2 М CH_3COONa	0.50	–	Не фиксируется	4.35	2.15	1.00	–
			42		4.40	1.83	0.84	–
			205		4.55	1.06	0.49	–
		–	–	–	–	–	–	–
0.33 М CH_3COOH		–	–	–	2.70	–	–	0.065
0.33 М CH_3COOH + 0.2 М CH_3COONa		–	–	–	4.40	–	–	0.714

предельного числа вязкости этих растворов. Обращает внимание более низкое начальное значение $[\eta]$ раствора ХТЗ-640 П (см. табл. 1), что согласно [16, 17] связано с разрушением части Н-связей полимерной матрицы в процессе переосаждения. В нашем случае переосаждение полимера из солянокислого раствора в раствор щелочи по сути является прямым (до растворения) и обратным (до выпадения осадка) титрованием. Во всех случаях зависимость $\eta_{\text{уд}}/C - C$ для свежеприготовленных и хранившихся растворов имеет прямолинейный характер, константа Хаггинса лежит в пределах 0.2–0.3, что свидетельствует о хорошем термодинамическом качестве растворяющей смеси. Значение $[\eta]$ снижается во времени. Отмечается разная скорость уменьшения предельного числа вязкости на данном этапе хранения растворов. Наиболее интенсивное уменьшение $[\eta]$ реализуется в течение первых 5–10 сут. Константа Хаггинса постаревших растворов уменьшается (это наглядно прослеживается по понижению наклона прямых $\eta_{\text{уд}}/C - C$), что может быть обусловлено ухудшением термодинамического качества воды, как растворителя образующейся полимерной соли, и уплотнением макромолекулярного клубка.

Такое поведение равноценно изменению ионной силы среды и может быть смоделировано варьированием природы и концентрации кислоты, используемой для растворения хитозана (см. рис. 1, в). Как и следовало ожидать, в слабой CH_3COOH (прямые 1–5) значение $[\eta]$ существенно выше, чем в сильной HCl (прямые 6 и 7). С повышением концентрации кислоты $[\eta]$ уменьшается. Неожиданно, но значения $[\eta]$ и наклон прямых $\eta_{\text{уд}}/C - C$ раствора ХТЗ-520 в ацетатном буфере (прямая 8), в 2М CH_3COOH и 0.1N HCl (прямые 5, 7) практически совпадают. Известно, что сила уксусной кислоты в присутствии своей соли уменьшается, что проявляется в сильном понижении концентрации H^+ : в наших опытах pH изменяется от 2.7 до 4.4 (см. табл. 2). Растворение хитозана в уксусной кислоте незначительно повышает значение pH, а в ацетатном буфере – не меняет. Ионная сила 2 М уксусной кислоты в ~ 17 раз меньше ионной силы 0.1 N соляной кислоты и в ~ 30 раз меньше ионной силы ацетатного буфера. Учитывая сказанное, а также результаты работ [35, 36], естественно предположить, что близкие значения $[\eta]$ в уксуснокислой среде без и в присутствии соли-

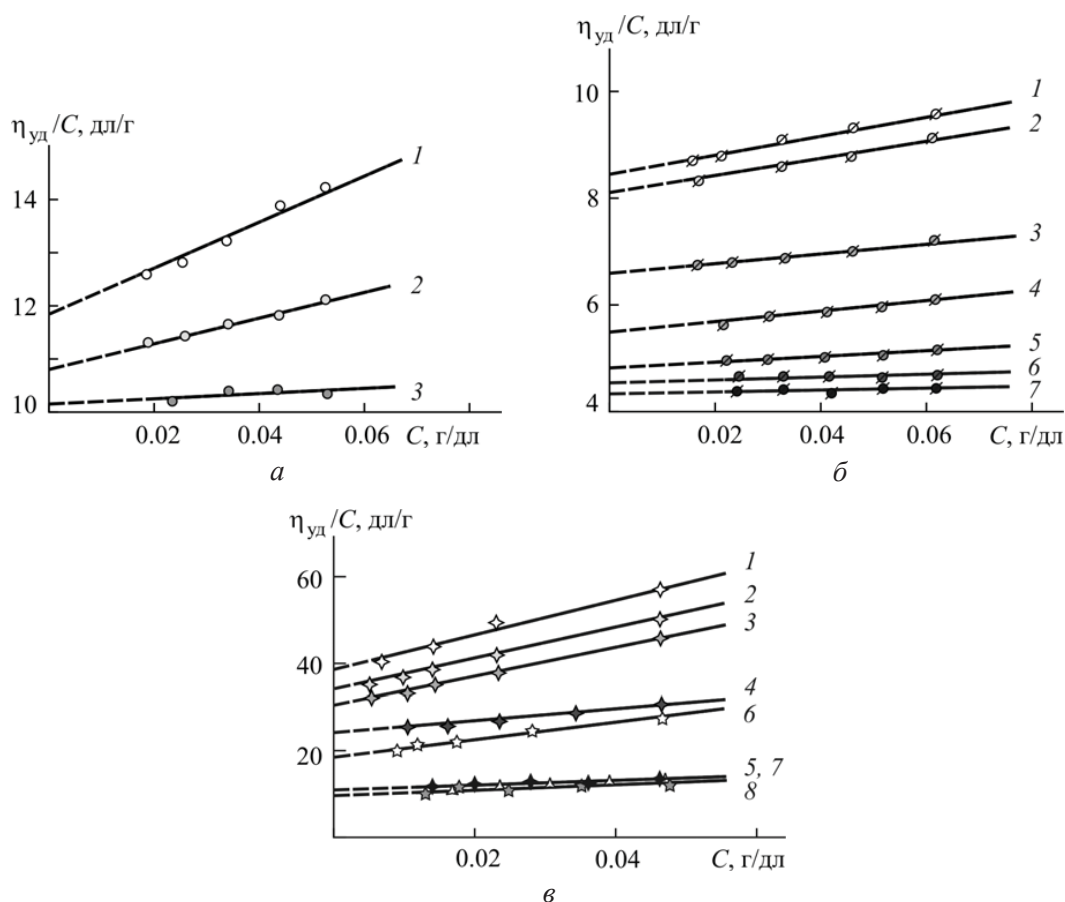


Рис. 1. Концентрационные зависимости числа вязкости исходных растворов ХТЗ-640 (1 а), ХТЗ-640 П (1 б) и хранившихся в течение: 1 (2 б), 7 (3 б), 8 (2 а), 15 (4 б), 22 (5 б), 29 (6 б), 32 (3 а) и 36 сут (7 б), а также исходных растворов ХТЗ-520 в 0.17 М (1 в), 0.5 М (2 в), 1 М (3 в), 1.5 М (4 в) и 2 М уксусной кислоте (5 в), 0.01 М (6 в) и 0.1 М соляной кислоте (7 в), ацетатном буфере (8 в)

электролита свидетельствуют об образовании комплексов (ионных пар) макрокатиона хитозана с ацетат-анионом.

Описанные выше закономерности наблюдаются и для образцов хитозана других молекулярных масс (см. рис. 2, кривые 3–5), а также в случае приготовления растворов на дистиллированной воде, освобожденной от растворенного O_2 и микроорганизмов (кривые 1' и 3'). Кроме того, эффект падения вязкости растворов хитозана, приготовленных на обычной и стерильной дегазированной H_2O , практически одинаков: в течение 30–50 сут значение $[\eta]$ уменьшается на одну и ту же величину (на ~15–20%) (кривые 1 и 1', 3 и 3'). Подобное поведение характерно и для воднокислотных растворов хитозана [9].

Характерно также, что большую нестабильность проявляет раствор переосажденного образца. Например, $[\eta]/[\eta]_0$ растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П уменьшается за 30 сут на ~15 и ~45% соответственно (см. рис. 2, б, кривые 1 и 2). Принимая во внимание возможность раз-

рыва Н-связей макроцепей при переосаждении полимера, интересно было оценить влияние на свойства исследуемых растворов акцептора водородной связи (мочевины).

Оказалось, что введение в раствор 8М мочевины, во-первых, приводит к увеличению $[\eta]$ свежеприготовленных растворов. В частности, для ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П значения $[\eta]$ растворов с добавкой мочевины увеличились на 30–40% по сравнению с исходными свежеприготовленными растворами (см. рис. 2, а, кривые 1 и 1'', 2 и 2''). Во-вторых, к появлению полиэлектролитного эффекта (рис. 3, кривые 1 и 1'), в большей степени – для раствора переосажденного образца. В-третьих, для переосажденного хитозана масштаб зависимости $\eta_{уд}/C - C$ свежеприготовленного и хранившегося раствора практически не изменяется (см. рис. 3, кривые 1'–5'), для исходного – эффект увеличения $\eta_{уд}/C$ раствора при разбавлении возрастает по мере хранения (см. рис. 3, кривые 1–5). При этом значение $[\eta]$ раствора ХТЗ-640 с добавкой мочевины во



времени не изменяется (см. рис. 2, а, кривая 1''). Аналогичный характер зависимости $[\eta] - t$, но с запозданием на ~5 сут, наблюдается и для раствора ХТЗ-640 П (см. рис. 2, а, кривая 2''). Таким образом, мочевины наряду с разрушением сетки межмолекулярных контактов проявила и стабилизирующее действие на систему, по крайней мере, в течение первых ~20–30 сут.

