

ОРИЕНТАЦИОННЫЙ ПОРЯДОК В ПОВЕРХНОСТНЫХ СЛОЯХ ПЛЕНОК ПУЛЛУЛАНА

© 2017 г. Г.М. Павлов* **, Н.А. Михайлова*

*Институт высокомолекулярных соединений РАН, 199004 Санкт-Петербург, Большой просп., 31;

**Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

E-mail: g.m.pavlov@spbu.ru, 18257@mail.ru

Поступила в редакцию 22.07.15 г.

После доработки 12.11.15 г.

Исследовано спонтанное поверхностное двойное лучепреломление в пленках полисахарида пуллулана, проявляющееся при наклонном прохождении плоскополяризованного луча через плоскую полимерную пленку. Двойное лучепреломление изучено в зависимости от угла падения света и толщины пленок. Выполнена оценка параметра ориентационного порядка цепей пуллулана в приповерхностных слоях пленок. Проведено сравнение с результатами, полученными ранее при изучении других полисахаридов.

Ключевые слова: полимерные пленки, ориентационный порядок, двойное лучепреломление, поляризованный свет, пуллулан.

Полисахариды являются одним из важнейших классов биополимеров наряду с нуклеиновыми кислотами и белками [1,2]. Они играют разнообразную роль в природе и в живом организме и составляют основную массу органического вещества биосферы. Однако наше понимание молекулярных и конформационных свойств полисахаридов ограничено по сравнению с белками и нуклеиновыми кислотами, для которых особенности молекулярной архитектуры и ее связи с биологическими функциями в настоящее время достаточно хорошо изучены и продолжают интенсивно изучаться.

Вместе с тем макромолекулы полисахаридов обеспечивают уникальный спектр топологических структур и конформационных состояний. Это является результатом особенностей первичной структуры полисахаридов (два типа гликозидной связи, различия в присоединении ОН-групп, возможное наличие разнообразных заместителей ОН-групп), результатом образования линейных спиральных структур с максимально достижимой равновесной жесткостью молекулярных цепей, образования разветвленных структур разного типа ветвления, так и возможным присутствием зарядов в цепях полисахаридов [3–5].

Полисахариды давно и широко используются как полупродукты для многих многотоннажных технологий – производства бумаги, вискозного волокна, пороха, желирующих компонентов для пищевой промышленности и т.д. В

последнее время полисахариды приобретают все большее значение в медицине, пищевой и фармацевтической науках и технологиях, в косметике [6–9]. Ситуация изменяется не только благодаря возрастающему коммерческому использованию полисахаридов в фармацевтической и пищевой промышленности, но также благодаря признанию ключевой роли гликополимеров в некоторых специфических биологических процессах [4].

Одним из важных применений полисахаридов является их использование в мембранных технологиях, играющих важную роль при решении ряда экологических проблем. В связи с этим возникает необходимость количественного изучения процессов молекулярной организации фрагментов полимерных цепей при образовании пленок и мембран. Процессы такого упорядочения могут рассматриваться как элементарная форма самоорганизации биологических макромолекул.

Все это определяет большой и нарастающий интерес к изучению молекулярных и конформационных характеристик углеводсодержащих биополимеров с целью установления корреляций: структура повторяющейся единицы – топология и конформация макромолекулы – свойства используемого полимерного (полисахаридного) продукта.

Вышеизложенное в полной мере относится к линейному полисахариду – пуллулану, который состоит из мальтотриозных единиц и из-

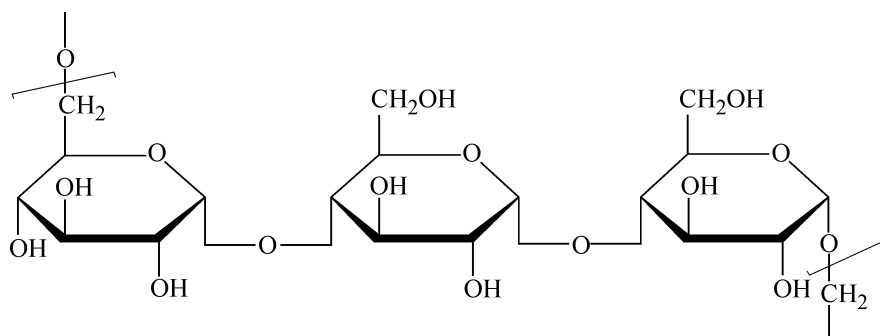


Рис. 1. Химическая структура повторяющегося звена пуллулана.

