

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА АСПАРАГИНОВОКИСЛЫХ РАСТВОРОВ ХИТОЗАНА

© Т. Н. Луговицкая, И. В. Зудина, А. Б. Шиповская

Саратовский национальный исследовательский государственный университет
им. Н. Г. Чернышевского,
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83
E-mail: tlugovitskaja@mail.ru

Поступила в Редакцию 4 марта 2019 г.

После доработки 21 мая 2019 г.

Принята к публикации 20 сентября 2019 г.

Обсуждены условия получения растворов хитозана в L-аспарагиновой кислоте: растворение полимера с формированием аспарагината хитозана происходит в диапазоне pH 3.6–3.8 при минимальном стехиометрическом отношении [кислота]/[хитозан(-NH₂)] ~ 0.43. Исследованы гидродинамические, электрохимические, оптические и биологические свойства водных растворов аспарагиновокислой соли хитозана. Установлено, что в водной среде макромолекулы полисоли проявляют свойства полиэлектролита с частично компенсированным зарядом. Рассчитаны константы Хаггинса и температурные коэффициенты вязкости, свидетельствующие о повышенной жесткости макроцепей хитозана в исследуемых растворах и ухудшении взаимодействия полимер–растворитель с повышением температуры. Выделены порошки аспарагината хитозана, имеющие форму пластинчатых микрочастиц с фрактальным упорядочением. Показаны биосовместимость и антибактериальная активность полисоли, позволяющие рекомендовать получение на ее основе медико-биологических препаратов.

Ключевые слова: хитозан; L-аспарагиновая кислота; степень протонирования; растворы; полиэлектролит

DOI: 10.31857/S0044461820010090

Хитозан относится к классу линейных полужесткоцепных полисахаридов сополимерного строения. В связи с его высокой температурой плавления, значительно превышающей температуру термического разложения, исследование свойств и переработку данного полимера в изделия проводят в растворе.

Хитозан растворяется в водно-кислых средах при pH < 5.5–6.0 вследствие протонирования ионогенных аминогрупп с формированием водорастворимых солевых комплексов (полисолей). Для растворения хитозана чаще всего используют водные растворы одноосновных карбоновых кислот — уксусной, муравьиной, реже — минеральной соляной кислоты [1, 2]. Возможно растворение хитозана и в присутствии неперделельных карбоновых кислот — олеиновой, линолевой [3], кислот ароматического ряда — бензойной [4], салициловой [5], а также перспективных в медицинских приложениях биологически активных кислот — аскорбиновой [6, 7], лимонной [8], азелаиновой, янтарной, адипиновой [9], угольной [10].

К последним относится и одна из 20 протеиногенных кислот организма — алифатическая L-аспарагиновая аминокислота (Asp). В водном растворе Asp существует в виде равновесной смеси диполярного иона, катионной и анионной форм. Значения констант диссоциации составляют pK_a 2.1, 3.9 и 9.8 [11].

Природа кислоты оказывает немаловажное влияние как на процесс растворения хитозана в водно-кислотной среде, так и на физико-химические характеристики полисолей и их растворов [12]. Например, в сильной соляной кислоте степень протонирования (α) макромолекул хитозана составляет 90%. В случае использования слабого электролита — уксусной кислоты α = 50–60% [13].

Благодаря наличию двух типов функциональных групп, композиционной неоднородности, возможности формирования внутри- и межмолекулярных водородных контактов, влияющих на конформацию цепи, макромолекулы хитозана характеризуются весьма сложным поведением в растворе [1, 14]. Как полу-

жесткоцепной полимер хитозан имеет высокие значения предельного числа вязкости, константы Хаггинса и температурного коэффициента вязкости [13, 15, 16]. В зависимости от ионной силы среды макромолекулы хитозана могут проявлять полиэлектролитные свойства, в большей степени выраженные в растворах с низкой I . Вследствие малой подвижности поликатиона растворы полисолей хитозана характеризуются пониженной электропроводностью по сравнению с растворами минеральных электролитов [17].

Растворимость в воде воздушно-сухих образцов полисолей хитозана зависит от pK_a кислоты, диэлектрической постоянной растворяющей смеси, а также способа выделения [18]. Так, солевые комплексы хитозана с карбоновыми кислотами и соляной кислотой, выделенные из раствора путем упаривания, водорастворимы, а путем осаждения — избирательно растворимы в воде. Например, солянокислый хитозан, выделенный из водного раствора органическим осадителем (метанол, изопропанол, ацетон, диоксан), сохраняет растворимость в воде, а уксуснокислый — в воде не растворяется.

Природа кислоты влияет также на структуру и свойства получаемых из растворов пленок хитозана солевой формы [19, 20]. Замена противоиона, варьирование физико-химических параметров и внешних условий (температура, скорость испарения растворителя и т. д.) позволяют сформировать как однородные прозрачные, так и композиционные пленки [4, 21]. В отдельных случаях наблюдается образование дендритоподобных структур [4, 22].

Ранее сообщалось о возможности растворения хитозана в водном растворе L -аспарагиновой кислоты с формированием солевого комплекса аспарагината хитозана [23]. Однако процесс растворения хитозана в водной среде в присутствии Asp и свойства получаемых растворов в литературе не описаны. Исследования в данном направлении представляются весьма актуальными, поскольку биологическая активность Asp позволяет рассматривать ее водные растворы как биосовместимую среду для растворения хитозана.

Целью настоящей работы явилось получение раствора аспарагиновокислого хитозана и исследование его гидродинамических, электрохимических, оптических и биологических свойств.

Экспериментальная часть

В качестве исходных реагентов использовали порошкообразный хитозан с молекулярной массой 200 кДа, степенью деацетилирования 82 мол% про-

изводства ЗАО «Биопрогресс» (г. Щелково); Asp производства ЗАО «Биоамид» (г. Саратов) аналитической степени чистоты; дистиллированную воду, дегазированную от CO_2 и O_2 кипячением при 373 К в течение 1 ч; NaCl (х.ч.). Объектами исследования выбраны водные суспензии хитозана, свежеприготовленные водные растворы хитозана в Asp и воздушно-сухие образцы аспарагината хитозана, выделенные из соответствующих растворов.