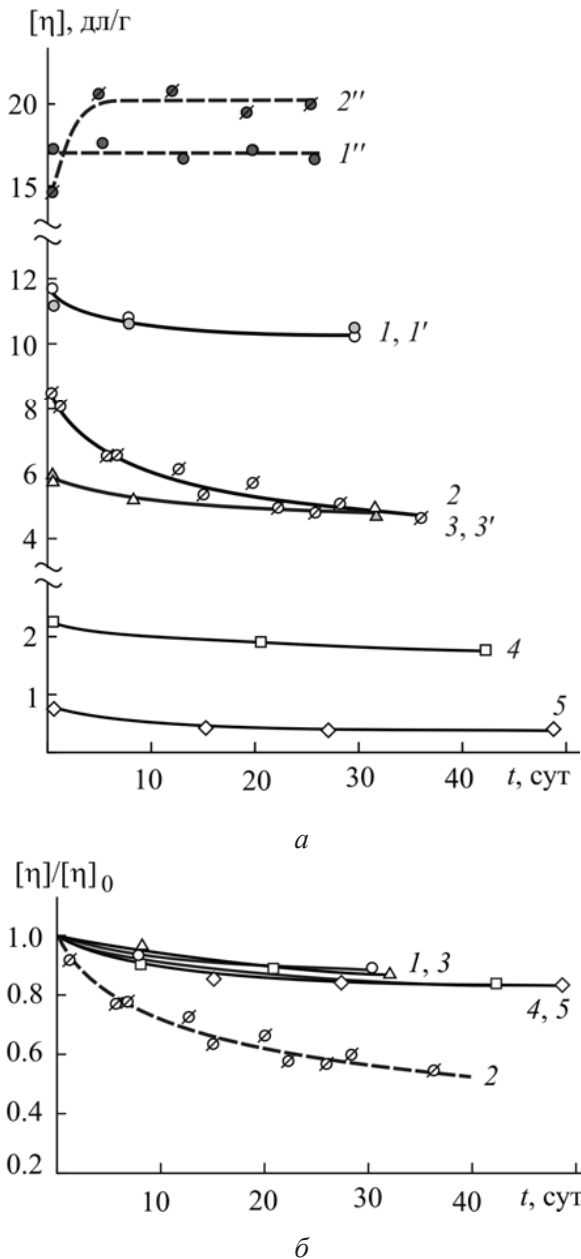


Рис. 2. Зависимость предельного числа вязкости (а) и относительного предельного числа вязкости (б) от времени хранения растворов ХТЗ-640 (1, 1', 1''), ХТЗ-640 П (2, 2''), ХТЗ-280 (3, 3'), ХТЗ-90 (4) и ХТЗ-50 (5) в ацетатном буфере (1–5, 1', 3') и в ацетатном буфере с 8М мочевиной (1'', 2''). В опытах 1' и 3' использовали дистиллированную воду без микроорганизмов и растворенных газов

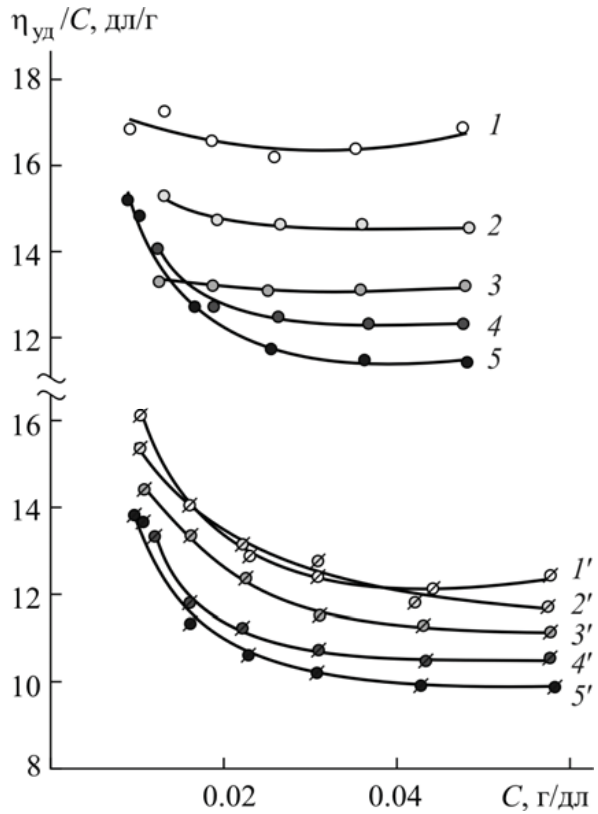


Рис. 3. Концентрационная зависимость числа вязкости растворов ХТЗ-640 (1–5) и ХТЗ-640 П (1'–5') в ацетатном буфере с 8М мочевиной при их хранении в течение: 0 (1, 1'), 5 (2, 2'), 13 (3, 3'), 20 (4, 4') и 26 сут (5, 5')

Введение 8М мочевины изменяет и оптическую активность ХТЗ-640, существенно увеличивая модуль удельного оптического вращения $[\alpha]$ (рис. 4, кривые 1, 2). Модуль $[\alpha]$ продолжает возрастать и при хранении раствора, тип кривой ДОВ при этом не изменяется (кривая 3). Уместно отметить, что для деполимеризованных образцов хитозана наблюдается антибатная зависимость – уменьшение модуля $[\alpha]$ в тем большей степени, чем меньше молекулярная масса образца [37].

Сопоставление результатов рис. 3 и рис. 4 приводит к выводу об изменении конформации макроцепи при введении акцептора Н-связи. При этом, несмотря на первоначальное возрастание значений $[\eta]$ и модуля $[\alpha]$, а также дальнейшее изменение зависимостей $\eta_{уд}/C - C$ и $[\alpha] - \lambda$ при хранении раствора, значение предельного числа вязкости во времени не изменяется, по крайней мере, в течение первых ~20–25 сут (см. рис. 2, кривые 1'' и 2''). Исходя из полученных кинетических закономерностей естественно предположить, что первоначальное (~5–10 сут) падение $[\eta]$ растворов исходных образцов обусловлено дорастворением частиц НС раство-

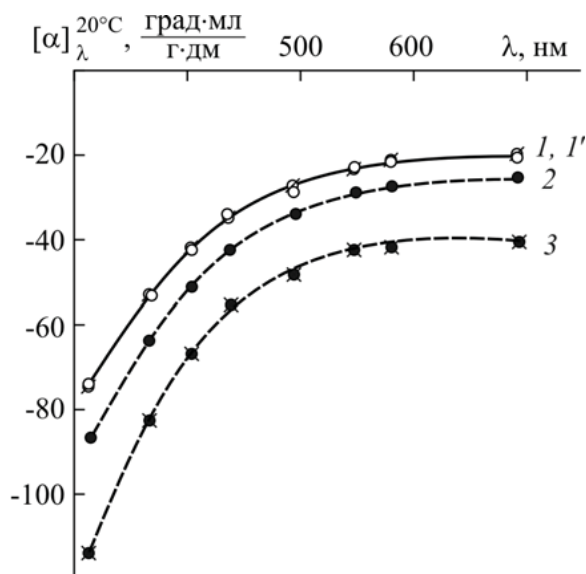


Рис. 4. Кривые дисперсии оптического вращения растворов ХТЗ-640 (1–3) и ХТЗ-640 П (1') в ацетатном буфере без (1, 1') и с 8М мочевиной (2, 3) при их хранении в течение: 0 (1, 1', 2) и 30 сут (3)

ра (см. рис. 2, кривые 1, 1', 3, 3', 4, 5). В случае переосажденного образца с частично или полностью разрушенной сеткой межмолекулярных Н-связей бóльший эффект падения вязкости обусловлен формированием комплексов между поликатионами и противоионами. Кроме того, обнаружена идентичность $[\alpha] - \lambda$ растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П (кривые 1 и 1' (см. рис. 4)), а также постоянство показателей оптической активности исследуемых образцов во времени. Стабильность кривых ДОВ наблюдали и для растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-280 в 0.33М CH_3COOH при хранении до 9 месяцев [37].

Стало быть, дисперсия удельного оптического вращения, чувствительная к конформационному состоянию макромолекул (МС) [38, 39], в совокупности с вискозиметрией, фиксирующей еще и перестройку надмолекулярной структуры полимерного образца – ответственной в свою очередь за НС раствора, позволяют исключить деструкцию хитозана во времени. Кроме того, повышенная устойчивость к кислотному гидролизу гликозидной связи, содержащей аминокгруппу у второго углеродного атома, и данные работ [9, 15, 19] о бóльшей нестабильности водно-кислотных растворов хитозана с меньшим содержанием кислоты (CH_3COOH , HCl) независимо от концентрации полимера (по крайней мере, для разбавленных растворов) также подтверждают отсутствие гидролитического разрушения макромолекул.