вестен как α -1,4-; α -1,6-глюкан. Три глюкозных единицы в мальтотриозе соединены связью α -1,4, а последовательные мальтотриозные единицы соединены друг с другом связью α -1,6 [9,10]. Пуллулан образуется из крахмала в результате жизнедеятельности гриба *Aureobasidium pullulans*, его химическая формула представлена на рис. 1.

В последнее время пуллулан интенсивно исследуют с целью применения в биотехнологиях для получения наночастиц [11,12], регенерации костной ткани [13], доставки лекарственных и генных материалов в живой организм [14]. Наконец, широкое применение находят пленки на основе пуллулана [8,15], а также композитные пленки на его основе [16–19]. Пленки пуллулана являются пищевыми биodeградируемыми пленками с хорошими механическими свойствами; они непроницаемы для кислорода, маслоустойчивы, стабильны к изменениям температуры и pH среды. Они используются для защиты пищевых продуктов, а также в качестве носителя для доставки активных соединений в организм. Исследование пленок пуллулана представляет также фундаментальный интерес, связанный с изучением процессов самоорганизации макромолекул на границах раздела фаз. Информативным методом исследования структуры упорядоченных слоев на границах раздела фаз является изучение двойного лучепреломления в пленках.

Целью работы является изучение спонтанного двойного лучепреломления в пленках пуллулана и разделение структурной и ориентационной составляющих в эффекте поверхностного двойного лучепреломления. Также обсуждается корреляция между параметром внутримолекулярного порядка в изолированных макромолекулах с различной химической структурой и параметром надмолекулярного ориентационного порядка фрагментов цепей в пленках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящей работе изучен пуллулан (полимальтотриоза *Aureobasidium pullulans*) фирмы Sigma (P-4516), который является практически линейным нейтральным полисахаридом. Молекулярная масса образца, определенная методом седиментационно-диффузионного анализа, оказалась равной 90000 г/моль [20]. Ранее [21–24] были изучены гидродинамические, молекулярные и динамо-оптические свойства гомологических рядов пуллулана, а также определены конформационные характеристики его цепей.

В работе исследованы оптические свойства пленок пуллулана, которые получали поливом водного раствора пуллулана на поверхность горизонтально расположенных предметных стекол и испарением растворителя при нормальных условиях ($T = 293$ К, $p = 1$ атм, $g = 9,8$ м/с²) без специальных воздействий на растворы. Для получения пленок разной толщины (в интервале 13–350 мкм) варьировали концентрации водных растворов в пределах 6–40 масс. %. Толщину пленок измеряли с помощью микрометра либо рассчитывали по весу, используя известную величину плотности сухого полимера ($\rho = 1,6$ г/см³). Погрешность измерения толщин пленок определяется качеством поверхности и варьируется от 10 до 20%.

Двойное лучепреломление в пленках изучали в проходящем поляризованном свете на лабораторной установке. Оптическую разность фаз δ , создаваемую полимерной пленкой, определяли при помощи полутеневого компенсатора Брейса:

$$\delta = \delta_0 \sin 2\Delta\varphi,$$

где $\Delta\varphi = \varphi - \varphi_0$ – разность отсчетов компенсатора при расположении исследуемой пленки под углом к оптической оси и при нормальном падении поляризованного луча на пленку, δ_0 –

разность фаз, создаваемая слюдяной пластинкой компенсатора ($\delta_0 = 0,076$ радиан).

Изучали двойное лучепреломление при прохождении поляризованного луча через пленки разной толщины и под разными углами i , которые луч образует с нормалью к поверхности пленки.

ЭЛЕМЕНТЫ ТЕОРИИ СПОНТАННОГО ДВОЙНОГО ЛУЧЕПРЕЛОМЛЕНИЯ В ПЛЕНКАХ

При прохождении светового луча через полимерную пленку под углом i , отличным от нормального, возникает двойное лучепреломление. Метод наклонного поляризованного луча основан на измерении разности фаз δ двух компонентов света, поляризованных во взаимно перпендикулярных направлениях [25,26].

