



УДК 547.458:544

Влияние изоформы аскорбиновой кислоты на гидродинамическое поведение макромолекул аскорбата хитозана в водных растворах

О. Н. Малинкина, Н. О. Гегель, А. Б. Шиповская



Малинкина Ольга Николаевна, ассистент кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, инженер отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Olga-Malinkina@yandex.ru

Гегель Наталия Олеговна, кандидат химических наук, руководитель научного проекта, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов); зам. начальника отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, GegelNO@yandex.ru

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, начальник отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ShipovskayaAB@yandex.ru

Методами капиллярной вискозиметрии изучено гидродинамическое поведение макромолекул хитозана в водных растворах диастереомеров аскорбиновой кислоты (АК). Проведено сравнение данных систем с растворами хитозана в традиционных растворяющих средах: соляной и уксусной кислотах, Наацетатном буфере. Построены концентрационные зависимости числа вязкости, определены предельное число вязкости и константа Хаггинса. Установлено ухудшение термодинамического качества водно-кислотной смеси как растворителя хитозана в ряду $\text{HCl} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{COONa} + \text{CH}_3\text{COONa} \rightarrow \text{AK}$, а также с повышением концентрации АК. Обнаружено влияние изомерной формы АК на вискозиметрические параметры, гидродинамический объем макромолекул и проявление ими полиэлектролитных свойств. В водных растворах *L*- и *D*-АК при одинаковом значении рН и ионной силы наиболее разбухшие клубки реализуются в присутствии *L*-АК, с добавкой NaCl – *D*-АК. Методом ИК-спектроскопии доказано формирование солевой формы хитозана при его растворении в АК, установлены различия в строении *L*- и *D*-аскорбата хитозана. СЭМ-микроскопией выявлены особенности морфологии воздушно-сухих порошков солей хитозана и АК: частицы *L*-аскорбата хитозана характеризуются более шероховатой поверхностью и менее однородной текстурной слоистостью в объеме образца по сравнению с *D*-аскорбатом хитозана. Установленные закономерности объясняются с позиции влияния изомерной формы АК на пространственную конфигурацию макромолекул *L*- и *D*-аскорбата хитозана и их гидродинамическую конформацию в водных растворах.

Ключевые слова: хитозан, *L*-(*D*)-аскорбиновая кислота, вискозиметрия, гидродинамические параметры, конформация.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-152-164>

Введение

Известно, что свойства хитозана в растворе определяются прежде всего повышенной жесткостью цепи, обусловленной β-(1,4)-гликозидными связями, наличием ионогенных аминогрупп, способных протонироваться с формированием поликатиона и вызывать полиэлектролитное набухание макроклубка, а также способностью функциональных групп образовывать внутри- и межмолекулярные водородные связи, стабилизирующие конформацию макромолекулы и приводящие к возможной ассоциации макроцепей [1–5]. Все это предопределяет весьма сложное поведение макромолекул хитозана в растворе [1, 3]. Кроме того, физико-химические характеристики полимера (молекулярная масса, степень деацелирования, полидисперсность) [6], природа выбранной кислоты для получения бикомпонентного водно-кислотного растворителя (полярность, структура, размер и функциональность аниона) [7, 8], ионная сила растворяющей смеси и добавка соли-электролита [2, 9] вносят дополнительный вклад в конформацию макромолекул хитозана и, соответственно, в их гидродинамическое поведение в растворе.

Например, авторы [6] на основании экспериментов по светорассеянию показали, что конформация макромолекул хитозана в натрий-ацетатном буфере может изменяться при увеличении молекулярной массы от формы «палочки» до гауссова клубка сравнительно большого размера. В работе [3] установили, что гидрофобные взаимодействия ацетилированных звеньев хитозана в аммониево-ацетатном буфере, т.е. в препятствующих образованию водородных связей условиях, способствуют самоассоциации макроцепей. При этом уменьшение степени деацелирования повышает жесткость макроцепи [5].

Немаловажным является и влияние природы растворяющей среды на вискозиметрические свойства растворов хитозана и конформационное состояние макромолекул. Так, в водно-кислотных растворах полимера при низкой ионной силе наблюдается полиэлектролитный эффект, выражающийся в увеличении числа вязкости при разбавлении вследствие отталкивания положи-



тельно заряженных глюкозаминных звеньев [2]. Увеличение ионной силы водно-кислотной среды, например введением соли или повышением концентрации кислоты, приводит к поджатию клубков в результате экранирования зарядов макроиона низкомолекулярными противоионами [9, 10]. Однако при высоких концентрациях соли-электролита может наблюдаться высаливание с осаждением хитозана из раствора. Ионная сила растворяющей среды определяет и реализуемое значение предельного числа вязкости раствора [11, 12], имеющего физический смысл гидродинамического объема изолированной макромолекулы [1]. Кроме того, на примере растворов хитозана в моно- и многовалентных неорганических и органических кислотах обнаружено, что процессы солеобразования при растворении полимера определяются не только значением pK кислоты, pH и ионной силой растворяющей среды, но и молекулярной структурой и объемом противоиона [7, 8].

Как правило, традиционными растворителями хитозана являются водно-кислотные растворы одноосновных неорганических (соляной) и органических (уксусной, муравьиной и т. п.) кислот [2, 9, 11, 13]. Однако использование водных растворов биологически активных органических кислот, например АК, является перспективным для практических приложений медицины и фармакологии. Так, исследования солевого комплекса аскорбата хитозана показали его специфичную адсорбцию к жирным кислотам [14, 15], селективную цитотоксичность в отношении атипичных клеток [17], высокую хелатирующую способность к тяжелым металлам и радионуклидам [18], противовоспалительную и другую биологическую активность [19–21]. При этом получение аскорбата хитозана в присутствии восстановителя посредством реакции Шиффа понижает антибактериальную активность полисоли за счет уменьшения совокупного заряда макромолекулы [20]. Таким образом, для медико-биологических приложений наиболее перспективно ионное солеобразование посредством донорно-акцепторного взаимодействия протонированных аминогрупп хитозана, ответственных за биологическую активность полимерной системы, с анионом аскорбиновой кислоты.

Вследствие наличия двух асимметричных атомов углерода существует четыре диастереомера АК, из которых коммерчески доступны два – *L*-аскорбиновая и *D*-изоаскорбиновая (эриторбиновая). *D*-изоформа не только отличается от *L*-формы температурой плавления и реакционной способностью, но и является более мощным

усилителем биодоступности железа [22]. Последнее, возможно, реализуется за счет разницы, хотя и не очень существенной, в силе этих кислот: константа диссоциации *L*-аскорбиновой – $pK_{a1} = 4.26$, а *D*-изоаскорбиновой кислоты $pK_{a1} = 4.18$.

Большая часть исследований системы на основе хитозана и аскорбиновой кислоты проведена с *L*-формой кислоты. Возможно, это объясняется классическим представлением о фармакологической активности *L*-изомера АК (витамин С). Между тем в работе [23] показаны различия в реакционной способности *L*- и *D*-АК с хитозаном и параметрах моноклинной ячейки безводных кристаллов *L*- и *D*-аскорбата хитозана. Нами были получены хиральные соли хитозана с *L*- и *D*-аскорбиновой кислотой в виде растворов, порошков и глицерогидрогелей [24–27]. Установлены принципиальные отличия не только в хирооптических характеристиках, но и в биологической активности этих солей. Оказалось, и это было неожиданным, что системы на основе хитозана и *D*-АК проявляют большую антибактериальную, противовоспалительную и ранозаживляющую активность, а также значимо повышают жизнеспособность фибробластов, чем системы на основе этого аминополисахарида и *L*-АК [25, 26].

Обнаруженные отличия могут иметь конформационную природу и нуждаются в дополнительной оценке. Одним из наиболее доступных и информативных методов исследования конформационного состояния полимерных молекул является капиллярная вискозиметрия. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение гидродинамического поведения макромолекул хитозана в водных растворах *L*- и *D*-АК.