Суспензии хитозана концентрации $c'_{ХТЗ} = 0.05–0.3$ г·дл⁻¹ готовили по стандартной методике с предварительным набуханием порошка полимера в дистиллированной воде в течение 20 мин при 293 К. Гидромуль суспензий варьировали в интервале 83–500 мл·г⁻¹. Водные растворы Asp концентрации $c_{Asp} = 0.02–0.80$ г·дл⁻¹ готовили согласно методике [23]. Исходный аспарагиновокислый раствор хитозана концентрацией $c_{ХТЗ} = 1.2$ г·дл⁻¹ получали растворением порошков полимера и Asp в дистиллированной воде при перемешивании на магнитной мешалке в течение 2 ч при 293 К. Рабочие растворы $c_{ХТЗ} = 0.04–1.20$ г·дл⁻¹ получали разведением исходного раствора хитозана раствором Asp. Воздушно-сухие образцы аспарагината хитозана выделяли из растворов высушиванием на стеклянной подложке при 293 К.

Водородный показатель (pH) измеряли на pH-метре pH-150 МИ, оптическую плотность (A) — на КФК-3-ЗОМЗ, диапазон длин волн $\lambda = 315–590$ нм. Вязкостные свойства растворов (число вязкости $\eta_{уд}/c_{ХТЗ}$, дл·г⁻¹; предельное число вязкости $[\eta]$, дл·г⁻¹) оценивали в капиллярном вискозиметре Уббелоде с диаметром капилляра 0.56 мм при 298–328 К, электропроводность (κ , См·м⁻¹) определяли на кондуктометре переменного тока Анион 4120, показатель преломления (n_D^{25}) — на рефрактометре RM-40. Ионную силу (I , моль·л⁻¹) рассчитывали по формуле $I = 0.5 \sum c_i Z_i^2$, где c_i — молярная концентрация отдельных ионов, Z_i — заряд иона; мутность (τ , см⁻¹) — по формуле $\tau = 2.3A/l$, где l — длина оптического пути (см); константу Хаггинса (K_X) и температурный коэффициент вязкости ($-\delta_T$, К⁻¹) — согласно [15]; эквивалентную электропроводность (λ , См·моль⁻¹·м²), степень (α' , %) и условную константу диссоциации (K_D) — [24]; степень протонирования (α , %) — [1]. Морфологию воздушно-сухих порошков оценивали на растровом электронном микроскопе РЭМ MIRA II LMU. На образец предварительно напыляли слой золота толщиной 5–10 нм на установке Emitech K 4.

Биосовместимость исследовали *in vitro* на модели клеточной линии человеческих фибробластов.

Во флаконы с питательной средой ДМЕМ вносили аспарагиновокислый раствор хитозана и суспензию фибробластов (300 тыс. клеток на 1 см²). Клетки культивировали в течение 3–4 сут в CO₂-инкубаторе при постоянных температуре (310 К), влажности (90%) и содержании CO₂ (5%). Наблюдение за распластыванием и пролиферацией клеток осуществляли на инвертированном микроскопе Биолам П-3 (ЛОМО, Россия). Питательную среду во флаконах не меняли до окончания срока наблюдения. Антибактериальную активность определяли методом диффузии в агар с суточной культурой референтного штамма *Staphylococcus aureus* 209 P. Использовали агаровую среду для культивирования микроорганизмов и растворы с $c_{\text{ХТЗ}} = 0.04\text{--}1.20 \text{ г}\cdot\text{дл}^{-1}$. В лунки агаровой среды вносили равные аликвоты раствора аспарагиновокислого хитозана разной концентрации, выдерживали 1 ч при комнатной температуре для диффузии полисоли в агар, термостатировали при 310 К в течение 18–20 ч и измеряли зоны задержки роста тест-штамма.

Обсуждение результатов

L-аспарагиновая кислота в отличие от традиционных растворяющих сред хитозана — водных растворов минеральных и одноосновных карбоновых кислот относится к классу аминокислот, что может отразиться и на процессе ее солеобразования с хи-

тозаном. Поэтому на первом этапе целесообразно исследовать процессы растворения полимера.

Растворение хитозана в водной среде в присутствии Asp изучали посредством дробного введения раствора кислоты в суспензию полимера. В одной серии опытов варьировали концентрацию раствора Asp при постоянном гидромодуле суспензий [вода] / [хитозан], в другой — изменяли гидромодуль, а концентрацию Asp задавали постоянной. При этом контролировали изменение кислотности среды и мутности системы (рис. 1). Количественное изменение состава системы выражали массовым соотношением кислота/хитозан.

Добавление в суспензию хитозана первых порций раствора Asp ($m \sim 0.08\text{--}0.13 \text{ г Asp/г ХТЗ}$) сопровождается резким уменьшением pH с 7.3 до 4.7–5.0 и возрастанием мутности системы в степени тем большей, чем выше $c'_{\text{ХТЗ}}$ (рис. 1, область I). Первое является следствием изменения концентрации ионов водорода при добавлении кислоты, второе — увеличения размера частиц дисперсной фазы в силу набухания порошка полимера. Вполне возможно, на этом этапе происходит и частичное протонирование аминогрупп хитозана, но реализуемые значения α еще недостаточны для его растворения. При дальнейшем добавлении Asp и соответственно увеличении соотношения кислота/хитозан уменьшается не только pH, но и τ системы (область II). В совокупности данные результаты свидетельствуют о формировании