При прохождении луча перпендикулярно поверхности слоя ($i = 0$) прозрачный слой вещества будет казаться оптически изотропным, тогда как при наклонном прохождении луча ($i \neq 0$) обнаруживается двойное лучепреломление, зависящее от угла падения луча i , толщины пленки H , химической структуры полисахарида (полимера) и степени упорядоченности цепных молекул у поверхности подложки. Наблюдаемый эффект двойного лучепреломления объясняют преимущественной ориентацией макромолекулярных цепей относительно поверхности пленок. Количественной мерой ориентационного порядка фрагментов цепной молекулы служит параметр ориентационного порядка

$$S = \frac{1}{2}(3\overline{\cos^2\theta} - 1), \quad (1)$$

где θ – угол между осью анизотропного элемента молекулярной цепи и нормалью к поверхности пленки.

В отсутствие преимущественной ориентации молекул относительно поверхности слоя параметр ориентационного порядка S равен 0, а $\overline{\cos^2\theta} = 1/3$, и двойное лучепреломление не будет наблюдаться независимо от угла падения луча на поверхность слоя. В случае идеальной планарной ориентации анизотропных элементов относительно поверхности пленки $\theta = 90^\circ$ и $S_{\parallel} = -0,5$, а в случае идеальной гомеотропной ориентации $\theta = 0^\circ$ и $S_{\perp} = 1$. Как правило, для полимерных пленок величина S отрицательна.

В теории спонтанного двойного лучепреломления в полимерных пленках, развитой в работах [25], показано, что зависимость δ от i имеет вид

$$\delta = B(1 - \cos 2i) \quad (2)$$

где B – коэффициент поверхностного двойного лучепреломления. Ориентационное упорядочение фрагментов молекулярных цепей с увеличением расстояния H от поверхности пленки становится менее совершенным. В работе [27] было предложено моделировать убывание упорядоченности фрагментов макромолекул экспоненциально по мере удаления от поверхности как:

$$S = S_0 e^{-H/H_0}, \quad (3)$$

где $S_0 = \lim_{H \rightarrow 0} S$, а H_0 – толщина оптически анизотропного поверхностного слоя, отсчитываемая от поверхности пленки, на которой параметр ориентационного порядка убывает в e раз и составляет величину $S = S_0/e$.

В результате коэффициент поверхностного двойного лучепреломления B может быть представлен в следующем виде:

$$B = B_0 S_0 H_0 (1 - e^{-H/H_0}), \quad (4)$$

где $B_0 = -\frac{\pi N_A}{n^3 \lambda \nu} \beta_s \left(\frac{n^2 + 2}{3}\right)^2 S_0 H_0$. Здесь β_s – удельная оптическая анизотропия макромолекулярной цепи; ν – парциальный удельный объем полимера; n – показатель преломления полимера; λ – длина волны света; N_A – число Авогадро, H – толщина пленки, S_0 – параметр ориентационного порядка фрагментов молекулярных цепей на поверхности пленки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 2 представлены экспериментальные разности отсчетов компенсатора ($\Delta\varphi$) при расположении пленки под углом φ к оптической оси установки и при нормальном падении поляризованного луча на пленку (φ_0) в зависимости от угла падения поляризованного луча (i) для пленок разной толщины. Видно, что с увеличением как угла падения, так и толщины пленок разность фаз $\delta = \delta_0 \sin 2\Delta\varphi$ увеличивается. Параболические зависимости (рис. 2) преобразуются в линейные зависимости в координатах δ от $(1 - \cos 2i)$ (соотношение (2) и рис. 3), тангенс угла наклона которых позволяет определить коэффициент поверхностного двойного лучепреломления B .

На рис. 4 представлена экспериментальная зависимость коэффициента двойного лучепреломления B от толщины пленок пулллана H .

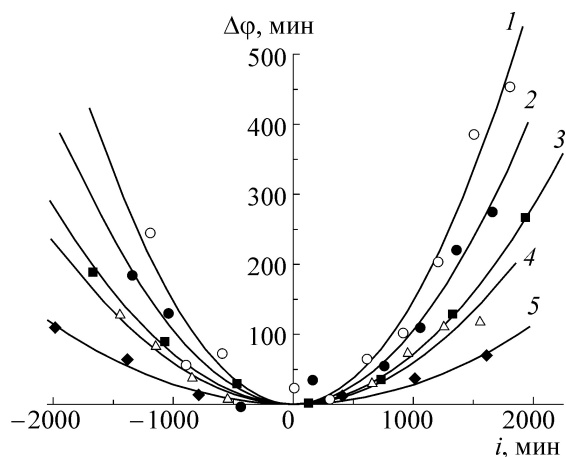


Рис. 2. Зависимости разности отсчетов компенсатора $\Delta\varphi = \varphi - \varphi_0$ от угла падения i луча на поверхность полимерной пленки, где φ – отсчет при прохождении поляризованного луча под углом i к оптической оси, φ_0 – при его нормальном падении ($i = 0$). Погрешность отсчетов компенсатора ± 15 с, степень корреляции для парабол изменяется в пределах $0,959 < R < 0,996$. Кривые соответствуют измерениям пленок различной толщины, $H \times 10^2$ см: 2,0 (1); 1,3 (2); 1,0 (3); 0,7 (4); 0,13 (5).

