

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА, НАНОКРЕМНЕЗЕМА И ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА ГИДРАТАЦИЮ КРАХМАЛА

В.В. Туров, В.М. Гунько, В.Н. Барвинченко, А.А. Турова, А.А. Ругаль,
П.П. Горбик

Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины
ул. Генерала Наумова, 17, 03164, Киев-164

Методами низкотемпературной ^1H ЯМР спектроскопии, ЯМР-криопорометрии и квантовохимического моделирования исследовано состояние, структурные характеристики воды, связанной крахмалом, и влияние на них иммобилизованного на поверхности кверцетина, нанокремнезема и органических растворителей (хлороформа и диметилсульфоксида). Установлено, что межфазная вода находится в кластерном состоянии, причем в присутствии слабополярной среды CDCl_3 твердая фаза стабилизирует формирование кластеров слабоассоциированной воды (WAW), концентрация которой составляет 3–4% от общей концентрации воды. Без добавок ДМСО вся WAW является сильносвязанной, а в смешанных растворителях часть ее становится слабосвязанной, что свидетельствует о значительной перестройке под влиянием ДМСО структуры связанной воды. ДМСО уменьшает взаимодействие кластеров SAW с поверхностью.

Введение

Основными компонентами сырья, используемого для приготовления фитопрепаратов на основе лекарственных растений, являются целлюлоза и крахмал [1–6]. Биоактивные вещества входят в состав сырья в виде сложных композиций (которые лишь в наиболее простых случаях могут быть полностью идентифицированы), связанных в супрамолекулярных структурах полисахаридов. Их извлечение осуществляется экстракцией водой или водно-органическими смесями [7–9], в процессе которой возможно изменение структуры биоактивных компонентов, обусловленное окислением кислородом воздуха, изомеризацией, нарушением оптимального соотношения концентраций компонентов или строения некоторого биоактивного комплекса. Перспективным направлением в конструировании фитопрепаратов может стать создание композитов, включающих нативные растительные компоненты и высокодисперсные минеральные адсорбенты-носители, способствующие повышению биоактивности препаратов в результате перевода их в наноструктурированное состояние. Биоактивность таких композитов может зависеть и от особенностей формирования водно-органических кластерных структур на границах раздела, облегчающих транспорт веществ от полисахаридной/оксидной матрицы в слизистую оболочку желудка (кишечника) или ткани кожного покрова [10].

Одним из немногих методов, позволяющих анализировать особенности кластерного строения воды в гетерогенных системах, является ^1H ЯМР спектроскопия [10–14]. По энергии взаимодействия с окружением (твердой фазой, макромолекулами) вода может быть разделена на сильно- (SBW, изменение энергии Гиббса $\Delta G < -0,5$ кДж/моль) и слабо- (WBW, $\Delta G > -0,5$ кДж/моль) связанную, а по структуре водородных связей – на сильно- (химический сдвиг протонов $\delta_{\text{H}} > 3$ м.д.) и слабо- ($\delta_{\text{H}} = 1...2$ м.д.) ассоциированную (соответственно SAW и WAW,) воду [10–12]. Снижение величины G граничного слоя воды в результате адсорбционных взаимодействий в порах

сопровождается понижением температуры замерзания, а изменение среднего числа водородных связей, приходящихся на каждую молекулу воды (n), — к изменению величины δ_H . Поскольку при переходе от неассоциированного (газовая фаза или раствор в неполярных растворителях) к тетракоординированному состоянию (лед) молекул H_2O величина δ_H изменяется от 1 – 1,4 до 7 м.д., то по ней можно оценить величину n . Конечно, δ_H зависит и от прочности водородных связей (т.е. от переноса электронной плотности, что изменяет тензор экранирования протонов) [15]. Однако измерения показывают, что для воды, растворенной в таких растворителях, как ацетонитрил, ацетон и диметилсульфоксид (ДМСО), характеризуемых разными электроно-донорными свойствами [16], величина δ_H возрастает от 2,5 до 3,5 м.д., т.е. не сильно отличается от δ_H для димера воды (3,97 м.д., расчет методом GIAO/B3LYP/6-311++G(3df,3pd)). Поэтому можно считать, что независимо от типа центров связывания молекул воды в первом приближении δ_H является функцией n .

При относительно низком уровне гидратации систем вода, образуя кластеры, локализуется в местах с максимальным адсорбционным потенциалом вблизи полярных адсорбционных центров. Большинство систем как минерального, так и органического происхождения являются структурно и энергетически неоднородными. Поэтому строение кластеров воды, адсорбированных на разных центрах поверхности, может существенно отличаться. Если скорость молекулярного обмена воды, входящей в состав разных кластеров, меньше времени поперечной релаксации ядерных спинов (условие медленного обмена в шкале времени ЯМР [17]), то сигналы молекул воды, образующих эти кластеры, будут регистрироваться в спектрах отдельно с химическими сдвигами, зависящими от числа n и других условий, например, полярности и поляризуемости центров адсорбции. Таким образом, наличие в 1H ЯМР спектрах нескольких сигналов воды указывает на формирование разных типов кластеров, находящихся в разном окружении. Использование метода ЯМР-криопорометрии позволяет оценить структурные особенности этого окружения (например, распределение пор по размерам), а теоретические расчеты ЯМР спектров — более детально интерпретировать экспериментальные данные [10,12].

Цель настоящей работы — изучение методами низкотемпературной 1H ЯМР спектроскопии, ЯМР-криопорометрии и квантовой химии гидратации крахмала (St), влияния на нее слабополярных (хлороформ ($CDCl_3$)) и полярных (ДМСО) растворителей, условий перехода воды, связанной крахмалом, в кластерное состояние, влияния взаимодействия биомакромолекул с природным антиоксидантом — кверцетином (Qc) и нанокремнеземом А-300.

Материалы и методы исследований

Использовали St (Fluka), содержащий в исходном сухом состоянии около 0,03 г воды, и дейтерированные растворители: $CDCl_3$ и ДМСО (Aldrich) квалификации «для ЯМР спектроскопии» при содержании D не менее 99,5 %, что облегчало анализ 1H ЯМР спектров связанной воды.

Адсорбцию Qc осуществляли методом импрегнирования St водно-спиртовым раствором Qc (с последующей сушкой при 60 °C), что обеспечивало содержание Qc 5 % по отношению к сухому St. Нанокремнезем А-300 (удельная поверхность 297 м²/г, Калушский опытно-экспериментальный завод Института химии поверхности им. А.А. Чуйка) перед приготовлением образцов прокаливали при 400 °C в течение 4 ч. Композиты на основе St и А-300 готовили путем гомогенизации водной суспензии St и А-300 (20:1), которую высушивали при 70 °C в течение 6 ч.

1H ЯМР спектроскопия. Спектры снимали на ЯМР спектрометре высокого разрешения Varian Mercury 400 с рабочей частотой 400 МГц при 90° зондирующем

импульсе длительностью 2 мкс. Для предотвращения переохлаждения связанной воды спектры ^1H ЯМР записывали при нагревании образцов, предварительно охлажденных до 200 К. Температуру образцов регулировали, используя термоприставку Bruker VT-1000, с точностью ± 1 К. Интегральные интенсивности сигналов определяли с точностью $\pm 10\%$.