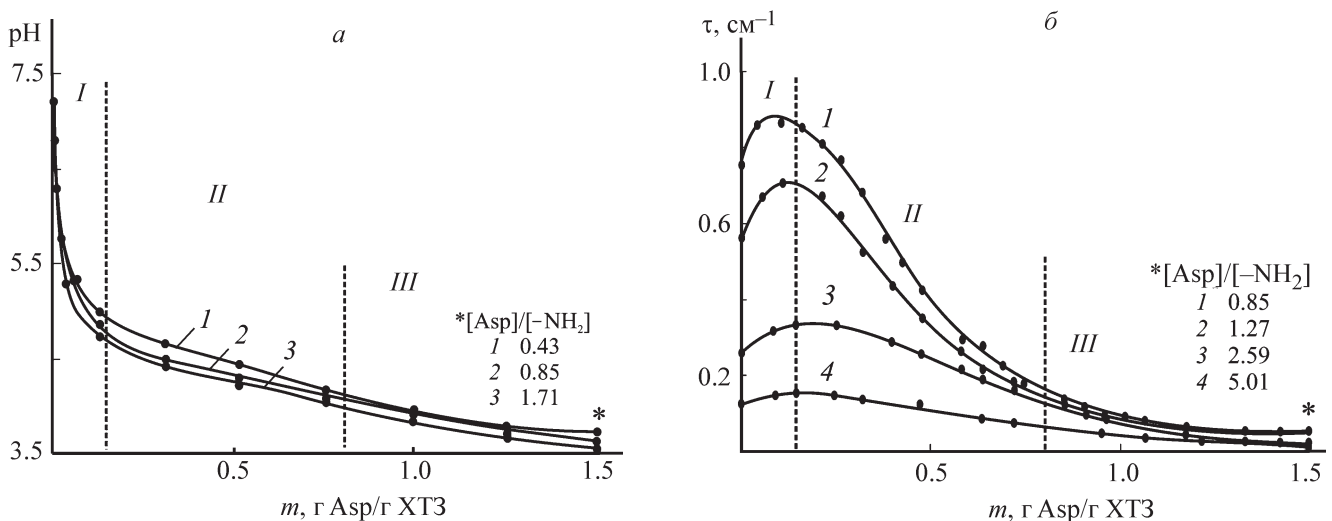


Рис. 1. Зависимость pH (а) и мутности (б) системы хитозан + Asp + H₂O от массового отношения кислота/хитозан при дробном введении раствора Asp в суспензию хитозана.

а — $c'_{\text{ХТЗ}} = 0.3 \text{ г}\cdot\text{дл}^{-1}$, $c_{\text{Asp}} = 0.2$ (1), 0.4 (2) и 0.8 $\text{г}\cdot\text{дл}^{-1}$ (3); б — $c_{\text{Asp}} = 0.4 \text{ г}\cdot\text{дл}^{-1}$, $c'_{\text{ХТЗ}} = 0.3$ (1), 0.2 (2), 0.1 (3) и 0.05 $\text{г}\cdot\text{дл}^{-1}$ (4).

* Мольное отношение $[\text{Asp}]/[-\text{NH}_2]$ (моль/осново-моль) рассчитано с учетом изменения объема системы при добавлении раствора Asp.

протонированной формы хитозана и соответственно ее растворении в водной среде. При таком смещении кислотно-основного равновесия дисперсионная среда обогащается солевыми комплексами хитозана с соответствующими противоионами $\sim\text{NH}_3^+ + +\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$. При $m \sim 0.80-1.25$ г Asp/г ХТЗ значения pH и τ продолжают уменьшаться, но уже не столь интенсивно (область III). Введение более 1.25 г Asp/г ХТЗ приводит к полному растворению полимера. Система становится оптически прозрачной, мутность не превышает 0.03 см^{-1} , а pH достигает значений 3.5–3.8. Наряду с этим в интервале $c_{\text{Asp}} = 0.2-0.4$ и $c_{\text{ХТЗ}} = 0.05-0.30$ г·дл⁻¹ (отмечено *) мольное отношение $[\text{Asp}]/[-\text{NH}_2]$ варьируется в интервале 0.43–5.01. Закономерно, что растворение хитозана интенсифицируется повышением концентрации Asp и гидромодуля суспензий, поскольку повышается мольное отношение $[\text{Asp}]/[-\text{NH}_2]$ и соответственно доля протонированных аминогрупп полимера (табл. 1).

Таким образом, хитозан в водном растворе Asp растворяется при pH 3.5–3.8, минимальном стехиометрическом отношении $[\text{Asp}]/[-\text{NH}_2] \sim 0.43$ (рис. 1) и минимальной степени протонирования $\sim 6.1\%$ (табл. 1). Считается, что хитозан растворяется в водно-кислотной среде при степени протонирования $\geq 50\%$, однако приведенные данные свидетельствуют о возможности образования раствора полимера и при более низком значении α . По-видимому, это связано с природой L-аспарагиновой кислоты, склонной к биполярной ионизации в водной среде в зависимости от pH-раствора.

Таблица 1

Степень протонирования макромолекул хитозана в водном растворе L-аспарагиновой кислоты

$c_{\text{ХТЗ}}$, г·дл ⁻¹	α , %, при c_{Asp} , г·дл ⁻¹	
	0.40	0.80
0.04	46.8	94.8
0.08	23.1	47.4
0.15	12.2	25.1
0.30	6.10	12.2

Данные ИК-спектроскопии подтверждают электростатический характер взаимодействия хитозана с L-аспарагиновой кислотой, приводящего к образованию солевого комплекса в виде аспарагиновокислого хитозана [23].

Изучение гидродинамических свойств водных растворов хитозана в Asp показало, что макромолекулы аспарагината хитозана проявляют свойства полиэлектролита с частично компенсированным зарядом: число вязкости $\eta_{\text{уд}}/c_{\text{ХТЗ}}$ возрастает при понижении $c_{\text{ХТЗ}}$, при этом зависимость $\eta_{\text{уд}}/c_{\text{ХТЗ}} = f(c_{\text{ХТЗ}})$ проходит через максимум и имеет ниспадающую ветвь (рис. 2, а, кривая 1). Вероятно, присутствие свободных ионов Asp [$K_{\text{д}}(I) = 1.29 \cdot 10^{-2}$] вызывает некоторое экранирование заряда поликатиона. Вдобавок макромолекулы полисоли демонстрируют смешанное полиэлектролит-иономерное поведение, когда лишь часть низкомолекулярных противоионов находится в «связанном» состоянии с макроионом. Это явление

