



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Sigita Vilkaitė

**Anijoninio krakmolo sandaros įtaka netirpių polimerų kompleksų
susidarymui**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovė

dr. Ramunė Rutkaitė

KAUNAS, 2016

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**Anijoninio krakmolo sandaros įtaka netirpių polimerų kompleksų
susidarymui**

Baigiamasis magistro projektas
Studijų programa Chemijos inžinerija (kodas 621H81004)

Vadovas

dr. Ramunė Rutkaitė

Recenzentas

dr. Justa Širvaitytė

Darbą atliko

Sigita Vilkaitė

KAUNAS, 2016



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Cheminės technologijos fakultetas

Sigita Vilkaitė

Studijų programa Chemijos inžinerija (kodas 621H81004)

„Anijoninio krakmolo sandaros įtaka netirpių polimerų kompleksų susidarymui“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2016m. gegužės mėn. 27 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Sigitos Vilkaitės** baigiamasis darbas tema „Anijoninio krakmolo sandaros įtaka netirpių polimerų kompleksų susidarymui“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjus.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(studento vardas ir pavardė)

(parašas)

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Tvirtinu:
Cheminės technologijos fakulteto dekanas
Prof. E.Valatka

Dekano įsakymas ST18-F-02-1
2016 m. balandžio 26 d.

Suderinta:
Polimerų chemijos ir technologijos katedros
vedėjas prof. J. V. Gražulevičius
2016 m. balandžio 26 d.

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO UŽDUOTIS

Išduota studentui (-ei) Sigitai Vilkaitei

1. Darbo tema: **Anijoninio krakmolo sandaros įtaka netirpių polimerų kompleksų susidarymui.**

2. Darbo tikslas ir uždaviniai:

Ištirti įvairaus pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo sandaros įtaką vandenyje netirpių polimerų kompleksų susidarymui.

3. Darbo sudėtinės dalys:

1. Literatūros apžvalga:

1.1 Liuminescencija ir jos taikymas.

1.2 Krakmolo dariniai ir jų taikymas

2. Medžiagos ir metodai.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas:

3.1 Anijoninio hidroksietilkrakmolo sintezė ir sandara.

3.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo modifikavimas fluorescenciniu žymekliu.

3.3 Anijoninio hidroksietilkrakmolo fluorescenciniai tyrimai.

3.4 Vandenyje netirpių anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų sudarymas ir savybės.

3.5 Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų dalelių dispersinių sistemų fluorescenciniai tyrimai.

3.6 Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos technologinis aprašymas.

5. Išvados.

6. Bibliografinių nuorodų sąrašas.

Užduoties išdavimo data 2014 m. rugsėjo 1 d.

Užbaigto darbo pateikimo terminas 2016 m. gegužės 27 d.

Vadovas: dr. Ramunė Rutkaitė
(vardas, pavardė)

(parašas, data)

Užduotį gavau: Sigita Vilkaite
(vardas, pavardė)

(parašas, data)

Turinys

SANTRAUKA	7
SUMMARY	8
Simboliai ir santrumpos	9
ĮVADAS.....	10
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	12
1.1 Liuminescencija ir jos taikymas	12
1.1.1 Liuminescencija	12
1.1.2 Fluorescencijos spektroskopijos metodai	18
1.1.3 Fluoroforai	19
1.2 Krakmolo dariniai ir jų taikymas.....	20
1.2.1 Krakmolas	20
1.2.2 Krakmolo modifikavimas	23
1.2.3 Anijoninis krakmolas	24
1.2.4 Anijoninio krakmolo taikymo sritys	26
2. DARBO METODIKA.....	28
2.1 Naudotos medžiagos.....	28
2.2 Tyrimų metodika	31
2.2.1 Anijoninio hidroksietilkrakmolo gavimas	31
2.2.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo pakeitimo laipsnio nustatymas	31
2.2.3 Anijoninio hidroksietilkrakmolo modifikavimas fluorescenciniu žymekliu	32
2.2.4 Fluorescencinio žymeklio kiekio nustatymas	32
2.2.5 Sausų medžiagų kiekio nustatymas	33
2.2.6 FT-IR spektroskopija	34
2.2.7 Anijoninio krakmolo polikompleksų vandenyje sudarymas.....	34
2.2.8 Anijoninio krakmolo polikompleksų dalelių dydžio matavimas	34
2.2.9 Dzeta potencialo matavimas	34
2.2.10 Potenciometrinis titravimas	35
2.2.11 Bandinių nuostoviosios ir laiko skyros fluorescenciniams matavimams paruošimas	35
2.2.12 Nuostoviosios fluorescencijos matavimai.....	36
2.2.13 Laiko skyros fluorescencijos matavimai.....	36
2.2.14 Skenuojanti elektroninė mikroskopija	36
2.2.15 Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas	37

3. EKSPERIMENTŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	38
3.1 Anijoninio hidroksietilkrakmolo sintezė ir sandara.....	38
3.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo modifikavimas fluorescenciniu žymekliu.....	40
3.3 Anijoninio hidroksietilkrakmolo fluorescenciniai tyrimai	44
3.3.1 Anijoninio hidroksietilkrakmolo nuostoviosios fluorescencijos tyrimai	44
3.3.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo laiko skyros fluorescencijos tyrimai	51
3.4 Vandenyje netirpių anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų sudarymas ir savybės.....	54
3.5 Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų dalelių dispersijų fluorescenciniai tyrimai	61
3.5.1 Dalelių dispersijų nuostoviosios fluorescencijos tyrimai	61
3.5.2 Dalelių dispersinių sistemų laiko skyros fluorescencijos tyrimai.....	65
3.6 Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos technologinis aprašymas.....	67
Išvados.....	70
Literatūros sąrašas	71

Vilkaitė, Sigita. Anijoninio krakmolo sandaros įtaka netirpių polimerų kompleksų susidarymui. Magistro baigiamasis projektas / dr. vadovė Ramunė Rutkaitė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Chemijos inžinerija.

Reikšminiai žodžiai: *anijoninis hidroksietilkrakmolai, fluorescencinė spektroskopija, polimeriniai kompleksai.*

Kaunas, 2016. 74 p.

SANTRAUKA

Vandenyje tirpūs anijoniniai hidroksietilkrakmolai su anijoninių grupių pakeitimo laipsniu 0,25 ir 0,49 gauti vykdant hidroksietilkrakmolo eterinimo natrio monochloracto rūgštimi reakciją šarminėje terpėje. Skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninį hidroksietilkrakmolą chemiškai modifikavus 5-aminofluoresceinu gauti nauji fluorescenciniu žymekliu modifikuoto anijoninio hidroksietilkrakmolo dariniai. Atlikus nuostoviosios ir laiko skyros fluorescencinės spektroskopijos tyrimus, nustatyta, kad fluorescencinio zondo pireno, soliubilizuoto anijoninio hidroksietilkrakmolo vandeniniuose tirpaluose, fluorescencijos parametrų pokyčiai atspindi šių polielektrolitų konformacinius pokyčius vandenyje. Vandens terpėje sąveikaujant anijoniniam hidroksietilkrakmolui su polikatijonu poli(dialildimetilamonio chloridu) vyksta netirpių polielektrolitinių kompleksų susidarymas. Atlikus dzeta potencialo, dalelių dydžio ir skenuojančios elektroninės mikroskopijos tyrimus, nustatyta, kad gautų nestechiometrinių polielektrolitinių kompleksų dalelės, kurios yra teigiamo krūvio rūgštinėje terpėje bei neigiamo krūvio neutralioje ir šarminėje terpėse, yra submikroninio dydžio. Paruoštas anijoninio hidroksietilkrakmolo/poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos technologinis aprašymas, pagal kurį galima pagaminti 109,44 kg produkto per parą.

Vilkaitė, Sigita. The Influence of Anionic Starch Structure on Formation of Insoluble Polymeric Complexes: Master's thesis in Technological science / supervisor assoc. Ramunė Rutkaitė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Technological Science, Chemical Engineering.

Key words: *anionic hydroxyethyl starch, fluorescence spectroscopy, polymer complexes.*

Kaunas, 2016. 74 p.

SUMMARY

In this study, water soluble anionic hydroxyethyl starch with degree of substitution of 0.25 and 0.49 were obtained through hydroxyethyl etherification reaction with sodium chloroacetic acid in an alkaline environment. Anionic hydroxyethyl starches with degree of substitution of 0.25 and 0.49 were then modified with 5-aminofluorescein and new fluorescein modified anionic hydroxyethyl starches were obtained. Steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopy experiments performed on water soluble anionic hydroxyethyl starches by using fluorescent probe pyrene revealed that conformational changes of polyelectrolytes in water are reflected by the changes of fluorescence parameters. By the interactions of anionic hydroxyethyl starches and polycation poly(diallyldimethylammonium chloride) non-soluble polyelectrolyte complexes were formed in water. The zeta potential, particle size and scanning electron microscopy measurements showed that the resulting non-stoichiometric polyelectrolyte complex submicron-sized particles are positively charged in acidic medium and negatively charged in neutral and basic media. The technological process for manufacturing of anionic hydroxyethyl starch/poly(diallyldimethylammonium chloride) particles to produce 109,44 kg of product per day has been proposed.

Simboliai ir santrumpos

PL — pakeitimo laipsnis

KMK — karboksimetilkrakmolas

mClAR — monochloracto rūgštis

HOEK — hidroksietilkrakmolas

AOEK — anijoninis hidroksietilkrakmolas

AOEK_{0,28} — anijoninis hidroksietilkrakmolas, kurio pakeitimo laipsnis 0,28

AOEK_{0,55} — anijoninis hidroksietilkrakmolas, kurio pakeitimo laipsnis 0,55

PDADMACl — poli(dialidimetilamonio chloridas)

AOEK_{0,28}—FL — fluoresceinu modifikuotas anijoninis hidroksietilkrakmolas, kurio pakeitimo laipsnis 0,28

AOEK_{0,55}—FL - fluoresceinu modifikuotas anijoninis hidroksietilkrakmolas, kurio pakeitimo laipsnis 0,55

ζ — dzeta potencialas

EDAC — N-(3-dimetilaminopropil)-N-etilkarbodiimido hidrochloridas

IVADAS

Kadangi iškastinių žaliavų kiekis yra ribotas, susidomėjimas atsinaujinančiomis žaliavomis nuolat didėja. Todėl gamtinių oligosacharidų ir polisacharidų pritaikymas tampa vis patrauklesnis dėl bioskaidumo savybių. Vienas iš šių stambiamolekulių junginių yra krakmolas. Šis polimeras yra gamtinis, atsinaujinantis, biologiškai skaidus. Kaip energijos šaltinis yra gaminamas daugelio augalų. Taip pat, šis gamtinis polimeras yra antroje vietoje pagal biomasės medžiagų paplitimą gamtoje. Siekiant išplėsti šio biopolimero panaudojimo galimybes, krakmolas gali būti modifikuojamas. Pakeitus aktyvų hidroksigrupės vandenilį gaunami naujų funkcinių grupių turintys polisacharidų dariniai. Krakmolo dariniai yra plačiai naudojami maisto, popieriaus, tekstilės pramonėje bei kitose srityse.

Modifikuotas krakmolas pasižymi geresnėmis savybėmis, kurių neturi gamtinis krakmolas. Anijoninis krakmolas yra tirpus šaltame vandenyje, jam būdinga mažesnė geliacijos temperatūra ir didesnis pH stabilumas. Anijoninis krakmolas gaunamas vykdant cheminį modifikavimą, kurio metu prie gamtinio krakmolo gali būti prijungtos oksido-, sulfo-, karboksido- ar fosfatogrupės. Toks modifikavimas įvardijamas kaip krakmolo oksidavimas, sulfoninimas, karboksilinimas ir fosforilinimas. Populiariausias techniniams tikslams naudojamas anijoninis krakmolas yra karboksimetilkrakmolas (KMK).

Modifikuoti krakmolo dariniai turi teigiamo ar neigiamo krūvio grupių ir pasižymi išskirtinėmis savybėmis sudarant polielektrolitinius kompleksus. Vienas iš patogesnių būdų gautiems polimerų kompleksams pritaikyti yra panaudojant jų stabilius homogeniškus tirpalus ar koloidinių dalelių dispersijas, kai pilnas fazių atsiskyrimas dar nėra įvykęs. Yra žinoma, kad stabilūs tirpalai bei dispersijos gali būti suformuoti, esant tam tikroms kompleksų sudarymo sąlygoms, pvz. sumaišius silpnas jônicas grupes turinčius skirtingos molekulinės masės polielektrolitus nestechiometriniais santykiais. Norint sėkmingai pritaikyti polikompleksų daleles, reikia ne tik užtikrinti dalelių dispersijos stabilumą, bet taip suformuoti homogenišką panašaus dydžio dalelių dispersiją. Ypatingo dėmesio susilaukia polimerų kompleksai, kuriems susidarant formuojamos nanodydžio ar submikroninio dydžio dalelės. Tokios nestechiometrinių polikompleksų nanodalelės gali sąveikauti tiek su priešingą krūvį turinčiomis, tiek su neutraliomis molekulėmis. Dėl šios priežasties jas galima toliau modifikuoti arba pritaikyti kaip kitų makromolekulių ar mažamolekulių junginių nešiklius.

Darbo aktualumas: Pastaruoju metu, intensyviai vystantis nanotechnologijoms, nanomedžiagas (nanodaleles bei nanopluoštas) bandoma pritaikyti įvairiems tikslams. Nanomedžiagos dėl savo didelio paviršiaus ploto bei reakingumo gali būti puikūs adsorbentai, katalizatoriai bei jutikliai. Pastaruoju metu tyrėjai ypatingą dėmesį skiria gamtinių polisacharidų nanodalelių bei nanostruktūrų (nanopluoštu) gavimui ir savybių tyrimams. Nustatyta, kad krūvį turinčių polielektrolitų nanodariniai yra labai perspektyvūs plastikų užpildai, maisto priedai, vaistų pernešėjai, medžiagos implantams, bioskaidūs kompozitai, dangų rišikliai, klėjai ir sorbentai lengvai prijungiantys bioaktyvias molekules ar sunkiųjų metalų jonus. Deja, literatūros duomenų apie nanodalelių gavimą ir jų savybes iš gamtinio krakmolo modifikuotų junginių polikompleksų, skaičius yra labai ribotas.

Darbo tikslas: Ištirti įvairaus pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo sandaros įtaką vandenyje netirpių polimerų kompleksų susidarymui.

Darbo tikslui įgyvendinti reikia išspręsti šiuos uždavinius:

- Susintetinti įvairaus pakeitimo laipsnio anijoninį hidroksietilkrakmolą;
- Ištirti įvairaus pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo elgesį vandenyje taikant nuostoviosios ir laiko skyros fluorescencinės spektroskopijos metodus;
- Ištirti įvairaus pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo ir polidialildimetilamonio chlorido sąveiką vandenyje ir netirpių polimerų kompleksų susidarymo sąlygas ir charakteristikas;
- Ištirti anijoninio hidroksietilkrakmolo ir polidialildimetilamonio chlorido kompleksų dalelių savybes vandenyje, taikant nuostoviosios ir laiko skyros fluorescencinės spektroskopijos metodus;
- Paruošti anijoninio hidroksietilkrakmolo ir polidialildimetilamonio chlorido dalelių gamybos technologinį aprašymą.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Liuminescencija ir jos taikymas

1.1.1 Liuminescencija

Per pastaruosius 20 metų žymiai pasikeitė požiūris į liuminescenciją, todėl išaugo liuminescencijos spektroskopijos panaudojimas įvairiose mokslo srityse. Fluorescencijos spektroskopija dabar plačiai naudojama biotechnologijoje, medicinos diagnostikoje, DNR sekų ir genetinei analizei. Fluorescencijos spektroskopijos metodai yra didelio jautrumo, matavimus galima atlikti intraceliulinių molekulių, kartais ir net vienos molekulės lygmenyje [1].

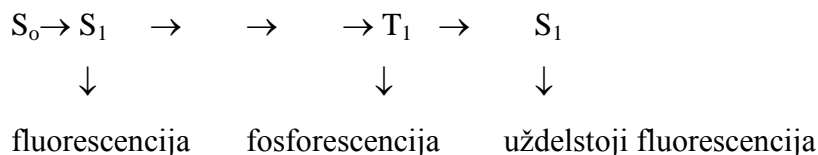
Liuminescencija yra junginio išspinduliuota šviesa (emisija), junginio molekulėms esant sužadintoje būsenoje. Sugerdama šviesos kvantą, molekulė pereina į sužadintąją būseną, kuri nėra pusiausvyroje su supančia aplinka. Sužadavimo energija yra dezaktyvuojama vykstant spinduliniam šuoliui [1]. Priklausomai nuo sužadintosios būsenos prigimties, liuminescencija skirstoma į fluorescenciją, fosforescenciją ir uždelstąją fluorescenciją [1].

Fluorescencija — spindulinis šuolis tarp vienodo daugialypumo būsenų. Organinių junginių molekulėse fluorescencija paprastai atitinka $S_1 \rightarrow S_0$ šuolį, kai vyksta perėjimas iš S_1 būsenos žemiausio vibracinio lygmens į pagrindinės būsenos vibracinius energijos lygmenis. Fluorescencijos spinduliavimo greitis yra 10^8 s^{-1} , taigi fluorescencijos gyvavimo trukmė yra apie 10 ns ($10 \cdot 10^{-9} \text{ s}$) [2].

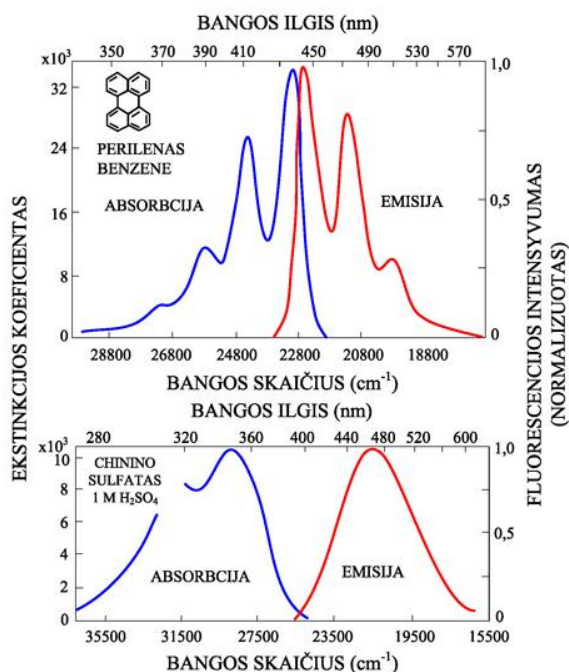
Fosforescencija — spindulinis šuolis tarp skirtingo daugialypumo būsenų. Vyksta perėjimas iš tripletinės būsenos į pagrindinės būsenos vibracinius energijos lygmenis, dažniausiai vyksta šuolis $T_1 \rightarrow S_0$. Šis perėjimas yra draudžiamas pagal sukinį. Todėl spinduliavimo greitis yra mažas ($10^3 - 10^0 \text{ s}^{-1}$), o fosforescencijos gyvavimo trukmė yra nuo milisekundžių iki sekundžių ar net minučių. Fosforescencija paprastai nestebima organinių medžiagų tirpaluose kambario temperatūroje. Taip yra dėl to, kad egzistuoja daug dezaktyvuojančių procesų, kurie konkuruoja su emisija, tokių kaip nespindulinė dezaktyvacija, gesinimas ir pan. Kartais skirtumas tarp fluorescencijos ir fosforescencijos ne visada yra aiškus [2].

Uždelstoji fluorescencija galima įvykus elektroninės energijos šuoliukui iš sužadintosios tripletinės T_1 būsenos į sužadintąją singuletinę S_1 . Tai yra įmanoma, kai energijų skirtumas tarp būsenų yra nedidelis, o aplinkos energijos užtenka pakartotiniam S_1 lygmens užpildymui. Uždelstosios fluorescencijos gyvavimo trukmė yra ilga (panaši į fosforescencijos) [1].

$h\nu$ interkombinacinė konversija šiluma



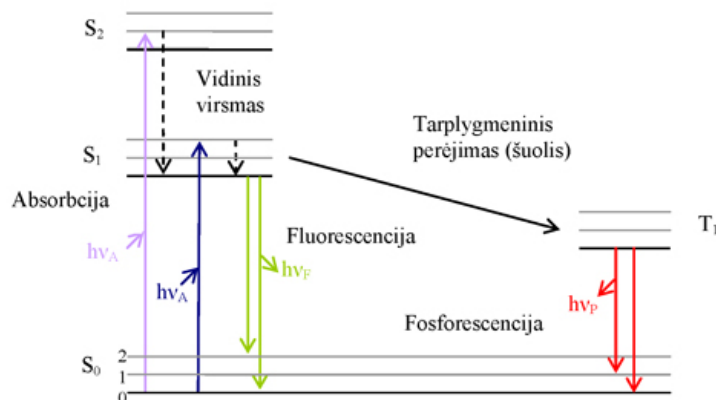
Fluorescencijos spektroskopijos rezultatai paprastai pateikiami kaip emisijos spektrai, t. y. yra fluorescencijos emisijos intensyvumo priklausomybė nuo bangos ilgio (nm) ar bangos skaičiaus (cm^{-1}). Du tipiniai fluorescencijos emisijos spektrai parodyti 1.1 paveiksle [2].



1.1 pav. Perileno ir chinino sulfato šviesos absorbcijos ir fluorescencijos emisijos spektrai [3].