Материалы и методы

Использовали образец хитозана (ХТЗ, ЗАО «Биопрогресс», РФ) со средневязкостной молекулярной массой $\bar{M}_\eta = 200$ кДа, степенью деацелирования $CD = 82$ мольн.% и влажностью $W = 8 \pm 1$ мас.%; *L*-АК (ЗАО «Мелиген», РФ); *D*-изоАК (*D*-АК, ЗАО «База химреактивов № 1», РФ); 98%-ную уксусную кислоту (CH_3COOH , ЗАО «База химреактивов № 1», РФ); 36%-ную соляную кислоту (HCl , ООО «НПО «Завод химических реагентов»», РФ); ацетат натрия тригидрат (CH_3COONa , ЗАО «База химреактивов № 1», РФ); хлорид натрия ($NaCl$, ЗАО «База химреактивов № 1», РФ); бидистиллированную воду с $pH = 6.5 \pm 0.5$. Все реактивы имели аналитическую степень чистоты и использовались без дополнительной очистки.



Для растворения ХТЗ использовали водные растворы кислот (далее будем называть их растворяющими смесями): 0.03–0.511 М *L*-(*D*-)АК без и с добавкой 0.005–0.085 М NaCl, 0.33 М CH₃COOH без и с добавкой 0.2 М CH₃COONa (натрий-ацетатный буфер, традиционно используемый для определения \bar{M}_n хитозана [11, 12]) и 0.04 N HCl. Выбор CH₃COOH и HCl обуслов-

лен широким многоплановым исследованием растворов хитозана в данных растворяющих средах [9–13]. В случае с HCl выбор концентрации 0.04 N обусловлен практически полным протонированием аминогрупп макромолекул хитозана. Физико-химические параметры используемых растворяющих смесей приведены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Физико-химические параметры водно-кислотных растворяющих смесей, используемых для приготовления растворов ХТЗ

Physicochemical parameters of aqueous-acidic solvent mixtures used for preparing CS solutions

Водно-кислотная растворяющая смесь / Aqueous-acidic solvent mixture		Физико-химический параметр / Physicochemical parameter	
Вещество / Basis	<i>C</i> , М	pH	n_D^{20}
CH ₃ COOH + CH ₃ COONa CH ₃ COOH HCl	0.33 + 0.2	4.40	1.3362
	0.33	3.10	1.3336
	0.04	1.40	1.3326
<i>D</i> -АК <i>D</i> -AscA	0.51	2.45	1.3470
	0.34	2.52	1.3417
	0.11	2.97	1.3354
	0.06	3.06	1.3340
	0.03	3.15	1.3338
<i>L</i> -АК <i>L</i> -AscA	0.51	2.23	1.3472
	0.34	2.41	1.3418
	0.11	2.63	1.3356
	0.06	2.74	1.3343
	0.03	2.95	1.3340

Ионную силу (*I*, мМ) растворяющей среды рассчитывали по формуле (1):

$$I = 0.5 \sum C_i \cdot Z_i^2, \quad (1)$$

где *C_i* – молярная концентрация отдельных ионов (с учетом константы диссоциации для слабых электролитов), *Z_i* – заряд иона.

Приготовление исходных растворов ХТЗ проводили диспергированием воздушно-сухой навески порошка полимера (с учетом влажности) в расчетном объеме растворяющей смеси на магнитной мешалке в течение 30 мин с последующим выдерживанием в течение 1 сут при 20 ± 2° С до полного растворения полимера. Растворы ХТЗ в *L*-(*D*-)АК готовили в отсутствие естественного освещения. Непосредственно перед измерением растворы фильтровали через фильтр Шотта № 160. Во всех экспериментах использовали свежеприготовленные растворы полимера.

Порошки солей хитозана (ХТЗ · *L*-(*D*-)АК) выделяли из соответствующих свежеприготовленных растворов при эквимольном соотношении ХТЗ : *L*-(*D*-)АК (с учётом СД полимера) на лабораторном лиофилизаторе VirTis 2KBTES-55 (SP Scientific, США) при –55° С и 495–390 м торр в течение 1 сут.

Гравиметрические измерения проводили на аналитических весах «ОНАУС» SC 2020 (ОНАУС, США), точность взвешивания ±0.0001 г. Водородный показатель (pH) измеряли на pH-метре Mettler Toledo Five Easy FE20 pH-meter (MTD, Сингапур). Показатель преломления (n_D^{25}) определяли на рефрактометре Mettler Toledo RM40 (MTD, Сингапур).

Вискозиметрические исследования проводили в вискозиметре Уббелодде с диаметром капилляра 0.56 мм при 25° С. Точность определения времени истечения составляла ±0.1 с. Число вязкости ($\eta_{уд}/C_{II}$, дл/г) рассчитывали по формуле (2):



$$\frac{\eta_{уд}}{C_{II}} = \frac{t - t_0}{t_0} \cdot C_{II}, \quad (2)$$

где t и t_0 – время истечения раствора полимера и растворяющей смеси, с; C_{II} – концентрация раствора полимера, г/дл. В случае наблюдения прямолинейной зависимости $\eta_{уд}/C_{II} = f(C_{II})$ определение предельного числа вязкости ($[\eta]$, дл/г) проводили по уравнению Хаггинса (3) при условии $[\eta] = \lim_{C_{II} \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{уд}}{C_{II}} \right)$, криволинейной – по уравнению Фуосса (4), $[\eta]^{-1} = \lim_{\sqrt{C_{II}} \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{уд}}{C_{II}} \right)^{-1}$ соответственно.

$$\eta_{уд} = [\eta] \cdot C_{II} + k_X \cdot ([\eta] \cdot C_{II})^2, \quad (3)$$

$$\eta_{уд}^{-1} = ([\eta] \cdot C_{II})^{-1} + B \cdot ([\eta] \cdot \sqrt{C_{II}})^{-1}, \quad (4)$$

где k_X и B – константы Хаггинса и Фуосса соответственно.

ИК-спектры регистрировали на ИК-спектрометре Nicolet 6700 FT-IR (Thermo Scientific, США) с разрешением 4 см^{-1} , используя усреднение из 32 сканов в диапазоне $4000 \div 500 \text{ см}^{-1}$ методом НПВО.

СЭМ-изображения получали на сканирующем электронном микроскопе MIRA\LMU (Tescan, Чехия) при напряжении 7 кВ и проводящем токе 400 пА. На образец напыляли слой золота толщиной 5 нм на установке K450X Carbon Coater (Германия).

Результаты и их обсуждение

Растворение хитозана в водно-кислотной среде сопровождается формированием солевой формы этого аминополисахарида. При этом размер макромолекулярного клубка полисоли и гидродинамическое поведение ее макромолекул определяются в первую очередь природой используемой кислоты и ионной силой среды. Поэтому на первом этапе исследовали влияние природы растворяющей смеси, оценивая вискозиметрические параметры макромолекул ХТЗ в водных растворах *L*- и *D*-АК в сравнении с традиционными системами, используемыми для растворения хитозана.

На рис. 1 показаны концентрационные зависимости числа вязкости исследуемых растворов. Видно, что в 0.03 М *L*- и *D*-АК макромолекулы ХТЗ проявляют полиэлектролитные свойства: число вязкости ($\eta_{уд}/C_{II}$) увеличивается при разбавлении раствора (кривые 1–2). Этот эффект объясняется полиэлектролитным набуханием макрокатиона: при разбавлении уменьшается экранирование фиксированных зарядов и возрастает их взаимное отталкивание, что и приводит к увеличению $\eta_{уд}/C_{II}$. В 0.33 М CH_3COOH , 0.04 Н НСl и 0.33 М $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2 \text{ М } \text{CH}_3\text{COONa}$ полиэлектролитный эффект подавлен: зависимость $\eta_{уд}/C_{II} = f(C_{II})$ прямолинейна и аналогична зависимости для незаряженных полимеров (прямые 3–5). Растворы ХТЗ различаются также значениями $\eta_{уд}/C_{II}$ (см. рис. 1) и константы Хаггинса (табл. 2). При этом значения k_X растворов ХТЗ в 0.33 М $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2 \text{ М } \text{CH}_3\text{COONa}$ и НСl согласуются с известными в литературе для растворов других образцов ХТЗ с \bar{M}_n , близкой к используемому в настоящей работе образцу, в тех же растворителях [9, 11].

