

УДК66:594.31

Солодовнік Т.В., Куриленко Ю.М., Омельчук С.В. (Україна, Черкаси)

ВИКОРИСТАННЯ ІНСТРУМЕНТАЛЬНИХ МЕТОДІВ АНАЛІЗУ ДЛЯ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ХІТОЗАНУ

Останнім часом багато уваги приділяється дослідженню хітину та його похідних. Така увага пояснюється унікальними властивостями даного природного біополімеру: нетоксичність, біосумісність, висока сорбційна здатність до іонів важких металів та селективність до іонів лужних та лужноземельних металів. Хітин другий після целюлози за поширенням в природі біополімер, який добувається із повністю відновлюваної природної сировини. Хітин входить в склад опорних тканин і зовнішнього скелету членистоногих (ракоподібні, павукоподібні), комах, а також є структурною складовою оболонки клітин мікроорганізмів і грибів, де хітин знаходиться в комплексі з білками і мінеральними солями. Хітин – лінійний полісахарид, нерозгалужений ланцюг якого складається з елементарних ланок 2-ацетамід-2-дезоксид-Д-глюкози, зв'язаних 1,4-β-глюкозидними зв'язками. (див. рис.1):

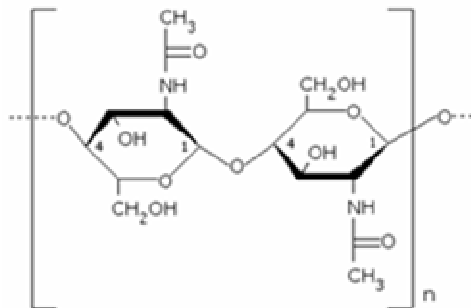


Рисунок 1 – Структурна формула хітину

Хітин практично не розчиняється в більшості розчинників і це значно обмежує його практичне застосування. Більш широко застосовують деацетилюване похідне хітину – хітозан. В основі одержання хітозану лежить реакція деацетилювання, тобто реакція відщеплення ацетильних груп (-COCH₃) хітину при дії на нього концентрованої розчину NaOH в умовах високих температур (80-120°C) (див. рис.2а):

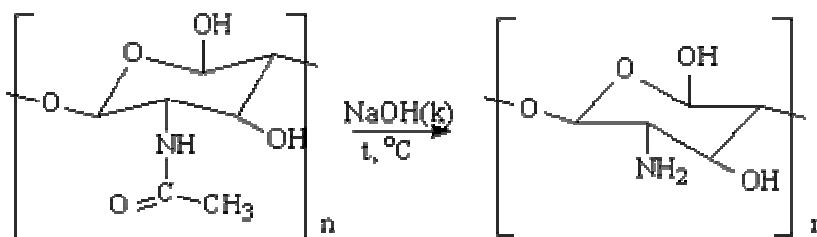


Рисунок.2 – Реакція деацетилювання

Реакційна здатність та розчинність хітозану обумовлені наявністю реакційно активних аміногруп (-NH₂) в його структурі. Функціональна аміногрупа надає хітозану хелатних, диспергуючих, коагуляційних властивостей, що було попередньо доведено теоретичними дослідженнями геометрії та електронної структури мономеру хітозану D-глюкозаміну напівемпіричними методами квантової хімії та методом функціоналу густини B3LYP в базисі 6-31G** [1].

В залежності від умов проведення реакції деацетилювання (t°C, концентрація NaOH), одержаний хітозан характеризується ступенем деацетилювання (СД) в межах від 2 до 96%. СД є важливою якісною характеристикою хітозану, яка відображає процентний вміст аміногруп в молекулі хітозану та розраховується як відношення кількості аміногруп до загальної кількості мономерів в

ланцюзі хітозану. До безпосередніх переваг хітозану відноситься його безпечність для людини і навколишнього середовища. В природних умовах він повністю розкладається.

Найбільш доступними для промислового освоєння і масштабного джерела отримання хітину та хітозану є панцирі промислових ракоподібних, кальмарів, біомаси міцеліальних і вищих грибів [2, 3]. Також альтернативним джерелом хітину є комахи (тутовий шовкопряд, медоносні бджоли, кімнатні мухи), за рахунок швидкого розведення яких, можна забезпечити значну кількість хітинвмісної біомаси [4].

Попит на хітин та його похідні постійно зростає у всіх сферах народного господарства. Разом з тим, спостерігається зменшення видобутку панцирів крабів – основного джерела отримання хітину, підвищення кількості важких і радіоактивних металів в ракоподібній сировині, збільшення вартості хітину. Тому залишається актуальним питанням пошуку доступних і дешевих джерел одержання хітину та модифікації методик виділення хітину та хітозану.