Emisijos spektrai labai skiriasi, nes jie priklauso nuo fluoroforo cheminės struktūros bei naudojamo tirpiklio. Kai kurių junginių, tokių kaip perilenas, spektrai gerai pavaizduoja skirtumus tarp įvairių vibracinių energijos lygmenų [2].

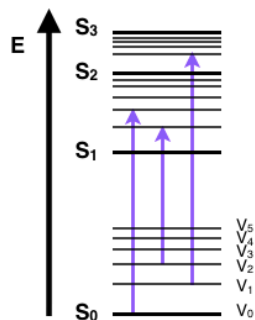
Procesus, kurie atsiranda tarp absorbcijos ir emisijos šviesos, dažniausiai iliustruoja Jablonskio diagrama [3]. Jablonskio diagramos dažnai naudojamos kaip atskaitos taškas aptarti anksčiau paminėtus procesus. Taip pat, Jablonskio diagramos yra naudojamos įvairių formų, iliustruoja įvairius molekulinis procesus, kurie pasitaiko sužadintoje būsenoje. Šios schemas yra pavadintos profesoriaus Aleksandro Jablonskio vardu. Jis laikomas fluorescencijos spektroskopijos tėvu [2].



1.2 pav. Jablonskio diagrama, paaiškinanti fluorescencijos ir fosforescencijos reiškinius [3].

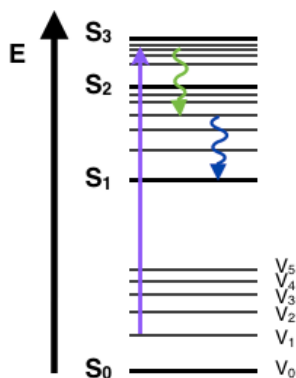
Tipinė Jablonskio schema parodyta 1.2 pav., singletinės pagrindinės pirmoji ir antroji elektronų būsenos pažymėtos ženklais S_0 , S_1 ir S_2 . Fluoroforai kiekviename šių energijos lygmenų gali egzistuoti dar daugelyje vibracinių lygmenų, kurie pavaizduoti atitinkamais skaičiais 0, 1, 2 ir t.t. Tačiau šioje Jablonskio diagramoje nepavaizduotos kitos sąveikos, pvz. gesimas, energijos perdavimas ir sąveika su tirpikliu. Perėjimus tarp būsenų rodo vertikalios rodyklės. Šviesos absorbcija trunka 10 – 15 ps, per tokį laiką nepasislenka atomų branduoliai. Toks reiškinys yra vadinamas Franck – Condon principu [2, 3].

Perileno emisijos spektras gerai pavaizduoja energijų skirtumus tarp įvairių vibracinių energijos lygmenų (1.1 pav.). Emisijos maksimumai, kurie atitinka vibracinės energijos lygmenis, yra nutolę vienas nuo kito maždaug per 1500 cm^{-1} bangos skaičių. Kambario temperatūros terminės energijos neužtenka pakankamai sužadinti vibracines būsenas. Absorbcija ir emisija vyksta molekulėse, pasižyminčiose mažiausia vibracine energija. Dideli energijų skirtumai tarp S_0 ir S_1 sužadintųjų būsenų yra per dideli termiškai prisotinti S_1 . Taigi, fluorescencijai sužadinti naudojame šviesą, o ne šilumą [2, 3].



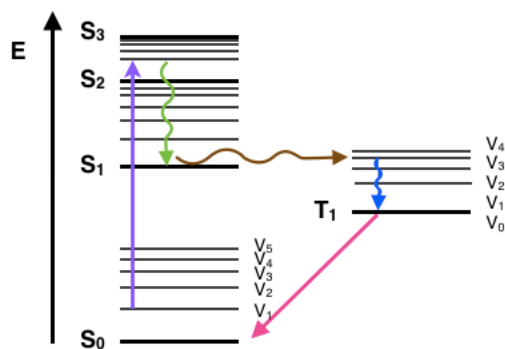
1.3 pav. Absorbcijos schema [4].

Pirmas perėjimas daugelyje Jablonskio diagramų yra absorbcija, tai tam tikra molekulių energijos sugertis. Tai pavaizduota tiesia rodykle (violetinės spalvos), kuri nukreipta į viršų (1.3 pav.). Šviesos absorbcijos metu elektronas yra sužadinas, jis iš žemesnės energijos būsenos pereina į aukštesniąją. Sužadinimo metu fotonas perduoda energiją elektronui. Elektronui pereiti į aukštesnę energijos būseną reikalingas energijos kiekis, kuris atitinka skirtumą tarp dviejų energijos būsenų, todėl įvairius junginius sužadinama skirtingais bangos ilgiais [4].



1.4 pav. Vibracinės relaksacijos schema [4].

Kai elektronas yra sužadinas, yra keli atvejai kai energija gali būti prarasta pvz. vibracinis atsipalaidavimas. Šis procesas pavaizduotas (1.4 pav.) lenkta rodykle (mėlyna ir žalia spalva) [6]. Vibracinė relaksacija vyksta tuo atveju, kai kartu su elektroninio sužadinimo energija molekulė gauna perteklinę vibracinę ir rotacinę energija. Vibracinė relaksacija, kai įvyksta šuoliukas 0 – 0 šuoliukas, t.y. šuoliukas tarp normalios ir sužadintos būsenos vibracinių lygmenų $v=0$, neturi prasmės. Vibracinės energijos praradimas vyksta susidūrimų metu ir ji virsta kinetine energija, kuri pasiskirsto tarp aplinkinių molekulių [1]. Šis procesas trunka $10^{-14} - 10^{-11}$ s, todėl vibracinės sužadintos būsenos gyvavimo trukmė yra labai trumpa. Šio proceso metu elektronai paprastai ne pereina tarp energijos lygmenų. Tačiau, tokia galimybė egzistuoja, jei vibracinės energijos lygmenys stipriai persidengia, tai elektronai gali pereiti į skirtingus vibracinius lygmenis [3].



1.5 pav. Nespindulinių šuolių schema [4].

Nespinduliniai šuoliai skirstomi į dvi dideles grupes: vidinę konversiją ir interkombinacinę konversiją. Nespinduliniai šuoliai vyksta tarp „išsigimusių“ (izoenerginė) skirtingų elektroninių būsenų vibracinių — rotacinių energijos lygmenų. Kadangi kvantinės sistemos energija išlieka nepakitusi, fotonas neišspinduliuojamas. Siekiant atskirti spindulinius perėjimus nuo nespindulinių, naudojamos banguotos linijos, o spinduliniai perėjimai vaizduojami tiesiomis linijomis (žr. 1.5 pav.) [1].

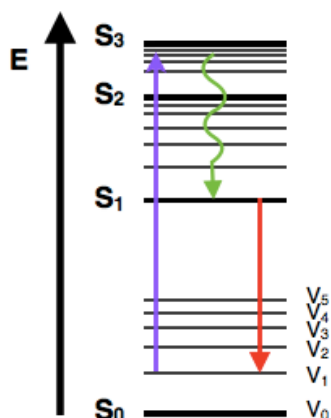
Vidinė konversija yra nespindulinis šuolis tarp vienodo daugialypumo (multipletiško) ir vienodos energijos būsenų. Tokie kvantiniai šuoliukai tarp aukštų energijos būsenų yra spartūs, todėl praktiškai neįmanoma užfiksuoti silpną emisiją iš aukštesnių būsenų organinių medžiagų molekulėse. Vidinė konversija iš pirmo singletinio lygmens vyksta gana lėtai ir todėl gana sėkmingai gali konkuruoti su fluorescencija. Vidinė konversija — tai atitinkamų būsenų potencinės energijos paviršių susikirtimas arba stipraus suartėjimo padarinys. Šuolio tikimybė yra atvirkščiai proporcinga energiniam atstumui tarp šuolyje dalyvaujančių būsenų. Paprastai energijos skirtumas tarp S₁ ir S₀ būsenų yra gana didelis, palyginti su aukštesnėmis būsenomis. Dėl šios priežasties vidinė konversija yra daug lėtesnė. Vidinės konversijos mechanizmas pateikiamas 1.5 pav. Pirmiausia pasiekama rezonanso sąlyga tarp S_n būsenos vibracinio lygmens ir S₁ būsenos vibracinio lygmens (izoenergetiškumas) ir energija pernešama į S₁ vibracinį lygmenį. Antroje stadijoje vyksta sparti vibracinė relaksacija S₁ būsenoje ir energijai nespėjus grįžti į S_n būseną ji relaksuoja į S₁ (v=0) [1].

Interkombinacinė konversija — tai nespindulinis kvantinis šuolis tarp skirtingo daugialypumo būsenų. Tokie šuoliai galimi tarp singletinės ir tripletinės arba tripletinės ir singletinės būsenų. Žemiausios tripletinės būsenos nespindulinės dezaktyvacijos kanalas T₁ į S₀

konkuruoja su fosforescencija. Interkombinacinė konversija $S_1 \rightarrow T_1$ arba $S_1 \rightarrow T_n$ konkuruoja su įprastine greitąja fluorescencija ir sumažina jos kvantinį efektyvumą. Kanalas $S_1 \rightarrow T_1$ yra plačiai naudojamas tripletinės energijos lygmenims užpildyti, nes tiesioginį užpildymą iš S_1 būsenos draudžia griežtos atrankos taisyklės ($\Delta S = 0$). Norint įvykdyti šuolį iš $T_1 \rightarrow S_1$, būtina termiškai sužadinti T_1 būseną iki aukštų vibracinių lygmenų, sutampančių su būsenos S_1 energija. Tai vienas iš uždelstosios fluorescencijos mechanizmų [1].

Svarbi abiejų nespindulinių relaksacijos vyksmų sąlyga yra atitinkamų elektroninių būsenų potencialinių paviršių susikirtimo taškų buvimas. Šiose vietose abi būsenos turi išsigimusius (izoenerginis) vibracinius lygmenis. Kuo mažesnis relaksacijos vyksme dalyvaujančių elektroninių būsenų žemiausių vibracinių lygmenų energinis skirtumas, tuo didesnė tokio tipo potencinės energijos kreivių susikirtimo tikimybė. Tai paaiškina labai greitą nespindulinę visų aukštesnių S_n būsenų dezaktyvaciją į S_1 būseną [1].

Vibracinės relaksacijos metu virpesių energija yra išsklaidoma aplinkoje ir dalis sužadavimo energijos virsta šiluma. Suprantama, kad nespindulinių relaksacijos vyksmų sparta priklauso nuo molekulos aplinkos, ypač nuo tirpiklio molekulių poliškumo. Sąveikaujant su aplinka, gali kisti potencialinių kreivių padėtis, gali atsirasti nauji arba išnykti anksčiau buvę susikirtimo taškai [1].



1.6 pav. Spindulinių šuolių schema [4].

Kitas būdas molekulėms susidoroti su gauta energija yra išspinduliuoti fotoną. Toks procesas vadinamas fluorescencija. Fluorescencija Jablonskio diagramoje ir 1.6 pav. yra pavaizduota kaip tiesi raudona linija, nukreipta žemyn. Kaip minėta anksčiau, elektronas sužadavimo metu peršoka į aukštesnį lygmenį, kuris atitinka $S_1 \rightarrow S_0$ šuolį. Kadangi ši būseną nestabili, tai elektronas grįždamas į savo stabilią būseną turi išspinduliuoti šviesos fotoną. Todėl fluorescencija gana greitas vyksmas, trunka maždaug 10^{-7} - 10^{-9} s [5].

1.1.2 Fluorescencijos spektroskopijos metodai

Fluorescencijos matavimai skirstomi į dvi grupes : nuo laiko nepriklausomą (nuostovioji fluorescencija) ir nuo laiko priklausomą fluorescenciją (laiko skyros fluorescencija). Dažniausiai naudojama nuostovioji fluorescencija. Jos metu stebima nuolatinė nekintanti fluorescencija. Kadangi šis procesas yra labai greitas, tai jis praktiškai stebimas iš karto po apšvitinimo [2, 3].

Antrojo tipo nuo laiko priklausančios fluorescencijos metu stebimi du dydžiai tai fluorescencijos gyvavimo trukmė ir koreliacijos trukmė (anizotropija). Atliekant šiuos matavimus mėginys yra veikiamas šviesos impulso, kuris paprastai yra trumpesnis nei registruojamas. Pasitelkiant aukštos didelio greičio detekcijos sistemą, fluorescencijos gyvavimo trukmę ir anizotropiją galima fiksuoti net nano sekundžių bėgyje [2].

Svarbu suprasti ryšį siejantį šias abi fluorescencijos rūšis. Nuostoviosios fluorescencijos stebėjimai yra nuo laiko priklausančių reiškinų vidurkis. Pavyzdžiui, fluoroforo, kurio intensyvumo gesimo laikas (τ) ir rotacinės koreliacijos laikai (Θ) yra vienkسونenčiai, intensyvumo bei anizotropijos gesimas yra:

$$I(t) = I_0 e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (1.1)$$

$$r(t) = r_0 e^{-\frac{t}{\theta}} \quad (1.2)$$

Čia I_0 ir r_0 atitinkamai yra nulinio laiko $t=0$ intensyvumas ir anizotropija. Integruvę šias lygtis, galime apskaičiuoti nekintančios fluorescencijos matavimus. Nekintanti anizotropija (r) yra $r(t)$ vidurkis, padaugintas iš $I(t)$:

$$r = \frac{\int_0^{\infty} r(t)I(t)dt}{\int_0^{\infty} I(t)dt} \quad (1.3)$$

Vardiklis normalizuoja anizotropiją, kad ji būtų nepriklausoma nuo bendro intensyvumo. Sudėję į šią lygtį priklausomybes nuo laiko, gauname Perino lygtį, kuri aprašo anizotropijos priklausomybę nuo teorinės anizotropijos (r_0), kai nėra rotacinės difuzijos ir rotacinės koreliacijos laiko (q):

$$r = \frac{r_0}{1 + (\tau/\theta)} \quad (1.4)$$

Panašiai ir nekintančios fluorescencijos intensyvumas (I_{ss}) yra susijęs su gesimo laiku:

$$r = \int_0^{\infty} I_0 e^{-\frac{t}{\tau}} dt = I_0 \tau \quad (1.5)$$

Čia I_0 yra parametras, priklausantis nuo fluoroforo koncentracijos ir instrumento parametrų. Nekintančios fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas gyvavimo laikotarpiui [2, 3].

Taigi, matuojant nuostovią fluorescenciją, dauguma informacijos, kurią galėtume gauti iš matavimo, prarandama vidurkinimo metu. Pavyzdžiui anizotropija dažniausiai yra ne vienksoponentis procesas ir daug pasako apie makromolekulės formą ir lankstumą. Tas pats nutinka ir analizuojant intensyvumo gesimą, kai informacija taip pat prarandama vidurkinimo metu [2, 3].

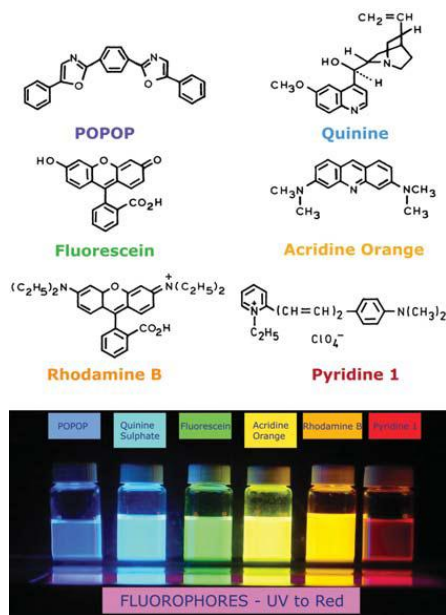
Kai yra stebimas rezonansinės energijos perdavimas, intensyvumo gesimas daug pasako apie tai, kaip akceptoriai yra pasiskirstę aplink donorą. Laiko matavimai parodo ar gesimą sukėlė difuzija, ar kompleksų formavimasis su nesužadintosios būsenos fluoroforais [2, 3].

1.1.3 Fluoroforai

Su dauguma fluoroforų susiduriame kasdieniniame gyvenime. Žalia, raudona ar oranžine spalva kartais švyti antifrizas, nes nedideliais kiekiais į jį dedama fluoresceino ar rodamino. Taip pat, piridinas 1 ir rodamino dažai naudojami lazerių dažams, pigmentai iš stroncio aluminato šiuo metu plačiai naudojami patalpų ir kelio ženklams, kelio žymėjimo juostoms ir kitiems su sauga susijusio žymėjimo tikslams, ir tai tik keletas pavyzdžių kur galima sutikti fluoroforus [3, 6].

Fluorescenciniai zondai ir žymekliai apima sritį fluorescencijos spektroskopijoje, nes eksperimentuojant visa turima informacija yra nustatoma pagal fluoroforų savybes. Fluoroforai (žr. 1.7 pav.) atrenkami atkreipiant dėmesį į jautrumą pH, bei žadinimo ir emisijos bangų ilgus ir pan. [2].

Fluoroforus galima suskirstyti į dvi pagrindines klases : vidinius, kurie egzistuoja natūraliai ir išorinius, kurių pridedame į mėginį, neturintį reikiamų spektrinių savybių. Išoriniai fluorofortai gali būti disperguoti bandinyje arba prijungti tiesiogiai prie polimerinės grandinės. Vidiniai fluorofai tai pvz. aromatinės amino rūgštys, adeninonukleotidai (NADH), oksiduoti flavinai (FAD, FMN) chlorofilai ir t.t. Išoriniai fluoroforai, tai fluoresceinas, rodaminas, pirenas, perilenas ir kt. [2].



1.7 pav. Tipinių fluorescencinių medžiagų struktūrinės formulės bei tirpalų nuotraukos[2].

1.2 Krakmolo dariniai ir jų taikymas

1.2.1 Krakmolas

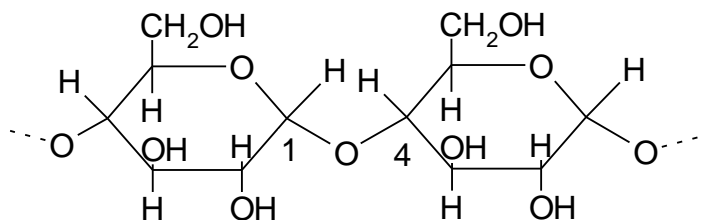
Krakmolas yra natūralus, atsinaujinantis ir biologiškai skaidus polimeras, kuris yra gaminamas daugelio augalų, kaip energijos šaltinis. Krakmolas yra plačiai naudojamas maisto, popieriaus ir kitų įvairių pramonės sričių produktams gaminti. Šis polimeras sudarytas iš grūdėtų miltelių, kurių forma priklauso nuo amilozės ir amilopektino santykio. Taip pat, šis gamtinis polimeras yra antra medžiaga pagal biomasės medžiagų paplitimą gamtoje. Krakmolas randamas augalų šaknyse, stiebuose, pasėlių sėklose ir kuokštinėse žemės ūkio kultūrose, pavyzdžiui: ryžiuose, kviečiuose, kukurūzuose, tapijokoje, bulvėse. Šis polimeras augaluose atlieka energijos kaupimo funkciją [7].

Krakmolas, po išgryninimo iš augalų, yra gaunamas šaltame vandenyje netirpių baltų miltelių pavidalo. Šiuos miltelius sudaro mikroskopinės granulės, kurių skersmuo priklausomai nuo krakmolo botaninės kilmės yra nuo 2 iki 100 μm , (1.1 lentelė) [7].

1.1 lentelė Labiausiai paplitusių krakmolo rūšių granulių forma ir dydis [8].

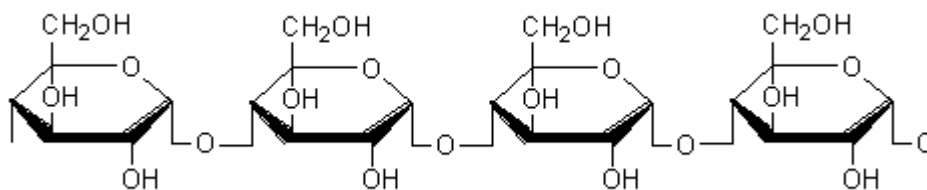
Parametras	Bulvių	Kukurūzų	Daug amilozės turinčių javų	Kviečių	Ryžių	Tapijokos
Žaliava	šakniavaisiai	grūdai	grūdai	grūdai	grūdai	šaknys
Skersmuo (μm)	5 – 100	5 – 30	5 – 30	1 – 45	1 – 3	4 – 35
Forma	ovalas, rutulys	daugiakampis, rutulys	daugiakampis, rutulys	rutulys, lęšio formos	daugiakampis, rutulys	ovalas

Krakkolas (žr. 1.8 pav.) yra sudarytas iš dviejų polisacharidų — linijinių makromolekulių amilozės (15-30%) ir šakotų makromolekulių amilopektino (70-85%) mišinys. Amilozės makromolekulės sudarytos iš α -D-gliukopiranozės likučių, sujungtų tarpusavyje α -1,4-glikozidiniais ryšiais. Amilopektino šoninės grandinės prijungtos α -1,6-glikozidiniais ryšiais[9,10].