Таким образом, суммируя данные вискозиметрии и оптической активности кислотно-солевых растворов хитозана разной предыстории, молекулярной массы и компонентного состава растворяющей среды, можно заключить, что падение вязкости на начальном этапе хранения (~5–10 сут) обусловлено дорастворением надмолекулярных частиц полимера в структурно-сложном растворе. Дальнейшее падение вязкости связано с изменением МС раствора, в частности, с формированием водородсвязанных ионных пар с переносом протона от гидроксильной группы CH_3COOH к протоноакцепторному атому азота глюкопиранозного кольца [$\sim\text{NH}^{3+}\cdot\text{CH}_3\text{COO}^-$] [36]. При этом макромолекулы полимера демонстрируют смешанное полиэлектролит-иономерное поведение, когда лишь часть низкомолекулярных противоионов находится в «связанном» состоянии с поликатионом. Это явление имеет много общего с эффектом формирования «заряженных микрорегелей» полисахаридов [40].

Еще одним доказательством присутствия в растворах надмолекулярных частиц и их последующего растворения могут служить данные интерферометрии. Оказалось, что для исходных систем на основе ХТЗ-640 и ХТЗ-280 нулевое значение разности показателя преломления раствора и растворителя (Δn) реализуется при $C \neq 0$ (рис. 5, а, б, прямые 1 и 3). Это свидетельствует о структурной неоднородности полимерной системы. Вполне естественно, что в бóльшей степени она проявляется для более высокомолекулярного образца. Для хранившихся растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-280 зависимость $\Delta n - C$ приобретает классический характер, Δn при этом увеличивается (прямые 2 и 4). Как исходный, так и хранившийся раствор лабораторного образца ХТЗ-50 характеризуется классической зависимостью $\Delta n - C$, значения Δn хранившихся растворов (как и для образцов ХТЗ-640, ХТЗ-280) больше исходных (см. рис. 5, в, прямые 5 и б). Реализация исходящей из $C = 0$ зависимости $\Delta n - C$ исходного раствора ХТЗ-50 вполне закономерна, учитывая разрушение надмолекулярной структуры в процессе дополнительного переосаждения, предусмотренного лабораторным способом получения данного образца. Тем не менее повышение значений Δn для всех хранившихся систем подтверждает факт изменения структуры раствора во времени.

Как и следовало ожидать, dn/dC растворов высокомолекулярных образцов ХТЗ-640 и ХТЗ-280 близки, низкомолекулярного ХТЗ-50 несколько ниже (табл. 3). Значения dn/dC

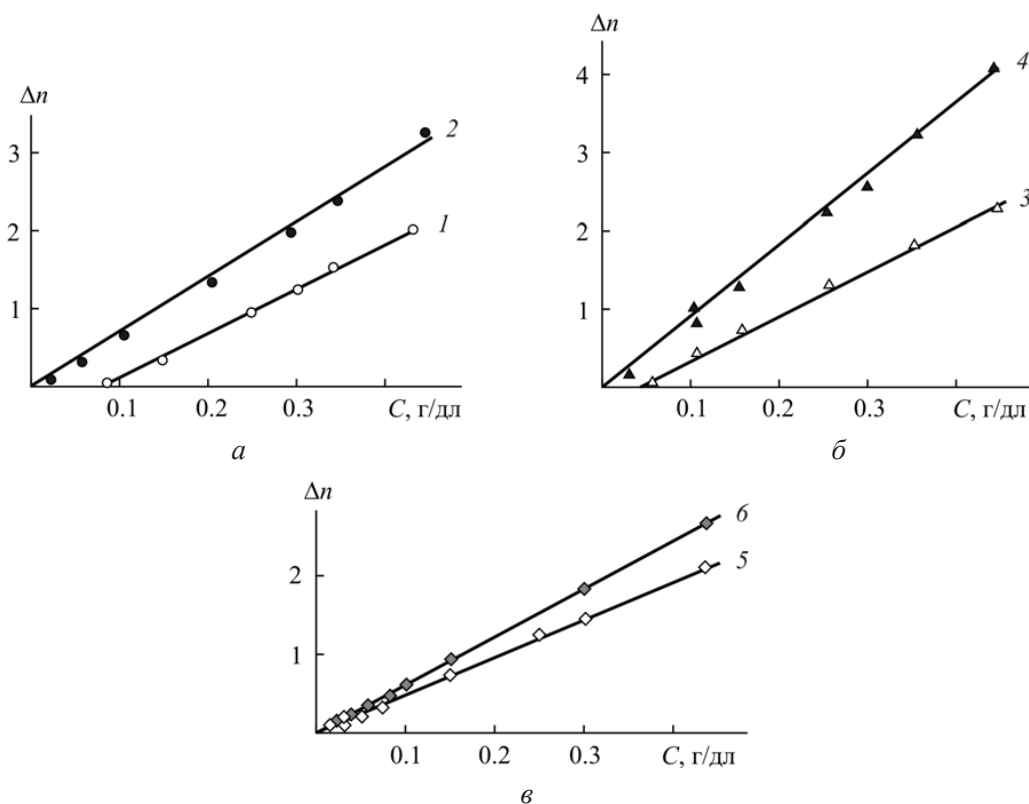


Рис. 5. Концентрационная зависимость разности показателя преломления раствора ХТЗ-640 (а), ХТЗ-280 (б) и ХТЗ-50 (в) в ацетатном буфере и показателя преломления растворителя при хранении растворов в течение: 0 – (1, 3, 5), 30 (6) и 240 (2, 4) сут

согласуются с данными работы, полученными для хитозана в уксусной кислоте [39]. Для всех исследуемых растворов наблюдается рост dn/dC во времени приблизительно на 20%. Согласно современным представлениям увеличение инкремента показателя преломления раствора обусловлено уменьшением диэлектрической проницаемости рассеивающих объектов при переходе полимера в сколлапсированное состояние [41]. В нашем случае это подтверждает переход к более компактной конформации макромолекул в хранившемся растворе, т.е. формирование ионных пар, по сравнению с конформацией в исходном растворе. Кроме того, согласно [35] компактизация в кислотных растворах хитозана может протекать и вследствие сложных ион-ионно-водородных взаимодействий макроцепей: помимо ионных контактов между протонированной аминогруппой поликатиона и кислородом гидроксильной группы низкомолекулярного аниона реализуются и водородные связи между гидроксильной группой у шестого атома углерода глюкоаминопиранозного кольца и карбонильным кислородом кислотного остатка. По нашему мнению, экспериментально эти

изменения достоверно фиксируются на втором этапе хранения растворов (после ~30 сут).

Таблица 3

Инкремент показателя преломления исходных и хранившихся растворов хитозана в ацетатном буфере, $C = 0.50$ г/л, $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$

Образец	t , сут	dn/dC , $\text{cm}^3/\text{г}$
ХТЗ-640	–	0.187
	240	0.267
ХТЗ-280	–	0.190
	240	0.267
ХТЗ-50	–	0.176
	30	0.213

Перейдем к рассмотрению особенностей физико-химических свойств хитозансодержащей системы на следующем этапе хранения: 50–240 сут. Кроме гидродинамических характеристик, не менее важными для оценки процессов структурообразования на данном временном этапе являются флокулирующая и пленкообразующая способность растворов хитозана, диффузионные характеристики макромолекул, а также мутность полимерной системы.

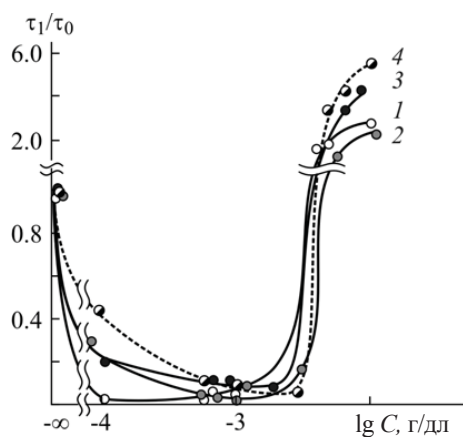


Обнаружено, что длительное (до ~240 сут) выдерживание растворов хитозана приводит к падению их вязкости на ~50–85% (см. табл. 2). В то же время растворы остаются визуально прозрачными и сохраняют способность к пленкообразованию. Оказалось, что эффект падения $[\eta]$ разбавленных кислотно-солевых растворов выше, чем концентрированных, и в большей степени проявляется для раствора высокомолекулярного образца ($[\eta]$ падает на ~85%). Несколько неожиданно, но кислотно-солевые растворы хитозана более нестабильны по сравнению с эквивалентными по полимеру бессолевыми водно-кислотными растворами, содержащими ту же концентрацию (0.33 моль/л) уксусной кислоты, что и ацетатный буфер (см. табл. 2). Из всех изученных растворов менее нестабильным оказался разбавленный уксуснокислый раствор высокомолекулярного ХТЗ-640. Во времени $[\eta]$ этого раствора уменьшается всего лишь на ~20%. При этом pH и мутность как кислотно-солевых, так и уксуснокислых растворов во времени практически не изменяются (см. табл. 2).