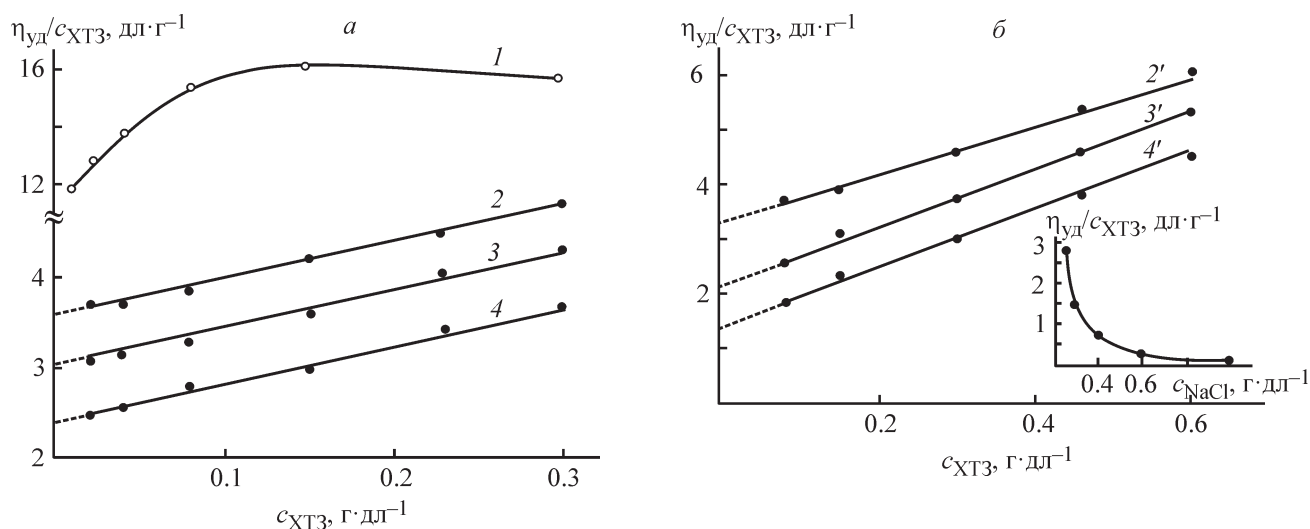


Рис. 2. Концентрационная зависимость числа вязкости водных растворов хитозана в Asp с $c_{\text{Asp}} = 0.4$ (а) и 0.8 г·дл⁻¹ (б) без (1) и с добавлением 0.17 М NaCl (2–4, 2'–4') при 298 (1, 2, 2'), 308 (3, 3') и 328 К (4, 4').

На вставке — зависимость $\eta_{\text{уд}}/c_{\text{ХТЗ}}$ растворов хитозана в Asp от концентрации NaCl, 298 К.

имеет много общего с эффектом формирования «заряженных микроделей» полисахаридов [25].

Добавление низкомолекулярной соли NaCl в раствор аспарагината хитозана приводит к подавлению полиэлектролитного эффекта и компактизации (поджатию) макромолекулярных клубков вплоть до перехода к иономерному состоянию. При концентрации фонового электролита $c_{\text{NaCl}} \geq 0.8 \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$ наблюдается полное подавление полиэлектролитного набухания (рис. 2, б, вставка). Зависимости числа вязкости «нейтрализованных» макромолекул хитозана имеют прямолинейный характер (рис. 2, а, б, кривые 2 и 2'), который не изменяется при повышении температуры (кривые 3, 3', 4, 4').

Величина предельного числа вязкости водно-солевого раствора аспарагината хитозана закономерно уменьшается с увеличением концентрации Asp и температуры (табл. 2), что типично для растворов хитозана с высокой ионной силой [15], а также неионогенных полужесткоцепных природных полисахаридов и их производных. Значения $[\eta]$ растворов хитозана в Asp во всем интервале исследуемых температур достаточно высокие, что обусловлено повышенной жесткостью макроцепей хитозана. Увеличение температуры от 298 до 328 К приводит к возрастанию константы Хаггинса.

Температурный коэффициент предельного числа вязкости растворов характеризуется отрицательными и большими по модулю значениями δ_T (табл. 2). Отрицательный знак температурного коэффициента $[\eta]$ обусловлен уменьшением размеров макромолекулярных клубков при повышении температуры. В совокупности зависимости $[\eta] = f(T)$, $K_X = f(T)$, отрицательный знак δ_T водно-солевых растворов аспарагината хитозана свидетельствуют об ухудшении взаимодействия полимер–растворитель с увеличением температуры.

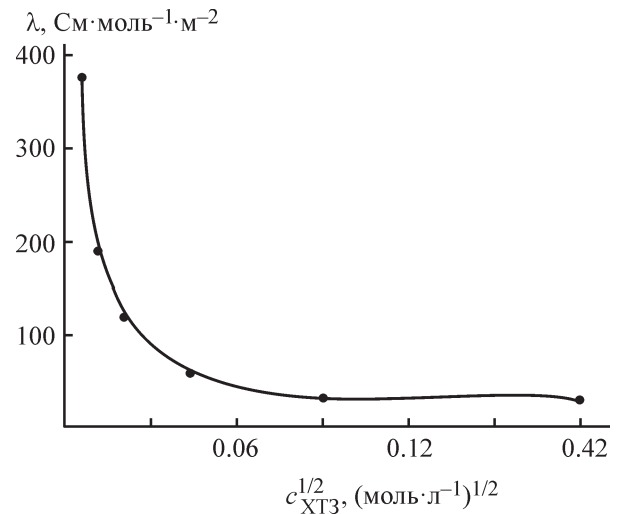


Рис. 3. Зависимость эквивалентной электропроводности аспарагиновокислых растворов хитозана от концентрации полимера, $c_{\text{Asp}} = 0.8 \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$.

Полиэлектролитная природа солевой формы хитозана обуславливает электропроводность его растворов. Концентрационная зависимость эквивалентной электропроводности аспарагиновокислых растворов хитозана в координатах уравнения Кольрауша типична для слабых полиэлектролитов (рис. 3).