Определение характеристик связанной воды с помощью ^1H ЯМР спектроскопии подробно изложено ранее [10–14]. Эта методика базируется на сильном влиянии поверхности твердого тела либо полимеров на температуру фазового перехода связанной воды в лед. Свободная энергия льда с понижением температуры изменяется практически по линейному закону в использованном температурном диапазоне [18]. Изменение свободной энергии Гиббса (ΔG) и температура фазового перехода связаны соотношением:

$$\Delta G = -0,036(273,15 - T) \quad (1)$$

Температурная зависимость концентрации незамерзающей связанной воды $C_{\text{ув}}(T)$ может быть определена путем сравнения интегральных интенсивностей сигнала воды до и после замораживания (размораживания) исследуемого образца и образца сравнения с известной концентрацией воды. Площадь, ограниченная графиком $\Delta G(C_{\text{ув}})$, полученным из сопоставления двух температурных функций $\Delta G(T)$ и $C_{\text{ув}}(T)$, определяет величину межфазной энергии (γ_s), которая равна модулю суммарного понижения свободной энергии связанной воды, обусловленному эффектами на границах раздела фаз:

$$\gamma_s = K \int_0^{C_{\text{ув}}^{\text{max}}} \Delta G dC_{\text{ув}}, \quad (2)$$

где $C_{\text{ув}}^{\text{max}}$ – концентрация незамерзающей воды при $T = 273$ К, а K – размерный коэффициент ($K = 1/18$ при γ_s в Дж/г).

На зависимостях $\Delta G(C_{\text{ув}})$ обычно могут быть выделены участки, относящиеся к слабосвязанной (WBW) и сильносвязанной (SBW) воде. WBW соответствует той части воды, которая не замерзает при $250 < T < 273$ К, свободная энергия которой лишь незначительно понижена в результате адсорбционных взаимодействий с поверхностью адсорбентов или биополимеров. SBW не замерзает при $T < 250$ К [10,11]. Количественные (концентрации SBW ($C_{\text{ув}}^s$) и WBW ($C_{\text{ув}}^w$)) и энергетические (изменения свободной энергии ΔG^s и ΔG^w для SBW и WBW соответственно) характеристики связанной воды могут быть получены экстраполяцией соответствующих линейных участков функции $\Delta G(C_{\text{ув}})$ к осям координат.

Расчеты методом ЯМР-криопорометрии выполнены по методологии, описанной ранее [10,11], с использованием соотношения Гиббса–Томсона, согласно которому снижение температуры замерзания (ΔT) связанной воды обратно пропорционально радиусу (R) цилиндрических пор: $\Delta T = k/R$, где k – константа.

Теоретические расчеты ЯМР спектров методами *ab initio* или DFT требуют адекватных базисных наборов (не хуже чем 6-31G(d,p)) и соответствующих молекулярных или кластерных моделей. В случае биоактивных молекул, которые взаимодействуют с водой и поверхностью адсорбента, модельные системы включают 1–2 тысячи атомов. Для расчетов ЯМР спектров необходимо полностью оптимизировать геометрию этих систем, что является сложной задачей, лобовое решение которой возможно только с использованием суперкомпьютеров. Эта задача была решена с использованием упрощенного подхода, который предполагал: 1) расчет ЯМР спектров для малых систем методом GIAO/B3LYP/6-31G(d,p) (Gaussian 03 [19]); 2) расчет тех же систем методом PM3 [19, 20] (который хорошо воспроизводит строение водородных связей); 3) нахождение корреляционной зависимости химического сдвига протонов

(GIAO [19]) от зарядов на атомах q_H (PM3) как $\delta_H = a + bq_H$ (величины a и b постоянные только для однотипных систем), например, $\delta_{H,w} = -19.1372 + q_H \cdot 95.27608$ (м.д.) для свободных кластеров воды до $12H_2O$; или $\delta_{H,w} = -18.81135 + q_H \cdot 92.83742$ (м.д.) для воды при адсорбции водно-метановых смесей на полимерном адсорбенте; 4) расчет больших системы с оптимизацией геометрии методом PM3; 5) расчет величин δ_H по корреляционному уравнению; 6) расчет модельных спектров (функций распределения $f(\delta_H)$ величин химического сдвига протонов) с использованием гауссовских функций и параметров дисперсии пиков из экспериментальных ЯМР данных (или теоретических оценок) по уравнению

$$f(\delta_H) = (2\pi\sigma^2)^{-0.5} \sum_j \exp[-(\delta_j - \delta_H)^2 / 2\sigma^2], \quad (3)$$

где j – номер атома H в системе, σ^2 – дисперсия распределения, δ_j – химический сдвиг j -го атома H. Такой подход позволил достаточно надежно рассчитывать модельные ЯМР 1H -спектры сложных систем для более детального анализа и интерпретации экспериментальных ЯМР спектров. В рамках этого подхода можно исследовать и влияние жидкой среды (водной или органической) на ЯМР спектры.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведены 1H -ЯМР спектры воды, связанной в гидратированных порошках (рис. 1, а, в, г) и заваренном геле St (рис. 1, б), снятые в температурном диапазоне 200 – 280 К. Спектры представляют собой уширенный одиночный сигнал с химическим сдвигом δ_H в диапазоне 4,5–6,5 м.д.

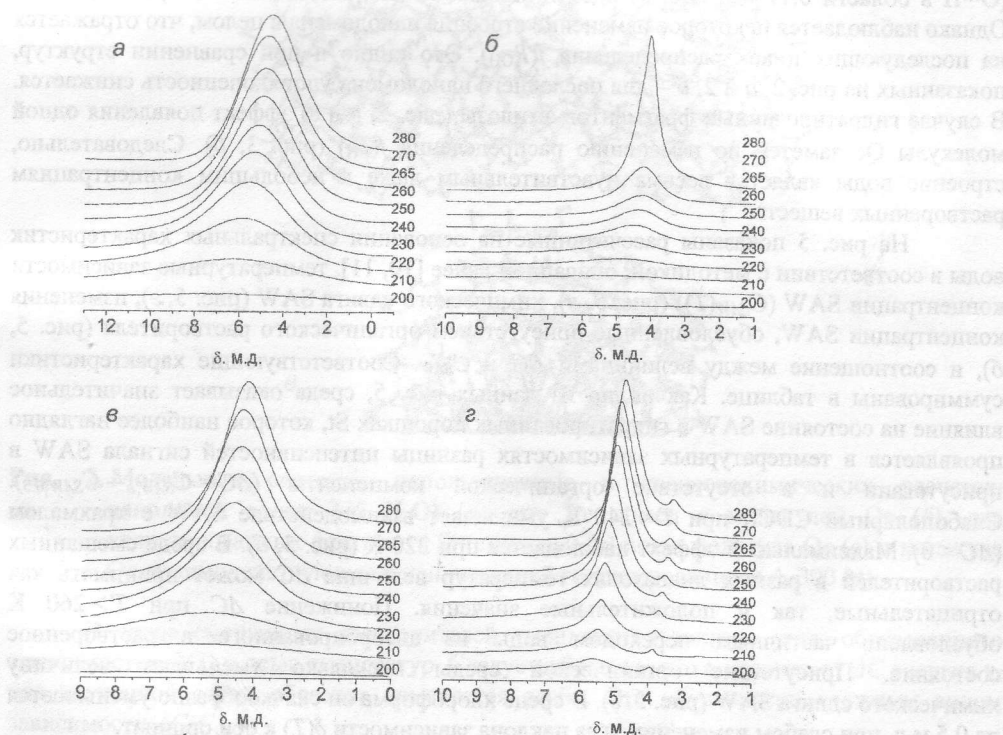


Рис. 1. Спектры 1H ЯМР незамерзающей воды в гидратированных порошках ($h=0,3$ г/г) (а, в, г, в заваренном геле ($h=1$ г/г) (б), в среде $CDCl_3$ (в) и $CDCl_3/DMCO$ (2:1) (г). Температура указана в К.