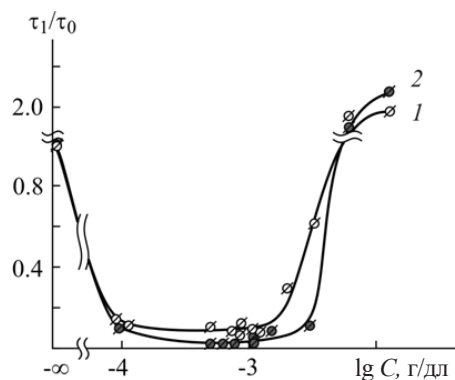
Полученные закономерности падения $[\eta]$ растворов хитозана при длительном хранении, по-видимому, можно объяснить агрегированием ионных пар и ион-ионно-водородных макромолекулярных комплексов с формированием так называемых мультиплетов (терминология [33, 40]), далее будем называть этот процесс ионной агрегацией. Протекание данного процесса в кислотно-солевой среде более предпочтительно в сравнении с водно-кислотной [40], что и подтверждается большим эффектом падения $[\eta]$ растворов в ацетатном буфере, чем в CH_3COOH . Кроме того, данное предположение согласуется с наблюдаемым более существенным изменением электропроводности уксуснокислых растворов хитозана при их хранении по сравнению с растворами в присутствии сильного электролита (см. табл. 2). Еще одним подтверждением возможного агрегирования является визуализация методом сканирующей силовой микроскопии индивидуальных макромолекул в форме протяженных одиночных нитей и их агрегатов, присутствующих в исходном и хранившемся разбавленном растворе хитозана в Na-ацетатном буфере (pH = 5.1) [42]. В этой связи обнаруженную более выраженную нестабильность растворов ХТЗ-640 в условиях подавления полиэлектролитного эффекта можно связать с большей склонностью к ионной агрегации высокомолекулярных образцов полимера [8].

Данное предположение подтверждает и исследование флокулирующей активности полисахарида. Как и следовало ожидать, эффект флокуляции исходных растворов в ацетатном

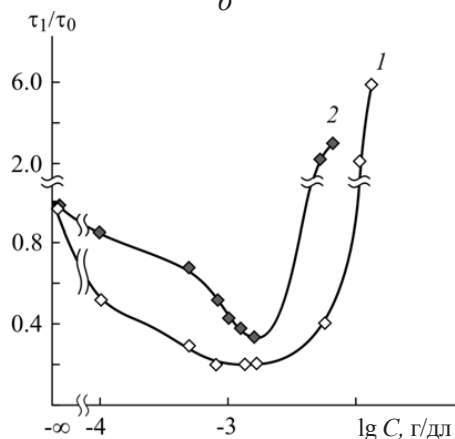
буфере проявляется в некотором диапазоне концентраций хитозана, вне которого происходит стабилизация дисперсии каолина. Флокулирующая способность образцов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П практически одинакова и составляет ~100% (рис. 6, а, б; кривые 1).



а



б



в

Рис. 6. Зависимость относительной мутности системы ацетатный буфер – каолин – хитозан от концентрации растворов ХТЗ-640 (а), ХТЗ-640 П (б) и ХТЗ-50 (в): использовали растворы $C = 0.05$ г/дл с временем хранения 0 (1 а, 1 б), 20 (2 а, 2 б) и ~240 сут (3 а), а также $C = 0.5$ г/дл с временем хранения 0 (1 в), 28 (2 в) и ~240 сут (4 а)



Эффект флокуляции низкомолекулярного образца ХТЗ-50 несколько ниже, однако тоже достаточно высокий, ~80% (рис. 6, в; кривая 1). Хранение растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П слабо влияет на флокулирующие свойства образцов. Некоторое снижение флокулирующей активности до ~90% через ~20 сут хранения, в последующие ~240 сут выдерживания раствора более не проявляется (см. рис. 6, а, б; кривые 2–4). Диапазон концентраций полимера, обеспечивающих высокую степень осветления системы, также практически не изменяется. Наблюдается лишь небольшое повышение оптимальной концентрации полимера. Для раствора ХТЗ-50 через ~28 сут хранения наблюдается некоторое снижение флокулирующей способности полимера до ~60–70% и сужение диапазона флокулирующих концентраций (см. рис. 6, в; кри-

вая 2), что, по-видимому, обусловлено меньшей скоростью формирования агрегатов (мультиплетов) макромолекул низкомолекулярного образца во времени.

Флокулирующее действие исходных и хранившихся растворов хитозана разной \bar{M}_n укладывается в концепцию об агрегативном механизме флокуляции, когда адсорбция макромолекулярных агрегатов на поверхности коллоидных частиц более предпочтительна, чем индивидуальных макромолекул. На это указывает и существенное понижение коэффициента самодиффузии макромолекул хитозана в процессе хранения полимерной системы (рис. 7, кривая 1; табл. 4). В совокупности полученные результаты еще раз позволяют удостовериться в отсутствии деструкции полимерных цепей при хранении растворов хитозана.

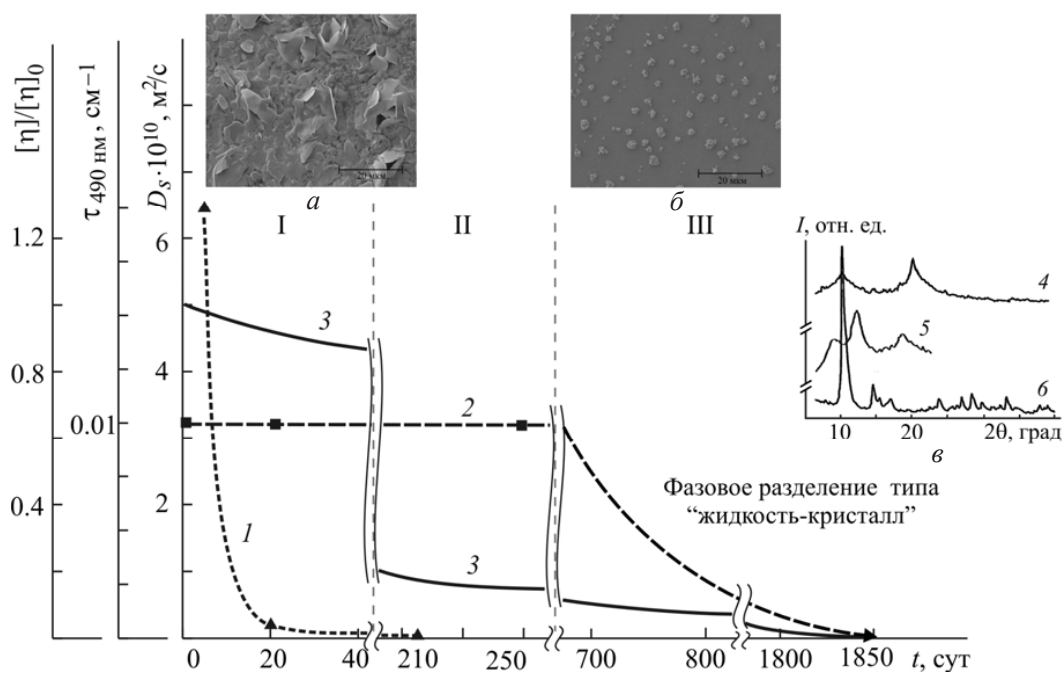


Рис. 7. Диаграмма изменения свойств системы ХТЗ-640 – ацетатный буфер $C = 0.05$ г/дл во времени. Кинетика коэффициента самодиффузии (1), мутности (2) и относительного предельного числа вязкости (3). На вставках: а, б – СЭМ фотографии образцов, выделенных из исходной (а) и хранившейся ~790 сут системы (б); в – рентгеновские дифрактограммы исходного порошка хитозана (4), пленки ацетата хитозана (5) и порошка, выделенного из системы через ~1850 сут ее хранения (6). I, II и III – этапы структурообразования полимерной системы при хранении, см. пояснение в тексте

Таблица 4

Коэффициент самодиффузии макромолекул и предельное число вязкости растворов хитозана в ацетатном буфере

Образец	C , г/дл	t , сут	$D_s \cdot 10^{10}$, M^2/c	$[\eta]$, дл/г
ХТЗ-640	0.50	5	6.4800	11.0
		20	0.2000	10.5
	0.05	215	0.0012	1.90



Отдельного внимания заслуживает факт инвариантности мутности систем в течение ~240 сут (см. рис. 7, кривая 2; см. табл. 2). Это может быть обусловлено, с одной стороны, отсутствием четкой поверхности на границе раздела фаз агрегированные ионные комплексы – дисперсионная среда. С другой стороны, малые размер и числовая концентрация мультиплетов и их агрегатов не оказывают существенного влияния на оптическую плотность растворов на данном этапе их хранения. Однако в дальнейшем мутность понижается практически до нулевого значения. По-видимому, начавшаяся на данном временном этапе агрегация ионных комплексов продолжает развиваться, вплоть до формирования частиц новой фазы. Зафиксировать данные процессы удалось на третьем этапе при хранении хитозансодержащих систем более 700 сут.

