

І. А. Дронь, А. В. Стасюк, М. М. Букартик, Ю. Р. Лугова, В. Я. Самарик
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра органічної хімії,
irynadron@ukr.net

ФОРМУВАННЯ ГІДРОГЕЛІВ НА ОСНОВІ ПЕКТИНУ З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ЕСТЕРИФІКАЦІЇ

<https://doi.org/10.23939/ctas2020.01.239>

З використанням пектину зі ступенем естерифікації 81,5 % у роботі одержано різні зразки пектинів зі ступенями естерифікації 40–70 %. Показано, що визначальним фактором для успішного формування гідрогелевих пластин є ступінь естерифікації полісахариду. Встановлено, що гідрогелеві пластини за методом структурування солями кальцію формуються лише на основі пектину зі ступенем естерифікації меншим ніж 70 %. Запропоновано метод отримання гідрогелевих пластин на основі пектину зі ступенем естерифікації більшим ніж 70 % через введення додаткового гелеутворюючого полімеру альгінату натрію.

Ключові слова: гідрогель, пектин, альгінат натрію, полісахарид, ступінь естерифікації.

Вступ

Пектин – полісахарид рослинного походження, який одержують із плодів, овочів, коренеплодів, складається переважно із залишків α -D-галактуронової кислоти, певна кількість карбоксильних груп якої естерифіковані метанолом [1]. Залежно від вихідної сировини та способу одержання ступінь естерифікації пектину становить 20–85 % [2].

Загальну структурну формулу пектину наведено на рис. 1.

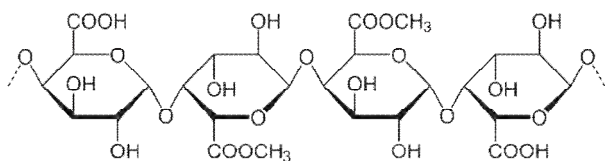


Рис. 1. Загальна структурна формула пектину

У харчовій промисловості широко використовують різні за походженням пектини для загущення продуктів харчування (яблучний, цитрусовий, буряковий та ін.), завдяки цьому процес гелеутворення відбувається, як правило, за наявності цукру та кислот [3, 4].

Водночас у літературі є обмежена кількість повідомлень про застосування пектину як основного гелеутворюючого полімеру в гідро-

гелях медичного призначення, проте є відомості про його антисептичні, гемостатичні та детоксикуючі властивості та ефективне використання у складі композиційних матеріалів, мазей та плівок для лікування ран [5–8].

Отже, дослідження, спрямовані на вивчення процесів гелеутворення з використанням пектину як основного гелеутворюючого полімеру, є актуальними, зумовлені можливістю застосування таких гідрогелів для створення виробів медичного призначення, зокрема, перев'язувальних матеріалів для лікування ран різної етіології [9].

Мета дослідження

Одержання гідрогелевих пластин на основі цитрусового пектину з різним ступенем естерифікації, вивчення їх фізико-механічних властивостей та здатності до набрякання у воді.

Матеріали та методи досліджень

Реагенти. Пектин цитрусовий (Грінфільд, Чехія), альгінат натрію (Utraco Holland b.v.), хлорид кальцію безводний (ООО Антеком), поліпропіленгліколь (Aldrich, молекулярною масою 2000), поліетиленгліколь (Aldrich, молекулярною масою 4500).

Методика кількісного визначення вмісту карбоксильних та естерифікованих груп у складі пектину.

Вміст карбоксильних груп у складі пектину визначали прямим потенціометричним титруванням за стандартною методикою [10].

Для визначення сумарного вмісту карбоксильних та естерифікованих груп виконували гідроліз метоксильованих груп пектину в лужному середовищі: наважку пектину (0,2 грама) розчиняли у 25 мл дистильованої води, додавали 15 мл 0,1н NaOH, витримували під час перемішування за температури 60 °С упродовж 2 годин. Проводили потенціометричне титрування суміші розчином 0,1н HCl, розрахунок здійснювали за методикою [10].

Для визначення сумарного вмісту вільних та нейтралізованих карбоксильних груп проводили гідроліз пектину у кислому середовищі: наважку пектину (1–1,5 грама) розчиняли у дистильованій воді, додавали 15–20 мл 0,1н HCl до значення рН 2, перемішували упродовж 2 годин. Одержаний продукт висаджували ацетоном, сушили у вакуумі до постійної маси. Наважку продукту (0,2 грама) розчиняли у дистильованій воді, проводили потенціометричне титрування суміші розчином 0,1 н NaOH згідно з методикою [10].