Полученные значения δ_H близки к химическим сдвигам жидкой воды и соответствуют $n = 2,5 \dots 3$. С понижением температуры интенсивность сигнала уменьшается вследствие частичного вымораживания связанной воды, а химический сдвиг увеличивается в результате большего влияния поверхности на более близкие к ней молекулы воды (т.е. характеризующиеся большей поляризацией, что соответствует снижению электронного экранирования протонов и сдвигу сигнала в слабое поле). Среда $CDCl_3$ (рис. 1, а) слабо влияет на форму спектров воды. При использовании смеси $CDCl_3/DMCO$ (2:1) (рис. 1, з) в спектрах появляется дополнительный сигнал воды при $\delta_H = 3,5 \dots 4$ м.д., обусловленный Н-комплексам $HO-H \dots O=S(CH_3)_2$ для воды, растворенной в смеси органических растворителей. Эти комплексы сольватированы органическими молекулами, что обуславливает при понижении температуры некоторое смещение сигнала протонов воды в область слабых магнитных полей. Интенсивность этого сигнала определяется соотношением свободных энергий связывания воды с St и ее растворения в смеси растворителей. В соответствии с данными рис. 1, б для геля St интенсивность сигнала воды при повышении температуры от 270 до 280 К изменяется не более чем вдвое. Это свидетельствует о сильном связывании воды макромолекулами, обусловленном наличием в них большого количества гидроксильных групп, образующих прочные Н-связи (рис. 2).

Теоретические расчеты 1H ЯМР спектров сложных систем (рис. 2) по методике, описанной выше, показывают, что происходит уширение спектров нанодоменов воды в присутствии $DMCO$, Qc или St (рис. 3). В целом изменение ближнего порядка (например, длин Н-связей, рис. 4) при попадании одной молекулы Qc в нанодомен из 275 молекул воды незначительно, поскольку первый ($O-H$ при 0,095 нм) и второй пики ($O \dots H$ в области 0,17 нм, рис. 4) идентичны для систем, показанных на рис. 2, а и б. Однако наблюдается некоторое изменение строения нанодомена в целом, что отражается на последующих пиках распределения $f(R_{OH})$. Это видно и при сравнении структур, показанных на рис. 2, а и 2, б – для последнего нанодомена упорядоченность снижается. В случае гидратированных фрагментов амилозы (рис. 2, в и з) эффект появления одной молекулы Qc заметен по изменению распределения $f(\delta_H)$ (рис. 3, б). Следовательно, строение воды является весьма чувствительным даже к небольшим концентрациям растворенных веществ.

На рис. 5 показаны рассчитанные на основании спектральных характеристик воды в соответствии с методикой, описанной ранее [10, 11], температурные зависимости концентрации SAW ($C_{SAW}(T)$) (рис. 5, а), химического сдвига SAW (рис. 5, з), изменения концентрации SAW, обусловленные присутствием органического растворителя (рис. 5, б), и соотношение между величинами ΔG и C_{SAW} . Соответствующие характеристики суммированы в таблице. Как видно из данных рис. 5, среда оказывает значительное влияние на состояние SAW в гидратированных порошках St, которое наиболее наглядно проявляется в температурных зависимостях разницы интенсивностей сигнала SAW в присутствии и в отсутствие органической компоненты ($\Delta C = C_{SAW,o} - C_{SAW|0,3}$). Слабополярный $CDCl_3$ при $T < 240$ К уменьшает взаимодействие SAW с крахмалом ($\Delta C < 0$). Максимальный эффект наблюдается при 220 К (рис. 5, б). В среде смешанных растворителей в разных диапазонах температур величина ΔC может принимать как отрицательные, так и положительные значения. Понижение ΔC при $T > 260$ К обусловлено частичным переходом воды из адсорбированного в растворенное состояние. Присутствие органической среды несколько уменьшает величину химического сдвига SAW (рис. 5, з). В среде хлороформа он скачкообразно уменьшается на 0,5 м.д. при слабом изменении угла наклона зависимости $\delta(T)$ к оси ординат.

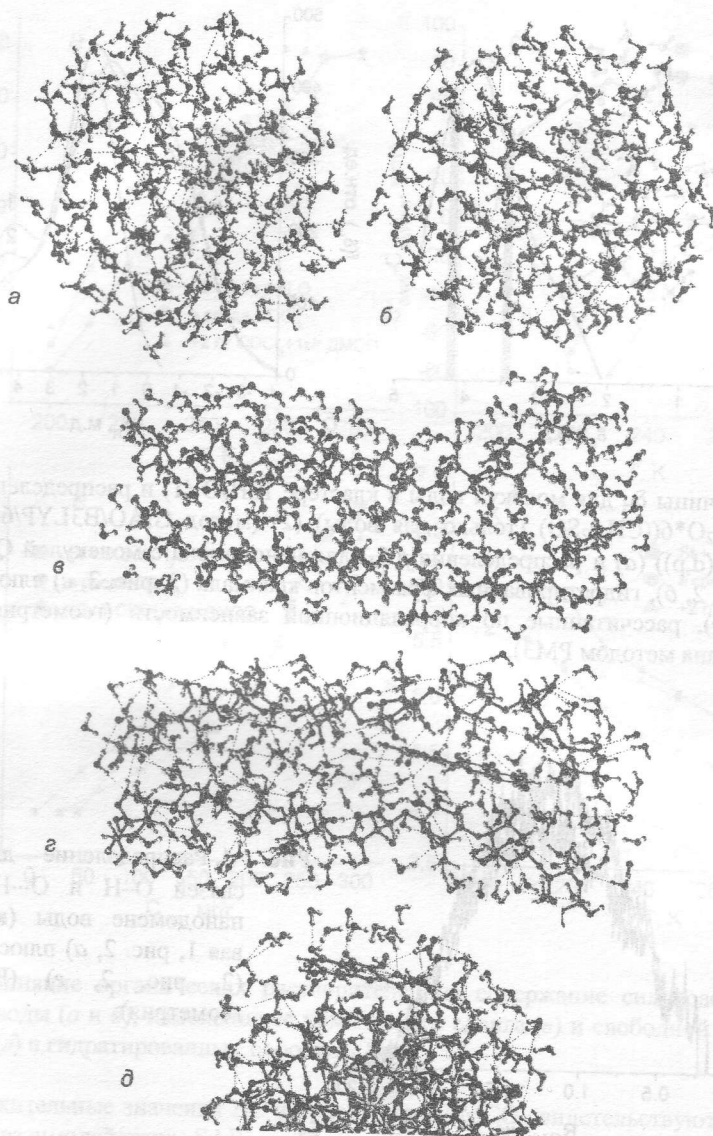


Рис. 2. Модельные системы, использованные в квантовохимических расчетах: нанодомен воды (275 H_2O) (а), тот же домен с молекулой Qc (б), два гидратированных фрагмента St (амилозы) (в) плюс молекула Qc (г) и молекула Qc , взаимодействующая с наночастицей гидратированного А-300 (д).

В среде смешанных растворителей уменьшается тангенс угла, образованного зависимостью $\delta(T)$ и осью температур. Следует отметить, что в отличие от ΔC энергия γ_s для изученной серии образцов изменяется слабо. Это обусловлено сложным видом зависимости $\Delta G(C_{\text{uw}})$.