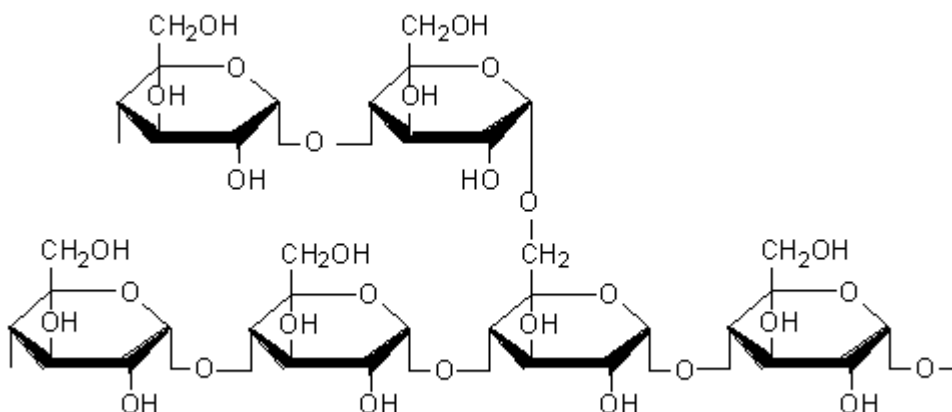
1.8 pav. Krakmolo polimerinės grandinės fragmentas.

Amilozės (1.9 pav.) makromolekulės susisukę į spirales. Hidroksigrupės yra spiralės išorėje, todėl jos vidus yra hidrofobinis. Dėl šios savybės amilozė gali sudaryti įtarpos kompleksus su riebalų rūgštimis, riebalų rūgščių ir glicerolio sąveikos produktais, fosfolipidais, kai kuriais alkoholiais ir jodu. Kompleksų sudarymas, ypač su mono- ir digliceridais, yra gerai žinoma amilozės spiralės savybė. Jis priklauso nuo įvairių faktorių: temperatūros, pH, sąlyčio ir/arba maišymo trukmės, riebalų rūgščių ir gliceridų sandaros. Tokie kompleksai keičia krakmolo savybes: krakmolo kleisterizacijos temperatūrą, kleisterio struktūrą bei klampą, įtakoja retrogradaciją [11].



1.9 pav. Amilozės fragmentas [12].

Amilopektinas (1.10 pav.) yra šakotų makromolekulių polimeras, sudarytas iš $\alpha - 1,4$ ryšiais sujungtų gliukozės atkarpų, prie kurių atšakos prijungtos $\alpha - 1,6$ ryšiais. Apskaičiuota, kad apie 4 – 6% amilopektino molekulėje esančių ryšių yra $\alpha-1,6$ ryšiai. Trumpųjų atšakų vidutinis polimerizacijos laipsnis yra 15, o ilgųjų – apie 45. Unikali konfigūracija nulemia amilopektino kristalinę struktūrą ir tvarkingą amilopektino makromolekulių išsidėstymą krakmolo granulėje. Amilopektino granulių atšakos yra panašios į amilozės grandines arba dalis grandinių gali būti dvivijų spiralių pavidalo [8,11].



1.10 pav. Amilopektino fragmentas [12].

Amilozės molekulinė masė gali būti iki 2 mln, amilopektino – 1 – 400 mln. Krakmolo molekulės yra standžios, o hidroksigrupės yra linkusios sudaryti vandenilinius ryšius, kurių dėka makromolekulės susisuka į labai kompaktiškas spirales. Manoma, kad 2 iš 3 hidroksigrupių sudaro vandenilinius ryšius, kurių pusė yra intermolekuliniai, o pusė – intramolekuliniai. Dėl gausaus vandenilinių ryšių susidarymo krakmolo grūdėliai netirpsta šaltame vandenyje ir organiniuose tirpikliuose. Šildant krakmolas kleisterizuojasi ir sudaro klampus koloidinius

tirpalus — krakmolo kleisterius. Krakmolo kleisteriai nestabilūs ir saugant keičiasi, taip išsiskiria netirpus gelis. Šis reiškinys vadinamas retrogradacija. Ji vyksta asocijuojant amilozės makromolekulėms. Krakmolo granulės gali brinkti ne tik šildant. Veikiant šarmams ir kai kurių metalų druskoms (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} ir kt.), krakmolo grūdėliai gali brinkti jau kambario temperatūroje. Keičiant reagentų koncentraciją, galima reguliuoti krakmolo granulių brinkimo greitį. Norint pakeisti krakmolo savybes ir išplėsti panaudojimo galimybes, jis modifikuojamas [9].

1.2.2 Krakmolo modifikavimas

Polisacharidų cheminis modifikavimas yra svarbus tuo, kad pagerinamos jų savybės. Labai populiariu modifikuoti krakmolą, nes galima pakeisti tokias jo savybes kaip: kleisterizacijos temperatūrą, tos pačios koncentracijos krakmolo tirpalų klampą, kleisterių atsparumą rūgščių, šarmų ar mechaniniam veikimui. Taip pat, galima sumažinti retrogradaciją, pakeisti kleisterio stingimo tendencijas ir gelio sinerezę bei pagerinti kleisterio skaidrumą, blizgesį, pastos ir gelio tekstūrą, plėvelių sudarymo ir adhezines savybes [13].

Krakmolo modifikavimas atliekamas įvairiausiai metodais, kad būtų pasiektos norimos funkcinės savybės, pritaikomos daugelyje pramonės sričių. Išskiriamos dvi pagrindinės krakmolo modifikavimo rūšys: cheminė ir fizikinė.

Krakmolo cheminis modifikavimas gali būti atliekamas vykdant reakcijas šiomis sąlygomis [9]:

- naudojant sausas arba pusiau sausas krakmolo granules;
- krakmolo grūdelių suspensijoje;
- skystoje dispersinėje sistemoje arba tirpale.

Cheminis modifikavimas dažniausiai atliekamas vykdant: rūgštinės hidrolizės, oksidacijos, tinklinimo, eterinimo ar esterinimo reakcijas. Be to, per pastaruosius metus atrasta naujų krakmolo cheminio modifikavimo būdų kaip krakmolo ir alkenilketeno dimerohidrofobinė sąveika, krakmolo esterinimas hidroksicinamono rūgštimi, krakmolo oksidacija ozonu ir t. t. [10, 14].

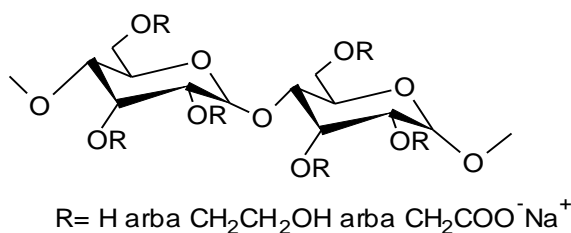
Fizikinis krakmolo modifikavimas plačiai naudojamas maisto pramonėje, nes jį vykdant krakmolą neveikiamas jokiais cheminėmis medžiagomis. Gerai žinomi modifikavimo būdai yra kleisterizacija, apdorojimas poliarizuota šviesa ir kt. Vieni iš naujesnių naudojamų metodų — gilus užšaldymas, daugkartinis gilus užšaldymas ir atšildymas, kontroliuojamas momentinio slėgio sumažinimas, mechaninė aktyvacija rutuliniame malūne, mikronizacija rutuliniu malūnu

vakuume, apdorojimas impulsiniu elektriniu lauku, terminė inhibicija, krakmolo perkaitinimas ir kt. [10, 14].

1.2.3 Anijoninis krakmolas

Kadangi iškastinių žaliavų kiekis yra ribotas, susidomėjimas atsinaujinančiomis žaliavomis žymiai didėja. Viena iš atsinaujinančių žaliavų yra krakmolas. Todėl krakmolas yra modifikuojamas įvairiais būdais siekiant pagerinti jo savybes bei panaudojimą. Dėl to, kad modifikuotas krakmolas pasižymi geresnėmis savybėmis, kurių neturi gamtinis krakmolas, jis plačiai naudojamas maisto ir farmacijos, popieriaus, tekstilės pramonėje. Modifikuotas krakmolas yra tirpus šaltame vandenyje, turi mažesnę geliacijos temperatūrą ir geresnį pH stabilumą. Anijoninis krakmolas gaunamas vykdant cheminį modifikavimą, kuriuo metu prie gamtinio krakmolo gali būti prijungtos tokios grupės, kaip oksidant, sulfo-, karboksil-, ar fosfato-. Modifikavimas įvardijamas kaip krakmolo oksidavimas, sulfoninimas, karboksilinimas ir fosforilinimas. Populiariausias chemiškai modifikuotas anijoninis krakmolas yra karboksimetilkrakmolas (KMK) [15, 16].

Karboksimetilkrakmolas pirmą kartą gautas 1924 metais, vykdant krakmolo ir monochloracto reakciją šarminiame tirpale. Tokiu būdu gautas didelio pakeitimo laipsnio produktas. KMK ypatingasias savybes lemia neigiamo krūvio funkcinės grupės (CH_2COO^-) (1.11.pav) [17].

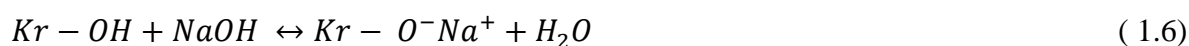


1.11 pav. Karboksimetilkrakmolo polimerinės grandinės fragmentas.

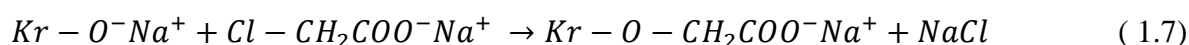
Karboksimetilkrakmolas priklauso modifikuotų biomedžiagų grupei, kurių panaudojimas pastaruoju metu vis didėja. Tai lemia šio produkto maža kaina, biologinis suderinamumas, bioskaidumas ir netoksiškumas. Dauguma karboksimetilkrakmolo savybių nulemia jo pakeitimo laipsnis (PL). KMK plačiai taikomas pramonėje. Pavyzdžiui, maisto pramonėje kaip maisto tirštiklis, naudojamas dėl savo netoksiškumo, nes tai yra pagrindinė sąlyga naudojamiems junginiams. KMK ne tik atitinka šią sąlygą, bet taip pat suteikia maistui geresnes savybes. Taip

pat naudojamas vaistų gamyboje, tekstilėje, skalbimo priemonėse, popieriaus dangoje ir vandens pagrindu pagamintuose klijuose, atliekų apdorojimo bei metalų regeneravimui iš nuotekų ir kt. [8, 5,14].

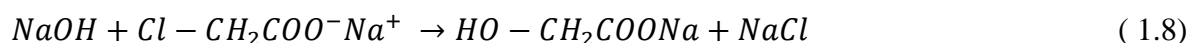
Karboksimetilkrakmolą gaunamas, eterinant krakmolą su natrio monochloracto rūgštimi (mClAR), dalyvaujant šarmui. Tai dviejų stadijų reakcija. Pirmą karboksilinimo stadiją yra šarminimas, kur krakmolo hidroksigrupė (—OH) yra aktyvuojama ir paverčiama į labiau reaktinę formą – krakmolo hidroksilą (Kr-O⁻) [15,16].



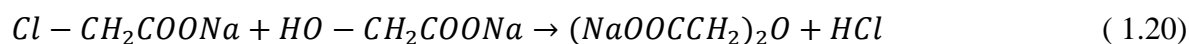
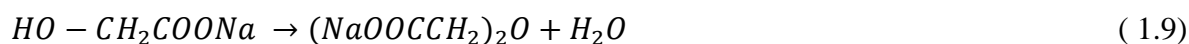
Antroje stadijoje vyksta eterinimas:



Taip pat gali vykti ir nepageidaujama mClAR ir šarmo (NaOH) šalutinė reakcija:



Monochloracto rūgštis gali taip pat reaguoti su vandeniu, bet ši reakcija yra žymiai lėtesnė nei mClAR reakcija su natrio šarmu. Natrio druska gali reaguoti toliau arba pati su savimi arba su mClAR, susidarant natrio dvigubai druskai:



Atliekant karboksimetilkrakmolo sintezės reakciją pakeitimo laipsniui įtakos turi reagentų koncentracija, reakcijos temperatūra ir reakcijos laikas [15, 16].

Vykdyt karboksimetilkrakmolosintezės reakciją pakeitimo laipsniui įtakos turi reagentų koncentracija, reakcijos temperatūra ir reakcijos laikas. Krakmolo karboksimetilinimas gali būti atliekamas keliais metodais. Kaip reakcijos terpę naudojant vandenį, gaunamas KMK pakeitimo laipsnis iki 0,07. Šis karboksimetilinimo metodas nereikalauja sudėtingų reakcijos sąlygų, naudojama paprasta įranga, o vienas iš didžiausių privalumų yra maža kaina. Produktas su didesniu pakeitimo laipsniu pradeda kleisterizuotis ir tampa lipnus, tai sukelia aglomeraciją, kuri trukdo palaikyti ar išlaikyti stabilią reakcijos mišinio dispersiją karboksilinimo metu. Taip pat gali keistis krakmolo kleisterio savybės. Krakmolo karboksilinimą galima vykdyti ir naudojant organinius tirpiklius. Šio proceso privalumai yra tai, kad yra lengviau gaunamas KMK su didesniu PL (apie 1), be to krakmolą išlaikomas granuliu formoje, taigi šalutiniai produktai ir

reagentų likučiai gali būti lengvai išplaunami. Tokiu būdu gauto krakmolo savybes taip pat lemia pakeitimo laipsnis (PL) [8,15, 16].

1.2.4 Anijoninio krakmolo taikymo sritys

Anijoninis krakmolas pasižymi tokiomis savybėmis kaip tirpumas šaltame vandenyje, skirtinga tirpalų klampa priklausomai nuo pakeitimo laipsnio, netoksiškumas, taip yra bekvapis ir bespalvis. Dėl šių savybių anijoninis krakmolas plačiai naudojamas medicinoje, farmacijoje kosmetikos, tekstilės, popieriaus, maisto pramonėje ir kt. [18]. Dažniausiai tai būna mažo pakeitimo laipsnio anijoninis krakmolas [19].

Farmacijos pramonėje karboksietilkrakmolas paprastai naudojamas dezintegruojantis agentas tabletėse. Dažniausiai šiam tikslui naudojamas natrio krakmolo glikolatas, kuris yra dalinai tinklinės struktūros, mažo pakeitimo laipsnio (apie 0,3) [20, 21]. Taip pat, anijoninis krakmolas gali būti naudojamas ir kaip tablečių rišančioji medžiaga ar vaisto atsipalaidavimą lėtinanti medžiaga. Beje, atliekant medicininius ultragarso tyrimus naudojamas hidrogelis yra gaminamas iš anijoninio krakmolo, kurio pakeitimo laipsnis yra apie 0,4 – 0,5 [22]. Tuo tarpu stabili želė, kurios sudėtyje yra apie 5 % karboksietilkrakmolo yra naudojama reologinių ir ultragarso nuotraukų gamyboje. Taip pat didelio pakeitimo laipsnio modifikuotas krakmolas gali būti naudojamas ir kosmetikoje [23, 24].

Maisto pramonėje naudojamo karboksietilkrakmolo pakeitimo laipsnis svyruoja tarp 0,4 – 1,4 [25]. Priklausomai nuo pakeitimo laipsnio krakmolas pasižymi skirtinga klampa ir stabilumu. Karboksietilkrakmolas maisto pramonėje naudojamas kaip emulsiklis ar suspensijas stabilizuojanti medžiaga. Jo panaudojimas leidžia apsaugoti produktus nuo aglomeratų susidarymo, pagerinti įvairių padažų, jogurtų ir kitų produktų savybes. Modifikuotas krakmolas, taip pat, gali būti naudojamas kaip mėsos, vaisių ir daržovių konservantas. Tai pasiekama, plonu sluoksniu apipurškus produktus ir apsaugant juos nuo irimo [26]. Anijoninis krakmolas dar naudojamas makaronų konsistencijai gerinti, sriubų drumstumui sumažinti, kepinių stabilumui aukštesnėse temperatūrose padidinti [27]. Beje dėl mažo glikemijos indekso, šis polimeras gali būti naudojamas specialiuose produktuose, kurie yra skirti diabetikams [28]. Taip pat yra žinoma, kad stipriai modifikuotas krakmolas gali būti naudojamas ir kaip vandenį absorbuojanti medžiaga [19].

Anijoninis krakmolas gali būti naudojamas ir popieriaus pramonėje. Modifikuoto krakmolo karboksigrupės geba prijungti metalo jonus, todėl karboksietilkrakmolas yra naudojamas pigmentinių filtrų gamyboje. Didelio pakeitimo laipsnio (PL apie 1,05) anijoninis krakmolas

naudojamas netirpių karboksimetilkrakmolo ir metalo kompleksų sudarymui. Tyrimai parodė, kad karboksimetilkrakmolo ir Ba^{2+} ar Zn^{4+} kompleksai gali būti naudojami, kaip popieriaus filtrai. Šie filtrai gali pakeisti optines ir mechanines popieriaus savybes [29].

Tekstilės pramonėje karboksimetilkrakmolą dažniausiai naudojamas kaip marginimo pastų tirštiklis. Dažai reaguoja su pirminėmis celiuliozės pluošto hidroksigrupėmis, susidarant cheminiams ryšiams. Pirminių hidroksigrupių kiekis yra pagrindinis veiksnys dažo užtvirtinimui, todėl gamtinio krakmolo hidroksigrupių selektyvus pakeitimas į karboksimetilgrupes, gali užkirsti kelią dažų pašalinimui nuo tekstilės pluošto paviršiaus [20].

Statybų pramonėje karboksimetilkrakmolą sėkmingai panaudojamas kaip vandenį redukuojantis agentas cementui. Anijoninis krakmolą buvo įtrauktas į skiedinių sudėtį, pagerinant tokias jo savybes kaip konsistencijos stabilumas, drėgmės išlaikymas ir t.t. Taip pat buvo atliktas tyrimas, skiediniams sudaryti naudojant dviejų skirtingų pakeitimo laipsnių karboksimetilkrakmolą. Pakeitimo laipsnis svyravo nuo 0,2 iki 0,8. Paaiškėjo, kad skiedinys su didesnio pakeitimo laipsnio polimeru pasižymėjo geresnėmis savybėmis. Naudojant didesnio pakeitimo laipsnio karboksimetilkrakmolą galima padidinti jo adheziją, maišyti su kitais polimerais [30, 31].

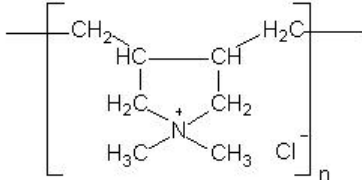
Taigi, dėl visų anksčiau paminėtų teigiamų savybių karboksimetilkrakmolo panaudojimo sritys yra labai įvairios. Lyginant su kitais vandenyje tirpiaisi polimerais anijoninis krakmolą yra daug pranašesnis, nes žaliava yra gamtinė, o kaina nedidelė [19].

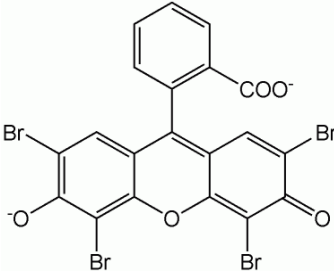
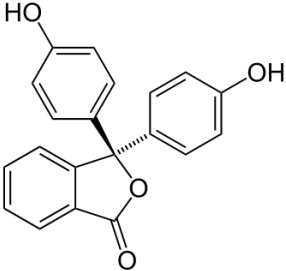
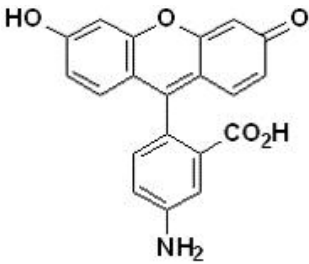
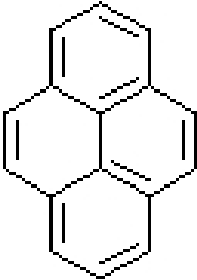
2. DARBO METODIKA

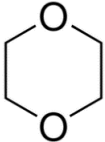
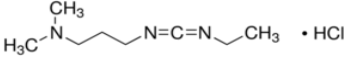
2.1 Naudotos medžiagos

Darbe naudotos medžiagos ir reagentai pateikti 2.1 lentelėje.