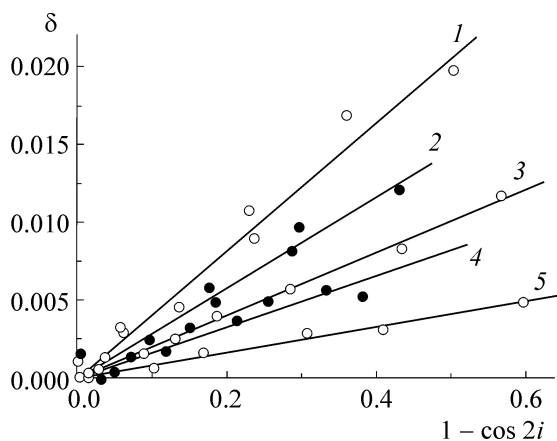


Рис. 3. Зависимости разности фаз δ от $(1 - \cos 2i)$ для пленок пуллулана. Наклоны прямых соответствуют следующим величинам B : $0,041 \pm 0,003$ (1); $0,029 \pm 0,002$ (2); $0,020 \pm 0,001$ (3); $0,017 \pm 0,002$ (4); $0,008 \pm 0,001$ (5). Номера у прямых соответствуют номерам парабол на рис. 2.

Эта зависимость обнаруживает тенденцию к насыщению значения коэффициента B с увеличением толщины пленки, предсказываемую теоретическим соотношением (4). Аппроксимация экспериментальной зависимости $B = f(H)$ теоретической кривой позволяет оценить параметры B_0 и H_0 , значения которых составили $B_0 = -0,040 \pm 0,003$ и $H_0 = (8 \pm 2) \cdot 10^{-3}$ см.

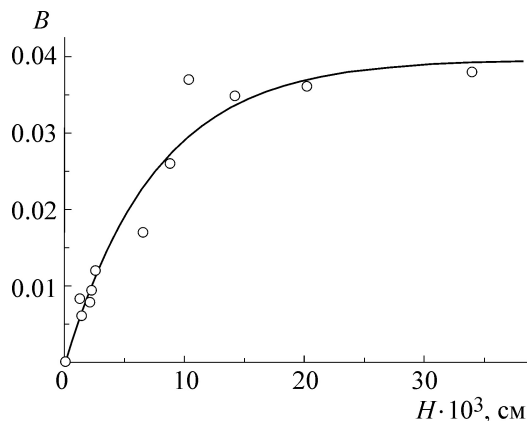


Рис. 4. Зависимость коэффициентов поверхностного двойного лучепреломления B от толщины пленок пуллулана H . Кривая – аппроксимация экспериментальных точек зависимостью $B = -0,040(1 - e^{-H/8})$. Степень корреляции $R = 0,974$.

Отношение величин B_0/H_0 есть мера параметра ориентационного порядка элементов цепи вблизи поверхности. Характер ориентации фрагментов макромолекул определяется знаком величины S_0 , который определяется из сопоставления знаков величин B_0 и β_S . В работах [23,24] была определена величина собственной оптической анизотропии статистического сегмента $(a_1 - a_2)$ цепи пуллулана, которая оказалась положительной по знаку и равной $33 \cdot 10^{-25}$ см³. Поскольку B_0 – величина отрицательная, то из этого следует, что знак величины S_0 будет отрицательным, что определяет характер ориентации анизотропных элементов цепей пуллулана относительно поверхности пленки как преимущественно планарный. Для количественной оценки параметра ориентационного порядка необходимо знать величину удельной оптической анизотропии β_S цепей пуллулана, которая определяется как $\beta_S = (a_1 - a_2)/M_S$, где $M_S = A \times M_L$ – молекулярная масса статистического сегмента, A – его длина, M_L – масса единицы длины цепи. Используя среднюю оценку значения $A = (20 \pm 2) \cdot 10^{-8}$ см, полученную в работах [21,22], и значение $M_L = 3,38 \cdot 10^9$ г/(моль·см), находим величину удельной оптической анизотропии цепей пуллулана $\beta_S = 4,9 \cdot 10^{-27}$ см³моль/г. Учитывая, что $\rho = 0,61$ см³/г, $n = 1,51$, $\lambda = 5500 \cdot 10^{-8}$ см, получаем оценку параметра ориентационного порядка молекулярных цепей пуллулана в поверхностных слоях $S_0 = -0,033 \pm 0,009$. Обсуждаемые результаты получены на пленках, приготовленных из одного образца пуллулана, макромолекулы которого в среднем содержат 150 статистических сегментов. Трудно ожидать молекулярно-массовую зависимость