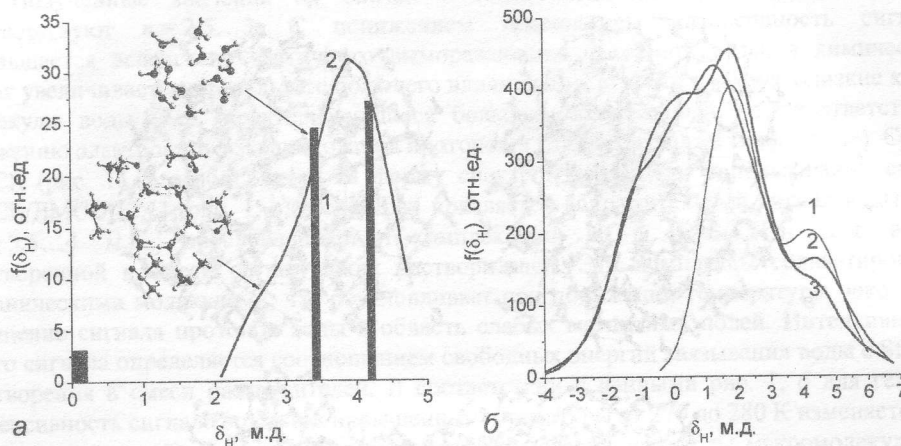


Рис. 3. Величины δ_H для молекул воды в кластере $12H_2O$ (1) и распределение $f(\delta_H)$ для $12H_2O \cdot 6((CH_3)_2SO)$ (только для воды) (2) (метод GIAO/B3LYP/6-31G(d,p)//6-31G(d,p)) (а) и распределения $f(\delta_H)$ для нанодомена с молекулой Qc (кривая 1, рис. 2, б), гидратированных фрагментов крахмала (2, рис. 2, в) плюс Qc (3, рис. 2, г), рассчитанные по корреляционной зависимости (геометрия оптимизирована методом PM3).

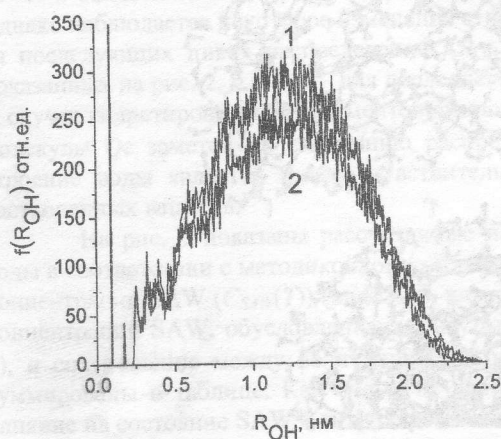


Рис. 4. Распределение длин связей O-H и O...H в нанодомене воды (кривая 1, рис. 2, а) плюс Qc (2, рис. 2, г) (PM3 геометрия).

Полученные результаты могут быть объяснены тем, что SAW в гидратированных порошках St находится в виде доменов. Среднее число водородных связей, в которых принимает участие каждая молекула воды, близко к таковому для жидкой воды ($n = 2,5 \dots 3$). С полисахаридными структурами эти кластеры связаны прочными H-связями. В пространстве между кластерами воды вблизи биомакромолекул (рис. 2) могут локализоваться молекулы $CDCl_3$. При этом взаимодействие водных кластеров с полимером, как и упорядоченность супрамолекулярной системы St/вода, может уменьшаться. Понижение температуры способствует усилению адсорбционных взаимодействий молекул $CDCl_3$, что приводит к ослаблению взаимодействий вода-St. В результате максимальное ослабление взаимодействия воды с крахмалом регистрируется при 220 К.

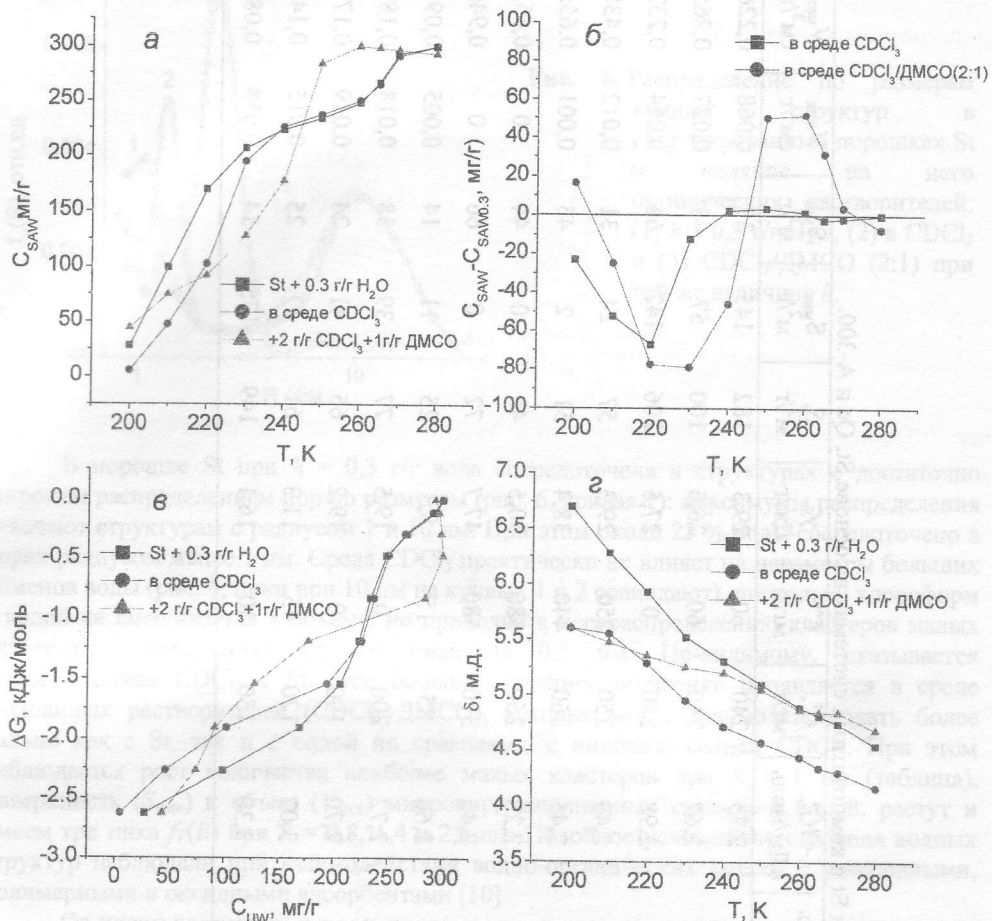


Рис. 5. Влияние органических растворителей на содержание сильноассоциированной воды (а и б), изменение ее химического сдвига (в) и свободной энергии Гиббса (з) в гидратированных порошках St.

Положительные значения ΔC в присутствии ДМСО свидетельствуют об увеличении энергии взаимодействия SAW с St (и ДМСО), которое может быть обусловлено дроблением доменов адсорбированной воды, формированием кластеров вода/ДМСО и переходного слоя, обогащенного молекулами ДМСО, образующими водородные связи с периферийными молекулами воды в доменах и кластерах, несвязанными с гидроксильными группами биополимера.

Изменение взаимодействия воды с St под влиянием органического растворителя соответствует изменению параметров заполненных водой полостей или соответствующих размеров кластеров и доменов воды, локализованных там (рис. 6).

Таблица 1. Характеристики воды, связанной в порошках St и композитных системах на основе St, Qc и A-300.