2.1 lentelė. Naudotos cheminės medžiagos ir reagentai

Pavadinimas, markė ir charakteristikos	Formulė	Santrumpa
Hidroksietilkrakmolos Kollotex 1250 (PL=0,06-0,08; Avebe)	$[[C_6H_7O_2(OH)_{n-m}[O(CH_2)_2OH]_m]$	HOEK
Monochloracto rūgštis (chemiškai švari, 99 %, Chempur)	$ClCH_2COOH$	mClAR
Natrio hidroksidas (chemiškai švarus, 98%, Lachner) ir 0,1 M vandeninis tirpalas (Eurochemicals)	NaOH	-
Poli(dialildimetilamonio chloridas) (labai mažos molekulinės masės, 35% vandeninis tirpalas, Sigma- Aldrich)		PDADMACl
Druskos rūgštis (koncentruota, 35% vandeninis tirpalas, Penta) ir 0,1 M vandeninis tirpalas (Eurochemicals)	HCl	-

Pavadinimas, markė ir savybės	Formulė	Santrumpa
<p>Eozinas (indikatorius, rūgštinis dažas, 0,1 % vandeninis tirpalas)</p>		-
<p>Fenolftaleinas (indikatorius, 0,1 % etanolinis tirpalas)</p>		-
<p>Modifikuotos celiuliozės dializės membrana Nadir® (MWCO 10000-20000, porų dydis 25–30 Å, Carl Roth)</p>	-	-
<p>5-Aminofluoresceinas (99%, Sigma-Aldrich)</p>		
<p>Pirenas (≥99%, fluorescencijai, Sigma)</p>		-

Pavadinimas, markė ir savybės	Formulė	Santrumpa
Acetonas (chemiškai švarus, Eurochemicals)	$(\text{CH}_3)_2\text{CO}$	-
Natrio chloridas (chemiškai švarus, 0,1M vandeninis tirpalas, Eurochemicals)	NaCl	-
Fosfatinis buferis (chemiškai švarus, 1M vandeninis tirpalas)	$\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$	-
Dietileteris ($\geq 99,9\%$, Chromasolv, Sigma-Aldrich)	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$	
1,4-Dioksanas (99 %,Sigma-Aldrich)		-
N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimidohidrochloridas (chemiškai švarus, Sigma-Aldrich)		EDAC

2.2 Tyrimų metodika

2.2.1 Anijoninio hidroksietilkrakmolo gavimas

Anijoninis hidroksietilkrakmolis (AOEK) gautas, vykdant hidroksietilkrakmolo (HOEK) eterinimo reakciją su monochloracto rūgštimi (mClAR) šarminėje terpėje. Reakcija vykdyta 5 val. 50 – 55 °C temperatūroje, esant moliniam reagentų santykiui HOEK: mClAR : NaOH = 1 : 1,2 : 2,2 (gauti AOEK, kurio pakeitimo laipsnis (PL) lygus 0,28) ir HOEK : mClAR : NaOH = 1 : 1,5 : 3,6 (gauti AOEK su PL=0,55). Po to AOEK kleisteris grynintas distiliuotame vandenyje, naudojant modifikuotos celiuliozės dializės membraną Nadir®. Dializė buvo baigta, kai tirpale neliko NaOH (tikrinama fenolftaleino tirpalu). Gautas polimero tirpalas buvo užšaldytas šaldymo kameroje ir išdžiovintas naudojant SP Scientific 4KBTxL – 75 (JAV) liofilizatorių.

2.2.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo pakeitimo laipsnio nustatymas

AOEK pakeitimo laipsnis nustatytas polimero 0,1 M vandeninį NaOH tirpalą titruojant 0,01 M polidialildimetilamonio chlorido vandeniniu tirpalu, kaip indikatorių naudojant 0,1 % eozino tirpalą. Ekvivalentinis taškas nustatytas susidarius kompaktiškomis nuosėdoms ir tirpalui pakeitus spalvą iš oranžinės į raudoną.

PL apskaičiuotas pagal formulę:

$$PL = \frac{165,22 \cdot KM \%}{5800 - 58 \cdot KM \%}; \quad (2.1)$$

čia: $KM\%$ – procentinis karboksimetilgrupių kiekis anijoniniame hidroksietilkrakmole.

$$KM \% = \frac{V \cdot M \cdot 0,058 \cdot 100}{m \cdot m_{s.m.}}; \quad (2.2)$$

čia: V – PDADMACl kiekis sunaudotas mėginio titravimui, ml;

M – PDADMACl koncentracija, mol/l;

m – paimto AOEK bandinio masė, g;

$m_{s.m.}$ – AOEK sausų medžiagų masės dalis bandinyje.

2.2.3 Anijoninio hidroksietilkrakmolo modifikavimas fluorescenciniu žymekliu

Fluorescenciniu žymekliu pažymėtas įvairaus pakeitimo laipsnio AOEK(AOEK-FL) buvo gautas, vykdant cheminę reakciją tarp AOEK ir 5-aminofluoresceino. 80 ml vandens ištirpinus AOEK (9,506 g sausų medžiagų) buvo gautas tirpalas, į kurį buvo įpilta 30 ml 1,4–dioksano, įdėta 50 mg (0,14mmol) 5-aminofluoresceino ir 1 g (7,8 mmol) N-(3-dimetilaminpropil)-N'-etilkarbodiimidohidrochlorido. Reakcijos mišinys buvo maišomas 18 val. kambario temperatūroje. Tirpalas nusidažė oranžine spalva. Po to gautas polimeras buvo grynintas distiliuotame vandenyje, naudojant modifikuotos celiuliozės dializės membraną Nadir®. Dializė buvo baigta, kai dializės tirpale neliko 5-aminofluoresceino (tikrinama naudojant fluorescencinį spektrometrą). Gautas polimero tirpalas buvo sukonzentruotas, nugarinant vandenį ir užšaldytas šaldymo kameroje bei išdžiovintas naudojant SP Scientific 4KBTxL – 75 (JAV) liofilizatorių.

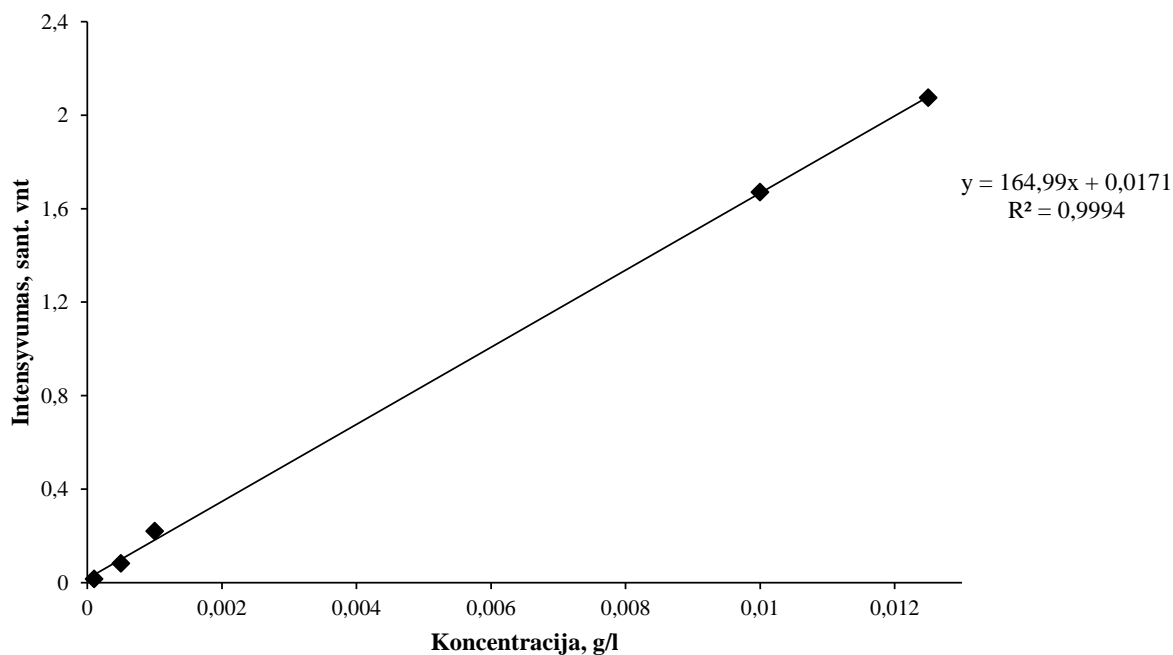
2.2.4 Fluorescencinio žymeklio kiekio nustatymas

Prie anijoninio hidroksietilkrakmolo prijungto fluorescencinio žymeklio kiekis buvo nustatytas UV spektroskopijos metodu, prieš tai sudarius 5 – aminofluoresceino vandeninio tirpalo šviesos sugerties intensyvumo prie 488 nm priklausomybės nuo tirpalo koncentracijos kalibracinę kreivę, kuri pateikta 2.1 pav.

Fluorescenciniu žymekliu pažymėtas anijoninis hidroksietilkrakmolis (AOEK-FL) buvo ištirpintas vandenyje ir Jenway 6715spektrofotometru (JAV) užrašytas šio tirpalo UV spektras. Pasinaudojus kalibracine kreive (2.1 pav.) ir 2.4 lygtimi, buvo įvertinta fluorescencinio žymeklio koncentracija polimero tirpale (C) bei apskaičiuotas procentinis fluoresceino žymeklio kiekis polimere (svorio procentais).

$$C = \frac{D-0,0171}{164,99} \quad (2.3)$$

čia: D – fluorescenciniu žymekliu pažymėto anijoninio hidroksietilkrakmolo vandeninio tirpalo šviesos sugerties intensyvumas prie 488 nm.



2.1 pav. 5—aminofluoresceino vandeninio tirpalo šviesos sugerties intensyvumo prie 488 nm priklausomybės nuo tirpalo koncentracijos kreivė.

2.2.5 Sausų medžiagų kiekio nustatymas

Sausų medžiagų kiekis medžiagose buvo nustatytas, naudojant drėgnomatį Kern *MRS 120* – 3 (Vokietija). Medžiagoje esantis drėgmės kiekis (ω) procentais apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\omega = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \cdot 100\%, \quad (2.4)$$

čia m_0 — medžiagos masė prieš džiovinimą, g; m_1 — medžiagos masė po džiovinimo, g.

Sausų medžiagų kiekis, esantis medžiagoje, randamas pagal formulę:

$$\omega_s = 100 - \omega, \quad (2.5)$$

čia ω_s — sausų medžiagų kiekis medžiagoje, %.

2.2.6 FT-IR spektroskopija

AOEK ir fluorescenciniu žymekliu pažymėto AOEK FT–IR spektrai buvo užrašyti naudojant PerkinElmer FT-IR spektrometrą *Frontier*. Matavimo skiriamoji geba 1 cm^{-1} , skenavimo greitis $0,2\text{ cm/s}$, skenavimų skaičius – 16. Bandinių pralaidumo spektrams užrašyti naudoti sausi polimerų bandiniai, kurie prieš matavimą buvo išdžiovinti krosnelėje $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

2.2.7 Anijoninio krakmolo polikompleksų vandenyje sudarymas

AOEK arba AOEK-FL ir PDADMACl polielektrolitiniai kompleksai buvo sudaryti į $2,5\text{ ml}$ 10 g/l koncentracijos intensyviai maišomą AOEK vandeninį tirpalą lėtai sulašinant $3,5\text{ ml}$ 1 g/l koncentracijos PDADMACl vandeninį tirpalą ir skiedžiant iki 25 ml . Vykstant netirpių polikompleksų susidarymui, buvo stebimas momentinis tirpalų drumstumo atsiradimas. Tokiu būdu buvo sudaryti netirpūs polimeriniai polielektrolitiniai kompleksai distiliuotame vandenyje, esant 20°C temperatūrai ir skirtingoms pH vertėms (tirpalų mišinio pH buvo reguliuojama įlašinant $0,1\text{ M HCl}$ arba $0,1\text{ M NaOH}$ vandeninio tirpalo): $\text{pH}=2\pm 0,5$, $\text{pH}=3\pm 0,5$, $\text{pH}=6\pm 0,5$, $\text{pH}=8\pm 0,5$ ir $\text{pH}=10\pm 0,5$. Vandeninių tirpalų bei dispersijų pH reikšmės buvo išmatuotos pH-metru *pH 211 Microprocessor pH Meter* (Hanna Instruments) [32].

2.2.8 Anijoninio krakmolo polikompleksų dalelių dydžio matavimas

Gautų AOEK/PDADMACl arba AOEK-FL/PDADMACl polikompleksų dalelių dydis, jų pasiskirstymas pagal dydį, polidispersiškumas (PI) buvo išmatuotas *DelsaTM NanoC* (Backman Coulter) dalelių dydžio matuokliu. Kiekvienas bandinys matuotas 3 kartus, darant 20 pakartojimų. Matavimai atlikti kambario temperatūroje.

2.2.9 Dzeta potencialo matavimas

Gautų AOEK/PDADMACl arba AOEK-FL/PDADMACl polikompleksų dalelių dzeta potencialo vertės buvo išmatuotos elektroakustiniu spektrometru *DT-300* (Dispersion Technology Inc., JAV). Matavimai atlikti įvairios sudėties netirpiems polimeriniams kompleksams vandenyje, esant 20°C temperatūrai ir skirtingoms tirpalų pH vertėms: $\text{pH}=3\pm 0,5$,

pH=6±0,5, pH=10±0,5. Kiekvienam bandiniui buvo atlikti 4 matavimai ir paskaičiuotas jų aritmetinis vidurkis.

2.2.10 Potenciometrinis titravimas

Atliekant potenciometrinį titravimą, buvo išmatuoti pH pokyčiai titravimo metu. Paruošus tiriamo bandinio 10 g/l vandeninį tirpalą, jis buvo parūgštintas 0,1 M HCl tirpalu ir titruojamas 10 g/l 0,1 M NaOH vandeniniu tirpalu. Potencialo matavimai atlikti naudojant pH–metrą pH–метр 673M.

2.2.11 Bandinių nuostoviosios ir laiko skyros fluorescenciniams matavimams paruošimas

Fluorescenciniams matavimams naudoti AOEK arba AOEK–FL vandeniniai tirpalai, kurių koncentracija buvo 0,01 g/l (10^{-3} sv.proc.) bei sudarytos AOEK/PDADMACl arba AOEK–FL/PDADMACl polikompleksų dalelių vandeninės dispersinės sistemos.

Tyrimams naudojant fluorescencinį zondą pireną, iš pradžių į tuščias 25 ml tūrio matavimo kolbutes įlašinama 0,25 ml pireno tirpalo dietileteryje (konc. 10^{-3} M) ir dietileteris yra nugarinamas. Tada kolbutė pripildoma vandeniniu polimerų tirpalu ar dispersine sistema ir bandiniai 10 min. laikomi ultragarso vonelėje. Pireno koncentracija bandinyje buvo 10^{-5} M. Visi bandiniai matuojami esant 20°C temperatūrai ir skirtingoms pH vertėms (terpės pH reguliuojama 0,1 M HCl arba 0,1 M NaOH tirpalais).

Taip pat buvo paruošti AOEK arba AOEK–FL vandeniniai tirpalai, kurių koncentracija buvo 0,01 g/l (10^{-3} sv. proc.) bei sudarytos AOEK/PDADMACl arba AOEK–FL/PDADMACl polikompleksų dalelių dispersinės sistemos, keičiant NaCl koncentraciją bandinyje. NaCl koncentracija bandiniuose buvo 0,036 M, 0,016M, 0,005M.

Vandeninių tirpalų bei dispersinių sistemų pH reikšmės buvo išmatuotos pH–metru *pH 211Microprocessor pH Meter* (Hanna Instruments).

2.2.12 Nuostoviosios fluorescencijos matavimai

Nuostoviosios fluorescencijos matavimai atlikti naudojantis Perkin Elmer fluorescencijos spektrometru LS 55. Emisijos matavimai atlikti įvairios sudėties polimerų vandeniniams tirpalams ir polikompleksų dalelių dispersinėms sistemoms, esant 20°C temperatūrai ir skirtingoms pH vertėms. Naudojant fluorescencinį žymeklį FL, matavimams buvo parinktos tokios sąlygos: sužadinimas – 490 nm, skenavimo greitis – 300 nm/min, naudojamas emisijos filtras – 515 nm, emisija fiksuota intervale nuo 500 iki 700 nm. Naudojant zondą pireną, matavimai atlikti emisiją fiksuojant intervale nuo 360 iki 650 nm, sužadinimas – 333 nm, skenavimo greitis – 300 nm/min, emisijos filtras – 350 nm. Visi bandiniai matuoti po penkis kartus.

2.2.13 Laiko skyros fluorescencijos matavimai

Laiko skyros fluorescencijos matavimai atlikti naudojantis fluorescenciniu spektrometru *Fluortime 300* (PicoQuant, Vokietija). Vandeninių polimerų tirpalų ir polimerų kompleksų dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos gesimo kreivės buvo fiksuotos esant 20°C temperatūrai ir skirtingoms pH vertėms. Matuojant AOEK–FL arba AOEK–FL/PDADMACI bandinius, naudotos tokios matavimo sąlygos: sužadinimas – 453,5nm (šviestukas), emisija fiksuota ties 525nm, matuojant netirpias polikompleksų daleles buvo naudotas 470nm emisijos filtras. Naudojanti fluorescencinį zondą matavimai atlikti naudojantis 323,5nm šviestuką, fluorescencijos gesimo kreivė fiksuota ties 373nm, matuojant dalelių dispersijas buvo naudotas 350nm emisijos filtras. Iš gesimo kreivių, pritaikius matematinę funkciją, paskaičiuotos fluorescencijos gyvavimo trukmės. Matematinės funkcijos pritaikymą apibūdina rodiklis χ^2 .

2.2.14 Skenuojanti elektroninė mikroskopija

Skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) nuotraukos gautos aukštos skiriamosios gebos skenuojančiu elektroniniu mikroskopu su „Šotki“ tipo elektronų patranka FEI Quanta 200 FEG.

2.2.15 Rezultatų tikslumo ir patikimumo įvertinimas

Bandymų rezultatai buvo paskaičiuoti kaip bandymų aritmetiniai vidurkiai pagal formulę:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N} \quad (2.6)$$

Vidutinis kvadratinis nuokrypis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{(N-1) \cdot N}} \quad (2.7)$$

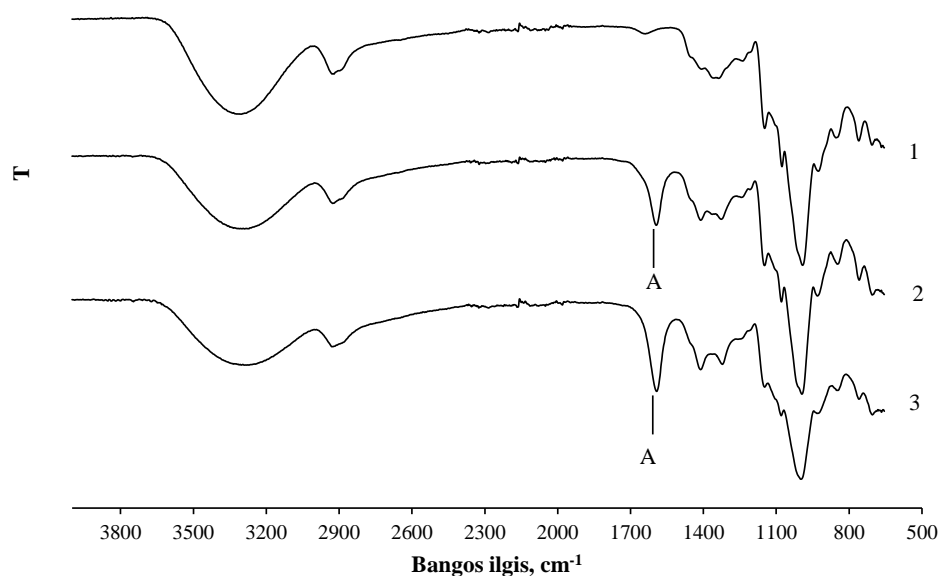
čia: \bar{X} – aritmetinis vidurkis;

N – bandymų skaičius;

X_i – vieno bandymo rezultatas;

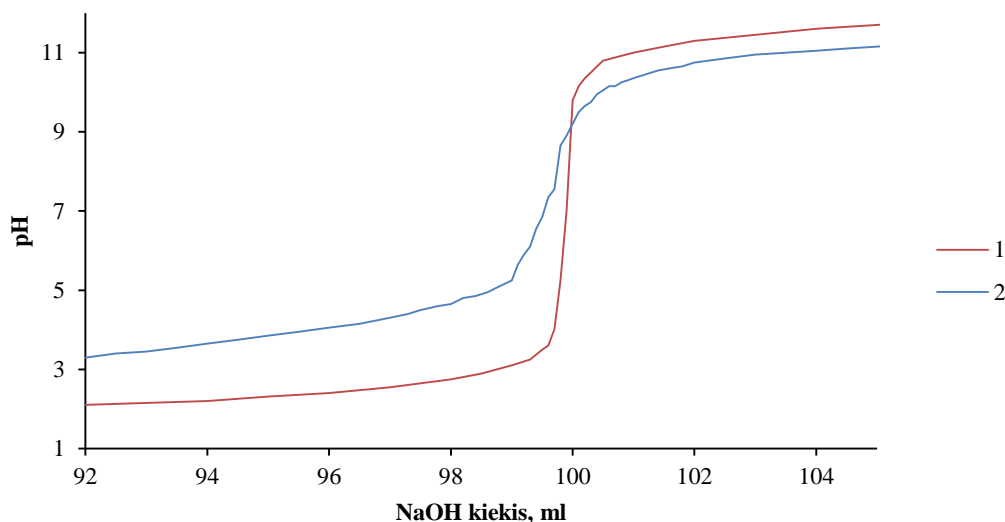
S – atsitiktinio rezultato nuokrypis nuo aritmetinio vidurkio.

Anijoninių hidroksietilkrakmolo darinių cheminei sandarai patvirtinti buvo užrašyti jų FT–IR spektrai ir palyginti su hidroksietilkrakmolo FT–IR spektru (3.2 pav., 1 kreivė). „Pirštų atspaudų“ srityje krakmolo dariniams yra būdingos absorbcijos smailės prie 1157 cm^{-1} , 1084 cm^{-1} , 1000 cm^{-1} ir 940 cm^{-1} , kurios yra priskiriamos C–O ryšio valentiniams virpesiams. Didelio intensyvumo smailės apie 1157 cm^{-1} ir 1084 cm^{-1} yra priskiriamos C–OH grupei, taip pat, smailė prie 1000 cm^{-1} yra charakteringa anhidrogliukozidinio likučio O–C ryšiui. Tuo tarpu absorbcijos smailės prie 1429 cm^{-1} , 2944 cm^{-1} ir 1339 cm^{-1} rodo C–H₂ ir C–H₃ grupes. Plati absorbcija juosta esanti ties $3000 - 3500\text{ cm}^{-1}$ priskiriama OH grupei. Kaip matyti 3.2 pav., anijoninio hidroksietilkrakmolo spektre (2, 3 kreivės) papildomai atsiranda absorbcijos smailė prie 1605 cm^{-1} (A), o HOEK spektre jos nėra. Ši smailė būdinga AOEK spektrui, o jos intensyvumas priklauso nuo modifikavimo reakcijos metu prijungtų karboksimetilgrupių kiekio: AOEK_{0,55} FT–IR spektre ši smailė yra didesnio intensyvumo negu AOEK_{0,28} spektre.