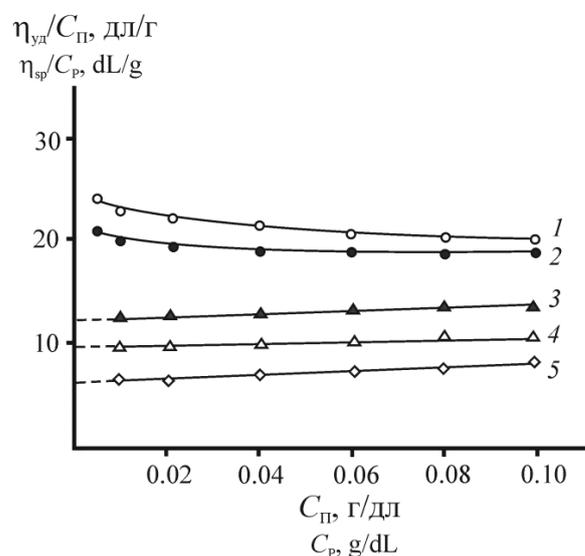


Рис. 1. Концентрационная зависимость числа вязкости растворов ХТЗ в 0.03 М *L*- (1) и *D*-АК (2), 0.33 М CH_3COOH (3), 0.04 Н НСl (4) и 0.33 М $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2 \text{ М } \text{CH}_3\text{COONa}$ (5), 25° С

Fig. 1. Concentration dependence of the viscosity number of CS solutions in 0.03 M *L*- (1) and *D*-AscA (2), 0.33 M CH_3COOH (3), 0.04 N HCl (4) and 0.33 M $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2 \text{ M } \text{CH}_3\text{COONa}$ (5), 25° C

Полученные результаты указывают на различное конформационное поведение макромолекул ХТЗ в данных растворяющих смесях, что подтверждается и значениями предельного числа вязкости $[\eta]$ исследуемых растворов (табл. 2). Как и следовало ожидать, реализуемые значения $[\eta]$ зависят от ионной силы растворяющей среды. При малом значении I вследствие электростатического отталкивания одноименно заряженных звеньев, формируются разбухшие макромолекулярные клубки сравнительно большого размера. При повышении I происходит компактизация



макроклубков, обусловленная экранированием протонированных аминогрупп полимера низкомолекулярными анионами. Такое поведение

согласуется с классическими представлениями об электростатической природе разбухания макромолекул ионогенного полимера [1].

Таблица 2 / Table 2

Влияние ионной силы растворяющей смеси на значение предельного числа вязкости и константы Хаггинса водных растворов ХТЗ
Effect of the ionic strength of the solvent mixture on the intrinsic viscosity and the Huggins constant of aqueous CS solutions

Растворяющая смесь / Solvent mixture	$I, \text{ mM} / I, \text{ mM}$	$[\eta], \text{ дл/г} / [\eta], \text{ dL/g}$	k_X / k_H
0.03 M L-AK / 0.03 M L-AscA	1.6	25.5 ²	–
0.03 M D-AK / 0.03 M D-AscA	1.6	21.6 ²	–
0.33 M CH ₃ COOH	2.4	12.8 ¹	0.09
0.04 N HCl / 0.04 N HCl	35.2	10.0 ¹	0.05
0.33 M CH ₃ COOH + 0.2 M CH ₃ COONa	200.0	6.3 ¹	0.12

Примечание. ^{1, 2} – $[\eta]$ определено по уравнению (3) и (4) соответственно.

Note. ^{1, 2} – $[\eta]$ was calculated by Eq. (3) and (4), respectively.

Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на одинаковые значения I водных растворов изоформ АК, характеризующихся и близкими значениями pK_{a1} , значения $[\eta]$ растворов ХТЗ в L-AK несколько больше, чем в D-AK (см. табл. 2). Это позволяет предположить, что на размеры и, соответственно, гидродинамическое поведение макромолекул ХТЗ в водном растворе L- и D-AK существенное влияние оказывает и пространственная конфигурация противоиона. Для выяснения данного предположения на следующем этапе оценивали влияние ионной силы данной растворяющей смеси, задаваемой варьированием

концентрации L-(D)-АК, на вискозиметрические параметры макромолекул.

Оказалось, что концентрационные зависимости числа вязкости растворов ХТЗ в L- и D-AK концентрации $C_{AK} = 0.03–0.51$ М существенно различаются (рис. 2). Так, во всем исследуемом диапазоне концентраций L-AK проявляется ярко выраженный эффект полиэлектролитного набухания макромолекул (см. рис. 2, а). В случае растворов ХТЗ в D-AK данный эффект наблюдается только при концентрации кислоты 0.03 М (см. рис. 2, б, кривая 1). При $C_{D-AK} = 0.06–0.11$ М наблюдается поведение, характерное для макро-

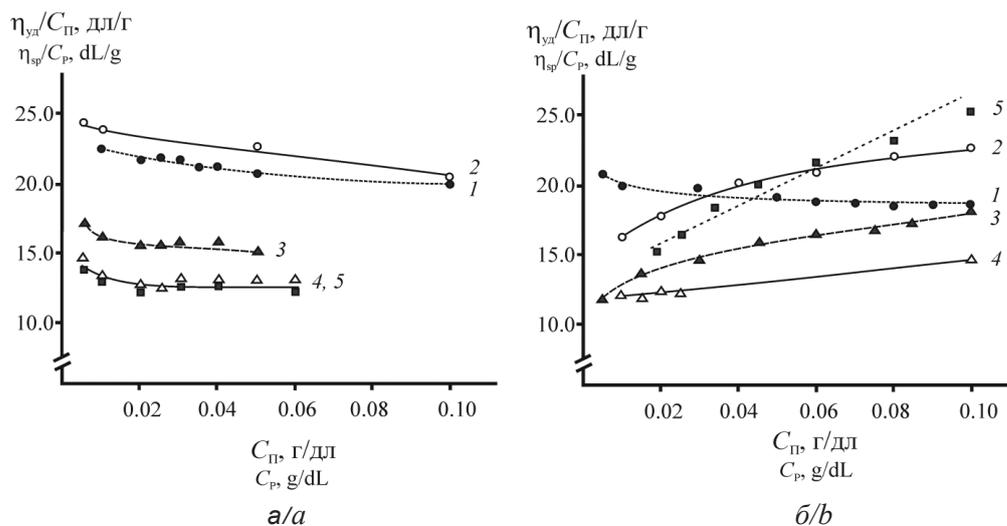


Рис. 2. Концентрационная зависимость числа вязкости растворов ХТЗ в L- (а) и D-AK (б) с концентрацией АК 0.03 (1), 0.06 (2), 0.11 (3), 0.34 (4) и 0.51 М (5), 25° С

Fig. 2. Concentration dependence of the viscosity number of CS solutions in L- (a) and D-AscA (b) with the AscA concentration 0.03 (1), 0.06 (2), 0.11 (3), 0.34 (4) and 0.51 M (5), 25° С



ионов с частичной компенсацией заряда (см. рис. 2, б, кривые 2, 3), когда создаваемое низкомолекулярными противоионами значение ионной силы растворяющей смеси недостаточно для полной нейтрализации совокупного заряда макромолекулы [1, 28]. В растворе ХТЗ с $C_{D-АК} = 0.34-0.51$ М заряд макрокатиона, по-видимому, практически скомпенсирован и зависимость $\eta_{уд}/C_{П} = f(C_{П})$ прямолинейна (см. рис. 2, б, прямые 4, 5). Обращает на себя внимание то, что при прочих равных условиях значения $\eta_{уд}/C_{П}$ растворов ХТЗ в L-АК практически во всех случаях выше, чем в D-АК. В наибольшей степени эти различия проявляются в растворах ХТЗ малой концентрации, $C_{П} < 0.04-0.05$ г/дл.

Предельное число вязкости водных растворов ХТЗ в L- и D-АК закономерно уменьшается с увеличением концентрации кислоты и, соответственно, ионной силы среды (рис. 3, а, табл. 3). При $C_{АК} > \sim 0.2 - 0.3$ М масштаб уменьшения $[\eta] = f(C_{АК})$ существенно понижается и в диапазоне 0.34–0.51 М D-АК ($I = 5.2-6.4$ мМ) размеры макромолекулярных клубков близки к реализуемым в 0.33 М CH_3COOH ($I = 2.4$ мМ, см. табл. 2). Значения $[\eta]$, как и значения $\eta_{уд}/C_{П}$, растворов ХТЗ в L-АК выше, чем в D-АК.