Образец	Твердая фаза	C_{H_2O} , г/г	$C_{свх3}$, г/г	$C_{дмсо}$, г/г	$-ΔG^s$, кДж/моль	C^s , мг/г	C^w , мг/г	$γ_s$, Дж/г	S_s , м ² /г	$S_{мин}$, м ² /г	$S_{мез}$, м ² /г	$V_{мин}$, см ³ /г	$V_{мез}$, см ³ /г
1	St	0,3	-	-	2,75	240	60	29,3	182	145	37	0,068	0,226
2	St	0,3	4,5	-	2,67	240	60	26,6	100	57	43	0,027	0,265
3	St	0,3	2	1	2,98	280	0	27,6	206	142	64	0,064	0,232
4	St	1	-	-	2,49	250	250	29,3	57	24	31	0,012	0,438
5	St+Qc	1,5	-	-	2,45	360	440	38,4	51	2	45	0,001	0,655
6	St+Qc	1,5*	-	-	2,28	260	380	30,5	48	0	44	0	0,655
7	St+Qc+A-300	2,3	-	-	2,45	370	580	47,7	72	0	66	0	0,946
8	St+Qc+A-300	0,1	-	-	2,66	85	15	8,3	25	11	14	0,005	0,094
9	St+Qc+A-300	0,2	-	-	2,72	200	0	19,5	77	39	38	0,018	0,185
10	St+Qc+A-300	0,2	4,5	-	2,70	190	0	19,2	65	41	24	0,019	0,171
11	St+Qc+A-300	0,2	3	0,5	3,02	120	45	11,3	61	37	25	0,015	0,149
12	St+Qc+A-300	0,2	3	1	3,30	150	30	16,1	149	135	14	0,053	0,089

*После кипячения образца в течение 3 мин.

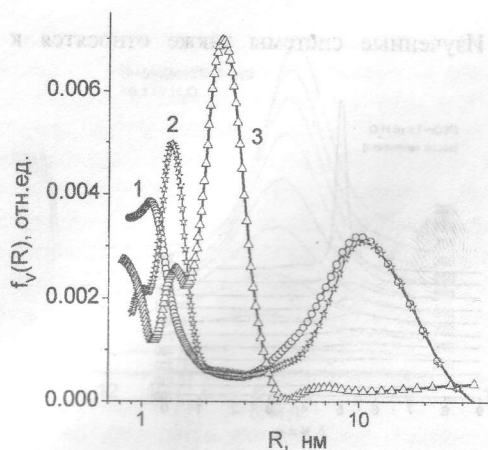


Рис. 6. Распределение по размерам водных структур в гидратированных порошках St и влияние на него органических растворителей: (1) $h = 0,3$ г/г H_2O , (2) в $CDCl_3$ и (3) $CDCl_3/DMCO$ (2:1) при той же величине h .

В порошке St при $h = 0,3$ г/г вода сосредоточена в структурах с достаточно широким распределением пор по размерам (рис. 6, кривая 1): максимумы распределения отвечают структурам с радиусом 1 и 10 нм. При этом около 23 % воды сосредоточено в порах радиусом менее 1 нм. Среда $CDCl_3$ практически не влияет на параметры больших доменов воды (рис. 6, пики при 10 нм на кривых 1 и 2 совпадают), поскольку хлороформ с водой не смешивается в объеме, но приводит к перераспределению кластеров малых размеров и смещению первого пика на 0,5 нм. По-видимому, сказывается взаимодействие $CDCl_3$ с St. Еще больше указанное смещение проявляется в среде смешанных растворителей ($CDCl_3 + DMCO$), которые могут взаимодействовать более сильно как с St, так и с водой по сравнению с индивидуальным $CDCl_3$. При этом наблюдается рост количества наиболее малых кластеров при $R < 1$ нм (таблица), поверхность ($S_{\text{мик}}$) и объем ($V_{\text{мик}}$) микропор, заполненных связанной водой, растут и имеем три пика $f_v(R)$ при $R = 0,8, 1,4$ и $2,3$ нм. Подобное усложнение строения водных структур наблюдали при взаимодействии водно-органических смесей с углеродными, полимерными и оксидными адсорбентами [10].

Qc плохо растворим в воде, поэтому он не переходит в водную среду даже при кипячении. Однако сравнение спектров воды (рис. 7, а, б) показывает, что после кипячения образца спектральные характеристики связанной воды существенно изменяются. Сигнал воды при 280 К сужается и появляется слабоинтенсивный сигнал WBW при $\delta = 4$ м.д., который исчезает при $T < 250$ К. Межфазная энергия γ_s уменьшается примерно на 20 % (таблица), что обусловлено уменьшением количества как сильно-, так и слабосвязанной воды. Следовательно, в процессе импрегнирования St Qc происходит перестройка полисахаридной матрицы, влияющая на характеристики системы при гелеобразовании. Вязкость образца после кипячения не увеличивается (т.е. существенного разворачивания макромолекул не происходит) и после нагревания сохраняется опалесценция, которая свидетельствует о наличии крупных (микронного размера) зерен St. Уменьшение концентрации связанной воды при кипячении может быть обусловлено процессами, вызванными адсорбцией молекул Qc в зазорах между биополимерными цепями (рис. 2), т.е. часть воды вытесняется в объемную фазу. На графиках $\Delta G(C_{uw})$ имеются вертикальные участки (рис. 8), обусловленные отсутствием замерзания связанной воды в широком диапазоне температур. Такой вид зависимостей характерен для микро- или мезопористых твердых тел [10, 21]. Аналогичные формы зависимостей $\Delta G(C_{uw})$ были получены ранее для водных суспензий или гелей St и

микрокристаллической целлюлозы [22–24]. Изученные системы также относятся к микро/мезопористым (таблица, рис. 6 и 8, в)

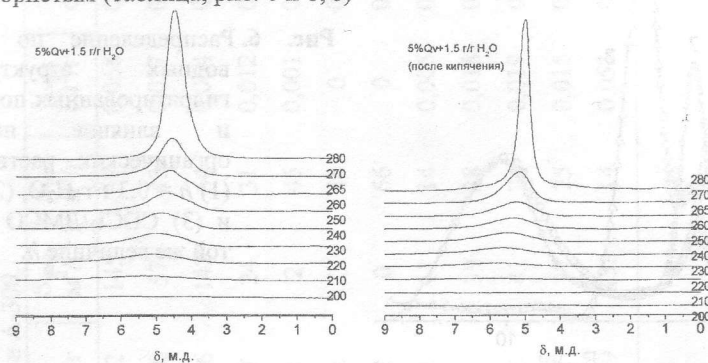


Рис. 7. Температурные изменения спектров ^1H ЯМР воды в водных суспензиях St, импрегнированного Qc. Температура указана в К.

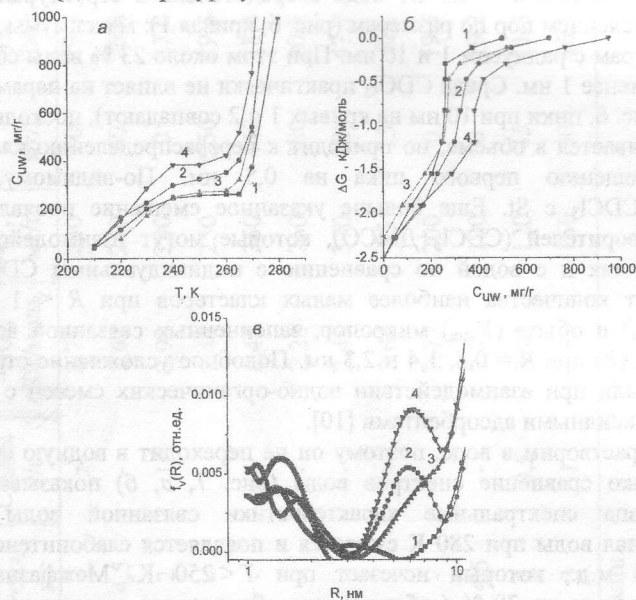


Рис. 8. Температурные зависимости концентрации незамерзающей воды в гидратированном крахмале при $h = 1$ г/г (1), St, импрегнированного Qc при $C_{Qc} = 0,05$ % (кривые 2–4) при $h = 1,5$ г/г (кривые 2 и 3) и 2,3 г/г и 5 % A-300 (4) (а), построенные на их основе зависимости $\Delta G(C_{uw})$ (б) и распределения по размерам структур связанной воды (в).