3.2 pav. HOEK (1), AOEK_{0,28} (2) ir AOEK_{0,55} (3) FT–IR spektrai.

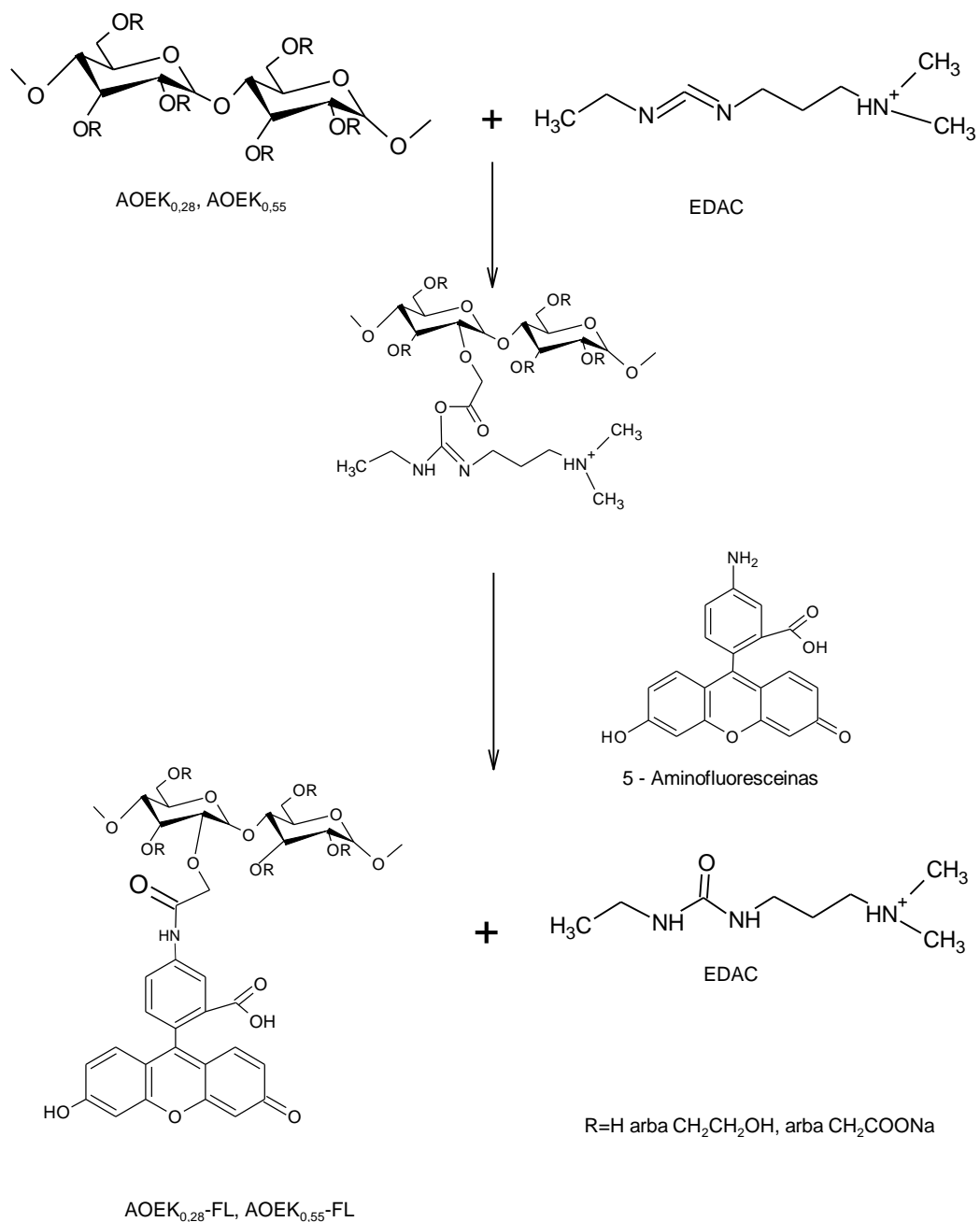
Labai tikėtina, kad modifikavus HOEK karboksimetil grupėmis, šio polimero savybės ir elgesys vandenyje pasikeis. Atlikus potenciometrinį AOEK_{0,55} titravimą NaOH tirpalu (3.3 pav.), pastebėta, kad HCl tirpalo (1) ir AOEK_{0,55} tirpalo (2) titravimo kreivės skiriasi. Pirmuoju atveju kreivė rodo tik rūgšties neutralizavimą, o antroje kreivėje stebimas sulėtėjimas šuolio metu, atsirandantis dėl AOEK karboksigrupių jonizacijos.



3.3 pav. Potenciometrinio titravimo kreivės: 1 – HCl tirpalas, 2 - AOEK_{0,55} tirpalas.

3.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo modifikavimas fluorescenciniu žymekliu

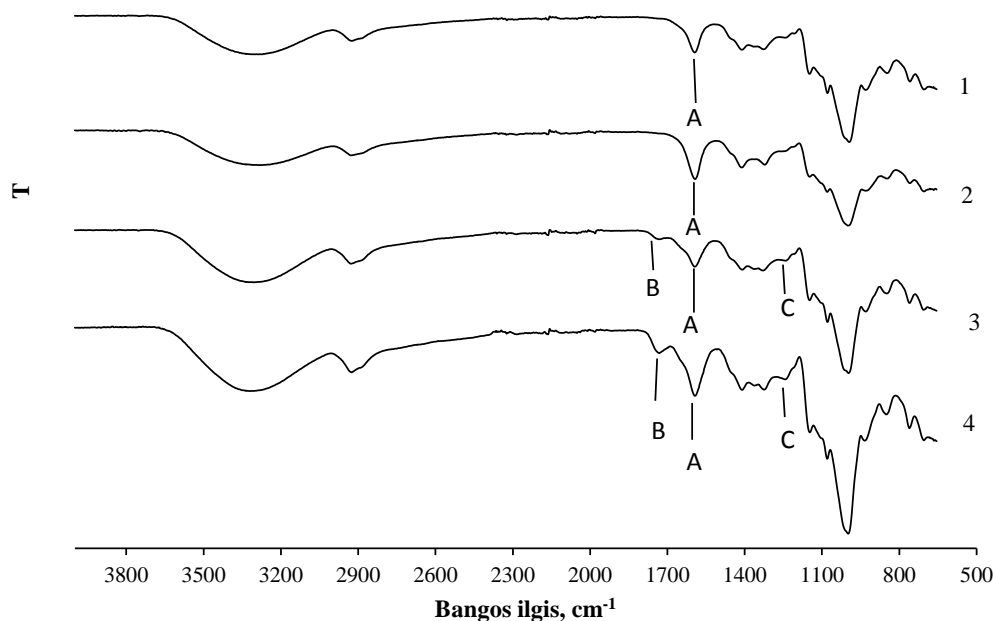
Skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninis hidroksietilkrakmolas buvo modifikuotas 5-aminofluoresceinu, vykdant AOEK, 5-aminofluoresceino ir N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimido hidrochlorido (EDAC) reakciją vandens ir 1,4-dioksano mišinyje. Reakcija vyksta dviem stadijomis (3.4 pav.): iš pradžių AOEK karboksigrupės reaguoja su EDAC, susidarant tarpiniam junginiui. Pastarasis antroje stadijoje reaguoja su 5-aminofluoresceinu, susidarant amidiniam ryšiui. Gautas produktas – klampus, oranžinės spalvos vandeninis tirpalas. Fluoresceinu modifikuotas skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK (AOEK-FL) buvo išgrynintas dializuojant vandeniu bei plaunant acetonu.



3.4 pav. AOEK modifikavimo 5— aminofluoresceinu schema.

Gautų fluorescenciniu žymekliu modifikuotų, skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninių hidroksietilkrakmolų cheminei sandarai patvirtinti buvo užrašyti jų FT—IR spektrai (3.5 pav., 3 ir 4 kreivės) ir palyginti su atitinkamais anijoninių hidroksietilkrakmolų FT—IR spektrais (3.5 pav., 1 ir 2 kreivės). Kaip matyti iš pateiktų rezultatų prie $\text{AOEK}_{0,55}$ ir $\text{AOEK}_{0,28}$ prijungus 5—aminofluoresceiną šalia AOEK būdingos absorbcijos smailės (A), atsiranda naujos smailės (B) ir (C). Absorbcijos smailė yra ties 1751 cm^{-1} , patvirtina aromatinių junginių buvimą. O absorbcijos smailė ties 1282 cm^{-1} , patvirtina amidinio ryšio susidarymą. $\text{AOEK}_{0,55}$ —FL spektre šios smailės

buvo šiek tiek didesnio intensyvumo, kas koreliuoja su didesniu fluoresceino žymeklio kiekiu šiame polimere.



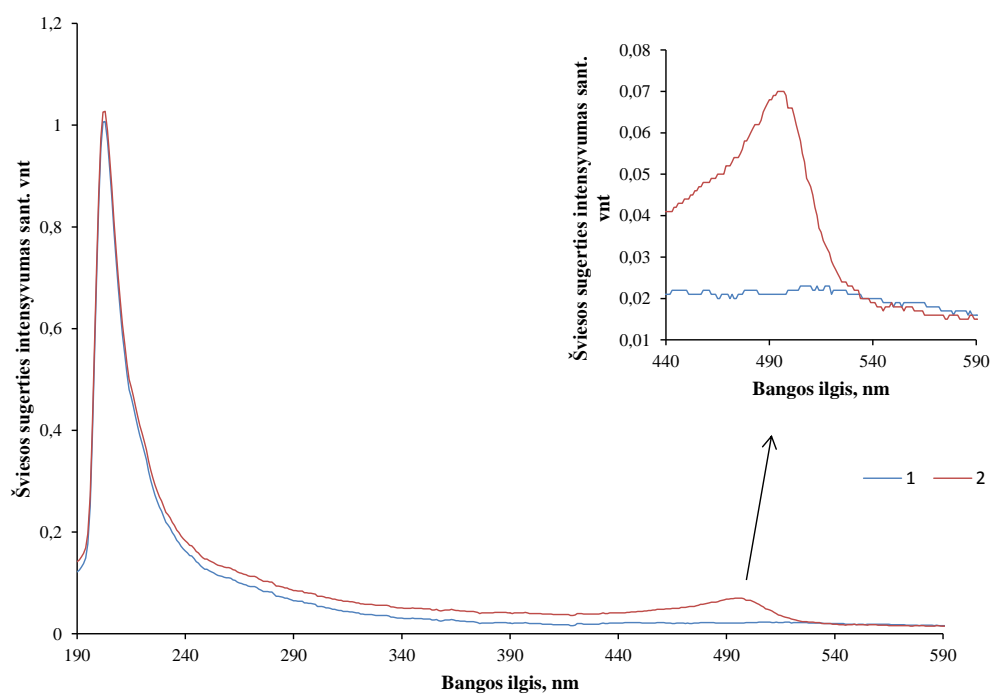
3.5 pav. AOEK ir AOEK—FL darinių FT—IR spektrai: 1 — AOEK_{0,28}, 2 — AOEK_{0,55,3}, 3 — AOEK_{0,28}-FL, 4 — AOEK_{0,55}-FL.

Fluorescenciniu žymekliu modifikuotų skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninių hidroksietilkrakmolų cheminei sandarai patvirtinti taip pat buvo užrašyti ir bandinių prieš ir po fluorescencinio žymeklio prijungimo vandeninių tirpalų šviesos sugerties spektrai (3.6, 3.7 pav.). Kaip matyti iš paveikslų, prijungus fluoresceiną, spektruose matomos fluoresceinui būdingos šviesos sugerties smailės su maksimumu ties 488nm. Šios smailės nėra būdingos AOEK tirpalų sugerties spektrams.

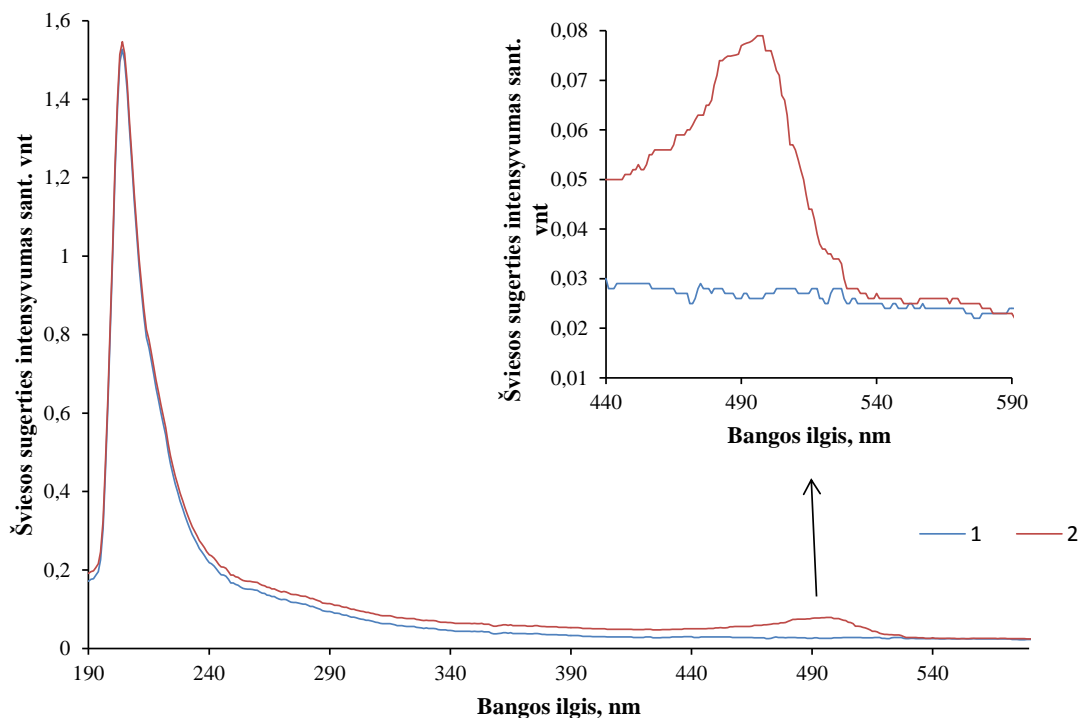
AOEK-FL prijungusio žymeklio kiekis buvo nustatytas UV spektroskopijos metodu, prieš tai sudarius 5—aminofluoresceino vandeninio tirpalo šviesos sugerties smailės prie 488 nm intensyvumo priklausomybės nuo tirpalo koncentracijos kalibracinę kreivę. Fluoresceinu modifikuoto skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK (AOEK—FL) cheminė sudėtis pateikta 3.2 lentelėje.

3.2 lentelė. Fluoresceinu modifikuoto skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK (AOEK—FL) cheminė sudėtis

Anijoninio hidroksietilkrakmolo darinys	AOEK kiekis polimere, sv. proc.	Žymeklio (fluoresceino) kiekis polimere, sv. proc.
AOEK _{0,28} -FL	99,968	0,032
AOEK _{0,55} -FL	99,962	0,038



3.6 pav. AOEK_{0,28}(1) ir AOEK_{0,28}—FL (2) vandeninių tirpalų šviesos sugerties kreivės. Polimero koncentracija tirpale yra 1g/l.



3.7 pav. AOEK_{0,28} (1) ir AOEK_{0,28}—FL (2) vandeninių tirpalų šviesos sugerties kreivės. Polimero koncentracija tirpale yra 1 g/l.

3.3 Anijoninio hidroksietilkrakmolo fluorescenciniai tyrimai

3.3.1 Anijoninio hidroksietilkrakmolo nuostoviosios fluorescencijos tyrimai

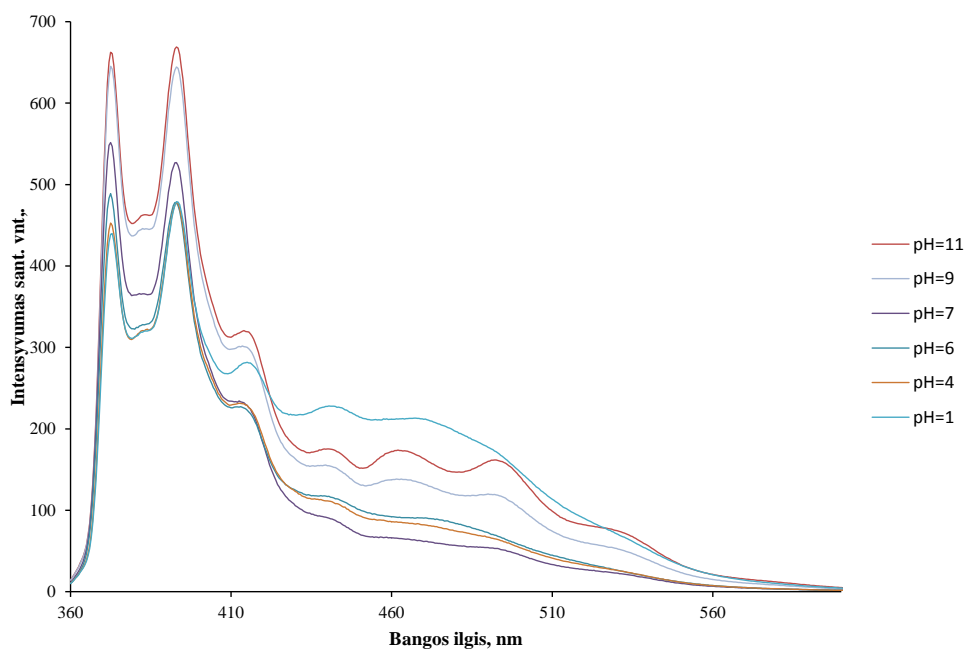
Skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo molekulių hidrofobinėms savybėms ir konformaciniam elgesiui vandenyje esant skirtingai pH ištirti buvo atlikti nuostoviosios (nepriklausomos nuo laiko) fluorescencijos matavimai. Tyrimai atlikti naudojant du fluorescencinio tyrimo metodus: naudojant fluorescencinį zondą pireną bei fluorescencinį žymeklį fluoresceiną, kuris buvo prijungtas prie AOEK modifikavimo reakcijos metu.

Pireno sugebėjimas testuoti aplinkos, į kurią jis patenka, hidrofobines savybes, yra gerai žinomas ir mokslininkų naudojamas jau daugelį metų, ypatingai tyrinėjant vandenyje tirpius ar disperguojamus polimerus, tiek joninius tiek nejoninius. Keičiantis mikroaplinkos polariškumui,

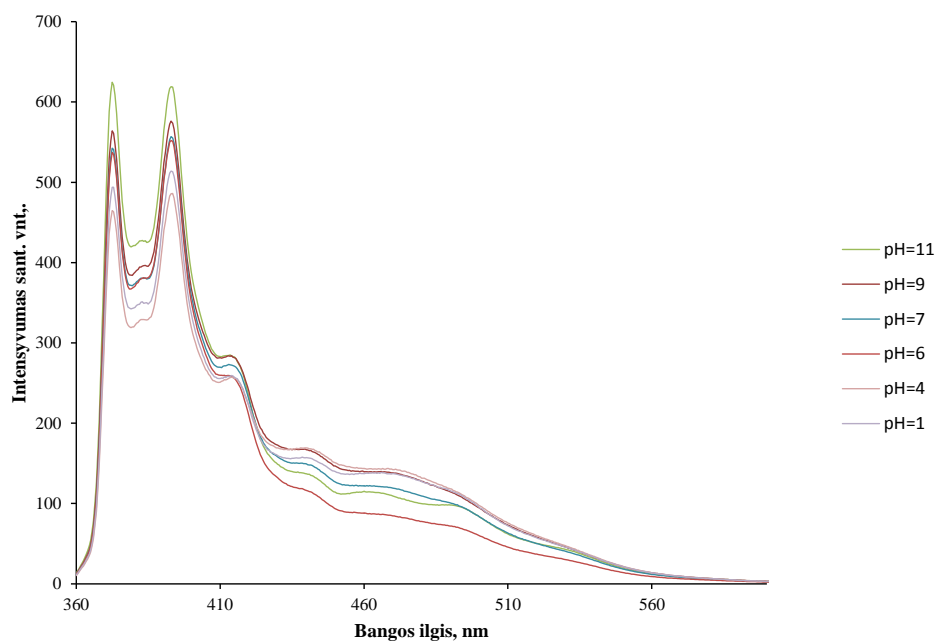
keičiasi pireno emisijos spektro vibracinė struktūra, o taip pat, fluorescencijos gyvavimo trukmė [33, 34].