Реологічні дослідження водних розчинів пектину виконували з використанням приладу "Реотест 2".

Методика одержання пектину з різним ступенем естерифікації. До 3 % водного розчину пектину прикапували розраховану кількість 10 % гідроксиду натрію (до рН 10), витримували при перемішуванні за температури 40 °С до встановлення сталого рН. Після цього одержаний продукт висаджували ацетоном, сушили у вакуумі до постійної маси.

Одержання гідрогелів. Для одержання гідрогелів на основі пектину та альгінату змішували 15–20 грам 4–10 % дисперсії пектину, 5–10 грам 3,5 % дисперсії альгінату натрію, додавали необхідну кількість пластифікаторів (співвідношення ППГ 2000 : ПЕГ 4500 як 3:1). Одержану суміш ретельно перемішували, завантажували у форми, поміщали у 100–200 мл 0,2–1 % розчину хлориду кальцію та витримували 10–20 год. Гідрогелі виймали з форми, промивали водою, зберігали за температури 5 °С. У разі одержання гідрогелів із використанням лише пектину як гелеутворювального полімеру одержання гідро-

гелів проводили аналогічно, але без додавання розчину альгінату натрію.

Методика визначення модуля пружності гідрогелю. Модуль пружності гідрогелевих пластин визначали методом прориву гідрогелю під тиском повітря. Зразок гідрогелю закріплювали у комірці, діаметр отвору притискного кільця становив $4 \cdot 10^{-2}$ м. Дослідження виконували, використовуючи компресор, який подавав повітря у комірку, створюючи рівномірний тиск на гідрогелеву пластину. Для випробовувань використовували зразки гідрогелевих пластин діаметром $5,5 \cdot 10^{-2}$ м, товщину зразків вимірювали з точністю $1 \cdot 10^{-5}$ м за допомогою штангенциркуля. Зміну форми гідрогелю (гідрогель набирав форму еліпса) фіксували за допомогою зовнішньої веб-камери, відповідний тиск – за допомогою U-подібного водяного манометра. Використовуючи програмне забезпечення GeT Data, отримували довжини хорди еліпса і відсоток деформації гідрогелевої пластини відносно початкового значення. Модуль пружності визначали як кут нахилу кривої залежності зміни деформації гідрогелю від створеного на нього тиску.

Ступінь набрякання зразків гідрогелів визначали гравіметричним методом при 293 К у дистильованій воді та розраховували згідно з методикою [11].

Результати досліджень та їх обговорення

Використання пектину як основного гелеутворювального полімеру, що містить у своєму складі карбоксильні групи, зумовлено одержанням гідрогелевих пластин за методом структурирування солями кальцію [2].

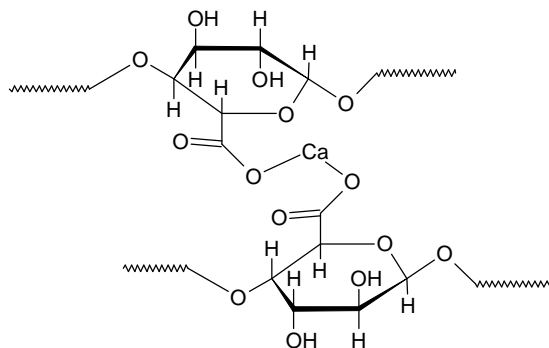


Рис. 2. Схема формування міжмолекулярних зв'язків іонної природи за рахунок утворення кальцієвих солей

Для досліджень використовували пектин цитрусовий, ступінь естерифікації якого за даними аналізу становить 75,8–81,5 %.

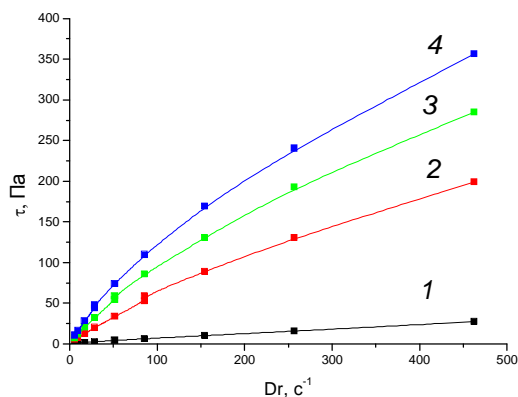


Рис. 3. Реологічні криві водних розчинів пектину зі ступенем естерифікації 75,8 % у координатах напруження зсуву від швидкості зсуву при концентраціях пектину: 1 – 4,3 %, 2 – 8,8 %, 3 – 9,5 %, 4 – 10,05 %