Таким образом, гидратация биополимерных молекул в водных концентрированных суспензиях St зависит от многих факторов, в частности от концентрации твердой фазы, наличия адсорбированных веществ и температурной обработки. Полученные сведения о лабильности исследованных систем согласуются с данными для водных суспензий микрокристаллической целлюлозы [21] и St [22,23] с разной концентрацией твердой фазы.

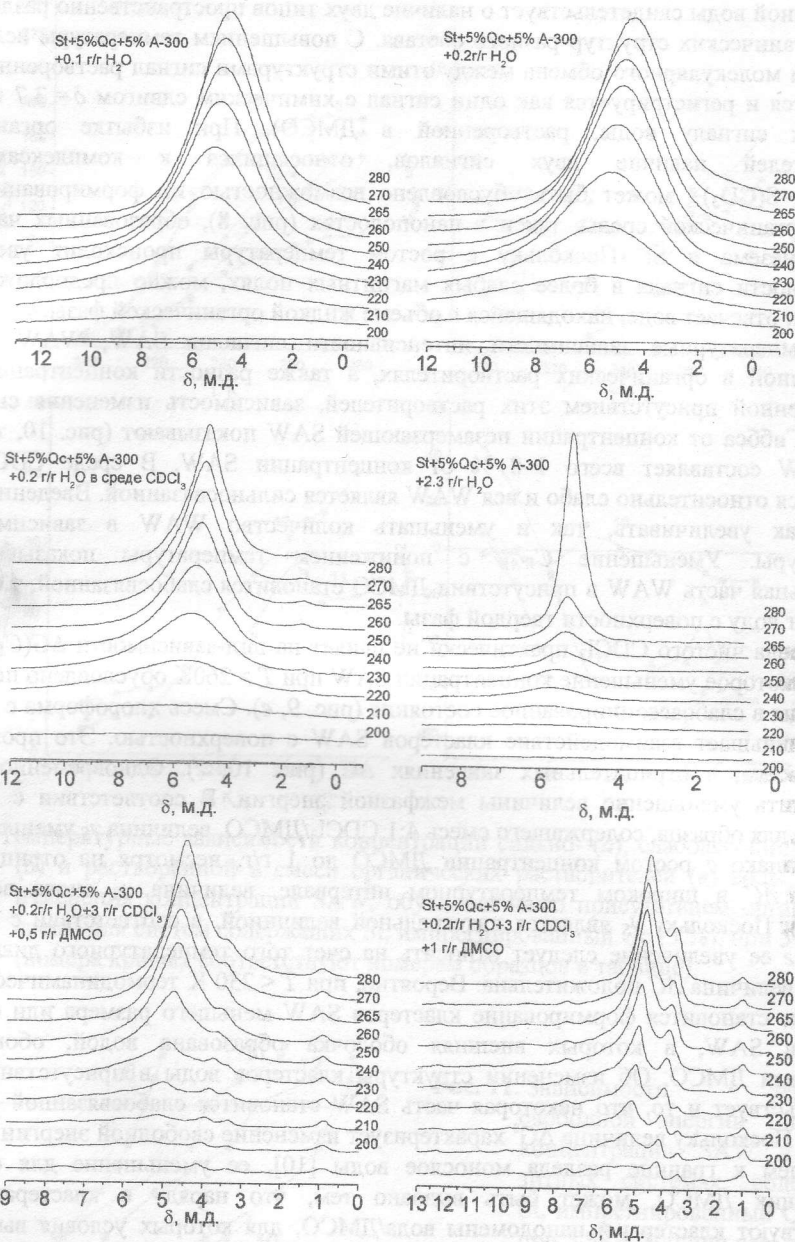


Рис. 9. Спектры воды в системах, содержащих St, импрегнированный 5% Qc и A-300 (5%) и органические добавки. Температура указана в К.

В отсутствие органических растворителей ^1H ЯМР спектры (рис. 9, а) визуально слабо отличаются от полученных без нанокремнезема (рис. 1, а). Однако в среде CDCl_3 появляется сигнал WAW с химическим сдвигом $\delta = 1,3$ м.д (рис. 9, в). При добавлении к системе ДМСО (рис. 9, д, е) интенсивность этого сигнала увеличивается почти вдвое. Одновременно в области $\delta = 3,5 \dots 4$ м.д. появляются один или два сигнала воды (SAW), растворенной в смеси органических растворителей. Наличие двух сигналов

растворенной воды свидетельствует о наличии двух типов пространственно разделенных водно-органических структур разного состава. С повышением температуры вследствие ускорения молекулярного обмена между этими структурами сигнал растворенной воды усредняется и регистрируется как один сигнал с химическим сдвигом $\delta = 3,7$ м.д. (т.е. близко к сигналу воды, растворенной в ДМСО). При избытке органических растворителей наличие двух сигналов, относящихся к комплексам типа $\text{HO}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{S}(\text{CD}_3)_2$, может быть обусловлено возможностью их формирования как в объеме органической среды, так и в нанополостях (рис. 8), образованных частицами нанокремнезема и St. Поскольку с ростом температуры происходит увеличение интенсивности сигнала в более слабых магнитных полях, можно предположить, что именно он отвечает воде, находящейся в объеме жидкой органической фазы.

Температурные зависимости интенсивности сигналов SAW, WAW и воды, растворенной в органических растворителях, а также разности концентраций SAW, обусловленной присутствием этих растворителей, зависимость изменения свободной энергии Гиббса от концентрации незамерзающей SAW показывают (рис. 10, таблица), что WAW составляет всего 1–8 % от концентрации SAW. В среде CDCl_3 C_{WAW} изменяется относительно слабо и вся WAW является сильносвязанной. Введение ДМСО может как увеличивать, так и уменьшать количество WAW в зависимости от температуры. Уменьшение C_{WAW} с понижением температуры показывает, что значительная часть WAW в присутствии ДМСО становится слабосвязанной, т.е. ДМСО вытесняет воду с поверхности твердой фазы.

Среда чистого CDCl_3 практически не влияет на вид зависимости $\Delta G(C_{\text{SAW}})$ (рис. 10, а). Некоторое уменьшение концентрации SAW при $T > 260\text{K}$ обусловлено переходом части воды в слабоассоциированное состояние (рис. 9, в). Смесь хлороформа с ДМСО в целом уменьшает взаимодействие кластеров SAW с поверхностью. Это проявляется, прежде всего, в отрицательных значениях ΔC (рис. 10, г). Одновременно должно происходить уменьшение величины межфазной энергии. В соответствии с данными таблицы, для образца, содержащего смесь 4:1 $\text{CDCl}_3/\text{ДМСО}$, величина γ_s уменьшается на 60 %. Однако с ростом концентрации ДМСО до 1 г/г, несмотря на отрицательные значения ΔC в широком температурном интервале, величина γ_s снова возрастает (таблица). Поскольку γ_s является интегральной величиной, в соответствии с данными рис. 10, г ее увеличение следует относить на счет того температурного диапазона, в котором величина ΔC положительна. Вероятно, при $T < 230\text{K}$ термодинамически более выгодным становится формирование кластеров SAW меньшего размера или слоистых кластеров SAW, в которых внешняя оболочка образована водой, обогащенной молекулами ДМСО. Об изменении структуры кластеров воды в присутствии ДМСО свидетельствует и то, что некоторая часть SAW становится слабосвязанной (таблица, рис. 11). Поскольку величина ΔG^s характеризует изменение свободной энергии Гиббса в ближайшем к границе раздела монослое воды [10], ее уменьшение для образцов, содержащих ДМСО, может быть вызвано тем, что наряду с кластерами SAW присутствуют кластеры и нанодомены вода/ДМСО, для которых условия замерзания воды отличаются от условий замерзания исходных кластеров SAW.