Nejoninio zondo pireno tirpumas vandenyje yra labai ribotas, todėl vandeninėse sistemose ar tirpaluose jį galima tik disperguoti, soliubilizuoti. Pireną dispergavus AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniniuose tirpaluose įvertinti tokių tirpalų fluorescencijos spektrai, keičiant terpės pH (3.8 ir 3.9 pav.). Kaip ir buvo galima tikėtis, emisijos spektrai turi vibracinę struktūrą ir smailes prie charakteringų bangos ilgio verčių. Fluorescencijos spektrams buvo būdingos ne tik monomerinės, bet ir eksimerinės (didžiausia tikimybė, kad tai „statiniai eksimerai“, susidarę iš asocijuotų pireno dimerų pagrindinėje būsenoje) emisijos juostos (apie 470 nm), o tirpalų fluorescencijos smailių intensyvumo pokyčiai priklausė nuo terpės pH (3.10 pav.). Kaip matyti iš 3.10 pav. didžiausias pireno monomerinės fluorescencijos emisijos ($\lambda_{em} = 373$ nm) intensyvumas buvo išmatuotas šarminėje terpėje, o mažiausias rūgštinėje ir atspindi konformacinį virsmą pH intervale nuo 4 iki 6 iš tampriai susisukusio raizginėlio rūgštinėje terpėje į laisvesnės struktūros raizginėlį šarminėje terpėje. Esant didesniam eksimerinės pireno emisijos juostos intensyvumui rūgštinėje terpėje (intensyvesnė pireno dimerų asociacija labiau hidrofobinėje aplinkoje), monomerinė emisija buvo nuslopinta, tuo tarpu šarminėje terpėje ji išliko intensyvi. AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} elgesys vandenyje, keičiant terpės pH buvo panašus.

Taigi, pireno molekulės yra jautrios aplinkos, kurioje yra disperguotos, poliariškumo pokyčiams. Ypatingai jautrios yra dvi pireno emisijos juostos: pirmoji I₁ prie 372 nm ir trečioji I₃ prie 383 nm. Jų santykio pokyčiai, keičiantis zondo aplinkos savybėmis, gali būti naudojami polimerinės sistemos hidrofobinėms savybėms įvertinti [35, 36].

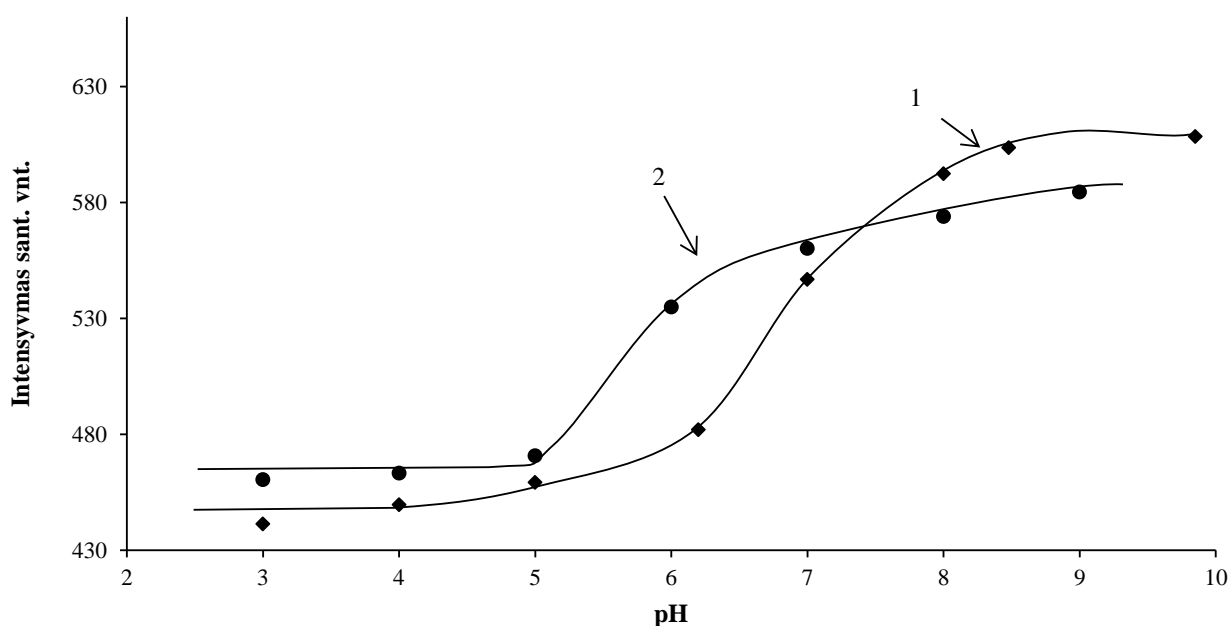


3.8 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} vandeniniame tirpale emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 333$ nm.



3.9 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,55} vandeniniame tirpale emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 333$ nm.

AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} hidrofobiškumui įvertinti buvo išmatuoti pirmosios (I₁ prie 372 nm) ir trečiosios (I₃ prie 383 nm) pireno emisijos juostų intensyvumo pokyčiai, keičiant terpės pH. 3.3 lentelėje pateikti šių smailių intensyvumų santykiai (I₁/I₃) AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniniuose tirpaluose, keičiant jų pH. Yra žinoma [35, 36], kad pireną dispergavus vandenyje šis santykis yra apie 1,8 – 1,9. Ištyrus fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniniuose tirpaluose charakteringųjų emisijos smailių intensyvumo santykio (I₁/I₃) priklausomybę nuo terpės pH, nustatyta, kad rūgštinėje terpėje pirenas buvo labiau hidrofobinėje aplinkoje, apie ką liudija nustatytos mažesnės I₁/I₃ parametro reikšmės. Nustatyta, kad AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} molekulės tiek rūgštinėje, tiek šarminėje aplinkoje suteikė pirenui daug labiau hidrofobinę aplinką negu vanduo.



3.10 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} (1) ir AOEK_{0,55} (2) vandeniniuose tirpaluose emisijos smailės intensyvumo priklausomybė nuo terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 333 \text{ nm}$. $\lambda_{\text{em}} = 373 \text{ nm}$.

3.3 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniniuose tirpaluose charakteringųjų emisijos smailių intensyvumų santykio (I₁/I₃) priklausomybė nuo terpės pH

pH	Bandinys	
	AOEK _{0,28}	AOEK _{0,55}
	I ₁ (372 nm)/I ₃ (383 nm)	I ₁ (372 nm)/I ₃ (383 nm)
1	1,381	1,392
4	1,397	1,392
6	1,409	1,413
7	1,431	1,426
10	1,440	1,460
11	1,434	1,472

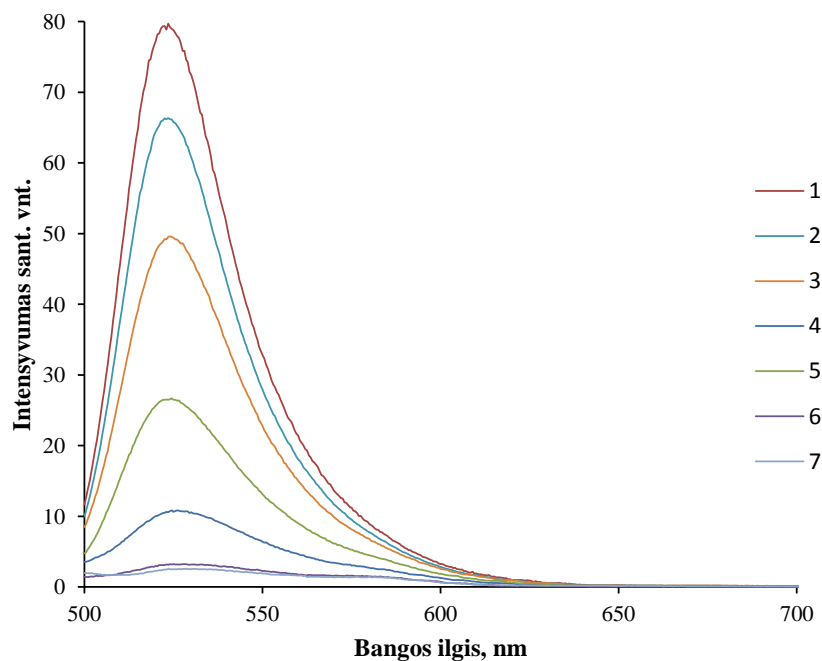
Fluoresceino gebėjimas testuoti aplinkos, į kurią jis patenka, pH pokyčius, yra gerai žinomas ir mokslininkų naudojamas jau daugelį metų sensoriams kurti [2]. Buvo užrašyti fluoresceinu

modifikuoto AOEK (AOEK_{0,28} – FL arba AOEK_{0,55} – FL) vandeninių tirpalų fluorescencijos emisijos spektrai (žr. 3.11, 3.12 pav.).

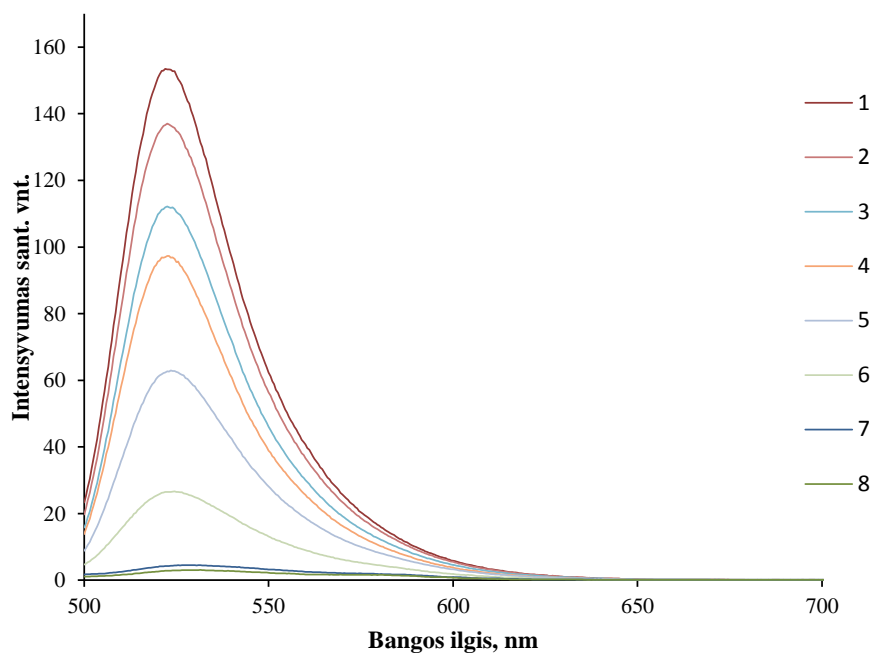
Nustatyta, kad priklausomai nuo terpės pH, AOEK–FL emisijos spektre vyrauja viena ar dvi emisijos juostos: pirmosios emisijos juostos maksimumas yra ties 525 nm, o antrosios emisijos juostos maksimumas yra ties 580 nm. Antroji emisijos juosta atsiranda AOEK–FL patekus į rūgštinę terpę. Pirmoji emisijos juosta yra būdinga fluoresceino žymeklio molekulės dianijono formai, kuri vyrauja fluoresceinui esant šarminėj terpėj, o antroji emisijos juosta yra būdinga fluoresceino žymeklio molekulės monoanijono formai. Šarminėj terpėj fluoresceino molekulės yra dianijono formoj, mažinant pH pradeda dominuoti monoanijono forma, dar rūgštinant tampa neutralus, o visai rūgštinėje – katijono. Dėl to kinta tiek absorbcijos, tiek emisijos intensyvumas. Yra žinoma [2], kad fluorescuoja tik fluoresceino monoanijonas ir dianijonas, gal dar neutrali forma, o katijonas nefluorescuoja. Prie mažos pH monoanijono ir dianijono dar gali būti likę.

3.13 pav. yra pateiktos AOEK_{0,28} – FL ir AOEK_{0,55} – FL vandeninių tirpalų fluorescencijos emisijos smailės intensyvumo prie 525 nm priklausomybės nuo terpės pH kreivės. Kaip matyti, šios emisijos smailės intensyvumas rūgštinėje terpėje yra mažiausias, o terpės pH pasiekus 5,5, intensyvumas didėja ir yra didžiausias šarminėj terpėj. Reikia pastebėti, kad AOEK_{0,55} – FL vandeninio tirpalo fluorescencijos emisijos smailės intensyvumas beveik du kartus buvo didesnis negu AOEK_{0,28} – FL vandeninio tirpalo. Kadangi stebima emisijos smailė yra būdinga fluoresceino molekulės dianijonui, kuris vyrauja šarminėj terpėj, vienareikšmiškai spręsti apie anijoninio hidroksietilkrakmolo konformacinius virsmus iš AOEK_{0,28} – FL bei AOEK_{0,55} – FL fluorescencijos emisijos smailės intensyvumo prie 525 nm priklausomybės nuo terpės pH kreivių yra sudėtinga. Todėl būtų tikslinga jas palyginti su neprijungtos fluoresceino molekulės fluorescencijos emisijos smailės intensyvumo prie 525 nm priklausomybės nuo terpės duomenimis.

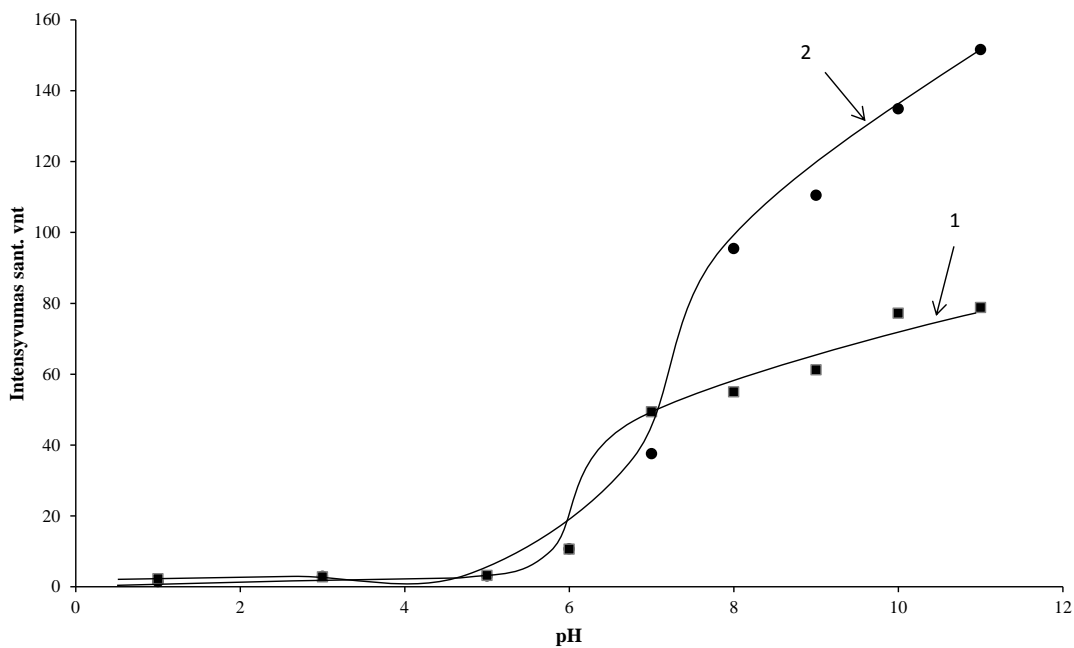
3.14 pav. yra pateiktos AOEK_{0,28} – FL ir AOEK_{0,55} – FL vandeninių tirpalų fluorescencijos pirmosios I₁ (525 nm) ir antrosios I₂ (580 nm) emisijos smailių santykio nuo terpės pH kreivės. Kaip matyti, šios emisijos smailių santykis rūgštinėje terpėje yra mažiausias (~1–2), o terpės pH pasiekus 4,5, šis santykis yra didėja ir yra didžiausias (~8–9) šarminėj terpėj. Reikia pastebėti, kad abiejų kreivių profilis yra vienodas. Deja, spręsti apie anijoninio hidroksietilkrakmolo konformacinius virsmus iš šių kreivių yra sudėtinga ir reikėtų jas palyginti su neprijungto fluoresceino emisijos smailių santykio nuo terpės pH kreive.



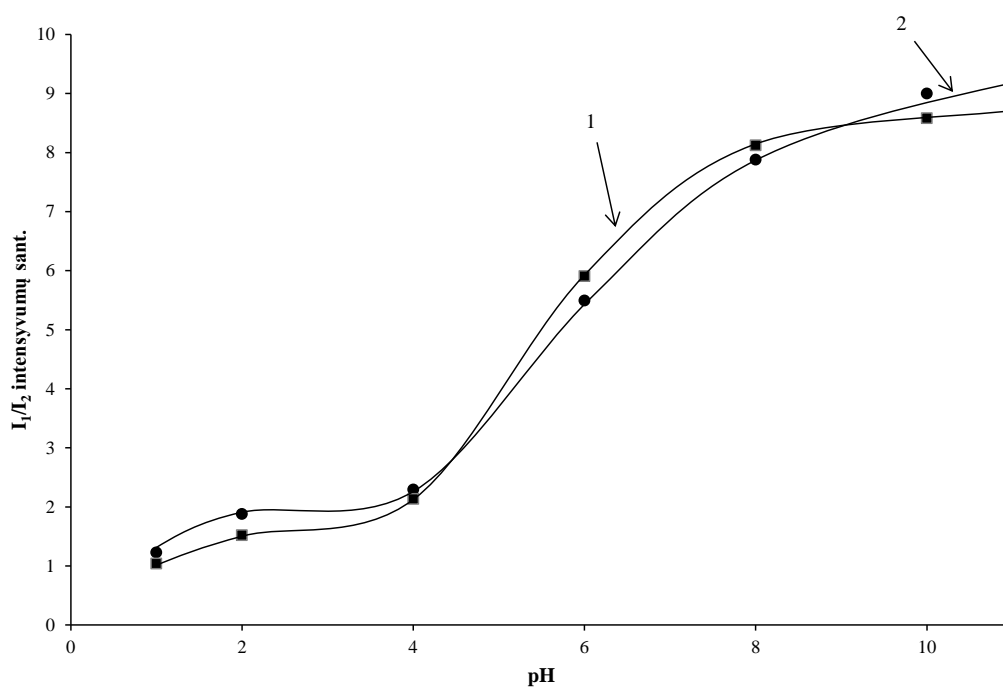
3.11 pav. AOEK_{0.28} — FL vandeninių tirpalų fluorescencijos emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490$ nm. Kreivių pH yra pH=11 (1), pH=10 (2), pH=7 (3), pH=5 (4), pH=6 (5), pH=4 (6), pH=2 (7)



3.12 pav. AOEK_{0.55} — FL vandeninių tirpalų fluorescencijos emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490$ nm. Kreivių pH yra pH=11 (1), pH=10 (2), pH=9 (3), pH=8 (4), pH=7 (5), pH=6 (6), pH=4 (7), pH=2 (8).



3.13 pav. AOEK_{0,28} — FL (1) ir AOEK_{0,55} — FL (2) vandeninių tirpalų fluorescencijos emisijos smailės intensyvumo priklausomybė nuo terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 525 \text{ nm}$.

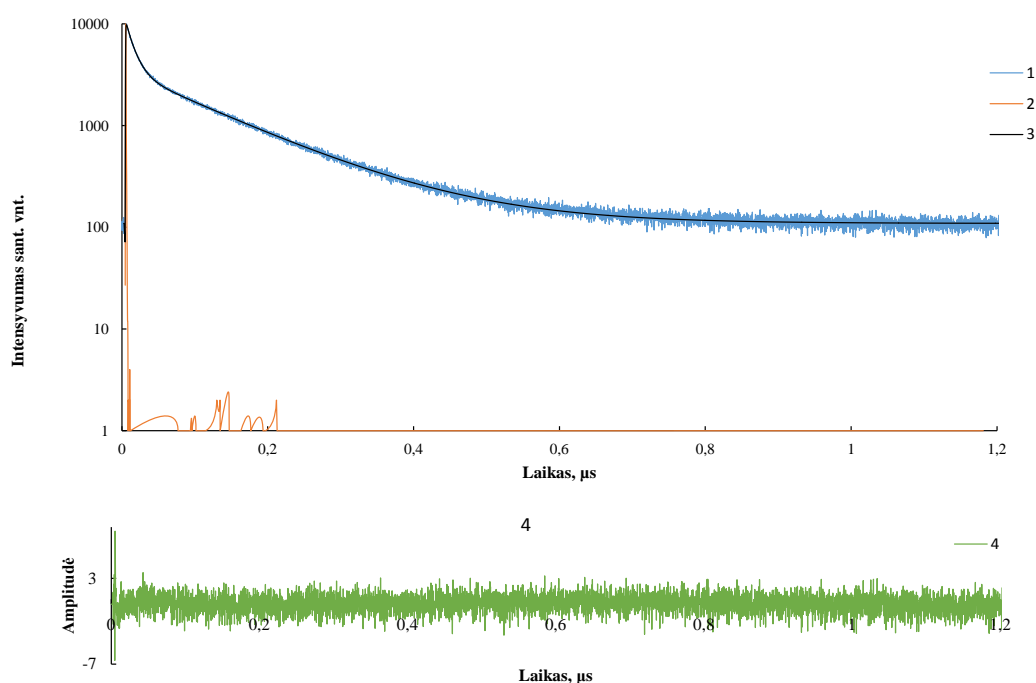


3.14 pav. AOEK_{0,28} — FL (1) ir AOEK_{0,55} — FL(2) vandeninių tirpalų fluorescencijos emisijos pirmosios ($\lambda_{\text{em}} = 525 \text{ nm}$) ir antrosios ($\lambda_{\text{em}} = 580 \text{ nm}$) smailių intensyvumų santykio priklausomybė nuo terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490 \text{ nm}$.