На примере растворов хитозана в D-АК установлено практически трехкратное увеличение константы Хаггинса с повышением концентрации кислоты (см. табл. 3), что может свидетельствовать об ухудшении термодинамического качества данной водно-кислотной растворяющей смеси с повышением ее ионной силы. Константу k_X растворов хитозана в L-АК определить не удалось. Тем не менее аналогичное поведение должно выполняться и для данной системы, но, вероятно, при более высоких $C_{АК}$.

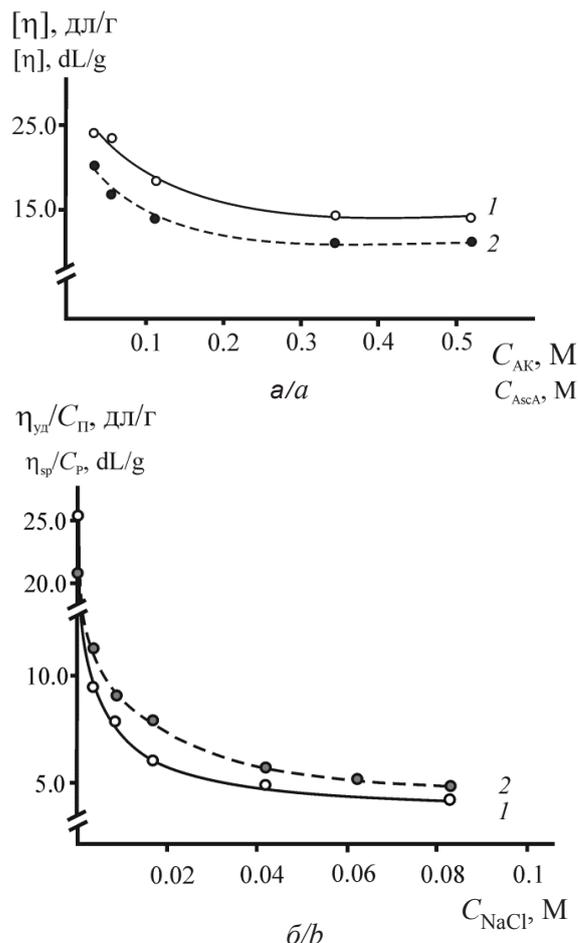


Рис. 3. Зависимости: а – предельного числа вязкости растворов ХТЗ в L- (1) и D-АК (2) от концентрации АК; б – числа вязкости 0.01 г/дл раствора ХТЗ в 0.03 М L- (1) и D-АК (2) от концентрации NaCl; 25° С

Fig. 3. Dependence of: a – the intrinsic viscosity of the CS solution in L- (1) and D-AscA (2) on the AscA concentration; b – the viscosity number of the 0.01 g/dL CS solution in 0.034 M D- (1) and L-AscA (2) on the NaCl concentration; 25° C

Таблица 3 / Table 3

Влияние концентрации и ионной силы водных растворов АК на значения предельного числа вязкости и константы Хаггинса растворов ХТЗ в L- и D-АК
Effect of the concentration and ionic strength of AscA on the intrinsic viscosity and the Huggins constant of CS solutions in L- and D-AscA

Концентрация АК, М / AscA concentration, M	I, мМ I, mM	[η], дл/г ([η], dL/g)		k_X (k_H)	
		L-АК L-AscA	D-АК D-AscA	L-АК L-AscA	D-АК D-AscA
0.03	1.6	25.5 ²	21.6 ²	–	–
0.06	2.1	24.0 ²	16.5 ¹	–	0.25
0.11	3.0	18.5 ²	13.0 ¹	–	0.37
0.34	5.2	14.4 ²	11.6 ¹	–	0.22
0.51	6.4	13.3 ²	11.5 ¹	–	0.63

Примечание. ^{1,2} – [η] определено по уравнению (3) и (4) соответственно.
 Note. ^{1,2} – [η] was calculated by Eq. (3) and (4), respectively.



Обращает на себя внимание то, что значения k_X растворов ХТЗ в АК существенно выше реализуемых в традиционных растворяющих смесях (см. табл. 2 и 3). Сопоставление значений k_X обнаруживает ухудшение термодинамического качества используемых в работе растворителей ХТЗ в ряду $\text{HCl} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{COONa} \rightarrow \text{AK}$.

Таким образом, обнаруженные особенности гидродинамического поведения макромолекул ХТЗ в водных растворах *L*- и *D*-АК разной концентрации указывают на различия не только в размере макроклабков, но и в их совокупном объеме заряда. Нейтрализация макрокатиона реализуется при разных концентрациях *L*- и *D*-АК. Кроме того, энергетика растворения хитозана в *L*- и *D*-АК также различна.

На следующем этапе исследовали вискозиметрические параметры макромолекул *L*- и *D*-аскорбата ХТЗ в условиях частичного или полного подавления полиэлектролитного набухания клубков при варьировании ионной силы введением низкомолекулярной соли NaCl (см. рис. 3, б). Выбор для проведения данного исследования $C_{\text{II}}=0.01$ г/дл и $C_{\text{AK}}=0.03$ М обусловлен максимально реализуемыми в принятых условиях эксперимента различиями в значениях $\eta_{\text{уд}}/C_{\text{II}}$ растворов ХТЗ в *L*-(*D*-)АК (см. рис. 2) и гидродинамического объема макромолекулы (см. табл. 3) при наименьшем значении *I*.

Характер концентрационной зависимости числа вязкости при варьировании C_{NaCl} подобен зависимости $[\eta]=f(C_{\text{AK}})$ (см. рис. 3). В обоих случаях повышение ионной силы среды приводит к поджатию макромолекулярных клубков. Как и следовало ожидать, в отличие от повышения

ионной силы варьированием C_{AK} , увеличение *I* введением NaCl понижает $\eta_{\text{уд}}/C_{\text{II}}$ в большей степени. В диапазоне $C_{\text{NaCl}} \approx 0.04 - 0.08$ М значения числа вязкости растворов ХТЗ в *L*-(*D*-)АК сопоставимы с таковыми в натрий-ацетатном буфере (см. рис. 1, прямая 5), а также с таковыми для полужесткоцепных неионогенных полисахаридов, например эфиров целлюлозы [29]. Стало быть, при высокой концентрации соли происходит экранирование заряда поликатиона и гидродинамическое поведение аналогично незаряженным полимерным цепям. При $C_{\text{NaCl}} > \sim 0.09$ М происходит высаливание и фазовое разделение полимерной системы. Кроме того, как и в случае $[\eta]=f(C_{\text{AK}})$, зависимость $\eta_{\text{уд}}/C_{\text{II}}=f(C_{\text{NaCl}})$ показывает влияние изомерной формы *L*- и *D*-АК на показатели вязкости. Однако, в отличие от водно-кислотных растворов (см. рис. 2), в случае с водно-кислотно-солевыми значениями $\eta_{\text{уд}}/C_{\text{II}}$ выше для ХТЗ в *D*-АК (см. рис. 3, б).

В совокупности полученные результаты показывают существенное влияние геометрии противоиона на гидродинамическое поведение макромолекул аскорбата хитозана в водной среде. Известно, что диастереомеры АК (раствор, кристалл) различаются характером меж- и внутримолекулярного взаимодействия. Так, для *L*-АК предпочтительно образование межмолекулярных контактов, а для *D*-АК – внутримолекулярных водородных связей между гидроксогруппами при C3 и C5 (рис. 4) [30]. Это приводит к различиям в температуре плавления диастереомеров *L*- и *D*-АК, их растворимости в воде [30], а также энергетике взаимодействия с ХТЗ при солеобразовании [31], что неизбежно должно отразиться на пространственном строении полисолей ХТЗ · *L*-(*D*-)АК.