На рис. 12 приведены распределения по размерам структур SAW в смеси порошков St, импрегнированного Qc, и кремнезема, гомогенизированных путем тщательного растирания в фарфоровой ступке содержащих разное количество адсорбированной воды. Измерения проводили на воздухе и в среде органических растворителей. Увеличение концентрации ДМСО приводит к увеличению вклада более мелких кластеров воды. В целом в системах присутствует набор различных структур, что и обуславливает усложнение соответствующих ^1H ЯМР спектров по сравнению с гидратированным St.

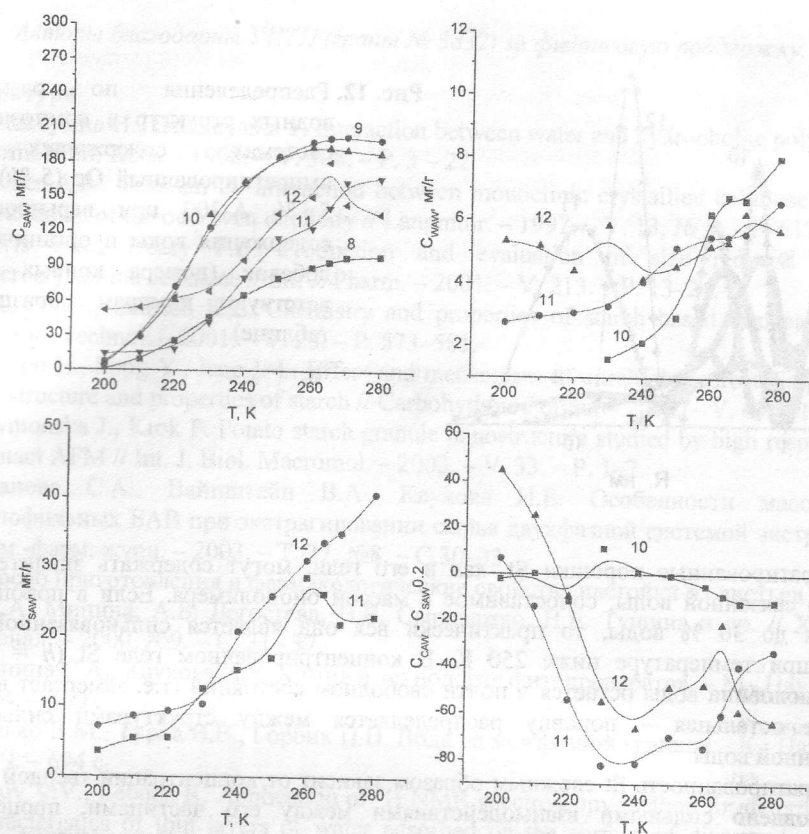


Рис. 10. Температурные зависимости концентраций сильно- (а), слабоассоциированной (б) и растворенной в смеси органических растворителей (в) воды, а также изменения концентрации SAW, обусловленного присутствием органической среды для систем содержащих St, импрегнированный Qc (5 %), при 5 % А-300 (номера кривых соответствуют номерам образцов в таблице).

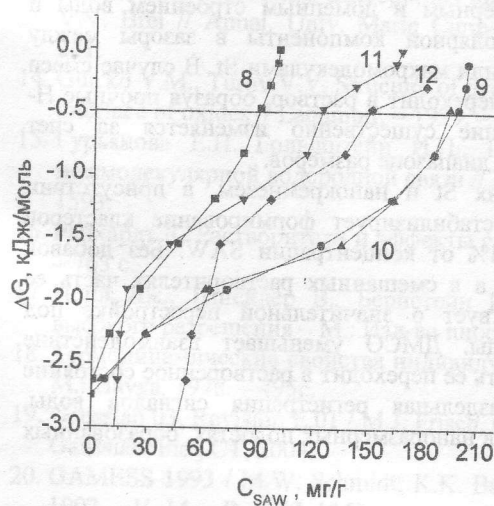


Рис. 11. Зависимости изменения свободной энергии Гиббса от концентрации SAW в композитных системах, содержащих St, импрегнированный Qc (5 %), при 5 % А-300 при варьировании содержания воды и органических добавок (номера кривых соответствуют номерам образцов в таблице).

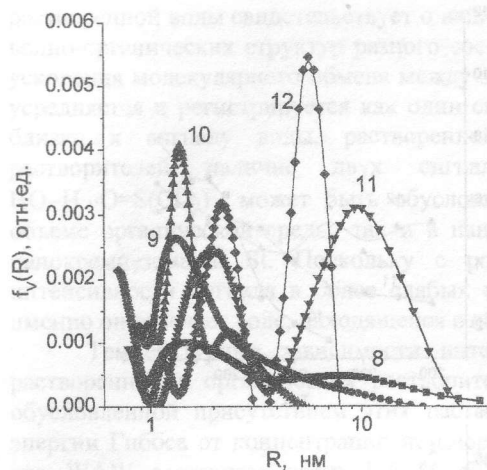


Рис. 12. Распределения по размерам водных структур в композитных системах, содержащих St, импрегнированный Qc (5 %), при 5 % А-300 при варьировании содержания воды и органических добавок (номера кривых соответствуют номерам образцов в таблице).

Выводы

Гидратированные порошки St, как и его гели, могут содержать значительное количество связанной воды, сопоставимое с массой биополимера. Если в порошке St содержится до 30 % воды, то практически вся она является сильновязанной, т.е. замерзает при температуре ниже 250 К. В концентрированном геле St ($h = 1$ г/г) примерно половина воды остается в почти свободном состоянии (т.е. замерзает вблизи 273 К), а остальная — поровну распределяется между структурами сильно- и слабосвязанной воды.

Гидратированность St сложным образом зависит от концентрации твердой фазы, что обусловлено сильными взаимодействиями между его частицами, процессами набухания и разворачивания макроцепей амилозы и амилопектина. При импрегнировании St кверцетином (полифенолом растительного происхождения) гидратированность частиц St увеличивается, что, вероятно, обусловлено дополнительным разупорядочением супрамолекулярной структуры St. При $T > 250$ К среда $CDCl_3$ слабо влияет на взаимодействие воды ($h = 0,3$ г/г) с поверхностью частиц St, а при более низких температурах взаимодействие воды с полисахаридными структурами сильно уменьшается. Это обусловлено кластерным и доменным строением воды и возможностью встраивания молекул слабополярной компоненты в зазоры между кластерами воды и поверхностью кремнезема или макромолекулами St. В случае смеси $CDCl_3$ с ДМСО часть адсорбированной воды переходит в раствор, образуя прочные Н-связи с молекулами ДМСО, и ее строение существенно изменяется за счет формирования кластеров и доменов в широком диапазоне размеров.