3.3.2 Anijoninio hidroksietilkrakmolo laiko skyros fluorescencijos tyrimai

Skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo molekulių hidrofobinėms savybėms ir konformaciniam elgesiui vandenyje, esant skirtingai pH, ištirti buvo atlikti laiko skyros fluorescencijos matavimai. Tyrimai atlikti naudojant du fluorescencinio tyrimo metodus: naudojant fluorescencinį zondą pireną bei fluorescencinį žymeklį fluoresceiną, kuris buvo prijungtas prie AOEK modifikavimo reakcijos metu.

Kaip jau buvo paminėta 3.3.1 skyrelyje, keičiantis fluorescencinio zondo pireno mikroaplinkos polariškumui gali keistis ir jo fluorescencijos gyvavimo trukmė. Todėl buvo užrašytos zondo pireno soliubilizuoto įvairios pH skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK vandeniniuose tirpaluose fluorescencijos gesimo kreivės (pvz. žr. 3.15 pav.) bei paskaičiuotos fluorescencijos gyvavimo trukmės (žr. 3.4, 3.5 lenteles).



3.15 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,55} vandeniniame tirpale fluorescencijos gesimo kreivė (1). 2 – etalono profilis, 3 – gyvavimo trukmei paskaičiuoti pritaikytos funkcijos kreivė, 4 – funkcijos pritaikymo amplitudė. Tirpalo pH = 11.

Nustatyta, kad pireno emisijai yra būdinga šiek tiek didesnė gyvavimo trukmė, kai jis buvo disperguotas AOEK_{0,28} vandeniniame tirpale rūgštinėje terpėje. Didėjant terpės pH, fluorescencijos gyvavimo trukmė mažėjo. Tai patvirtina anijoninio hidroksietilkrakmolo konformacinį virsmą iš tampriai susisukusio raizginėlio rūgštinėje terpėje, kur pireno emisija yra labiau apsaugota nuo gesiklių, į laisvesnės struktūros raizginėlį šarminėje terpėje.

3.4 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} vandeniniame tirpale fluorescencijos gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH

pH	$\tau_{1, ns}$	$\tau_{2, ns}$	$\tau_{vidurkinė, ns}$	χ^2
1	133,57 ± 1,20 (98,31%)	1 ± 0,24(1,69%)	133,553	1,293
6	131,8 ± 1,21 (81,05%)	10,864 ± 0,31 (18,95%)	129,513	1,069
11	131,101 ± 0,95 (83,6%)	11,782 ± 0,33 (16,4%)	129,034	1,071

3.5 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,55} vandeniniame tirpale fluorescencijos gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH

pH	$\tau_{1, ns}$	$\tau_{2, ns}$	$\tau_{vidurkinė, ns}$	χ^2
1	129,974 ± 0,87 (98,50%)	1 ± 0,21 (1,50%)	129,959	1,215
6	130,48 ± 1,15 (82,03%)	11,492 ± 0,31 (17,97%)	128,228	1,003
11	131,969 ± 0,98 (83,48%)	11,338 ± 0,35 (16,52%)	129,952	1,171

Norimos tiriamų AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeninių tirpalų pH vertės buvo pasiektos, šarminius polimerų tirpalus skiedžiant HCl tirpalu. Todėl negalima nepaisyti tirpale esančių Na⁺ jonų koncentracijos, o tuo pačiu ir tirpalo joninės jėgos, formuojantis mažamolekuliam elektrolitui – NaCl. Natrio priešjonai gali sąveikauti su karboksijonais polimero grandinėje ir tuo pačiu ekranuoti krūvį turinčias grupes bei susilpninti jų sąveiką. Taigi, esant Na⁺ jonų pertekliui, dėl pasireiškiančio ekranavimo efekto, polimerų raizginėlių konformacija gali tapti labiau suvaržyta [37].

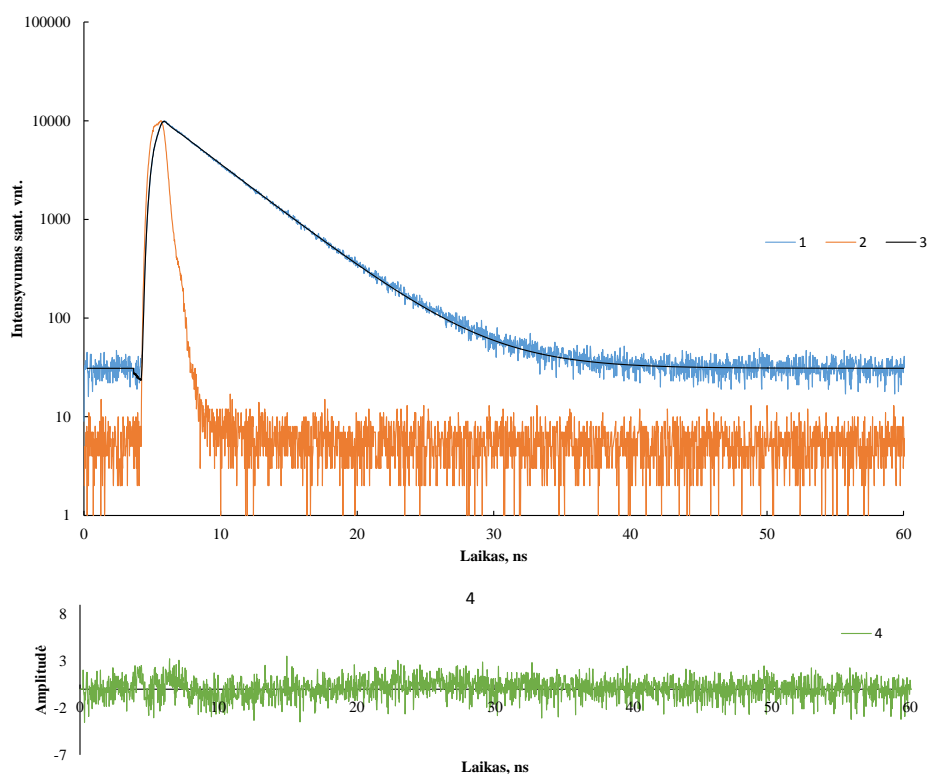
Ištirtas fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniniuose tirpaluose fluorescencijos gyvavimo trukmės pokytis, pridant NaCl (3.6 lentelė). Didėjant šio mažamolekulio elektrolito kiekiui tirpale, didėjo pireno fluorescencijos gyvavimo trukmė šarminėje terpėje, o gyvavimo trukmė rūgštinėje ir neutralioje terpėse mažai tepakito. Taigi Na⁺ jonų koncentracija turi įtaką šarminėje, bet mažai įtakoja polianijono elgesį vandenyje rūgštinėje terpėje.

3.6 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniniuose tirpaluose fluorescencijos vidurkinės gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH bei NaCl koncentracijos tirpale

Bandinys	pH	$\tau_{vidurkinė, ns}$			
		NaCl koncentracija bandinyje			
		0,036 M	0,016 M	0,005 M	-
AOEK _{0,28}	1	125,860	128,220	124,286	122,338
	6	119,376	120,856	123,139	121,719
	11	124,271	126,989	121,177	119,269
AOEK _{0,55}	1	118,442	117,849	118,202	116,277
	6	120,013	118,443	119,170	118,028
	11	132,637	126,628	121,118	118,801

Buvo užrašytos fluoresceinu modifikuoto AOEK (AOEK_{0,28} – FL arba AOEK_{0,55} – FL) vandeninių tirpalų fluorescencijos gesimo kreivės (pvz. žr. 3.16 pav.) bei paskaičiuotos fluorescencijos ($\lambda_{em} = 525$ nm) gyvavimo trukmės (žr. 3.7 lentelę). Nustatyta, kad fluorescencijos gyvavimo trukmė yra mažiausia polimerui esant rūgštinėje terpėje, o didžiausia

— šarminėje terpėje. Fluorescencijos gesimas buvo fiksuotas prie 525 nm emisijos bangos ilgio, o ši emisijos juosta yra būdinga fluoresceino molekulos dianijono formai, kuri vyrauja fluoresceinui esant šarminėj terpėj. Taigi, labai tikėtina, kad šarminėj terpėj dianijono fluorescencijai yra būdinga ir didžiausia gyvavimo trukmė. Tuo tarpu spręsti apie anijoninio hidroksietilkrakmolo konformacinius virsmus iš AOEK_{0,28} – FL bei AOEK_{0,55} – FL fluorescencijos gyvavimo trukmės duomenų yra sudėtinga.



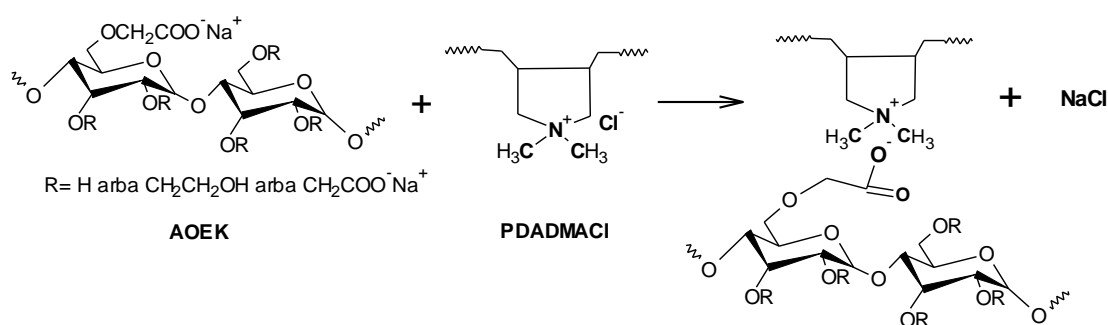
3.16 pav. AOEK_{0,28} – FL vandeninio tirpalo fluorescencijos gesimo kreivė (1). 2 – etalono profilis, 3 – gyvavimo trukmei paskaičiuoti pritaikytos funkcijos kreivė, 4 – funkcijos pritaikymo amplitudė. Tirpalo pH = 11.

3.7 lentelė. AOEK_{0,28} – FL ir AOEK_{0,55} – FL vandeninių tirpalų fluorescencijos gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH

pH	Bandinys			
	AOEK _{0,28} - FL		AOEK _{0,55} - FL	
	τ , ns	χ^2	τ , ns	χ^2
1	2,7230 ± 0,015	1,344	2,4686 ± 0,011	1,187
6	3,8922 ± 0,020	1,233	3,5091 ± 0,018	1,675
11	4,1355 ± 0,018	1,102	4,1531 ± 0,0180	1,09

3.4 Vandenyje netirpių anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų sudarymas ir savybės

Ištirta vandenyje tirpaus skirtingo pakeitimo laipsnio anijoninio hidroksietilkrakmolo (AOEK) arba fluorescenciniu žymekliu modifikuoto anijoninio hidroksietilkrakmolo (AOEK-FL) sąveika su polikatijonu – poli(dialildimetilamonio chloridu) (PDADMACl). Pasirinktos optimalios polielektrolitinių kompleksų susidarymo sąlygos, AOEK arba AOEK-FL sąveikaujant su PDADMACl esant skirtingam terpės pH (žr. 3.17 pav., 3.8-3.11 lenteles). Įvairios sudėties vandenyje netirpūs nestechiometriniai ($1 < [\text{anijoninės grupės}]:[\text{katijoninės grupės}] > 1$) kompleksai susidaro AOEK anijoninėms karboksigrupėms sąveikaujant su PDADMACl katijoninėmis ketvirtinėmis amonio grupėmis (3.17 pav.).



3.17pav. AOEK arba AOEK—FL ir PDADMACl polielektrolitinių kompleksų sudarymo schema.

Gauti įvairios sudėties AOEK/PDADMACl bei AOEK-FL/PDADMACl polikompleksų dalelės buvo charakterizuotos (žr. 3.8-3.11 lenteles) nustatant jų išėigą, išmatuojant dalelių dydį ir dzeta potencialą. Nustatyta, kad netirpių AOEK/PDADMACl ir AOEK-FL/PDADMACl kompleksų susidarymas ir savybės priklauso nuo jonines grupes turinčių grandžių molinių santykių tirpale ir terpės pH.

AOEK_{0,28} ir PDADMACl koncentracijoms tirpale esant atitinkamai 1 g/l ir 0,14 g/l, o anijoninių/katijoninių grupių molių santykiui 1,778/1, vandeniniame tirpale buvo suformuotos submikroninio dydžio dalelės. Išmatuotas vidutinis dalelių dydis AOEK_{0,28}/PDADMACl buvo nuo 161 iki 1933 nm. Mažiausios dalelės buvo suformuotos šarminėje terpėje, o didžiausios, esant pH = 3 (žr. pav. 3.18). Tuo tarpu AOEK_{0,55} ir PDADMACl koncentracijoms tirpale esant atitinkamai 1 g/l ir 0,14 g/l, o anijoninių/katijoninių grupių molių santykiui 3,222/1, vandeniniame tirpale buvo suformuotos panašaus dydžio submikroninio dydžio dalelės. Išmatuotas vidutinis dalelių dydis AOEK_{0,55}/PDADMACl buvo nuo 213 iki 1637 nm. Mažiausios dalelės taip buvo suformuotos šarminėje terpėje, o didžiausios, esant pH = 3.

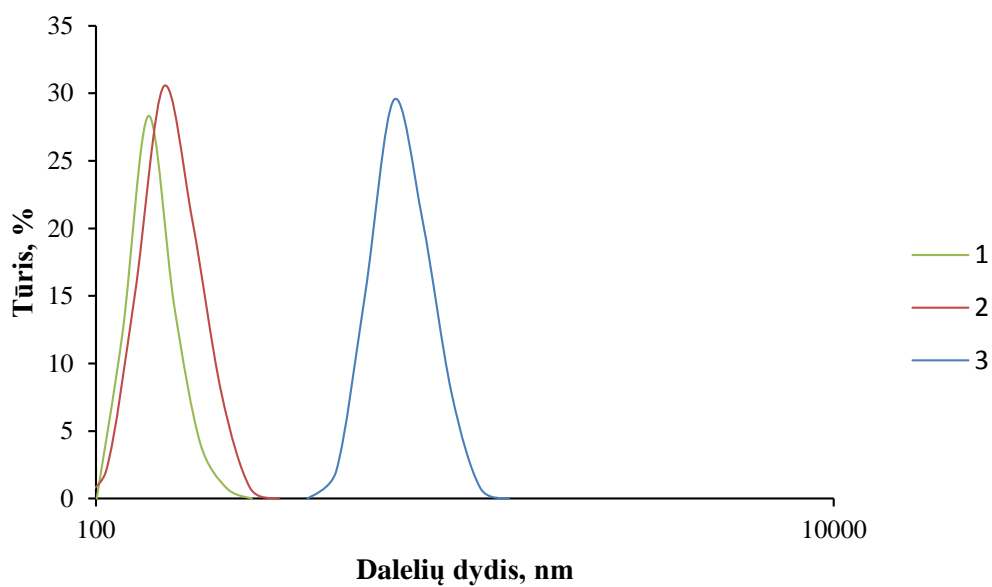
AOEK_{0,28}—FL ir PDADMCl koncentracijoms tirpale esant atitinkamai 1 g/l ir 0,14 g/l, o anijoninių/katijoninių grupių molių santykiui 1,778/1, vandeniniame tirpale buvo suformuotos submikroninio dydžio dalelės. Išmatuotas vidutinis dalelių dydis AOEK_{0,28}—FL/PDADMCl buvo nuo 342 iki 2236 nm. Mažiausios dalelės buvo suformuotos šarminėje terpėje, o didžiausios, esant pH = 3 (žr. pav.3.19). Tuo tarpu AOEK_{0,55}—FL ir PDADMCl koncentracijoms tirpale esant atitinkamai 1 g/l ir 0,14 g/l, o anijoninių/katijoninių grupių molių santykiui 3,222/1, vandeniniame tirpale buvo suformuotos šiek tiek mažesnės submikroninio dydžio dalelės. Išmatuotas vidutinis dalelių dydis AOEK_{0,55}—FL/PDADMCl buvo nuo 239 iki 1430 nm. Mažiausios dalelės taip buvo suformuotos šarminėje terpėje, o didžiausios, esant pH = 3.

Visų netirpių polikompleksų sudarymo atveju, didėjant terpės pH, suformuotų dalelių dydis mažėjo. Tai galima paaiškinti AOEK konformaciniais pokyčiais, esant skirtingam terpės pH. Šarminėje terpėje AOEK karboksigrupės yra jonizuotos, o pačios makromolekulės vandenyje egzistuoja laisvų raizginėlių formoje. Matomai, šarminėje terpėje susidarant polikompleksams vyrauja elektrostatinė sąveika tarp AOEK anijoninių karboksigrupių ir PDADMCl katijoninių ketvirtinių amonio grupių, o hidrofobinė sąveika turi papildomą įtaką kompleksams susidarant rūgštinėje terpėje. AOEK—FL/PDADMCl polikompleksų dalelės buvo šiek tiek didesnės negu AOEK/PDADMCl kompleksų dalelės, nes fluorescenciniu žymekliu modifikuotas AOEK yra šiek tiek hidrofobiškesnis.

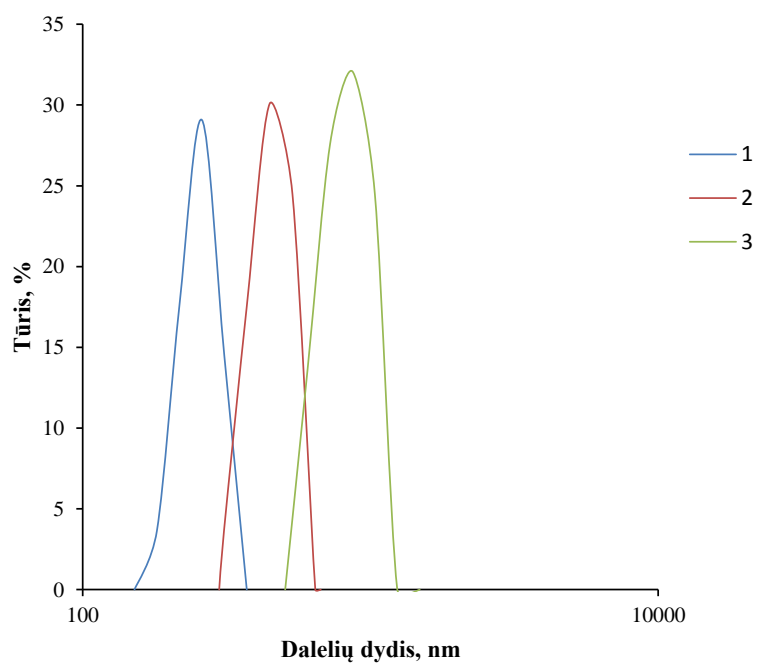
Reikia pažymėti, kad visų kompleksų atveju gautų dalelių išeiga, kompleksus sudarant rūgštinėje terpėje, buvo didžiausia ir siekė 50-70 %. Dalelių išeiga mažėjo, didėjant terpės pH ir buvo mažiausia, esant pH = 10. Šioje terpėje išeiga siekė apie 16 % AOEK/PDADMCl polikompleksams ir apie 8-55 % AOEK—FL/PDADMCl polikompleksams. Šarminėje terpėje AOEK karboksigrupės yra jonizuotos, pats polimeras yra tirpesnis, todėl susidaro mažiau netirpių polikomplekso dalelių.

Gautų nestechiometrinių anijoninio hidroksietilkrakmolo/poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų ([anijoninės grupės]:[katijoninės grupės]>1) dalelės yra teigiamo krūvio rūgštinėje terpėje bei neigiamo krūvio neutralioje ir šarminėje terpėse (žr. 3.8-3.11 lenteles). Tai atitinka polielektrolitinio komplekso sandarą (anijoninių grupių perteklius) ir anijoninio polimero elgesį vandenyje. Terpės pH keičiantis iš rūgštinės į neutralią ir šarminę, vyksta laisvų karboksigrupių jonizacija ir dalelės įgauna neigiamą krūvį.

Skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK/PDADMCl ir AOEK—FL/PDADMCl dalelių susidarymas taip pat buvo patvirtintas skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) tyrimais. Kaip matyti iš 3.20 pav. pateiktų AOEK/PDADMCl ir AOEK—FL/PDADMCl dalelių nuotraukų, gautų esant skirtingam pH, gautos dalelės yra nano– arba submikroninio dydžio, tačiau liofilizavimo metu nebuvo išvengta ir dalelių agregacijos.



3.18 pav. AOEK_{0,28}/PDADMACl netirpaus polikomplekso dalelių dydžio pasiskirstymas pagal tūrį: 1 - pH=10, 2 - pH=6, 3 - pH=3.



3.19 pav. AOEK_{0,28}-FL/PDADMACl netirpaus polikomplekso dalelių dydžio pasiskirstymas pagal tūrį: 1 - pH=10, 2 - pH=6, 3 - pH=3.