Во-первых, изменения в структурной организации хранившихся растворов, обусловленные конформационными перестройками и ионной агрегацией макромолекул, наглядно показали результаты СЭМ морфологии поверхности полимерной структуры, выделенной быстрым высушиванием капли исходного и хранившегося растворов хитозана на стеклянной поверхности. Например, исходный раствор ХТЗ-640 при данном способе препарирования формирует рыхлую структуру, представленную скоплением чешуек размером ~5–15 мкм (см. рис. 7, а). Тот же раствор через ~790 сут показывает частицы практически правильной сферической формы и размером ~0.3–3.3 мкм (см. рис. 7, б).

Во-вторых, через ~1800 сут хранения было зафиксировано фазовое разделение исследуемых систем с выпадением осадка, легко отделяемого фильтрованием. Нерастворимость в воде ука-

зывает на отсутствие в осадке солевой формы хитозана. В-третьих, выделившаяся полимерная фаза коренным образом отличается по структуре от исходного порошкообразного образца.

В качестве примера на рис. 7, в приведены рентгеновские дифрактограммы, а в табл. 5 – межплоскостные расстояния (d , Å) и степень кристалличности воздушно-сухих образцов порошка полимерной фазы, выделенной из системы ХТЗ-640 – вода – уксусная кислота – ацетат натрия через ~5 лет хранения, и для сравнения – исходных порошка и пленки ХТЗ-640 в основной и солевой форме соответственно. На дифрактограмме исходного порошка ХТЗ-640 на фоне аморфного гало проявляются два широких кристаллических рефлекса при $2\Theta \sim 10.4$ и 20.2 град, характерные для гидратированных (до 8–10% связанной воды) структурных модификаций I и II основной формы хитозана (кривая 4) [43, 44]. Имеются также три незначительных по интенсивности пика при $2\Theta \sim 14.7$, 17.8 и 28.0 град. Дифрактометрические кривые являются типичными для аморфно-кристаллических образцов хитозана со сравнительно низкой степенью кристалличности [10, 38, 44]. Данные о межплоскостных расстояниях в кристаллической решетке и степени кристалличности данного образца согласуются с описанными в литературе [10, 45, 46]. Дифрактограмма самопроизвольно выделившейся полимерной фазы характеризуется сужением и увеличением интенсивности рефлексов при $2\Theta \sim 10.4$ и 14.7 град, в значительной степени это затрагивает основной рефлекс полиморфной модификации I (кривая б). Рефлекс полиморфной модификации II при $2\Theta \sim 20.2$ град, наоборот, значительно снижается по интенсивности, кроме того, сдвигается в область 23.9 град.

Таблица 5

Межплоскостные расстояния и степень кристалличности исходных порошка ХТЗ-640 и пленки ацетата ХТЗ-640, а также порошка, самопроизвольно выделившегося из раствора ХТЗ-640 в ацетатном буфере через ~1850 сут хранения

Исходный порошок полимера в основной форме			Порошок самопроизвольно выделившейся фазы			Пленка полимера в солевой форме		
2Θ , град	d , Å	χ , %	2Θ , град	d , Å	χ , %	2Θ , град	d , Å	χ , %
10.4	8.6	36.8	10.4	8.4	82.0	9.1	9.5	25.4
14.7	6.0		14.7	6.0				
–	–		15.5	5.7				
17.8	5.0		17.1	5.2				
20.2	4.4		23.9	3.7		12.7	7.1	
–	–		27.0	3.3				
28.0	3.2		28.4	3.1		19.4	4.7	
–	–		29.6	3.0				
–	–	33.2	2.7					



Рефлексы при 17.8 и 28.0 град также смещаются до 17.1 и 28.4 град соответственно, однако их интенсивность заметно возрастает. Кроме того, появляются новые рефлексы при $2\Theta \sim 15.5, 27.0, 29.6$ и 33.2 град. Причем пик при 15.5 град обусловлен формированием дегидратированной кристаллической решетки так называемой «отожженной» полиморфной модификации хитозана, характеризующейся укорочением основных параметров элементарной ячейки кристаллита [47]. При этом межплоскостные расстояния при углах дифракции 10.4, 23.9 и 28.4 град уменьшаются, что, наряду с более высокой степенью кристалличности, свидетельствует об ориентационном упорядочении в структуре выделившейся полимерной фазы по сравнению с исходным образцом. Рефлексы, характерные для солевой формы хитозана при $2\Theta \sim 8.0-9.0, 12.0$ и 19.0 град (кривая 5) [38, 45, 48], не наблюдаются.

Обратимся еще раз к рис. 7, на котором на примере системы ХТЗ-640 – ацетатный буфер обобщены результаты изменения во времени основных свойств исследуемых в работе хитозансодержащих систем. В совокупности уменьшение коэффициента самодиффузии и вязкости (кривые 1 и 3) при инвариантности мутности (кривая 2), а также увеличение инкремента показателя преломления при сохранении оптической и флокулирующей активности, пленкообразующей способности хранившихся растворов хитозана свидетельствуют об образовании ионных пар между макрокатионами и низкомолекулярными анионами (этап I) и их мультиплетов (этап II). Взаимодействие мультиплетов сопровождается формированием агрегатов, дальнейший рост размеров которых приводит в конечном счете к фазовому разделению полимерной системы (этап III). Значения мутности и относительного предельного числа вязкости при этом падают практически до нуля (кривые 2 и 3).

Рентгеновская дифрактометрия показывает образование высококристаллической полиморфной модификации полимера на третьем этапе хранения хитозансодержащей системы и, соответственно, позволяет идентифицировать тип фазового разделения как «жидкость–кристалл». Хорошо известно, что, несмотря на термодинамическую неустойчивость, аморфизированная структура полимера в стеклообразном состоянии может сохраняться по кинетическим причинам достаточно продолжительное время [49]. В таком состоянии может осуществляться лишь локальная подвижность структурных элементов, недостаточная для строгой трехмерной укладки сегментов макроцепей в сравнительно протяженные

кристаллические образования. Для протекания процесса кристаллизации необходимо развитие кооперативной, трансляционной молекулярной подвижности и реализация определенной конформации макромолекул либо возникновение соответствующих флуктуационных ансамблей, что в случае хитозана может осуществляться в жидкофазном состоянии, в частности, в растворах полимера в полярном растворителе. Нам представляется, что агрегаты мультиплетов в кислотном-солевом растворе хитозана выполняют роль зародышей новой фазы. Поскольку в присутствии соли иономерное состояние более термодинамически выгодно в сравнении с полиэлектролитным, во времени реализуется такое стабилизированное мультиплетом суперсколлапсированное состояние полимерной фазы, в котором практически все противоионы входят в состав ионных пар. Последнее предсказано теоретически [33, 40] и подтверждено экспериментально для гелей полиэлектролитов в водно-солевой среде в работах [50, 51]. Кристаллизуясь вместе с компонентами растворяющей смеси (противоионами), хитозан образует нетипичную для него новую кристаллическую решетку. Растянутая во времени кинетика кристаллизации, сополимерное строение и повышенная жесткость макроцепей аминополисахарида обуславливают малые скорости фазового превращения даже в разбавленной по полимеру хитозансодержащей системе.

По нашему мнению, полученные результаты являются первым экспериментальным подтверждением теории фазового разделения в разбавленных растворах полиэлектролитов в хорошем растворителе [40] вследствие протекающей во времени ионной агрегации (ассоциации) макроцепей.

Список литературы

1. Aiba S. Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and blockcopolymer structures in partially N-acetylated chitosans // Intern. J. Biol. Macromol. 1991. Vol. 13, № 1. P. 40–44.
2. Vikhoreva G. A., Pchelko O. M., Gal'braikh L. S., Rogovina S. Z. The phase state and rheological properties of the chitosan-acetic acid-water system // Polymer Science, Ser. B. 2001. Vol. 43, № 6. P. 1079–1084.
3. Pillai C. K. S., Willi P., Chandra P. S. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation // Progr. Pol. Sci. 2009. Vol. 34, № 7. P. 641–678.
4. Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan // Polymer. 1999. Vol. 40, № 25. P. 7029–7032.