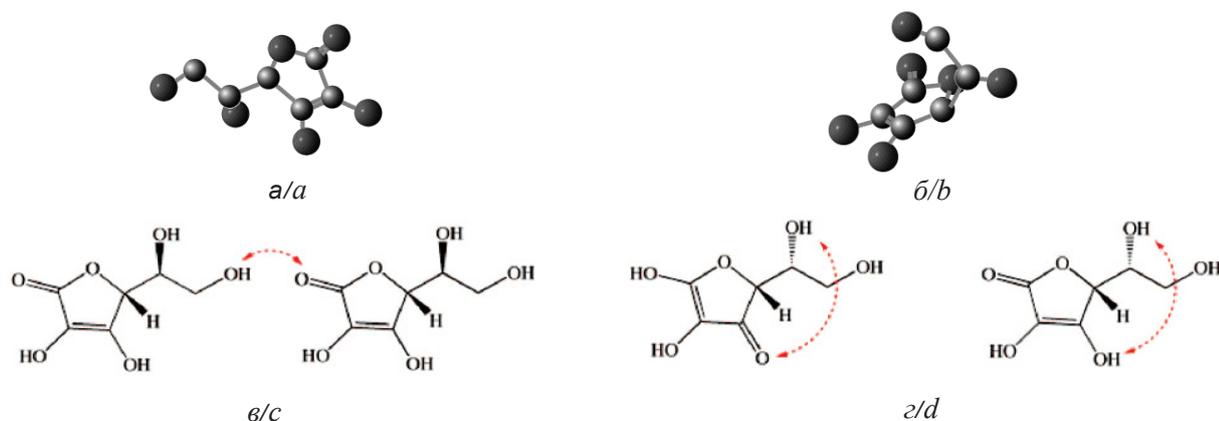


Рис. 4. Изображение пространственной структуры молекул *L*- (а) и *D*-АК (б). Меж- и внутримолекулярные взаимодействия (красные пунктирные стрелки) в диастереомерах *L*- (в) и *D*-АК (г) [30]

Fig. 4. The image of the spatial structure of molecules *L*- (a) and *D*-Ascorbic Acid (b). Inter- and intramolecular interactions (red dotted arrows) in *L*- (c) and *D*-Ascorbic Acid (d) diastereomers [30]



На рис. 5 представлены ИК-спектры порошков ХТЗ · *L*-(*D*-)АК и исходных компонентов. ИК-спектр ХТЗ (см. рис. 5, а, кривая 1) показывает все характеристические частоты колебаний –NH₂ (1315 см⁻¹, Амид III; 759 см⁻¹), –OH (1249 и 1416 см⁻¹), –NHCO– групп (1638 см⁻¹, Амид I) и глюкопиранозного кольца (1149–1033 см⁻¹) [1, 20, 32]. В ИК-спектрах ХТЗ · *L*-(*D*-)АК появляется характерная для деформационных колебаний протонированных аминогрупп –NH₃⁺ полоса при 1537 см⁻¹ (Амид II) [33]. Особенностью ХТЗ · *D*-АК является уширение и увеличение интенсивности полосы валентных колебаний

групп >N–H и –O–H в области 3550–3400 см⁻¹ по сравнению с ХТЗ (см. рис. 5, а, кривая 3), а в случае ХТЗ·*L*-АК – сужение и уменьшение ее интенсивности (см. рис. 5, а, кривая 2). Кроме того, в отличие от ХТЗ·*D*-АК, для ХТЗ·*L*-АК наблюдаются сдвиги полос поглощения Амид I и >C=O кислотного остатка в область низких частот. Это согласуется с ИК-спектрами индивидуальных диастереомеров *L*- и *D*-АК, отличающихся отсутствием полосы поглощения группы –OH при C-3 для *D*-АК, вовлеченных в образование внутримолекулярных водородных связей C-3···C-5 (см. рис. 5, б) [34, 35].

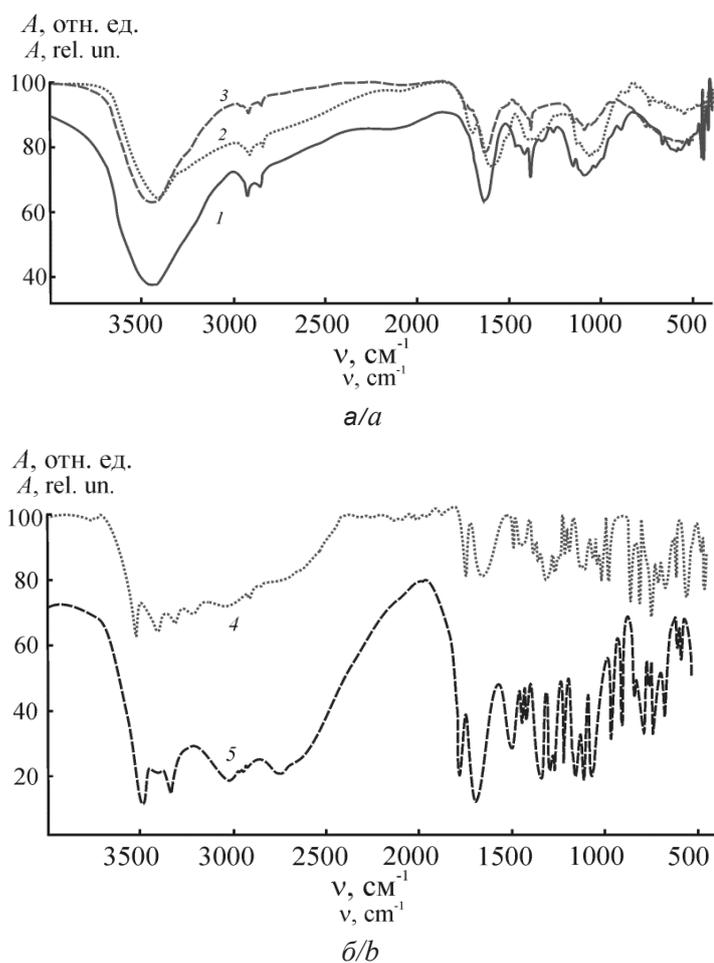


Рис. 5. ИК-спектры: а – ХТЗ (1), ХТЗ·*L*-АК (2), ХТЗ·*D*-АК (3); б – *L*-АК (4) и *D*-АК (5)
 Fig. 5. IR spectra: а – CS (1), CS·*L*-AscA (2), CS·*D*-AscA (3); б – *L*-AscA (4) and *D*-AscA (5)

Таким образом, ИК-спектроскопия не только подтверждает солеобразование при растворении ХТЗ в АК, но и выявляет отличительные особенности *L*- и *D*-аскорбатов хитозана. Исходя из полученных результатов представляется возможным объяснить специфику гидродинамиче-

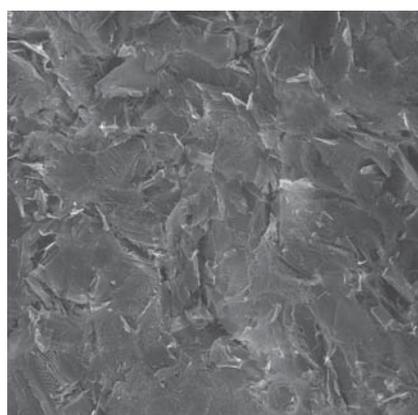
ского поведения макромолекул ХТЗ в водных растворах *L*-(*D*-)АК (см. рис. 2 и 3). В воднокислотной среде гидродинамический объем макромолекулярного клубка аскорбата хитозана в большей степени определяется способностью диастереоизомера к образованию меж-



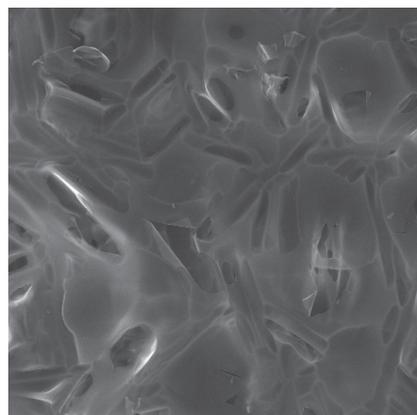
или внутримолекулярных Н-связей (*D*-АК). В водно-кислотно-солевой среде пространственная конфигурация *D*-АК в составе полисоли создает стерические затруднения при компактизации и, как следствие, приводит к реализации больших по размеру макромолекулярных клубков.