На даний час на кафедрі загальної хімії Черкаського державного технологічного університету проводиться апробація методик одержання хітину та хітозану з панцирів ракоподібних, підмору бджіл, комах. Хітин з річкових раків був одержаний нами за узагальненою та вдосконаленою методикою, яка включає механічне подрібнення панцирів, обробку хлоридною кислотою з концентрацією 5%, ретельне промивання водою з подальшою обробкою концентрованим розчином луку впродовж 2-х годин. Хітин з підмору бджіл та комах добували обробкою вихідної сировини 2н. розчином хлоридної кислоти, ретельним промиванням водою та подальшою обробкою 5% розчином NaOH. Для одержання хітозану використовували дві методики та хітин добутий з ракоподібної сировини. За першою методикою вихідний хітин витримували при температурі 130°C в розчині NaOH (концентрацією 50%) впродовж 5 – 135 хвилин, а за другою методикою хітин настоювали при кімнатній температурі в 50% розчині NaOH від 5 – 15 діб [5]. Оцінку якості одержаного хітозану проводили за ступенем деацетилювання.

На сьогоднішній день для визначення СД використовують різні методики, які ґрунтуються на фотоколориметричних та кондуктометричних дослідженнях, а також широко застосовують інфрачервону спектроскопію [6]. Актуально стоїть питання розробки спрощених та доступних методик оцінки якості хітозанвмісних продуктів та якісного і кількісного визначення хітозану в багатокомпонентних системах.

В ході наших досліджень для визначення вмісту хітозану в досліджуваних об'єктах використовувався фотоколориметричний метод, який ґрунтується на взаємодії аміногруп хітозану з барвником нінгідрином. Зміна оптичної густини забарвленого розчину дає можливість визначити за калібрувальним графіком кількість хітозану в пробі. Для побудови калібрувальної прямої в координатах оптична густина-маса хітозану готували розчини вихідного стандартизованого хітозану з СД=80% на оцтовій кислоті з додаванням фосфатної буферної суміші та нінгідрину. Оптичну густина визначали на КФК-2 при довжині хвилі 400 нм., оскільки при аналізі проб з різним вмістом хітозану оптимальний максимум поглинання забарвленої сполуки знаходиться при даній довжині хвилі.

Ступень деацетилювання розраховували за формулою:

$$СД = \frac{m_x}{m \times 10^3} \times 100\%, \quad (1)$$

де m_x – маса хітозану за калібрувальним графіком, г; m – маса наважки хітозану, мг.

Одержані результати розрахунків показують, що при обробці вихідного хітину з ракоподібної сировини кип'ятінням в концентрованому розчині NaOH можливе одержання хітозану зі СД від 6 – 8,1%, а настоювання в розчині NaOH дає можливість отримати значення СД від 2 – 4%.

В ході обробки одержаних результатів експериментальної частини нашої роботи, використовувалась спеціально розроблена для виконання даної серії розрахунків комп'ютерна програма. Принцип роботи її полягає в веденні користувачем вихідних даних (СД вихідного стандартизованого хітозану, маса хітозану в стандартних розчинах (мг) та кількість мономерів в ланцюзі хітозану) та одержанні значення СД для досліджуваного об'єкту, на основі якого програма буде ланцюг хітозану та виводить його зображення на екран.

Нами встановлено, що застосування фотоколориметричного методу для визначення СД хітин- та хітозанвмісних сполук дозволяє доволі точно та з гарною відтворюваністю одержувати значення СД для хітозану з різних природних об'єктів (бджоли, гриби, комахи, панцирі ракоподібних). В подальшому планується проведення фотоколориметричного дослідження та визначення хітозану в

складних сумішах з білками, жирами та в композиційних сумішах з іншими полісахаридами. Також, на нашу думку, актуальним питанням є застосування кондуктометричного методу для визначення СД хітин- та хітозанвмісних об'єктів та проведення порівняльного аналізу одержаних результатів експериментальних досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Р.Ю. Бараков, Т.В. Солодовнік, Б.П. Мінаєв, В.О.Мінаєва. Комп'ютерне моделювання геометрії і електронної структури глюкозаміну та глюкози методами квантової хімії// Вісник ЧДТУ. – 2008. - №3. – С.183-189.
2. Немцев С.В., Али Салем Омер // Материалы Междунар. конф. «Технология переработки гидробионтов». М.: ВНИРО, 1994. С. 125-127.
3. Феофилова Е.П., Терешина В.М., Менорская С.А.// Микробиология, 1995. Т.64. №1 С. 26-30.
4. Немцев С.В., Зуева О.Ю., Хисматуллин Р.Г. и др.// Пчеловодство, 2001. №5 С. 50-51.
5. Под. Ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова.// Хитин и хитозан: получения, свойства и применение. М.: наука 2002 С. 217-240.
6. Yoshihiro Shigemosa, Hiroaki Matsuuro, Hitoshi Sashiwa, and Hiroyuki Saimoto. Adoan Chitin Sci. (1996), 1, 204-209 An improved i.r. spectroscopic determination of degree of deacetylation of chitin.