степени ориентационного порядка для цепей с небольшой собственной оптической анизотропией и небольшой равновесной жесткостью, какими являются цепи пуллулана. Поэтому полученные результаты обладают достаточной общностью.

Из величины S_0 следует, что средний угол ϑ ориентации сегмента относительно нормали к поверхности составляет $\approx 56^\circ$. Обращает на себя внимание то, что параметр порядка макромолекул пуллулана почти в пять раз больше, чем у декстрана [28,29], но приблизительно на порядок меньше, чем у водорастворимой гидроксипропилметилцеллюлозы [30]. Поскольку величины удельной оптической анизотропии сравниваемых полисахаридных цепей практически одинаковы, то такие различия в величинах параметра ориентационного порядка отражают различия в равновесной жесткости цепей полисахаридов, характеризуемой длиной статистического сегмента A . Так, для линейных цепей декстрана $A = 13 \cdot 10^{-8}$ см [29], а для водорастворимых производных целлюлозы $A = 170 \cdot 10^{-8}$ см [30]. Таким образом, степень упорядоченности в приповерхностных слоях пленок уменьшается с возрастанием гибкости цепей.

Вторая величина (H_0), получаемая из анализа зависимости коэффициента двойного лучепреломления B от толщины пленок пуллулана H , является суммарной эффективной толщиной анизотропных поверхностных слоев: слоя, образуемого на поверхности подложки и вносящего основной вклад в наблюдаемое двойное лучепреломление, и слоя, образуемого на поверхности контакта с воздушной средой. Величина H_0 равна 75 мкм для пленок пуллулана и является величиной макроскопической, как это наблюдается и для других классов полимеров [25,26,30]. Для величины H_0 наблюдается обратная по сравнению с S_0 зависимость от длины статистического сегмента, и можно отметить уменьшение величины H_0 при ужесточении макромолекулярных цепей. Так, для декстрана $H_0 \approx 180$ мкм, а для гидроксипропилметилцеллюлозы $H_0 \approx 50$ мкм. Следует отметить, что полная зависимость коэффициента двойного лучепреломления B от толщины пленок H может быть получена не для всех полисахаридов и полимеров. В таких случаях это связано с большим рассеянием света, проходящего через пленки большой толщины, и невозможностью измерить двойное лучепреломление в пленках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения спонтанного двойного лучепреломления пленок пуллулана в интервале толщин 13–350 мкм экспериментально подтвержден экспоненциальный характер уменьшения параметра порядка S при удалении слоя от поверхности пленки, установленный теоретическим соотношением $B = B_0 S_0 H_0 (1 - e^{-H/H_0})$. При этом теория двойного лучепреломления, возникающего при наклонном прохождении поляризованного светового луча через пленку, дает возможность получить количественные характеристики структуры поверхностных слоев полимерных пленок – параметр ориентационного порядка цепей пуллулана в приповерхностном слое и эффективную толщину поверхностного слоя. Сравнение в ряду полисахаридов, отличающихся равновесной жесткостью цепей, показывает, что величины S_0 возрастают, а величины H_0 убывают с увеличением длины статистического сегмента цепи.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантом СПбГУ 11.38.267.2014.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*, 2nd ed., Ed. by S. Dumitriu (Marcel Dekker, New York, 2005), p. 1205.
2. R. H. Marchessault, in *Contemporary Topics in Polymer Science*, Ed. by E. J. Vandenberg (Plenum Press, New York, 1984), Vol. 5, pp. 15–53.
3. В. Г. Дашевский, *Конформационный анализ макромолекул* (Наука, М., 1987).
4. Н. К. Кочетков, Вестн. РАН **65** (8), 730 (1995).
5. Г. М. Павлов, Дис. ... докт. физ.-мат. наук (Санкт-Петербургский университет, СПб, 2004).
6. G. O. Phillips and P. A. Williams, *Polysaccharides and Their Applications*, 2nd ed., Ed. by A. M. Stephen (Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2006).
7. *Polysaccharides in Medicinal Applications*, Ed. by S. Dumitriu (Decker, Marcel, 1996).
8. D. R. Choudhary, V. A. Patel, U. K. Chhalotiya, et al., *Int. J. Pharmacy Pharmaceut. Sci.* **4** (3), 78 (2012).
9. R. S. Singh, G. K. Saini, and J. F. Kennedy, *Carbohydrate Polymers* **73**, 515 (2008).
10. Н. П. Елинов, *Химия микробных полисахаридов* (Выш. шк., М., 1984).
11. G. Mocanu, M. Nichifor, L. Pictonb, et al., *Carbohydrate Polymers* **111**, 892 (2014).
12. S. Coseri, A. Spatareanu, L. Sacarescu, et al., *Carbohydrate Polymers* **116**, 9 (2015).
13. Amrita, A. Arora, P. Sharma, and D. S. Katti, *Carbohydrate Polymers* **123**, 180 (2015).
14. R. S. Singh, N. Kaur, and J. F. Kennedy, *Carbohydrate Polymers* **123**, 190 (2015).