Различия в пространственной структуре полисолей ХТЗ · *L*-(*D*-)АК проявляются и в

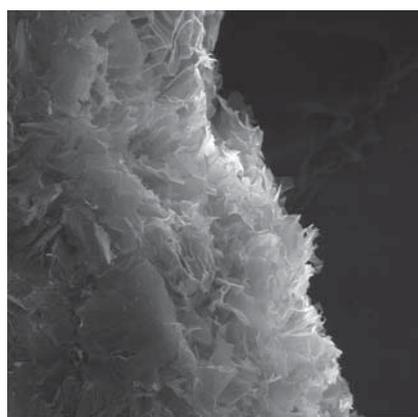
морфологии их воздушно-сухих образцов. Несмотря на то что обе полисоли характеризуются сложным поверхностным рельефом и слоистой укладкой надмолекулярных элементов полимерной матрицы в объеме образца, частицы порошка ХТЗ · *L*-АК имеют более шероховатую поверхность и менее однородную текстурную слоистость в сравнении с ХТЗ · *D*-АК (рис. 6).



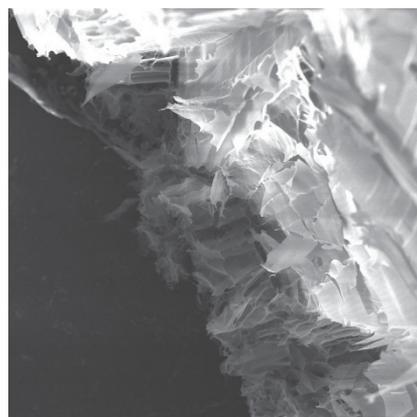
a/a



e/c



b/b



d/d

Рис. 6. СЭМ-изображения морфологии поверхности (*a*, *e*) и излома (*b*, *d*) частиц воздушно-сухих порошков ХТЗ · *L*-АК (*a*, *b*) и ХТЗ · *D*-АК (*e*, *d*)

Fig. 6. SEM images of the surface morphology (*a*, *c*) and fracture (*b*, *d*) of air-dry particles of CS · *L*-AscA (*a*, *b*) and CS · *D*-AscA (*c*, *d*)

Заключение

Исследование водных растворов хитозана в *L*- и *D*-АК разной концентрации без и с добавкой NaCl (соли-электролита нейтрального типа) показало существенные различия в гидродинамическом поведении макромолекул. В зависимости от концентрации АК и ионной силы среды растворы ХТЗ проявляют полиэлектролитные свойства с реализацией максимально разбухшего поликатиона либо с частично компенсированным

зарядом, а также показывают характерную для макромолекул ионогенного полимера с практически полностью экранированным зарядом прямолинейную концентрационную зависимость числа вязкости. При этом при прочих равных условиях существенное влияние на конформационное состояние макроцепей оказывает и изомерная форма противоиона. Так, значения рН водных растворов *L*- и *D*-АК различаются не существенно, а ионной силы – одинаковые. Тем



не менее во всем исследуемом диапазоне концентраций *L*-АК хитозан проявляет эффект полиэлектролитного набухания макромолекулярного клубка и характеризуется большими размерами макромолекул в сравнении с *D*-АК. В случае с водно-кислотно-солевой смесью наибольший гидродинамический объем «нейтрализованного» макромолекулярного клубка реализуется в растворах *D*-АК. Обнаруженные особенности гидродинамических свойств обусловлены пространственной конфигурацией *L*- и *D*-АК в составе полисоли. Кроме того, стереоизомерия кислотного остатка отражается и на надмолекулярном упорядочении воздушно-сухих порошков *L*- и *D*-аскорбата хитозана. Установленные различия в вискозиметрических параметрах и, соответственно, в конформационных особенностях могут явиться основой для понимания высокой биологической активности соли гидрохлорида хитозана и *D*-аскорбиновой кислоты.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-73-10076 «Хиральные полимерные матрицы: получение, физико-химические свойства, взаимодействие с биообъектами»).

Список литературы

1. *Rinaudo M.* Physicochemical behaviour of semi-rigid biopolymers in aqueous medium // *Food Hydrocolloids*. 2017. Vol. 68. P. 122–127. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.09.015
2. *Cho J., Heuzy M. C., Bégin A., Carreau P. J.* Viscoelastic properties of chitosan solutions: Effect of concentration and ionic strength // *J. Food Eng.* 2006. Vol. 74, № 4. P. 500–515. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.01.047
3. *Schatz C., Viton C., Delair T., Pichot C., Domard A.* Typical physicochemical behaviors of chitosan in aqueous solution // *Biomacromol.* 2003. Vol. 4, № 3. P. 641–648. DOI: 10.1021/bm025724c
4. *Anthonsen M. W., Varum K. M., Smidsrod O.* Solution properties of chitosans: conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation // *Carbohydr. Polym.* 1993. Vol. 22, № 3. P. 193–201. DOI: 10.1016/0144-8617(93)90140-Y
5. *Desbrieves J.* Viscosity of semiflexible chitosan solution: Influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions // *Biomacromol.* 2002. Vol. 3, № 2. P. 342–349. DOI: 10.1021/bm010151+
6. *Berth G., Dautzenberg H., Peter M. G.* Physico-chemical characterization of chitosans varying in degree of acetylation // *Carbohydr. Polym.* 1998. Vol. 36, № 2–3. P. 205–216. DOI: 10.1016/S0144-8617(98)00029-0
7. *Hamdine M., Heuzy M. C., Bégin A.* Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels // *Intern. J. Biol. Macromol.* 2005. Vol. 37, № 3. P. 134–142. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2005.09.009
8. *Shamov M. V., Bratskaya S. Y., Avramenko V. A.* Interaction of carboxylic acids with chitosan: effect of pK and hydrocarbon chain length // *J. Colloid Interface Sci.* 2002. Vol. 249. P. 316–321. DOI: 10.1006/jcis.2002.8248
9. *Costa C. N., Teixeira V. G., Delpech M. C., Souza J. V. S., Costa M. A.* Viscometric study of chitosan solutions in acetic acid/sodium acetate and acetic acid/sodium chloride // *Carbohydr. Polym.* 2015. Vol. 133. P. 245–250. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.06.094
10. *Eich A., Wolf B. A.* Intrinsic viscosities of polyelectrolytes: determination and modeling of the effects of extra salt // *ChemPhysChem.* 2011. Vol. 12, № 15. P. 2786–2790. DOI: 10.1002/cphc.201100439
11. *Колсанова Е. В., Орозалиев Э. Э., Шиповская А. Б.* Вискозиметрические свойства растворов хитозана в уксусной кислоте и натрий-ацетатном буфере // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2014. Т. 14, вып. 2. С. 5–9.
12. *Kasaai M. R.* Calculation of Mark – Houwink – Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data // *Carbohydr. Polym.* 2007. Vol. 68, № 3. P. 477–488. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.11.006
13. *Кулиш Е. И., Туктарова И. Ф., Чернова В. В., Абзалдинов Х. С., Заиков Г. Е.* Метод вискозиметрии как способ оценки конформационного состояния хитозана в растворе // *Вестник Казан. технол. ун-та.* 2013. № 14. С. 140–143.
14. *Osman M., Fayed S. A., Ghada I. M., Romeilah R. M.* Protective effects of chitosan, ascorbic acid and gymnema sylvestre against hypercholesterolemia in male rats // *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2010. Vol. 4, № 1. P. 89–98.
15. *Kanauchi O., Deuchi K., Imasato Y., Kobayashi E.* Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1994. Vol. 58, № 9. P. 1617–1620. DOI: 10.1271/bbb.58.1617
16. *Tsujikawa T., Kanauchi O., Andoh A., Saotome T., Sasaki M., Fujiyama Y., Bamba T.* Supplement of a chitosan and ascorbic acid mixture for Crohn’s disease // *Nutrition.* 2003. Vol. 19, № 2. P. 137–139. DOI: 10.1016/S0899-9007(02)00958-9
17. *Rajendran K., Vallinayagam S., Deepak V., Mahadevan S.* Synthesis and characterization of chitosan ascorbate nanoparticles for therapeutic inhibition for cervical cancer and their *in silico* modeling // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2018. Vol. 62. P. 239–249. DOI: 10.1016/j.jiec.2018.01.001
18. *Muzzarelli R. A. A.* Removal of uranium from solutions and brines by a derivative of ascorbic acid and chitosan // *Carbohydr. Polym.* 1985. Vol. 5, № 2. P. 85–89. DOI: 10.1016/0144-8617(85)90026-8
19. *Yanagiguchi K.* Wound healing following direct pulp capping with chitosan-ascorbic acid complex in rat incisors // *Korean Chitin Chitosan Journal.* 2000. Vol. 5, № 3. P. 182–182.