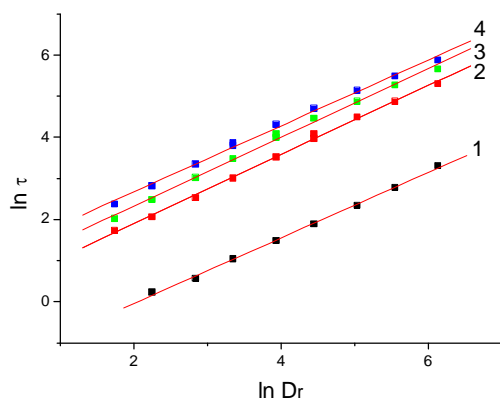


Рис. 4. Логарифмічні анаморфози реологічних кривих водних розчинів пектину зі ступенем естерифікації 75,8 %

Водні розчини пектину є в'язкими рідинами. В'язкість розчинів є важливою характеристикою для технології формування планарних гідрогелевих пластин, а також розуміння динаміки процесу формування гідрогелів із розчинів полісахаридів [12]. Для дослідження реології водних розчинів пектину одержано низку реологічних кривих із різною концентрацією полісахариду в діапазоні від 4,3 % до 10,05 % (рис. 3). Аналіз цих кривих дає змогу зробити висновок, що водні розчини пектину при рН 4,5 є псевдопластичними рідинами, які достатньо добре спрямляються

(рис. 4) в координатах реологічного рівняння (1) Оствальда де-Ваале [13].

$$\tau = K_o \cdot D_r^n \quad (1)$$

де τ – напруження зсуву, Па; K_o – коефіцієнт консистентності, Па·с; D_r – швидкість зсуву, с⁻¹; n – коефіцієнт нелінійності течії.

Для визначення мінімального ступеня естерифікації, за якого пектинові розчини формують гідрогелеві пластини, структуровані солями кальцію, отримано пектини зі ступенями естерифікації 41,5 %; 53,7 %; 69,9 % з вихідного пектину, ступінь естерифікації якого становить 81,5 %.

За експериментальними даними гідрогелеві пластини із задовільними фізико-механічними властивостями формувались лише для зразків на основі пектину зі ступенем естерифікації до 70 % (за концентрацій полісахариду у розчині 4–10 % та хлориду кальцію 0,2–1 %).

Введення хлориду кальцію у водний розчин пектину зі ступенем естерифікації більшим ніж 70 % не приводило до формування гідрогелевих пластин. Водночас за експериментальними даними спостерігалось істотне збільшення реологічних характеристик розчину порівняно з розчинами пектину тієї самої концентрації (табл. 1).

Таблиця 1

Параметри реологічного рівняння для розчинів пектину зі ступенем естерифікації 75,8 % при додаванні хлориду кальцію (концентрація розчину пектину 4,3 %, рН 4,5)

Концентрація CaCl ₂	K_o	n
0	0,22±0,05	0,82± 0,05
0,018	0,30± 0,04	0,68± 0,05
0,036	4,5± 0,2	0,44± 0,03
0,072	90,5± 0,3	0,24± 0,02
0,108	90,4± 0,3	0,24± 0,03
0,144	94,2± 0,5	0,25± 0,04

Зокрема, коефіцієнт консистентності збільшується з 0,22 до 90,5 при збільшенні концентрації хлориду кальцію до 0,072, а коефіцієнт нелінійності течії зменшується з 0,82 до 0,24 (табл. 1). Така зміна коефіцієнтів рівняння Оствальда де-Ваале є характерною для процесу гелеутворення, проте утворення гідрогелевих пластин не спостерігається. Потрібно зазначити,

що подальше збільшення концентрації хлориду кальцію не приводить до формування гідроген-левих пластин й істотного впливу на реологічні характеристики (табл. 1).

З одержаних даних можна зробити висновок, що при ступені естерифікації більшому ніж 70 % відбувається формування лише золь-фракції або мікрогідрогелю, у якому густина перехресних зв'язок не досягає критичного значення для загальної гелезації. Оскільки збільшення концентрації іонів кальцію в суміші не приводить до отримання гелевих пластин, можна стверджувати, що визначальним фактором є кількість карбоксильних груп у складі пектину.