Для композитных систем, включающих St и нанокремнезем, в присутствии слабополярной среды $CDCl_3$, твердая фаза стабилизирует формирование кластеров WAW, концентрация которой составляет 3–4% от концентрации SAW. Без добавок ДМСО вся WAW является сильновязанной, а в смешанных растворителях часть ее становится слабосвязанной, что свидетельствует о значительной перестройке под влиянием ДМСО структуры связанной воды. ДМСО уменьшает взаимодействие кластеров SAW с поверхностью. При этом часть ее переходит в растворенное состояние и при низких температурах возможна раздельная регистрация сигналов воды, растворенной в объеме ДМСО и находящейся в наноразмерных полостях, образованных частицами твердой фазы.

Литература

1. Hatakeyama H., Hatakeyama T. Interaction between water and hydrophobic polymers // *Termochim. Acta.* – 1998. – V. 308. – P. 3 – 22.
2. Heiner A.P., Teleman O. Interaction between monoclinic crystalline cellulose and water: breakdown of the odd/even duplicity // *Langmuir.* – 1997. – V. 13, № 3. – P. 513 – 518.
3. Levis S.R., Deasy P.B. Production and evaluation of size reduced grades of microcrystalline cellulose // *Int. J. Pharm.* – 2001. – V. 213. – P. 13–24.
4. Beery K.E., Ladisch K.E. Chemistry and properties of starch based desiccants. // *Enz. Microb. Technol.* – 2001. – V. 28. – P. 573–581.
5. Katopo H., Song Y., Jane J.-L. Effect and mechanism of ultrahigh hydrostatic pressure on the structure and properties of starch // *Carbohydrate Polym.* – 2002. – V. 47. – P. 233–244.
6. Szymonska J., Krok F. Potato starch granule nanostructure studied by high resolution non-contact AFM // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2003. – V. 33. – P. 1–7.
7. Иванова С.А., Вайнштейн В.А., Каухова И.Е. Особенности массопереноса липофильных БАВ при экстрагировании сырья двухфазной системой экстрагентов // *Хим.-фарм. журн.* – 2003. – Т. 37, №8. – С.30–33.
8. Способ приготовления и фармакологические свойства настойки из листьев женьшеня / С.А. Минина, А.Б. Легостева, Н.В. Сыровежко, Н.Е. Тушина и др. // *Хим.-фарм. журнал.* – 2000, №9. – С. 31–37.
9. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. – М., Наука. – 2004. – 560 с.
10. Гунько В.М., Туров В.В., Горбик П.П. Вода на межфазной границе – К.: Наук. думка, 2009. – 694 с.
11. Turov V.V., Lebeda R. Application of ^1H NMR spectroscopy method for determination of characteristics of thin layers of water adsorbed on the surface of dispersed and porous adsorbents // *Adv. Coll. Interf. Sci.* – 1999. – V. 79. – P. 173 – 211.
12. Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic interfaces / V.M. Gun'ko, V.V. Turov, V.M. Bogatyrev, V.I. Zarko, R. Lebeda, E.V. Goncharuk, A.A. Novza, A.V. Turov, A.A. Chuiko // *Adv. Coll. Interf. Sci.* – 2005. – V. 118. – P. 125 – 172.
13. A method for determination of free surface energy and adhesion forces. Highly dispersed oxides, mesoporous and microporous materials / V.V. Turov, V.M. Gun'ko, R. Lebeda, V.V. Brei // *Annal. Univ. Marie Curie-Sklodowska. Chemia.* – 2001. – V.56. – P. 209 – 241.
14. Gun'ko V.M., Turov V.V. Structure of hydrogen bonds and ^1H NMR spectra of water at the interface of oxides // *Langmuir.* – 1999. – V. 15. – P. 6405 – 6415.
15. Гурьянова Е.Н., Гольдштейн И.П., Перепелкова Т.И. Полярность и прочность межмолекулярной водородной связи // *Успехи химии.* – 1976. – Т. 45, № 9. – С. 1568–1593.
16. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии. – М.: Мир, 1991. – 763 с.
17. Попп Дж., Шнейдер В., Бернштейн Г. Спектры ядерного магнитного резонанса высокого разрешения – М.: Изд-во иностр. лит. – 1962. – 430с.
18. Термодинамические свойства индивидуальных веществ / Под ред. В.П. Глушкова. – М.: Наука, 1978. – 495с.
19. Gaussian 03, Revision E.01 / M.J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel et al. Wallingford,, Gaussian, Inc., CT, 2004.
20. GAMESS 1993 / M.W. Schmidt; K.K. Baldridge, J.A. Boatz et al // *J. Comput. Chem.* – 1993. – V. 14. – P. 1347–1363.

21. Shulga O.V., Kerchhoff J., Turov V.V. The influence of the dispersed oxides on the interface energy of the microcrystalline cellulose in water suspension, mesoporous and microporous materials // Chemistry, Physics and Technology of Surface. – 2001. – № 4–6. – P. 267–274.
22. Связанная вода в гидрогелях крахмала, содержащих добавки высокодисперсного кремнезема / В.В. Туров, А.А. Новза, Р. Лебода, Я. Скубишевска-Зиеба и др. // Пробл. криобиол. и криомедицины – 2005. – Т. 15. – С. 636–644.
23. Interfacial phenomena in starch/fumed silica at varied hydration levels / V.M. Gun'ko, P. Pissis, A. Spanoudaki et al // Coll. Surf. A – 2008. – V. 320. – P.247–259.

EFFECT OF QUERCETINE, NANOSILICA AND ORGANIC SOLVENTS ON STARCH HYDRATION

V.V. Turov, V.M. Gun'ko, V.N. Barvinchenko, A.A. Turova, A.A. Rugal,
P.P. Gorbyk

*Chuiko Institute of Surface Chemistry, NAS of Ukraine
General Naumov street 17, 03164, Kyiv-164*

State and structural characteristics of water bound to starch and an influence of nanosilica, quercetin immobilized on nanosilica's surface and organic solvents (chloroform and dimethylsulfoxide) were studied using low-temperature ^1H NMR spectroscopy, NMR-cryoporometry and quantum chemistry methods. It was established that interfacial water was in a cluster state. Additionally, solid phase stabilized clusterization of weakly associated water (3 – 4 % of total water concentration) in the presence of weakly polar chloroform medium. All interfacial water appeared to be strongly bound without addition of dimethylsulfoxide and a portion of this water transforms into weakly bound in a mixture of solvents that testify significant re-organization of bound water structure in the presence of dimethylsulfoxide.

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ, НАНОКРЕМНЕЗЕМУ ТА ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ НА ГІДРАТАЦІЮ КРОХМАЛЮ

В.В. Туров, В.М. Гунько, В.Н. Барвинченко, А.А. Турова, А.А. Ругаль,
П.П. Горбик

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України
бул. Генерала Наумова, 17, 03164, Київ-164*

Методами низькотемпературної ^1H ЯМР спектроскопії, ЯМР-кріопорометрії та квантово-хімічного моделювання досліджено стан, структурні характеристики води, зв'язаної крохмалем, і вплив на них іммобілізованого на поверхні кверцетину, нанокремнезему і органічних розчинників (хлороформу і диметилсульфоксиду). Встановлено, що міжфазна вода знаходиться в кластерному стані, причому в присутності слабополярного середовища хлороформу, тверда фаза стабілізує формування кластерів слабоасоційованої води, концентрація якої складає 3 – 4 % від загальної концентрації води. Без добавок диметилсульфоксиду вся слабоасоційована вода є сильнозв'язаною, а в змішаних розчинниках частина її стає слабозв'язаною, що свідчить про значну перебудову під впливом диметилсульфоксида структури зв'язаної води.