5. *Pa J., Yu T.* Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solution // *Macromol. Chem. Phys.* 2001. Vol. 202, № 7. P. 985–991.
6. *Yevlampieva N. P., Gorshkova M. Y., Volkova I. F., Grigoryan E. S., Lezov A. A., Khurchak A. P., Ryumtsev E. I.* Molecular properties of modified chitosan containing a quaternary amino group // *Polymer Science, Ser. A.* 2011. Vol. 53, № 2. P. 124–132.
7. *Anthonsen M. W., Varum K. M., Hermansson A. M., Smidsrod O., Brant D. A.* Aggregates in acidic solutions of chitosans detected by static laser light scattering // *Carbohydr. Polym.* 1994. Vol. 25, № 1. P. 13–23.
8. *Philippova O. E., Korchagina E. V.* Chitosan and its hydrophobic derivatives: Preparation and aggregation in dilute aqueous solutions // *Polymer Science, Ser. A.* 2012. Vol. 54, № 7. P. 552–572.
9. *Шиповская А. Б., Фомина В. И., Солонина Н. А., Казмичёва О. Ф., Козлов В. А., Тимофеева Г. Н.* Особенности структурообразования в растворах хитозана // Структура и динамика молекулярных систем : сб. науч. тр. Йошкар-Ола : Изд-во МарГТУ, 2001. Вып. VIII, ч. 2. С. 147–151.
10. *Mogilevskaya E. L., Akopova T. A., Zelenetsii A. N., Ozerin A. N.* The crystal structure of chitin and chitosan // *Polymer Science, Ser. A.* 2006. Vol. 48, № 2. P. 116–123.
11. *Gamzazade A. I., Šlimak V. M., Skljar A., Štykova E. V., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V.* Investigation of the hydrodynamic properties of chitosan solutions // *Acta Polymerica.* 1985. Vol. 36, № 8. P. 420–424.
12. *Rinaudo M., Milas M., Le Dung P.* Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion // *Intern. J. Biol. Macromolec.* 1993. Vol. 15, № 5. P. 281–285.
13. *Otake K., Shimomura T., Goto T., Imura T., Furuya T., Yoda S., Takebayashi Y., Sakai H., Abe M.* One-step preparation of chitosan-coated cationic liposomes by an improved supercritical reverse-phase evaporation method // *Langmuir.* 2006. Vol. 22, № 9. P. 4054–4059.
14. *Lipatova I. M., Makarova L. I.* Effect of hydroacoustic treatment on chitosan dissolution in aqueous acetic acid solutions // *Russ. J. Appl. Chem.* 2008. Vol. 81. № 12, P. 2112–2117.
15. *Фомина В. И., Солонина Н. А., Казмичева О. Ф., Комаров Б. А., Шиповская А. Б.* Нестабильность водно-кислотных растворов хитозана // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана : материалы 7-й междунар. конф. М. : ВНИРО, 2003. С. 367–371.
16. *Kulish E. I., Chernova V. V., Volodina V. P., Kolesov S. V.* Possible causes of “inconstancy” in the intrinsic viscosity of chitosan // *Polymer Science, Ser. A.* 2015. Vol. 57, № 5. P. 508–514.
17. *Plisko E. A., Nud'ga L. A., Danilov S. N.* Chitin and Its Chemical Transformations // *Russ. Chem. Rev.* 1977. Vol. 46, № 8. P. 764–774.
18. *Chen R. H., Chang J. R., Shyur J. S.* Effects of Ul-trasonic Conditions and Storage in Acidic Solutions on Changes in Molecular Weight and Polydispersity of Treated Chitosan // *Carbohydrate Research.* 1997. Vol. 299, № 4. P. 287–294.
19. *Sklyar A. M., Gamzazade A. I., Rogovina L. Z., Titkova L. V., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V., Slonimskii G. L.* Study of rheological properties of dilute and moderately concentrated solutions of chitosan // *Polym. Sci. U.S.S.R.* 1981. Vol. 23, № 6. P. 1546–1554.
20. *Mironov A. V., Vikhoreva G. A., Kil'deeva N. R., Uspenskii S. A.* Reasons for unstable viscous properties of chitosan solutions in acetic acid // *Polymer Science, Ser. B.* 2007. Vol. 49, № 1. P. 15–17.
21. *Kasaai M. R., Arul J., Charlet G.* Fragmentation of Chitosan by Acids // *The Scientific World J.* 2013. Article ID 508540. 11 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/508540>
22. *Нудьга Л. А., Бочек А. М., Каллистов О. В., Кучинский С. А., Петропавловский Г. А.* Реологические свойства и надмолекулярная организация умеренно концентрированных растворов хитозана в уксусной кислоте в зависимости от pH // *Российский журн. прикл. химии.* 1993. Т. 66, № 1. С. 198–202.
23. *Abramov A. Y., Kozyreva E. V., Shipovskaya A. B.* Peculiarities of the physicochemical properties of chitosan solutions // *Europ. J. Natural History.* 2013. № 1. С. 30–35.
24. *Vårum K. M., Ottøy M. H., Smidsrod O.* Acid Hydrolysis of Chitosans // *Carbohydrate Polymers.* 2001. Vol. 46, № 1. P. 89–98.
25. *Il'ina A. V., Varlamov V. P.* Hydrolysis of Chitosan in Lactic Acid // *Appl. Biochem. Microbiology.* 2004. Vol. 40, № 3. P. 300–303.
26. *Holme H. K., Davidsen L., Kristiansen A., Smidsrod O.* Kinetics and Mechanisms of Depolymerization of Alginate and Chitosan in Aqueous Solution // *Carbohydrate Polymers.* 2008. Vol. 73, № 4. P. 656–664.
27. *Gamzazade A. I., Sklyar A. M., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V.* On the viscosity properties of chitosan solutions // *Polym. Sci. U.S.S.R.* 1981. Vol. 23, № 3. P. 665–669.
28. *Chen R. H., Chen W. Y., Wang S. T., Hsu C. H., Tsai M. L.* Changes in the Mark–Houwink hydrodynamic volume of chitosan molecules in solution of different organic acids, at different temperatures and ionic strengths // *Carbohydrate Polymers.* 2009. Vol. 78, № 4. P. 902–907.
29. *Nud'ga L. A., Petrova V. A., Boček A. M., Kallistov O. V., Petrova S. F., Petropavlovskii G. A.* Molecular and Supramolecular Transformations in Solutions of Chitosan and Allylchitosan // *Polymer Science, Ser. B.* 1997. Vol. 39, № 7–8. P. 259–263.
30. *Jocić D., Juliá M. R., Erra P.* The Time Dependence of Chitosan / Nonionic Surfactant Solution Viscosity // *Colloid Polym. Sci.* 1996. Vol. 274, № 4. P. 375–383.
31. *Sorlier P., Viton C., Domard A.* Relation between Solution Properties and Degree of Acetylation of Chitosan: Role of Aging // *Biomacromolecules.* 2002. Vol. 3, № 6. P. 1336–1342.
32. *Бойко И. С., Подколотная О. А., Лысачок С. Г., Шмаков С. Л.* Вязкостная деградация кислотных растворов хитозана и ее изучение методом ионного зонда // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2015. Т. 15, вып. 4. С. 21–30.
33. *Kramarenko E. Y., Erukhimovich I. Y., Khokhlov A. R.* Spinodal stability of a salt polyelectrolyte solution : Effect of formation of ion pairs and multiplets // *Polymer Science, Ser. A.* 2004. Vol. 46, № 9. P. 974–984.



34. *Cerqueira D. A., Filho G. R., Assunção R. M. N.* A New Value for the Heat of Fusion of a Perfect Crystal of Cellulose Acetate // *Polym. Bull.* 2006. Vol. 56, № 4–5. P. 475–484.
35. *Li Q. X., Song B. Z., Vang Z. Q., Fan H. L.* Electrolytic conductivity behaviors and solution conformations of chitosan in different acid solutions // *Carbohydrate Polymers.* 2006. Vol. 63, № 2. P. 272–282.
36. *Mikhailov G. P., Tuchkov S. V., Lazarev V. V., Kulish E. I.* Complexation of chitosan with acetic acid according to Fourier transform Raman spectroscopy data // *Russ. J. Physical Chem., Ser. A.* 2014. Vol. 88, iss. 6. P. 936–941.
37. *Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Timofeeva G. N., Komarov B. A.* Effect of molecular mass on the optical activity of chitosan // *Polymer Science, Ser. B.* 2007. Vol. 49, № 11–12. P. 288–291.
38. *Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Rudenko D. A., Malinkina O. N.* Optical activity of films based on chitosan of various molecular masses and modifications // *Polymer Science, Ser. A.* 2017. Vol. 59, № 3. P. 330–341.
39. *Koralewski M., Bodek K. H., Marczewska K.* Optical properties of chitosan in aqueous solution. Lodz : Polish Chitin Soc., 2006. Monograph XI. P. 29–39.
40. *Крамаренко Е. Ю.* Теория эффектов, связанных с ионной ассоциацией в полиэлектролитных системах : автореф. дис. ... д-ра физ.-мат. наук. М., 2008. 39 с.
41. *Volkov E. V., Filippova O. E., Khokhlov A. R.* Dual Polyelectrolyte-Ionomer Behavior of Poly(Acrylic Acid) in Methanol : 2. Salt Solutions // *Colloid Journal.* 2004. Vol. 66, № 6. P. 669–672.
42. *Lamargue G., Lucas J.-M., Viton C., Domard A.* Physicochemical behavior of homogeneous series of acetylated chitosans in aqueous solution : role of various structural parameters // *Biomacromolec.* 2005. Vol. 6, № 1. P. 131–142.
43. *Samuels R. J.* Solid state characterization of the structure of chitosan films // *J. Polymer Science.* 1981. Vol. 19, № 7. P. 1081–1105.
44. *Fan M., Hu Q., Shen K.* Preparation and Structure of Chitosan Soluble in Wide pH Range // *Carbohydrate Polymers.* 2009. Vol. 78, № 1. P. 66–71.
45. *Ageev E. P., Vikhoreva G. A., Zotkin M. A., Matushkina N. N., Gerasimov V. I., Zevin S. B., Obolonkova E. S.* Structure and transport behavior of heat-treated chitosan films // *Polymer Science, Ser. A.* 2004. Vol. 46, № 12. P. 1245–1250.
46. *Prashanth K. V. H., Kittur F. S., Tharanathan R. N.* Solid State Structure of Chitosan Prepared under Different N-Deacetylating Conditions // *Carbohydrate Polymers.* 2002. Vol. 50, № 1. P. 27–33.
47. *Ogawa K., Yui T., Okuyama K.* Three D Structures of chitosan // *J. Biological Macromolecules.* 2004. Vol. 34, № 1–2. P. 1–8.
48. *Dobrovol'skaya I. P., Popryadukhin P. V., Dresvyani-na E. N., Yudin V. E., Elokhovskii V. Yu., Saprykina N. N., Khomenko A. Yu., Chvalun S. N., Maslennikova T. P., Korytkova E. N.* Structure and characteristics of chitosan-based fibers containing chrysotile and halloysite // *Polymer Science, Ser. A.* 2011. Vol. 53, № 5. P. 418–423.
49. *Chalykh A. E., Petrova T. F., Khasbiullin R. R., Ozerin A. N.* Water sorption on and water diffusion in chitin and chitosan // *Polymer Science, Ser. A.* 2014. Vol. 56, № 5. P. 614–622.
50. *Starodoubtsev S. G., Khokhlov A. R., Sokolov E. L., Chu B.* Evidence for Polyelectrolyte/Ionomer Behavior in the Collapse of Polycationic Gels // *Macromolecules.* 1995. Vol. 28, № 11. P. 3930–3936.
51. *Smirnov V. A., Philippova O. E., Sukhadolski G. A., Khokhlov A. R.* Multiplets in polymer gels. Rare earth metal ions luminescence study // *Macromolecules.* 1998. Vol. 31, № 4. P. 1162–1167.