Рассчитанные степень и условная константа диссоциации также подтверждают, что исследуемая полимерная соль относится к малодиссоциирующим полиэлектролитам. С повышением концентрации хитозана значения α' и K_d уменьшаются, а показатель преломления, рН и оптическая плотность растворов возрастают (табл. 3).

Морфология порошков исходного хитозана и выделенного из аспарагиновокислого раствора существенно различается (рис. 4). Полисоль характеризуется плотно упакованными микрочастицами в форме

Таблица 2

Гидродинамические параметры макромолекул хитозана в водном растворе L-аспарагиновой кислоты, $I = 0.17 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$

$c_{\text{Asp}}, \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$	Гидродинамический параметр	Температура, К		
		298	308	328
0.4	$[\eta], \text{ дл} \cdot \text{дл}^{-1}$	3.56	3.10	2.40
	K_X	0.32	0.80	1.06
	$\delta_T \cdot 10^{-2}, \text{ К}^{-1}$	-2.1		
0.8	$[\eta], \text{ дл} \cdot \text{дл}^{-1}$	3.35	2.25	1.40
	K_X	0.48	1.13	1.19
	$\delta_T \cdot 10^{-2}, \text{ К}^{-1}$	-2.0		

Таблица 3

Физико-химические характеристики водных растворов хитозана в *L*-аспарагиновой кислоте концентрации $0.8 \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$

$c_{\text{ХТЗ}}, \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$	Степень диссоциации $\alpha', \%$	Константа диссоциации $K_d \cdot 10^3$	Показатель преломления n_D^{25}	рН	Оптическая плотность	
					$\lambda = 364 \text{ нм}$	$\lambda = 400 \text{ нм}$
0.04	60.5	3.29	1.3337	3.17	0.05	0.04
0.08	29.9	0.74	1.3337	3.25	0.08	0.05
0.15	19.3	0.45	1.3339	3.24	0.12	0.06
0.30	9.10	0.19	1.3341	3.30	0.21	0.09
0.60	5.70	0.14	1.3346	3.52	0.42	0.19
1.20	3.40	0.09	1.3357	4.82	0.99	0.45

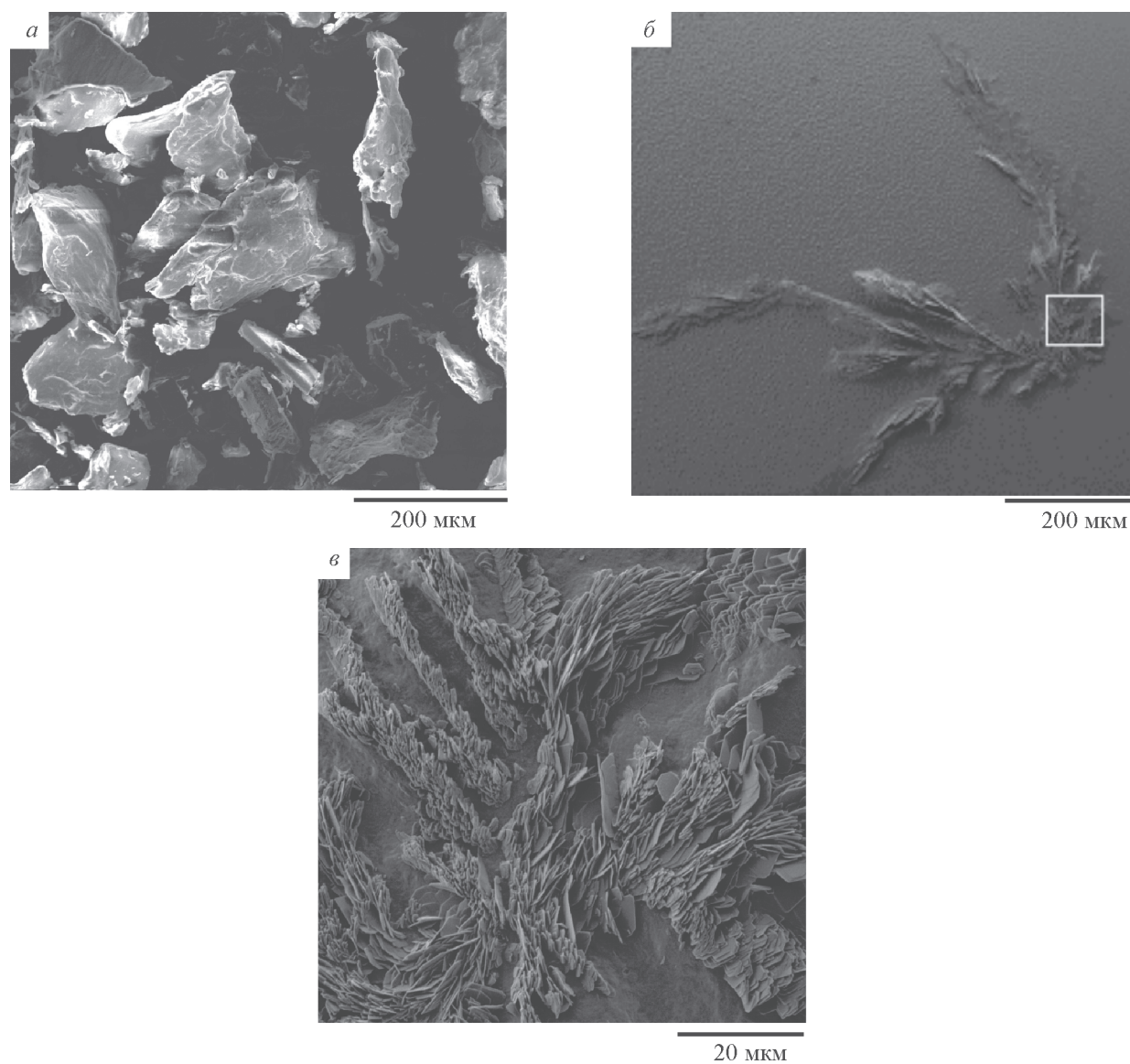


Рис. 4. Изображения воздушно-сухих порошков, полученные с использованием растровой электронной микроскопии: *a* — исходного хитозана; *б*, *в* — аспарагината хитозана, выделенного из раствора состава $c_{\text{ХТЗ}} = 0.6 \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$, $c_{\text{Асп}} = 0.8 \text{ г} \cdot \text{дл}^{-1}$.

a, *б* — обзорный вид; *в* — увеличенный фрагмент участка, отмеченного на рис. 4, *б*.