Такі гідрогелеві системи, що мають мазеподібну консистенцію, можна з успіхом використовувати в медицині як основи водних пастоподібних форм. Однак формувати гідрогелі медичного призначення у вигляді гідрогелевих пластин можливо лише з пектину зі ступенем естерифікації меншим ніж 70 %. Як буде показано в наступних повідомленнях, такі гідрогелеві пластини можна з успіхом використовувати для гідрогелевих пов'язок і вирішувати задачі трансдермальної пролонгованої доставки водорозчинних форм лікарських речовин.

У разі необхідності пролонгованої доставки олеофільних біологічно-активних речовин, зокрема рослинних екстрактів, ефективнішими є гідрогелі на основі пектину з вищим ступенем естерифікації. Тому актуальним завданням є одержання гідрогелевих пластин на основі пектину зі ступенем естерифікації 70–85 %.

Як показано вище, важливим чинником для успішного формування гідрогелевих пластин за методом структурування солями кальцію є кількість карбоксильних груп, нестачу яких в гідрогелевій композиції можна компенсувати додатковим введенням полісахариду зі значною кількістю карбоксильних груп. Як додатковий гелеутворювач у межах цієї роботи використано альгінат натрію, який є натрієвою сіллю альгінової кислоти та широко використовується як стабілізатор-емульгатор і гелеутворювач [14–16]. Визначено, що введення альгінату натрію у кількості до 1 % у склад гідрогелевої композиції дає змогу формувати пластини на основі пектину зі ступенем естерифікації 81,5 %. Така композиція формує гідрогелеві пластини у разі загальної концентрації 7 % і концентрації хлориду кальцію

0,5–1 %, гель-фракція при цьому становить близько 46–50 %. Це дає змогу стверджувати, що пектин зі ступенем естерифікації більшим ніж 70 % бере участь у формуванні полісахаридної сітки разом із макромолекулами альгінату.

Зауважимо, що фізико-механічні властивості гідрогелів на основі полісахаридів та здатність до набрякання у воді залежать від ступеня естерифікації пектину (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристики гідрогелів, одержаних з використанням хлориду кальцію

Опис зразка гідрогеля	Ступінь набрякання на момент синтезу, г/г полімерів	Рівноважний ступінь набрякання, г/г полімерів	Модуль пружності, кПа
Гідрогель на основі низько-естерифікованого пектину*	13,6	14 ± 1,3	6,2 ± 0,3
Гідрогель на основі низько-естерифікованого пектину* та альгінату натрію	13,3	14 ± 1,5	32 ± 0,5
Гідрогель на основі високо-естерифікованого пектину** та альгінату натрію	13,3	26 ± 2	5 ± 0,2

* Вміст (-C(O)OCH₃) у пектині – 41,5 %

** Вміст (-C(O)OCH₃) у пектині – 81,5 %

Як бачимо з табл. 2, низькоестерифікований пектин формує гідрогель зі значно більшим значенням модуля пружності, але такий гідрогель має нижчі значення граничної міцності й за своєю природою є крихким, внаслідок чого нестійким до знакоперемінних навантажень. Гідрогель, отриманий із пектину з високим ступенем естерифікації навпаки: за достатньо високого значення модуля пружності є еластичним.

Дослідження процесу набрякання гідрогелів показали, що гідрогелі на основі низькоестерифікованого пектину формуються відразу в стані рівноважного ступеня набрякання і практично не спроможні після формування поглинати воду (табл. 2), здатність до поглинання води високоестерифікованого пектину після формування гелю є вищою.

Висновки

Показано, що визначальним чинником для формування гідрогелевих пластин із задовільними фізико-механічними властивостями за методом структурування солями кальцію є ступінь естерифікації пектину. Формування гідрогелів у вигляді гідрогелевих пластин спостерігається з використанням пектину зі ступенем естерифікації меншим ніж 70 %. Отримання гідрогелів на основі пектину з більшим ступенем естерифікації можливе з введенням до складу композиції додаткового гелетворювального полімеру альгінату натрію. Фізико-механічні властивості гідрогелів на основі полісахаридів та здатність їх до набрякання у воді істотно залежать від ступеня естерифікації пектину. Одержані гідрогелеві пластини надалі можна використовувати для створення перев'язувальних матеріалів для лікування ран з невеликою кількістю ексудату.