Образец для цитирования:

Фомина В. И., Солонина Н. А., Шиповская А. Б. Ионная агрегация макромолекул как причина кинетической (не)стабильности физико-химических свойств растворов хитозана // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2019. Т. 19, вып. 1. С. 22–38. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-22-38>

Ionic Aggregation of Macromolecules as the Cause of the Kinetic (Non)Stability of Physicochemical Properties of Chitosan Solutions

V. I. Fomina, N. A. Solonina, A. B. Shipovskaya

Valentina I. Fomina, <https://orcid.org/0000-0001-5309-5267>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, fomina.oni@yandex.ru

Nina A. Solonina, <https://orcid.org/0000-0002-0799-0313>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, soloninana@info.sgu.ru

Anna B. Shipovskaya, <https://orcid.org/0000-0003-1916-4067>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, shipovskayaab@yandex.ru

Hydrodynamic, optical, colloid-flocculating, film-forming and structural morphological properties of diluted chitosan solutions (50–640 kDa) in acetate buffer (0.33 M CH₃COOH + 0.2 M CH₃COONa), both initial ones and stored for ~1,850 days, were studied. It has been established that the decrease in the intrinsic viscosity of solutions over time is manifested for the reprecipitated and high-molecular-weight samples of chitosan to a greater degree. The viscosity drop effect is not affected by the use of untreated or sterile degassed distilled water to dissolve the polymer. A decrease in the values of the self-diffusion coefficient of macromolecules and an increase in the refractive index increment of solutions were also observed in the course of storage. At the same time, optical, electrochemical and flocculating properties of the polymer system showed a very slight change. A diagram of the kinetics of physicochemical properties of the chitosan–acetate buffer system is proposed, which includes three time stages with different patterns of structure formation. It is suggested that features of the properties of acid-salt solutions over time are controlled by the formation of ion



pairs of the polycation with acetate anions, their multiplets, followed by ionic aggregation of the structures formed and liquid-crystal phase separation of the polymer system. It was found that the spontaneously separated phase is represented by a highly crystalline polymorphic modification of the polymer with characteristic features of an «anhydrous» crystal lattice.

Keywords: viscosity, kinetics, crystallization, dilute solutions, chitosan.

References

1. Aiba S. Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and blockcopolymer structures in partially N-acetylated chitosans. *Intern. J. Biol. Macromol.*, 1991, vol. 13, no. 1, pp. 40–44.
2. Vikhoreva G. A., Pchelko O. M., Gal'braikh L. S., Rogovina S. Z. The phase state and rheological properties of the chitosan-acetic acid-water system. *Polymer Science, Ser. B*, 2001, vol. 43, no. 6, pp. 1079–1084.
3. Pillai C. K. S., Willi P., Chandra P. S. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progr. Pol. Sci.*, 2009, vol. 34, no. 7, pp. 641–678.
4. Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer*, 1999, vol. 40, no. 25, pp. 7029–7032.
5. Pa J., Yu T. Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solution. *Macromol. Chem. Phys.*, 2001, vol. 202, no. 7, pp. 985–991.
6. Yevlampieva N. P., Gorshkova M. Y., Volkova I. F., Gri-goryan E. S., Lezov A. A., Khurchak A. P., Ryumtsev E. I. Molecular properties of modified chitosan containing a quaternary amino group. *Polymer Science, Ser. A*, 2011, vol. 53, no. 2, pp. 124–132.
7. Anthonen M. W., Varum K. M., Hermansson A. M., Smidsrod O., Brant D. A. Aggregates in acidic solutions of chitosans detected by static laser light scattering. *Carbohydr. Polym.*, 1994, vol. 25, no. 1, pp. 13–23.
8. Philippova O. E., Korchagina E. V. Chitosan and its hydrophobic derivatives: Preparation and aggregation in dilute aqueous solutions. *Polymer Science, Ser. A*, 2012, vol. 54, no. 7, pp. 552–572.
9. Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Solonina N. A., Kazmichyova O. F., Kozlov V. A., Timofeeva G. N. Osobennosti strukturoobrazovaniya v rastvorah hitozana [Features of structure formation in chitosan solutions]. In: *Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem: sb. nauch. tr.* [Structure and dynamics of molecular systems: collection of articles scientific papers]. Yoshkar-Ola, MarGTU Publ., 2001, iss. VIII, part 2, pp. 147–151 (in Russian).
10. Mogilevskaya E. L., Akopova T. A., Zelenetsii A. N., Ozerin A. N. The crystal structure of chitin and chitosan. *Polymer Science, Ser. A*, 2006, vol. 48, no. 2, pp. 116–123.
11. Gamzazade A. I., Šlimak V. M., Skljär A., Štykova E. V., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V. Investigation of the hydrodynamic properties of chitosan solutions. *Acta Polymerica*, 1985, vol. 36, no. 8, pp. 420–424.
12. Rinaudo M., Milas M., Le Dung P. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *Intern. J. Biol. Macromolec.*, 1993, vol. 15, no. 5, pp. 281–285.
13. Otake K., Shimomura T., Goto T., Imura T., Furuya T., Yoda S., Takebayashi Y., Sakai H., Abe M. One-step preparation of chitosan-coated cationic liposomes by an improved supercritical reverse-phase evaporation method. *Langmuir*, 2006, vol. 22, no. 9, pp. 4054–4059.
14. Lipatova I. M., Makarova L. I. Effect of hydroacoustic treatment on chitosan dissolution in aqueous acetic acid solutions. *Russ. J. Appl. Chem.*, 2008, vol. 81, no. 12, pp. 2112–2117.
15. Fomina V. I., Solonina N. A., Kazmicheva O. F., Komarov B. A., Shipovskaya A. B. Nestabil'nost' vodno-kislotnykh rastvorov hitozana [Instability of aqueous acid solutions of chitosan]. *Sovremennye perspektivy v issledovanii hitina i hitozana: materialy 7-i mezhdunarod. konf.* [Modern perspectives in the study of chitin and chitosan. Mater. Seventh International. conf.]. Moscow, VNIRO, 2003, pp. 367–371 (in Russian).
16. Kulish E. I., Chernova V. V., Volodina V. P., Kolesov S. V. Possible causes of “inconstancy” in the intrinsic viscosity of chitosan. *Polymer Science, Ser. A*, 2015, vol. 57, no. 5, pp. 508–514.
17. Plisko E. A., Nud'ga L. A., Danilov S. N. Chitin and Its Chemical Transformations. *Russ. Chem. Rev.*, 1977, vol. 46, no. 8, pp. 764–774.
18. Chen R. H., Chang J. R., Shyr J. S. Effects of Ul-trasonic Conditions and Storage in Acidic Solutions on Changes in Molecular Weight and Polydispersity of Treated Chitosan. *Carbohydrate Research*, 1997, vol. 299, no. 4, pp. 287–294.
19. Sklyar A. M., Gamzazade A. I., Rogovina L. Z., Titkova L. V., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V., Slonimskii G. L. Study of rheological properties of dilute and moderately concentrated solutions of chitosan. *Polym. Sci. U.S.S.R.*, 1981, vol. 23, no. 6, pp. 1546–1554.
20. Mironov A. V., Vikhoreva G. A., Kil'deeva, Uspenskii S. A. Reasons for unstable viscous properties of chitosan solutions in acetic acid. *Polymer Science, Ser. B*, 2007, vol. 49, no. 1, pp. 15–17.
21. Kasaai M. R., Arul J., Charlet G. Fragmentation of Chitosan by Acids. *The Scientific World J.*, 2013, Article ID 508540. 11 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/508540>
22. Nud'ga L. A., Boček A. M., Kallistov O. V., Kuchinskij S. A., Petropalovskij G. A. Reologicheskie svoystva i nadmolekulyarnaya organizaciya umerenno koncentrirovannykh rastvorov hitozana v uksusnoj kisloste v zavisimosti ot rN [Rheological properties and supramolecular organization of moderately concentrated solutions of chitosan in acetic acid, depending on pH]. *Rossijskij zhurn. prikl. himii.* [Russ. J. Appl. Chem.], 1993, vol. 66, no. 1, pp. 198–202 (in Russian).
23. Abramov A. Y., Kozyreva E. V., Shipovskaya A. B. Peculiarities of the physicochemical properties of chitosan solutions. *Europ. J. Natural History*, 2013, no. 1, pp. 30–35.
24. Vårum K. M., Ottøy M. H., Smidsrød O. Acid Hydrolysis of Chitosans. *Carbohydrate Polymers*, 2001, vol. 46, no. 1, pp. 89–98.
25. Il'ina A. V., Varlamov V. P. Hydrolysis of Chitosan in Lactic Acid. *Appl. Biochem. Microbiology*, 2004, vol. 40, no. 3, pp. 300–303.