20. Hafsa J., Charfeddine B., Smach M. A., Limem K., Majdoub H., Sonia R. Synthesis, characterization, antioxidant and antibacterial properties of chitosan ascorbate // Intern. J. Pharm. Chem. Biol. Sci. 2014. Vol. 4, № 4. P. 1072–1081.
21. Muzzarelli R., Biagini G., Pugnali A., Filippini O., Baldassarre V., Castaldini C., Rizzoli C. Reconstruction of parodontal tissue with chitosan // Biomaterials. 1989. Vol. 10, № 9. P. 598–603. DOI: 10.1016/0142-9612(89)90113-0
22. Fidler M. C., Davidsson L., Zeder C., Hurrell R. F. Erythorbic acid is a potent enhancer of nonheme-iron absorption // Am. J. Clin. Nutr. 2004. Vol. 79, № 1. P. 99–102. DOI: 10.1093/ajcn/79.1.99
23. Ogawa K., Nakata K., Yamamoto A., Nitta Y., Yui T. X-ray study of chitosan L- and D-ascorbates // Chem. Mater. 1996. Vol. 8. P. 2349–2351. DOI: 10.1021/cm9601751
24. Шиповская А. Б., Зудина И. В., Фомина В. И., Малинкина О. Н. Новые антимицробные препараты на основе комплексных солей хитозана с хиральным органическим лигандом // Бутлеровские сообщения. 2015. Т. 41, № 3. С. 82–94.
25. 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. Vol. 10, № 3. P. 259. DOI: 10.3390/polym10030259
26. 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. DOI: 10.1134/S0026261718050107
27. Журавлева Ю. Ю., Малинкина О. Н., Гегель Н. О., Голядкина А. А., Шиповская А. Б. Физико-механические свойства кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелевых пластинок на основе L- и D-аскорбата хитозана // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 154–162. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-154-162
28. Луговицкая Т. Н., Шиповская А. Б. Физико-химические свойства водных растворов L-аспарагиновой кислоты с добавкой хитозана // Журнал общей химии. 2017. Т. 87, № 4. С. 650–656. DOI: 10.1134/S1070363217040193
29. Шиповская А. Б., Щеголев С. Ю. Фазовый анализ и оптическая активность систем эфир целлюлозы – мезофазогенный растворитель. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2014. 266 с.
30. Ambrosi M., Nostro P. L., Fratini E., Giustini L., Ninham B. W., Baglioni P. Effect of headgroup chirality in nanoassemblies. Part 1. Self-assembly of D-isoascorbic acid derivatives in water // J. Phys. Chem. B. 2009. Vol. 113, № 5. P. 1404–1412. DOI: 10.1021/jp8092644
31. Горячева В. А., Шиповская А. Б. Калориметрическое исследование растворения хитозана в водных растворах L- и D-аскорбиновой кислоты // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии : сб. науч. тр. XII Всерос. конф. молодых ученых с междунар. участием 2017. Саратов : Саратовский источник, 2017. С. 130–132.
32. Малинкина О. Н., Провозина А. А., Шиповская А. Б. Оценка химического взаимодействия гидрохлорида хитозана с аскорбиновой кислотой методами ИК- и ЯМР-спектроскопии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14, вып. 3. С. 20–27.
33. Singh J., Dutta P. K. Spectroscopic and conformational study of chitosan acid salts // J. Polym. Res. 2009. Vol. 16. P. 231–238. DOI: 10.1007/s10965-008-9221-3
34. Yadav R. A., Rani P., Kumar M., Singh R., Singh P., Singh N. P. Experimental IR and Raman spectra and quantum chemical studies of molecular structures, conformers and vibrational characteristics of L-ascorbic acid and its anion and cation // Spectrochim. Acta A. 2011. Vol. 84, № 1. P. 6–21. DOI: 10.1016/j.saa.2011.07.043
35. Dolle C., Magrone P., Riva S., Ambrosi M., Fratini E., Peruzzi N., Nostro P. L. Symmetric and asymmetric bolaamphiphiles from ascorbic acid // J. Phys. Chem. B. 2011. Vol. 115, № 40. P. 11638–11649. DOI: 10.1021/jp204920y

Образец для цитирования:

Малинкина О. Н., Гегель Н. О., Шиповская А. Б. Влияние изоформы аскорбиновой кислоты на гидродинамическое поведение макромолекул аскорбата хитозана в водных растворах // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 2. С. 152–164. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-152-164>

Influence of Ascorbic Acid Isoforms on the Hydrodynamic Behavior of Chitosan Ascorbate Macromolecules in Aqueous Solution

O. N. Malinkina, N. O. Gegel, A. B. Shipovskaya

Olga N. Malinkina, <https://orcid.org/0000-0002-4912-1036>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, Olga-Malinkina@yandex.ru

Natalia O. Gegel, <https://orcid.org/0000-0001-5724-7571>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia;

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 49 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia, GegelNO@yandex.ru

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

The hydrodynamic behavior of chitosan macromolecules in aqueous solutions of ascorbic acid (AsCA) diastereomers was studied by means of capillary viscometry. A comparison of these systems with chitosan solutions in such traditional solvent media as hydrochloric and acetic



acids, Na-acetate buffer was made. Concentration dependencies of the specific viscosity were plotted, and the intrinsic viscosity and the Huggins constant were evaluated. The deterioration of the thermodynamic quality of the water–acid mixture as a solvent for chitosan in the $\text{HCl} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa} \rightarrow \text{AscA}$ row and with an increase in the AscA concentration was established. The effect of the isomeric form of AscA on the viscometric parameters, the hydrodynamic volume of macromolecules and the manifestation of their polyelectrolyte properties was found. In aqueous solutions of *L*- and *D*-AscA with the same values of pH and ionic strength, the most swollen coils exist in the presence of *L*-AscA and in *D*-AscA if NaCl added. The formation of the salt form of chitosan when dissolved in AscA was proven using IR spectroscopy, differences in the structures of chitosan *L*- and *D*-ascorbate were established. SEM revealed features of the morphology of air-dry powders of chitosan–AscA salts, namely: particles of chitosan *L*-ascorbate are characterized by a rougher surface and less uniform texture of layers in the sample bulk as compared to chitosan *D*-ascorbate. The regularities established are explained the influence of the isomeric AscA form on the spatial configuration of the macromolecules of chitosan *L*- and *D*-ascorbate and their hydrodynamic conformation in aqueous solutions.

Keywords: chitosan, *L*-(*D*)-ascorbic acid, viscosimetry, hydrodynamic parameters, conformation.

Acknowledgements: *This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 17-73-10076 “Chiral polymeric matrices: preparation, physicochemical properties, interaction with bioobjects”).*