15. T. Diab, C. G. Biliaderis, D. Gerasopoulos, and E. Sfakiotakis, *J. Sci. Food Agric.* **81**, 988 (2001).
16. Q. Tong, Q. Xiao, and L.-T. Lim, *Food Res. Int.* **41**, 1007 (2008).
17. J. J. Yan, Z. Li, J. F. Zhang, and C. S. Qiao, *Adv. Mater. Res.* **476–478**, 2100 (2012).
18. Q. Xiaoa, Q. Tong, and L.-T. Lim, *Carbohydrate Polymers* **87**, 1689 (2012).
19. M. Khanzadi, S. M. Jafari, H. Mirzaei, et al., *Carbohydrate Polymers* **118**, 24 (2015).
20. A. S. Gubarev, O. V. Okatova, and G. M. Pavlov, in *Abstr. Book of 4th Int. Symp. "Frontiers in Polymer Science"* (Elsevier, Riva del Garda, Italy, 2015), p. 3.
21. G. M. Pavlov, E. V. Korneeva, and N. P. Yevlampieva, *Int. J. Biol. Macromolecules* **16**, 318 (1994).
22. Г. М. Павлов и Е. В. Корнеева, *Биофизика* **40** (6), 1227 (1995).
23. Г. М. Павлов и Н. П. Евлампиева, *Биофизика* **40** (6), 1220 (1995).
24. G. M. Pavlov, N. P. Yevlampieva, and E. V. Korneeva, *Polymer* **39** (1), 235 (1998).
25. А. Н. Черкасов, М. Г. Витовская и С. В. Бушин, *Высокомолекуляр. соединения А* **18** (7), 1628 (1976).
26. А. Е. Грищенко и А. Н. Черкасов *Успехи физ. наук* **167** (3), 269 (1997).
27. А. Е. Грищенко, Г. М. Павлов и Г.А. Вихорева, *Высокомолекуляр. соединения Б* **41** (8), 1347 (1999).
28. G. M. Pavlov, A. E. Grishchenko, E. I. Rjuntsev, and N.P. Yevlampieva, *Carbohydrate Polymers* **38** (3), 267 (1999).
29. Г. М. Павлов, А. Е. Грищенко, Е. И. Рюмцев и др., *Биофизика* **44** (2), 251 (1999).
30. А. Е. Грищенко, Г. М. Павлов и Л. П. Бушнева *Высокомолекуляр. соединения Б* **50**, 141 (2008).

Orientational Order in the Surface Layers of Pullulan Films

G.M. Pavlov* ** and N.A. Mikhailova**

**Saint Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7/9, St. Petersburg, 199034 Russia*

***Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences,
Bolshoi prosp. 31, St. Petersburg, 199004 Russia*

Spontaneous surface birefringence observed in the pullulan films under tilted polarized beam passing through the sheet polymer film was studied. The birefringence was explored depending on the angle of beam incidence and the film thickness. The orientational order parameter of the pullulan chains in the near surface layers of the films was estimated. These results were compared with those obtained earlier while studying other polysaccharides.

Key words: polymer films, orientational order, birefringence, polarized light, pullulan