26. Holme H. K., Davidsen L., Kristiansen A., Smidsrod O. Kinetics and Mechanisms of Depolymerization of Alginate and Chitosan in Aqueous Solution. *Carbohydrate Polymers*, 2008, vol. 73, no. 4, pp. 656–664.
27. Gamzazade A. I., Sklyar A. M., Pavlova S.-S. A., Rogozhin S. V. On the viscosity properties of chitosan solutions. *Polym. Sci. U.S.S.R.*, 1981, vol. 23, no. 3, pp. 665–669.
28. Chen R. H., Chen W. Y., Wang S. T., Hsu C. H., Tsai M. L. Changes in the Mark–Houwink hydrodynamic volume of chitosan molecules in solution of different organic acids, at different temperatures and ionic strengths. *Carbohydrate Polymers*, 2009, vol. 78, no. 4, pp. 902–907.
29. Nud'ga L. A., Petrova V. A., Bochek A. M., Kallistov O. V., Petrova S. F., Petropavlovskii G. A. Molecular and Supramolecular Transformations in Solutions of Chitosan and Allylchitosan. *Polymer Science, Ser. B.*, 1997, vol. 39, no. 7–8, pp. 259–263.
30. Jocić D., Juliá M. R., Erra P. The Time Dependence of Chitosan / Nonionic Surfactant Solution Viscosity. *Colloid Polym. Sci.*, 1996, vol. 274, no. 4, pp. 375–383.
31. Sorlier P., Viton C., Domard A. Relation between Solution Properties and Degree of Acetylation of Chitosan: Role of Aging. *Biomacromolecules*, 2002, vol. 3, no. 6, pp. 1336–1342.
32. Bojko I. S., Podkolodnaya O. A., Lysachok S. G., Shmakov S. L. Vyazkostnaya degradaciya kislotnyh rastvorov hitozana i ee izuchenie metodom ionnogo zonda [Viscous Degradation of Acidic Chitosan Solutions and its Ionic Probe Study]. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2015, vol. 15, iss. 4, pp. 21–30 (in Russian).
33. Kramarenko E. Y., Erukhimovich I. Y., Khokhlov A. R. Spinodal stability of a salt polyelectrolyte solution: Effect of formation of ion pairs and multiplets. *Polymer Science, Ser. A*, 2004, vol. 46, no. 9, pp. 974–984.
34. Cerqueira D. A., Filho G. R., Assunção R. M. N. A New Value for the Heat of Fusion of a Perfect Crystal of Cellulose Acetate. *Polym. Bull.*, 2006, vol. 56, no. 4–5, pp. 475–484.
35. Li Q. X., Song B. Z., Vang Z. Q., Fan H. L. Electrolytic conductivity behaviors and solution conformations of chitosan in different acid solutions. *Carbohydrate Polymers*, 2006, vol. 63, no. 2, pp. 272–282.
36. Mikhailov G. P., Tuchkov S. V., Lazarev V. V., Kulish E. I. Complexation of chitosan with acetic acid according to Fourier transform Raman spectroscopy data. *Russ. J. Physical Chem., Ser. A*, 2014, vol. 88, iss. 6, pp. 936–941.
37. Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Timofeeva G. N., Komarov B. A. Effect of molecular mass on the optical activity of chitosan. *Polymer Science, Ser. B*, 2007, vol. 49, no. 11–12, pp. 288–291.
38. Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Rudenko D. A., Malinkina O. N. Optical activity of films based on chitosan of various molecular masses and modifications. *Polymer Science, Ser. A*, 2017, vol. 59, no. 3, pp. 330–341.
39. Koralewski M., Bodek K. H., Marczewska K. *Optical Properties of Chitosan in Aqueous Solution*. *Lodz. Polish Chitin Soc.*, 2006, monograph XI, pp. 29–39.
40. Kramarenko E. Yu. *Teoriya ehffektov, svyazannyh s ionnoj associaciej v poliekhktrolitnyh sistemah* [Theory of effects associated with ionic association in polyelectrolyte systems. Thesis Dis. Doct. Sci. (Phys.-Mat.). Moscow, 2008. 39 p. (in Russian).
41. Volkov E. V., Filippova O. E., Khokhlov A. R. Dual Polyelectrolyte-Ionomer Behavior of Poly(Acrylic Acid) in Methanol: 2. Salt Solutions. *Colloid Journal*, 2004, vol. 66, no. 6, pp. 669–672.
42. Lamargue G., Lucas J.-M., Viton C., Domard A. Physicochemical behavior of homogeneous series of acetylated chitosans in aqueous solution: role of various structural parameters. *Biomacromolec.*, 2005, vol. 6, no. 1, pp. 131–142.
43. Samuels R. J. Solid state characterization of the structure of chitosan films. *J. Polymer Science*, 1981, vol. 19, no. 7, pp. 1081–1105.
44. Fan M., Hu Q., Shen K. Preparation and Structure of Chitosan Soluble in Wide pH Range. *Carbohydrate Polymers*, 2009, vol. 78, no. 1, pp. 66–71.
45. Ageev E. P., Vikhoreva G. A., Zotkin M. A., Matushkina N. N., Gerasimov V. I., Zezin S. B., Obolonkova E. S. Structure and transport behavior of heat-treated chitosan films. *Polymer Science, Ser. A*, 2004, vol. 46, no. 12, pp. 1245–1250.
46. Prashanth K. V. H., Kittur F. S., Tharanathan R. N. Solid State Structure of Chitosan Prepared under Different N-Deacetylating Conditions. *Carbohydrate Polymers*, 2002, vol. 50, no. 1, pp. 27–33.
47. Ogawa K., Yui T., Okuyama K. Three D Structures of chitosan. *J. Biological Macromolecules*, 2004, vol. 34, no. 1–2, pp. 1–8.
48. Dobrovolskaya I. P., Popryadukhin P. V., Dresvyaniina E. N., Yudin V. E., Elokhovskii V. Yu., Saprykina N. N., Khomenko A. Yu., Chvalun S. N., Maslennikova T. P., Korytkova E. N. Structure and characteristics of chitosan-based fibers containing chrysotile and halloysite. *Polymer Science, Ser. A*, 2011, vol. 53, no. 5, pp. 418–423.
49. Chalykh A. E., Petrova T. F., Khasbiullin R. R., Ozerin A. N. Water sorption on and water diffusion in chitin and chitosan. *Polymer Science, Ser. A*, 2014, vol. 56, no. 5, pp. 614–622.
50. Starodoubtsev S. G., Khokhlov A. R., Sokolov E. L., Chu B. Evidence for Polyelectrolyte/Ionomer Behavior in the Collapse of Polycationic Gels. *Macromolecules*, 1995, vol. 28, no. 11, pp. 3930–3936.
51. Smirnov V. A., Philippova O. E., Sukhadolski G. A., Khokhlov A. R. Multiplets in polymer gels. Rare earth metal ions luminescence study. *Macromolecules*, 1998, vol. 31, no. 4, pp. 1162–1167.

Cite this article as:

Fomina V. I., Solonina N. A., Shipovskaya A. B. Ionic Aggregation of Macromolecules as the Cause of the Kinetic (Non)Stability of Physicochemical Properties of Chitosan Solutions. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 22–38 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-22-38>