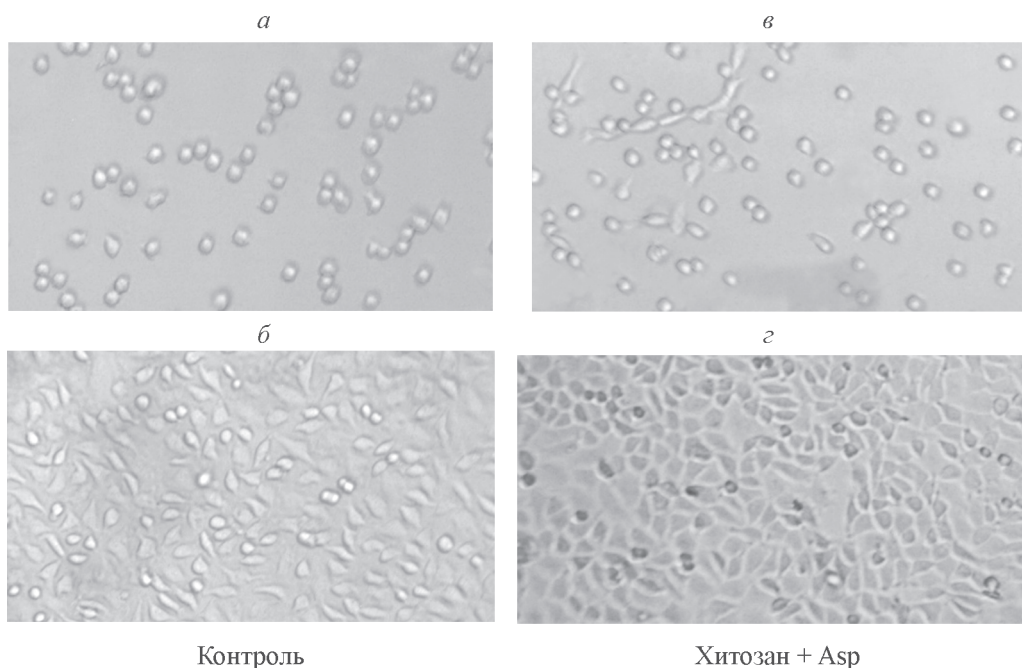


Рис. 5. Фибробласты через 1 (а, в) и 72 ч (б, г) культивирования в отсутствие (контроль) и в присутствии аспарагиновокислого раствора хитозана, увеличение 100.

пластин размером от 45 до 80 мкм. Следует отметить также однородность частиц по толщине, их взаимную ориентацию и фрактальную укладку.

В отдельной серии опытов изучена биосовместимость и антибактериальная активность водных растворов аспарагината хитозана. Установлено, что добавка в питательную среду раствора полисоли положительно влияет на скорость распластывания и пролиферацию человеческих фибробластов (рис. 5). Так, через 1 ч культивирования в среде с добавкой (хитозан + Asp) наблюдалось в 4 раза больше распластных клеток, чем в контроле (рис. 5, а, в). В течение последующих 72 ч в присутствии аспарагината хитозана формирование монослоя клеток шло также более быстрыми темпами (рис. 5, б, г). На четвертые сутки форма и размеры клеток зрелого монослоя соответствовали норме, что свидетельствует о высокой совместимости аспарагиновокислого хитозана с тканями человека и об отсутствии у него цитотоксического действия.

Выявлено, что аспарагиновокислый хитозан проявляет высокую антибактериальную активность в отношении условно-патогенной культуры золотистого стафилококка (рис. 6). Все изученные растворы этой полисоли успешно угнетали рост колоний *Staphylococcus aureus* 209 P. При этом формировались чистые зоны просветления бактериального газона, радиус которых уменьшался по мере снижения концентрации аспарагиновокислого хитозана.

В заключение можно констатировать, что в результате взаимодействия хитозана с Asp в водной среде образуется визуально гомогенный молекулярный раствор соответствующей соли. Значения степени протонирования макромолекул зависят как от концентрации хитозана в системе, так и от концентрации кислоты. Аспарагиновокислый хитозан проявляет в водной среде свойства полужесткоцепного полимера с высокой биологической активностью. Особенность

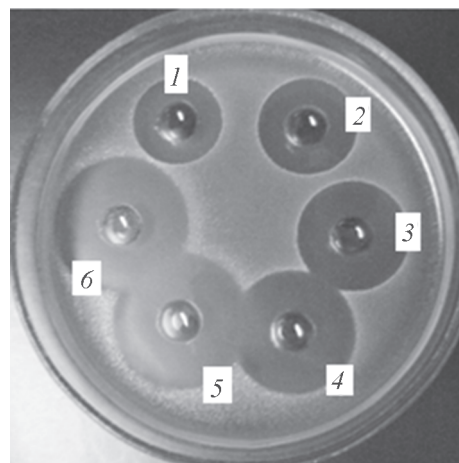


Рис. 6. Зоны угнетения роста колоний референтного штамма *Staphylococcus aureus* 209 P растворами аспарагиновокислого хитозана концентрации 0.04 (1), 0.08 (2), 0.16 (3), 0.32 (4), 0.64 (5) и 1.20 г·дл⁻¹ (6).

морфологии воздушно-сухих порошков полисоли при их выделении из раствора проявляется в локально-направленном формировании пластинчатых ориентированных частиц. Установленные в экспериментах хорошие биологические свойства аспарагиновокислого хитозана позволяют предполагать, что препараты из этой полисоли будут широко востребованы в медицине, в частности, в заместительной терапии для стимуляции ткане- и остеогенеза, а также профилактики развития раневого инфекционного процесса.