References

- Rinaudo M. Physicochemical behaviour of semi-rigid biopolymers in aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, 2017, vol. 68, pp. 122–127. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.09.015
- Cho J., Heuzy M. C., Bégin A., Carreau P. J. Viscoelastic properties of chitosan solutions: Effect of concentration and ionic strength. *J. Food Eng.*, 2006, vol. 74, no. 4, pp. 500–515. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.01.047
- Schatz C., Viton C., Delair T., Pichot C., Domard A. Typical physicochemical behaviors of chitosan in aqueous solution. *Biomacromol.* 2003, vol. 4, no. 3, pp. 641–648. DOI: 10.1021/bm025724c
- Anthonsen M. W., Varum K. M., Smidsrod O. Solution properties of chitosans: conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation. *Carbohydr. Polym.*, 1993, vol. 22, no. 3, pp. 193–201. DOI: 10.1016/0144-8617(93)90140-Y
- Desbrie' res J. Viscosity of semiflexible chitosan solution: Influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions. *Biomacromol.*, 2002, vol. 3, no. 2, pp. 342–349. DOI: 10.1021/bm010151+
- Berth G., Dautzenberg H., Peter M. G. Physico-chemical characterization of chitosans varying in degree of acetylation. *Carbohydr. Polym.*, 1998, vol. 36, no. 2–3, pp. 205–216. DOI: 10.1016/S0144-8617(98)00029-0
- Hamdine M., Heuzy M. C., Bégin A. Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels. *Intern. J. Biol. Macromol.*, 2005, vol. 37, no. 3, pp. 134–142. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2005.09.009
- Shamov M. V., Bratskaya S. Y., Avramenko V. A. Interaction of carboxylic acids with chitosan: effect of pK and hydrocarbon chain length. *J. Colloid Interface Sci.*, 2002, vol. 249, pp. 316–321. DOI: 10.1006/jcis.2002.8248
- Costa C. N., Teixeira V. G., Delpech M. C., Souza J. V. S., Costa M. A. Viscometric study of chitosan solutions in acetic acid/sodium acetate and acetic acid/sodium chloride. *Carbohydr. Polym.*, 2015, vol. 133, pp. 245–250. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.06.094
- Eich A., Wolf B. A. Intrinsic viscosities of polyelectrolytes: determination and modeling of the effects of extra salt. *ChemPhysChem.*, 2011, vol. 12, no. 15, pp. 2786–2790. DOI: 10.1002/cphc.201100439
- Kolsanova E. V., Orozaliev E. E., Shipovskaya A. B. Viscosity properties of chitosan solutions in acetic acid and sodium acetate buffer. *Izv. Saratov Univ. (N. S.). Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2014, vol. 14, iss. 2, pp. 5–9 (in Russian).
- Kasaai M. R. Calculation of Mark – Houwink – Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydr. Polym.*, 2007, vol. 68, no. 3, pp. 477–488. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.11.006
- Kulish E. I., Tuktarova I. F., Chernova V. V., Abzal'dinov H. S., Zaikov G. E. Metod viskozimetrii kak sposob ocenki konformacionnogo sostoyaniya hitozana v rastvore [Viscometry method as a way to assess the information state of chitosan in solution]. *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta*, 2013, no. 14, pp. 140–143 (in Russian).
- Osman M., Fayed S. A., Ghada I. M., Romeilah R. M. Protective effects of chitosan, ascorbic acid and gymnema sylvestre against hypercholesterolemia in male rats. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 2010, vol. 4, no. 1, pp. 89–98.
- Kanauchi O., Deuchi K., Imasato Y., Kobayashi E. Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1994, vol. 58, no. 9, pp. 1617–1620. DOI: 10.1271/bbb.58.1617
- Tsujikawa T., Kanauchi O., Andoh A., Saotome T., Sasaki M., Fujiyama Y., Bamba T. Supplement of a chitosan and ascorbic acid mixture for Crohn's disease. *Nutrition*, 2003, vol. 19, no. 2, pp. 137–139. DOI: 10.1016/S0899-9007(02)00958-9
- Rajendran K., Vallinayagam S., Deepak V., Mahadevan S. Synthesis and characterization of chitosan ascorbate nanoparticles for therapeutic inhibition for cervical cancer and their in silico modeling. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2018, vol. 62, pp. 239–249. DOI: 10.1016/j.jiec.2018.01.001
- Muzzarelli R. A. A. Removal of uranium from solutions and brines by a derivative of ascorbic acid and chitosan. *Carbohydr. Polym.*, 1985, vol. 5, no. 2, pp. 85–89. DOI: 10.1016/0144-8617(85)90026-8
- Yanagiguchi K. Wound healing following direct pulp capping with chitosan-ascorbic acid complex in rat incisors. *Korean Chitin Chitosan Journal*, 2000, vol. 5, no. 3, pp. 182–182.



20. Hafsa J., Charfeddine B., Smach M. A., Limem K., Majdoub H., Sonia R. Synthesis, characterization, antioxidant and antibacterial properties of chitosan ascorbate. *Intern. J. Pharm. Chem. Biol. Sci.*, 2014, vol. 4, no. 4, pp. 1072–1081.
21. Muzzarelli R., Biagini G., Pugnali A., Filippini O., Baldassarre V., Castaldini C., Rizzoli C. Reconstruction of parodontal tissue with chitosan. *Biomaterials.*, 1989, vol. 10, no. 9, pp. 598–603. DOI: 10.1016/0142-9612(89)90113-0
22. Fidler M. C., Davidsson L., Zeder C., Hurrell R. F. Erythorbic acid is a potent enhancer of nonheme-iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, vol. 79, no. 1, pp. 99–102. DOI: 10.1093/ajcn/79.1.99
23. Ogawa K., Nakata K., Yamamoto A., Nitta Y., Yui T. X-ray study of chitosan *L*- and *D*-ascorbates. *Chem. Mater.*, 1996, vol. 8, pp. 2349–2351. DOI: 10.1021/cm9601751
24. Shipovskaya A. B., Zudina I. V., Fomina V. I., Malinkina O. N. Novel antimicrobial drugs based on complex chitosan salts with chiral organic ligands. *Butlerov Commun.*, 2015, vol. 41, no. 3, pp. 82–94 (in Russian).
25. 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, vol. 10, no. 3, pp. 259. DOI: 10.3390/polym10030259
26. 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, vol. 87, no. 5, pp. 732–737. DOI: 10.1134/S0026261718050107
27. Zhuravleva Yu. Yu., Malinkina O. N., Gegel N. O., Golyadkina A. A., Shipovskaya A. B. Physico-mechanical Properties of Silicon-chitosan-containing Glycerohydrogels Plates Based on Chitosan *L*- and *D*-ascorbates. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 154–162 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-154-162
28. Lugovitskaya T. N., Shipovskaya A. B. Physicochemical properties of aqueous solutions of L-aspartic acid containing chitosan. *Russian Journal of General Chemistry*, 2017, vol. 87, no. 4, pp. 782–787. DOI: 10.1134/S1070363217040193
29. Shipovskaya A. B., Shchegolev S. Yu. *Fazovyj analiz i opticheskaya aktivnost' sistem efir cellyulozy – mezofazogennyj rastvoritel'* [Phase analysis and optical activity of cellulose ether systems – mesophasogenic solvent]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2014. 266 p. (in Russian).
30. Ambrosi M., Nostro P. L., Fratini E., Giustini L., Ningham B. W., Baglioni P. Effect of headgroup chirality in nanoassemblies. Part 1. Self-assembly of D-isoascorbic acid derivatives in water. *J. Phys. Chem. B.*, 2009, vol. 113, no. 5, pp. 1404–1412. DOI: 10.1021/jp8092644
31. Goryacheva V. A., Shipovskaya A. B. *Kalorimetricheskoe issledovanie rastvoreniya hitozana v vodnykh rastvorah L- i D-askorbinovoy kisloty* [Calorimetric study of the dissolution of chitosan in aqueous solutions of L- and D- ascorbic acid]. *Sovremennye problemy teoreticheskoy i eksperimental'noy himii: sb. nauch. tr. XII Vseros. konf. mol. uch. s mezhdunarod. uch. 2017*, Saratov, Saratovskiy Istochnik Publ., 2017, pp. 130–132 (in Russian).
32. Malinkina O. N., Provozina A. A., Shipovskaya A. B. Evaluation of the chemical interaction between chitosan hydrochloride and ascorbic acid by IR and NMR spectroscopy. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2014, vol. 14, iss. 3, pp. 20–27 (in Russian).
33. Singh J., Dutta P. K. Spectroscopic and conformational study of chitosan acid salts. *J. Polym. Res.*, 2009, vol. 16, pp. 231–238. DOI: 10.1007/s10965-008-9221-3
34. Yadav R. A., Rani P., Kumar M., Singh R., Singh P., Singh N. P. Experimental IR and Raman spectra and quantum chemical studies of molecular structures, conformers and vibrational characteristics of L-ascorbic acid and its anion and cation. *Spectrochim. Acta A*, 2011, vol. 84, no. 1, pp. 6–21. DOI: 10.1016/j.saa.2011.07.043
35. Dolle C., Magrone P., Riva S., Ambrosi M., Fratini E., Peruzzi N., Nostro P. L. Symmetric and asymmetric bolaamphiphiles from ascorbic acid. *J. Phys. Chem. B.*, 2011, vol. 115, no. 40, pp. 11638–11649. DOI: 10.1021/jp204920y

Cite this article as:

Malinkina O. N., Gegel N. O., Shipovskaya A. B. Influence of Ascorbic Acid Isoforms on the Hydrodynamic Behavior of Chitosan Ascorbate Macromolecules in Aqueous Solution. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 2, pp. 152–164 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-152-164>