References

1. Donchenko, L. V., Firsov.- M, G. G. (2007). Pektin: osnovnie svoystva, proizvodstvo i primeneniye. Moskva, DeLi print.
2. Mazur, L. M., Simurova, N. V., Sliva, Yu. V. (2014). Fiziko-himicheskie protsesi geleobrazovaniya pektinov v pischevih tehnologiyah. Sahar, № 2, 43–46.
3. Löfgren, C., Walkenström, P., & Hermansson, A.-M. (2002). Microstructure and Rheological Behavior of Pure and Mixed Pectin Gels. *Biomacromolecules*, 3(6), 1144–1153. doi: 10.1021/bm020044v
4. Aymeson, A. (2012). Pischevie zagustiteli, stabilizatori, geleobrazovateli. Sankt-Peterburg, Professiya.
5. Aqdas Noreen, Zill-i-Huma Nazli, Javeria Akram, Ijaz Rasul, Asim Mansha, Nazia Yaqoob, Rehana Iqbal, Shazia Tabasum, Mohammad Zuber, Khalid Mahmood Zia. (2017). Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review.

International Journal of Biological Macromolecules, 101,254-272. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.029

6. Smistad, G., Bøyum, S., Alund, S., Samuelson, A., & Hiorth, M. (2012). The potential of pectin as a stabilizer for liposomal drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 90(3), 1337-1344. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.002

7. Soroka, O. B., Kosenko, S. V. (2006). Patent Ukrainy 16836. Kyiv: Derzhavnyi departament intelektualnoi vlasnosti.

8. Willats, W., McCartney, L., Mackie, W., & Knox, J. (2001). Pectin: cell biology and prospects for functional analysis *Plant Molecular Biology*, 47(1/2), 9–27. doi: 10.1023/a:1010662911148.

9. Shablin, D. V., Pavlenko, S. G., Evglevskiy, A. A., Bondarenko, P. P., Huranov, A. A. (2013). Sovremennyye ranevyye pokryitiya v mestnom lechenii ran razlichnogo Geneza. *Fundam. Issledovaniya*, 12(2), 361–365.

10. Syhha, S., Khanna, Dzh. H. (1983). Kolychestvennyiorhanycheskiyanalyzpfunktsyonalnyhgruppam. Moskva, Khimiia.

11. Masoud Rezvanian, Naveed Ahmad, Mohd Cairul Iqbal Mohd Amin, Shioh-Fern Ng. (2017). Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 131–140. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.12.079

12. Vithanage, C., Grimson, M., Wills, P., Harrison, P., & Smith, B. (2010). Rheological and structural properties of high-methoxyl esterified, low-methoxyl esterefied and low-methoxyl amidated pectin gels. *Journal Of Texture Studies*, 41(6), 899–927. doi: 10.1111/j.1745-4603.2010.00261.x

13. Krykh, H. B. (2007). Osoblyvosti zastosuvannya reolohichnykh modelei neniutonivskykh ridyn. *Visnyk Natsionalnoho universytetu "Lvivska politehnika"*, № 581, 71–82.

14. Lee, K., Mooney, D. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress In Polymer Science*, 37(1), 106-126. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003

15. Schipunov, Yu. A., Postnova, I. V., Greben, V. P. (2000). Poluchenie geley alginata kaltsiya metodom elektrodializa. *Zhurn. fiz.him.* 74(7), 1298-1302.

16. Lee, K., & Mooney, D. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress In Polymer Science*, 37(1), 106–126. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003

I. А. Дронь, А. В. Стасюк, М. М. Букартик, Ю. Р. Лугова, В. Я. Самарик

I. Dron, A. Stasiuk, M. Bukartyk, Yu. Lugova, V. Samaryk
Lviv Polytechnic National University,
Department of Chemical

**FORMATION OF PECTINE-BASED HYDROGELS
WITH DIFFERENT DEGREE OF**

The various samples of pectins with degrees of esterification of 40–70 % in the work were obtained using pectin with degree of esterification of 81.5 %. It was shown that the determining factor for successful formation of hydrogel plates is the degree of esterification of polysaccharide. It was established that hydrogel plates obtained by the method of structuring of calcium salts are formed only on the basis of pectin with the degree of esterification less than 70 %. A method of obtaining hydrogel plates based on pectin with a degree of esterification more than 70 % by adding gel-forming polymersodium alginate is proposed.

Key words: hydrogel, pectin, sodium alginate, polysaccharide, degree of esterification.