Выводы

Хитозан растворяется в водном растворе *L*-аспарагиновой кислоты при pH 3.5–3.8 и минимальном стехиометрическом отношении $[Asp]/[-NH_2] \sim 0.43$. Повышение концентрации Asp и гидромодуля суспензий [вода]/[хитозан] интенсифицирует его растворение. Аспарагиновокислый хитозан в водной среде проявляет свойства полиэлектролита с частично компенсированным зарядом. Увеличение концентрации Asp и температуры приводит к уменьшению гидродинамического размера макромолекул и ухудшению взаимодействия полимер–растворитель. С увеличением концентрации водных растворов хитозана в Asp уменьшаются степень протонирования, степень и константа диссоциации, возрастают показатель преломления, pH и оптическая плотность растворов. Морфология выделенного из раствора аспарагиновокислого хитозана характеризуется плотно упакованными однородными микрочастицами (45–80 мкм), имеющими форму пластин с фрактальной упаковкой. Водные растворы аспарагината хитозана проявляют антибактериальную активность и могут быть использованы для получения перспективных биологически активных препаратов и хитозансодержащих материалов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Луговицкая Татьяна Николаевна, к.т.н., вед. инж.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8286-0711>

Зудина Ирина Витальевна, к.б.н., вед. инж.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0137-7761>

Шиповская Анна Борисовна, д.х.н., проф., ORCID:
<https://orcid.org/0000-0003-1916-4067>

Список литературы

- [1] Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications // *Progress Polym. Sci.* 2006. V. 31. N 7. P. 603–632.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- [2] Михайлов Г. П., Тучков С. В., Лазарев В. В., Кулиш Е. И. Комплексообразование хитозана с уксусной кислотой по данным Фурье-спектроскопии комбинационного рассеяния света // *ЖФХ.* 2014. Т. 88. № 6. С. 973–978. <https://doi.org/10.7868/S0044453714060193> [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. Phys. Chem.* 2014. V. 88. N 6. P. 936–941.
<https://doi.org/10.1134/S0036024414060181>].
- [3] Chaouat C., Balayssac S., Malet-Martino M., Belaubre F., Questel E., Schmitt A. M., Poigny S., Franceschi S., Perez E. Green microparticles based on a chitosan/lactobionic acid/linoleic acid association. Characterisation and evaluation as a new carrier system for cosmetics // *J. Microencapsul.* 2017. V. 34. N 2. P. 162–170. <https://doi.org/10.1080/02652048.2017.1311956>
- [4] Федосеева Е. Н., Федосеев В. Б. Взаимодействие хитозана и бензойной кислоты в растворе и пленках // *Высокомолекуляр. соединения.* 2011. Т. 53А. № 11. С. 1900–1907 [Fedoseeva E. N., Fedoseev V. B. Interaction of chitosan with benzoic acid in solution and films // *Polym. Sci. Ser. A.* 2011. V. 53. N 11. P. 1040–1046. <https://doi.org/10.1134/S0965545X1110004X>].
- [5] Sanli O., Karaca I., Isiklan N. Preparation, characterization, and salicylic acid release behavior of chitosan/poly(vinyl alcohol) blend microspheres // *J. Appl. Polym.* 2009. V. 111. N 6. P. 2731–2740. <https://doi.org/10.1002/app.29319>
- [6] Gegel N. O., Zhuravleva Yu. Yu., Shipovskaya A. B., Malinkina O. N., Zudina I. V. Influence of chitosan ascorbate chirality on the gelation kinetics and properties of silicon-chitosan-containing glycerohydrogels // *Polymers.* 2018. V. 10. N 3. P. 259–275. <https://dx.doi.org/10.3390/polym10030259>.
- [7] Гегель Н. О., Зудина И. В., Малинкина О. Н., Шиповская А. Б. Влияние изомерной формы аскорбиновой кислоты на антибактериальную активность ее солей с хитозаном // *Микробиология.* 2018. Т. 87. № 5. С. 618–623.
<https://doi.org/10.1134/S0026365618050105>
[Gegel N. O., Zudina I. V., Malinkina O. N., Shipovskaya A. B. Effect of ascorbic acid isomeric forms on antibacterial activity of its chitosan salts // *Microbiology.* 2018. V. 8. N 2. P. 732–737. <https://doi.org/10.1134/S0026261718050107>].
- [8] Begin A., Van Calsteren M.-R. Antimicrobial films produced from chitosan // *Int. J. Biological Macromolec.* 1999. V. 26. N 1. P. 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(99\)00064-1](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00064-1)

- [9] *Sedyakina N. E., Zakharov A. N., Krivoshechepov A. F., Pribytkova A. P., Bogdanova Y. A., Feldman N. B., Lutsenko S. V., Avramenko G. V.* Effect of carbon chain length of dicarboxylic acids as cross-linking agents on morphology, encapsulation, and release features of protein-loaded chitosan microparticles // *Colloid Polym. Sci.* 2017. V. 295. N 10. P. 1915–1924. <https://doi.org/10.1007/s00396-017-4171-0>.
- [10] *Чащин И. С., Абрамчук С. С., Никитин Л. Н.* Влияние давления на структуру композитных хитозановых пленок, получаемых из растворов в угольной кислоте // *ДАН.* 2017. Т. 475. № 3. С. 286–290. <https://doi.org/10.7868/S0869565217210113> [*Chashchin I. S., Abramchuk S. S., Nikitin L. N.* Effect of pressure on the structure of composite chitosan films obtained from solutions in carbonic acid // *Dokl. Phys. Chem.* 2017. V. 475. N 1. P. 134–137. <https://doi.org/10.1134/S0012501617070041>].
- [11] *Rafey A., Shrivastava K. B. L., Iqbal S. A., Khan Z.* Growth of Ag-nanoparticles using aspartic acid in aqueous solutions // *J. Colloid Interface Sci.* 2011. V. 354. N 1. P. 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.10.046>
- [12] *Li Q., Song B., Yang Z., Fan H.* Electrolytic conductivity behaviors and solution conformations of chitosan in different acid solutions // *Carbohydrate Polym.* 2006. V. 63. P. 272–282. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.09.024>
- [13] *Кузина Л. Г., Мурзагильдина А. С., Чернова В. В., Кулиш Е. И.* Влияние степени протонирования хитозана на некоторые его свойства // *Вестн. Башкир. ун-та.* 2012. Т. 17. № 2. С. 902–905.
- [14] *Михайлов Г. П., Лазарев В. В.* Оценка энергии внутримолекулярных водородных связей олигомеров // *ЖФХ.* 2016. Т. 90. № 7. С. 1013–1019. <https://doi.org/10.7868/S0044453716070207> [*Mikhailov G. P., Lazarev V. V.* Estimating the energy of intramolecular hydrogen bonds in chitosan oligomers // *Russ. J. Phys. Chem.* 2016. V. 90. N 7. P. 1367–1373. <https://doi.org/10.1134/S0036024416070207>].
- [15] *Кулиш Е. И., Чернова В. В., Володина В. П., Колесов С. В.* О возможных причинах «непостоянства» значений характеристической вязкости хитозана // *Высокомолекуляр. соединения.* 2015. Т. 57А. № 5. С. 390–396. <https://doi.org/10.7868/S2308112015050120> [*Kulish E. I., Chernova V. V., Volodina V. P., Kolesov S. U.* Possible causes of «inconstancy» in the intrinsic viscosity of chitosan // *Polym. Sci. Ser. A.* 2015. V. 57. N 5. P. 508–514. <https://doi.org/10.1134/S0965545X15050120>].
- [16] *Kasaai M. R., Arul J.* Fragmentation of chitosan by acids // *The Scientific World J.* 2013. Article ID 508540. 11 p. <https://doi.org/10.1155/2013/508540>
- [17] *Бобрешова О. В., Бобылкина О. В., Кулинцов П. И., Бобринская Г. А., Варламов В. П., Немцов С. В.* Электропроводность водных растворов низкомолекулярного хитозана // *Электрохимия.* 2004. Т. 40. № 7. С. 793–797 [*Bobreshova O. V., Bobylkina O. V., Kulintsov P. I., Bobrinskaya G. A., Varlamov V. P., Nemtsev S. V.* Conductivity of aqueous solutions of low-molecular chitosan // *Russ. J. Electrochem.* 2004. V. 40. N 7. P. 694–697. <https://doi.org/10.1023/B:RUEL.0000035250.54523.e8>].
- [18] *Васнев В. А., Тарасов А. И., Маркова Г. Д.* Водонерастворимые соли хитозана с карбоновыми кислотами // *Высокомолекуляр. соединения.* 2003. Т. 45Б. № 10. С. 1791–1792 [*Vasnev V. A., Tarasov A. I., Markova G. D.* Water-insoluble chitosan salts with carboxylic acids // *Polym. Sci. Ser. B.* 2003. V. 45. N 9–10. P. 319–320].
- [19] *Агеев Е. П., Вихорева Г. А., Зоткин М. А., Матушкина Н. Н., Герасимов В. И., Зезин С. Б., Оболонкова Е. С.* Структура и транспортные свойства хитозановых пленок, модифицированных термообработкой // *Высокомолекуляр. соединения.* 2004. Т. 46А. № 12. С. 2035–2041 [*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 // *Polym. Sci. Ser. A.* 2004. V. 46. N 12. P. 1245–1250].
- [20] *Касаткина М. А., Буданцева Н. А., Кильдеева Н. Р.* Получение биологически активных пленочных материалов на основе хитозана, модифицированных полифосфатами // *Хим.-фарм. журн.* 2016. Т. 50. № 4. С. 32–39 [*Kasatkina M. A., Kil'deeva N. R., Budantseva N. A.* Preparation of biologically active film-forming materials based on polyphosphate-modified chitosan // *Phartical Chem. J.* 2016. V. 50. N 4. P. 250–257. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1432-z>].
- [21] *Shipovskaya A. B., Rudenko D. A., Fomina V. I., Ostrovsky N. V.* Structure and properties of chitosan-based films for biomedical purposes // *Eur. J. Nat. Hist.* 2012. N 6. P. 7–12.
- [22] *Аксенова Н. А., Тимофеева В. А., Роговина С. З., Тимашев П. С., Глаголев Н. Н., Соловьева А. Б.* Особенности фотокаталитических свойств и структуры порфиринасодержащих систем на основе хитозана // *Высокомолекуляр. соединения.* 2010. Т. 52Б. № 2. С. 314–320 [*Aksenova N. A., Timofeeva V. A., Rogovina S. Z., Timashev P. S., Glagolev N. N., Solov'eva A. B.* Photocatalytic properties and structure of chitosan-based porphyrin-containing systems // *Polym. Sci. Ser. B.* 2010. V. 52. N 1–2. P. 67–72. <https://doi.org/10.1134/S1560090410010100>].
- [23] *Луговицкая Т. Н., Шиповская А. Б.* Физико-химические свойства водных растворов L-аспара-

- гиновой кислоты с добавкой хитозана // ЖОХ. 2017. Т. 87. № 4. С. 650–656 [*Lugovitskaya T. N., Shipovskaya A. B.* Physicochemical properties of aqueous solutions of *L*-aspartic acid containing chitosan // *Russ. J. Gen. Chem.* 2017. V. 87. N 4. P. 782–787. <https://doi.org/10.1134/S1070363217040193>].
- [24] *Гамзададе А. И., Скляр А. М., Рогожин С. В., Павлова С.-С. А.* Некоторые физико-химические свойства растворов хлористоводородной соли хитозана // *Высокомолекуляр. соединения.* 1985. Т. 27А. № 4. С. 857–862 [*Gamzazadea A. I., Sklyar A. M., Rogozhin S. V., Pavlova S.-S. A.* Some physico-chemical properties of solutions of hydrogen-chloride chitosan salts // *Polym. Sci. U.S.S.R.* 1985. V. 27. N 4. P. 936–941. [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(85\)90437-X](https://doi.org/10.1016/0032-3950(85)90437-X)].
- [25] *Rumyantsev A. M., Kramarenko E. Yu.* Two regions of microphase separation in ion-containing polymer solutions // *Soft Matter.* 2017. V. 13. P. 6831–6844. <https://doi.org/10.1039/C7SM01340J>
-