3.8 lentelė. AOEK_{0,28}/PDADMACl netirpių polikompleksų gavimo sąlygos ir charakteristikos

Bandinys	Terpės pH	AOEK g/l	PDADMACl g/l	Anijoninių/katijoninių grupių molekulių santykis tirpale	Išėiga, %	Dalelių dydis, nm	PI	Dzeta potencialas, mV
AOEK _{0,28} / PDADMACl	2,5	1	0,14	1,778/1	-	522,45± 71,85	0,26 ± 0,01	-
	3	1	0,14	1,778/1	70	1932,83 ± 40,17	0,30 ± 0,004	3,458 ± 0,03
	4	1	0,14	1,778/1	-	222,13 ± 16,89	0,13 ± 0,01	-
	6	1	0,14	1,778/1	59,78	161,40 ± 5,73	0,28 ± 0,03	-2,707 ± 0,3
	8	1	0,14	1,778/1	-	160,97 ± 6,16	0,27 ± 0,09	-
	10	1	0,14	1,778/1	15,65	162,62 ± 7,68	0,26 ± 0,01	-1,92 ± 0,05

3.9 lentelė. AOEK_{0,55}/PDADMACl netirpių polikompleksų gavimo sąlygos ir charakteristikos

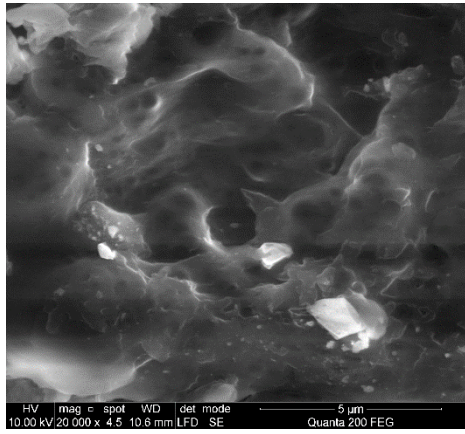
Bandinys	Terpės pH	AOEK g/l	PDADMACl g/l	Anijoninių/katijoninių grupių molekulių santykis tirpale	Išėiga, %	Dalelių dydis, nm	PI	Dzeta potencialas, mV
AOEK _{0,55} / PDADMACl	2,5	1	0,14	3,222/1	-	667,60± 25,10	0,16 ± 0,08	-
	3	1	0,14	3,222/1	70,87	1637,30 ± 114,54	0,28 ± 0,05	3,355 ± 0,09
	4	1	0,14	3,222/1	-	289,40 ± 30,92	0,30 ± 0,01	-
	6	1	0,14	3,222/1	26,52	237,80 ± 26,13	0,26 ± 0,03	-2,750 ± 0,02
	8	1	0,14	3,222/1	-	230,90 ± 24,07	0,24 ± 0,02	-
	10	1	0,14	3,222/1	16,3	213,07 ± 27,91	0,26 ± 0,01	-2,926 ± 0,05

3.10 lentelė. AOEK_{0,28} – FL/PDADMACl netirpių polikompleksų gavimo sąlygos ir charakteristikos

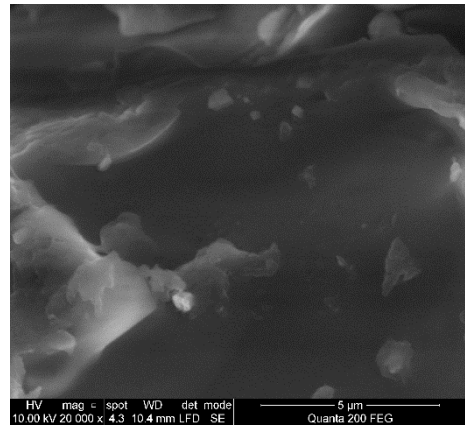
Bandinys	Terpės pH	AOEK g/l	PDADMACl g/l	Anijoninių/katijoninių grupių molių santykis tirpale	Išeiiga, %	Dalelių dydis, nm	PI	Dzeta potencialas, mV
AOEK _{0,28} -FL/ PDADMACl	2,5	1	0,14	1,778/1	-	466,65 ± 17,75	0,21 ± 0,02	-
	3	1	0,14	1,778/1	67,17	2235,55 ± 215,35	0,67 ± 0,04	2,732 ± 0,04
	4	1	0,14	1,778/1	-	1485,13 ± 29,72	0,41 ± 0,01	-
	6	1	0,14	1,778/1	61,3	744,73 ± 98,39	0,26 ± 0,03	-1,332 ± 0,04
	8	1	0,14	1,778/1	-	421,35 ± 24,45	0,12 ± 0,03	-
	10	1	0,14	1,778/1	55,43	341,70 ± 20,5	0,16 ± 0,02	-2,658 ± 0,09

3.11 lentelė. AOEK_{0,55} – FL/PDADMACl netirpių polikompleksų gavimo sąlygos ir charakteristikos

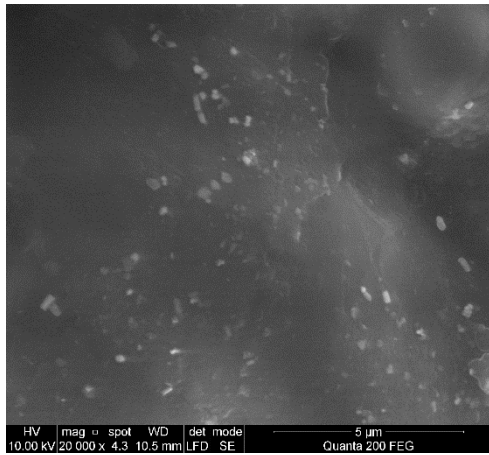
Bandinys	Terpės pH	AOEK g/l	PDADMACl g/l	Anijoninių/katijoninių grupių molių santykis tirpale	Išeiiga, %	Dalelių dydis, nm	PI	Dzeta potencialas, mV
AOEK _{0,55} -FL/ PDADMACl	2,5	1	0,14	3,222/1	-	664,20 ± 14,2	0,42 ± 0,07	-
	3	1	0,14	3,222/1	53,26	1430,13 ± 22,06	0,48 ± 0,02	1,982 ± 0,17
	4	1	0,14	3,222/1	-	377,20 ± 35,62	0,25 ± 0,01	-
	6	1	0,14	3,222/1	12,82	250,58 ± 28,54	0,29 ± 0,02	-2,764 ± 0,05
	8	1	0,14	3,222/1	-	247,88 ± 26,06	0,30 ± 0,01	-
	10	1	0,14	3,222/1	7,83	239,17 ± 22,6	0,31 ± 0,02	-2,754 ± 0,08



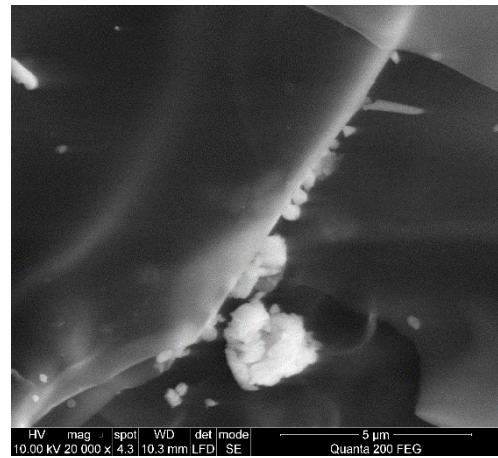
a)



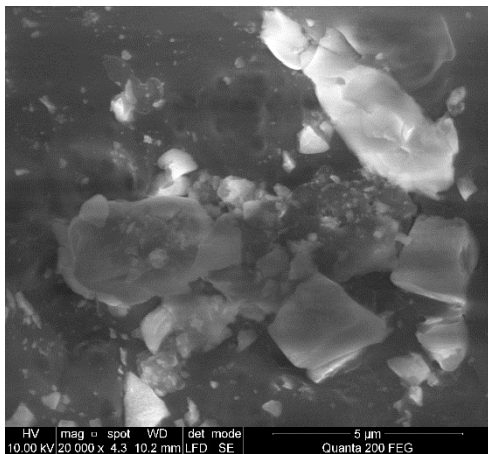
d)



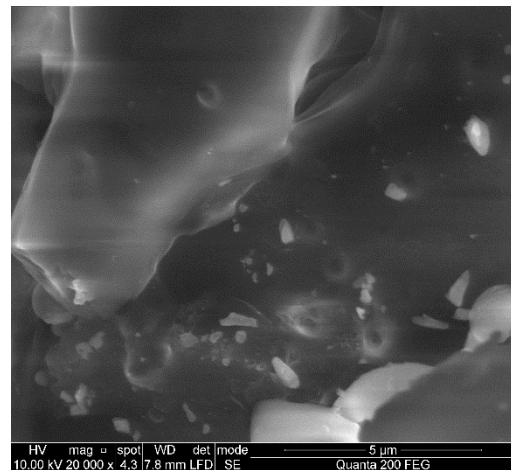
b)



e)

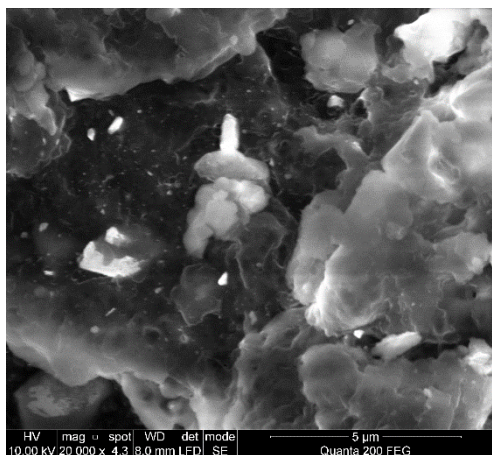


c)

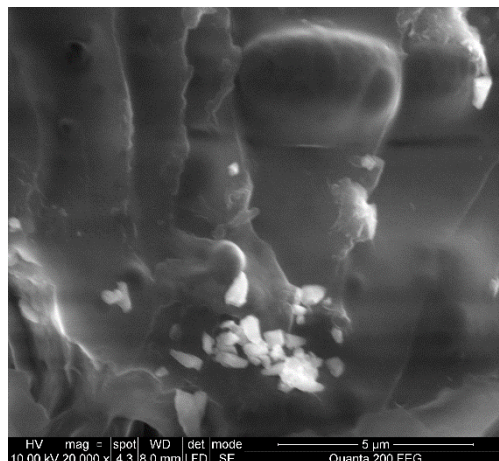


f)

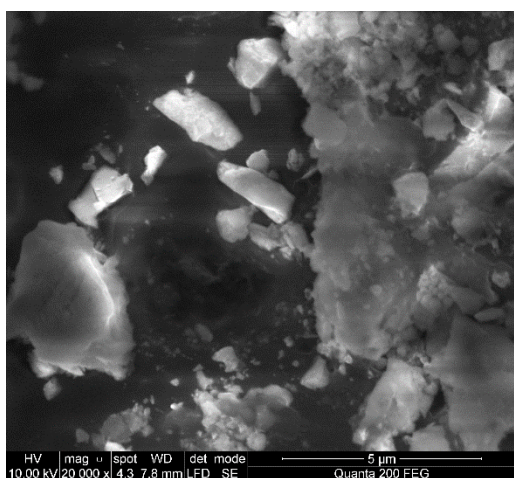
3.20 pav. AOEK/PDADMACl dalelių ir jų agregatų SEM nuotraukos: AOEK_{0,28}/PDADMACl darinių nuotraukos, kai pH=3 (a), pH=6 (b), pH=10 (c); AOEK_{0,55}/PDADMACl darinių nuotraukos, kai pH=3 (d), pH=6 (e), pH=10 (f).
Bandinių didinimas – 20000 kartų.



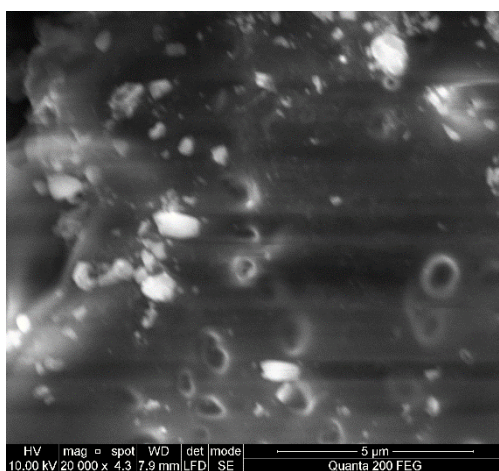
a)



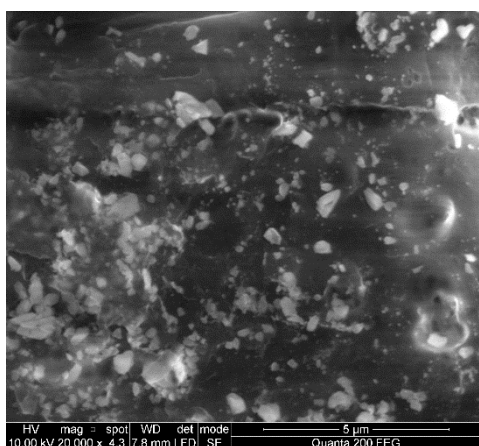
d)



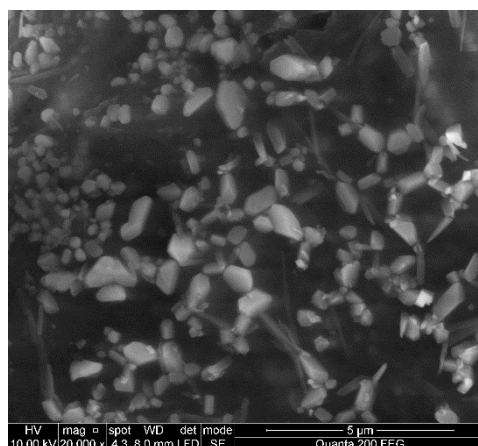
b)



e)



c)



f)

3.21 pav. AOEK—FL/PDADMACl dalelių ir jų agregatų SEM nuotraukos: AOEK_{0,28}—FL/PDADMACl darinių nuotraukos, kai pH=3 (a), pH=6 (b), pH=10 (c); AOEK_{0,55}—FL/PDADMACl darinių nuotraukos, kai pH=3 (d), pH=6 (e), pH=10 (f). Bandinių didinimas – 20000 kartų.

3.5 Anijoninio hidroksetilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų dalelių dispersijų fluorescenciniai tyrimai

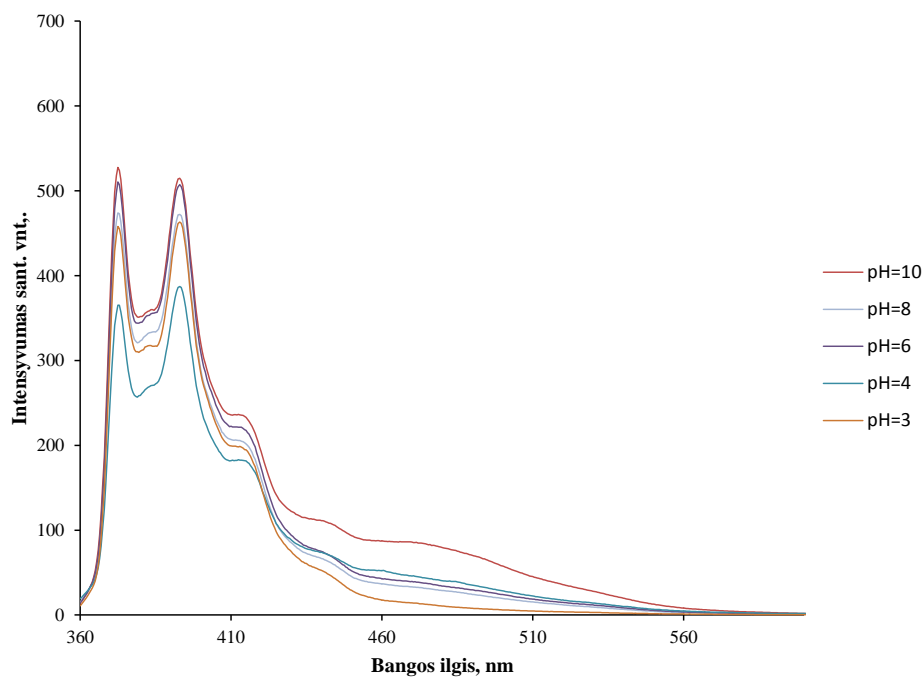
3.5.1 Dalelių dispersijų nuostoviosios fluorescencijos tyrimai

Įvairios sudėties AOEK/PDADMCl bei AOEK—FL/PDADMCl polikompleksų dalelių vandenyje savybėms, esant skirtingai terpės pH, ištirti buvo atlikti nuostoviosios (nepriklausomos nuo laiko) fluorescencijos matavimai. Tyrimai atlikti naudojant du fluorescencinio tyrimo metodus: naudojant fluorescencinį zondą pireną bei fluorescencinį žymeklį fluoresceiną, kuris buvo prijungtas prie AOEK modifikavimo reakcijos metu.

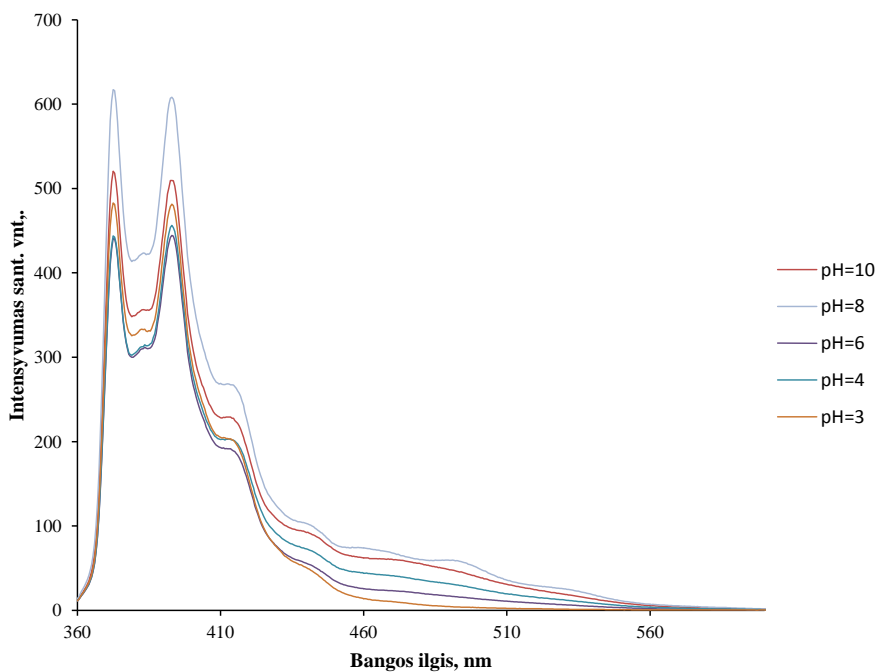
Pireną dispergavus AOEK_{0,28}/PDADMCl bei AOEK_{0,55}/PDADMCl polikompleksų dalelių dispersinėse sistemose buvo užrašyti jų fluorescencijos spektrai, keičiant terpės pH (3.22 ir 3.23 pav.). Fluorescencijos spektrams buvo būdingos ne tik monomerinės, bet ir „statinių eksimerų“ (apie 470 nm) emisijos juostos, o tirpalų fluorescencijos smailių intensyvumo pokyčiai priklausė nuo terpės pH (žr. 3.26 pav.).

Buvo užrašyti AOEK_{0,28} — FL/PDADMCl bei AOEK_{0,55} — FL/PDADMCl polikompleksų dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos spektrai, keičiant terpės pH (3.24 ir 3.25 pav.). Nustatyta, šarminėje terpėje AOEK—FL/PDADMCl emisijos spektre vyrauja tik fluoresceino dianijono emisijos juosta su maksimumu ties 525 nm, kuri, esant terpės pH < 4, išnyksta (bandinys nefluorescuoja). Tuo tarpu fluoresceino monoanijonui būdinga emisijos smailė nebuvo užfiksuota. Pastebėta, kad šarminėj terpėj tiriamam bandiniui buvo būdinga rausva spalva, kuri, terpės pH mažėjant, pakito į gelsvai žalią rūgštinėj terpėj.

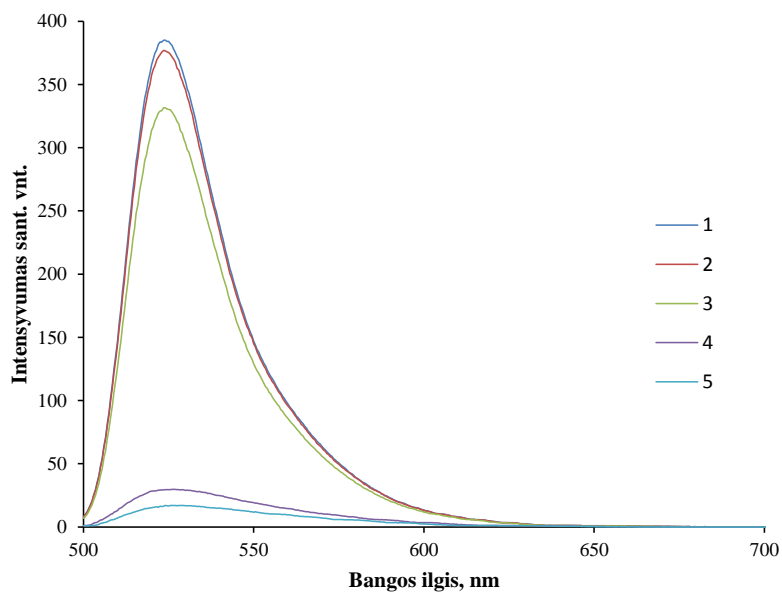
Kaip matyti 3.26 pav. didžiausias pireno monomerinės fluorescencijos emisijos ($\lambda_{em} = 373$ nm) intensyvumas buvo išmatuotas šarminėje terpėje, o mažiausias rūgštinėje ir atspindi komplekse esančio AOEK konformacinį virsmą pH intervale nuo 4 iki 6 iš tampriai susisukusio raizginėlio rūgštinėje terpėje į laisvesnės struktūros raizginėlį šarminėje terpėje. Šiuo atveju AOEK/PDADMCl bei AOEK—FL/PDADMCl dalelių savybės vandenyje, keičiant terpės pH buvo panašios. 3.27 pav. yra pateiktos AOEK_{0,28} — FL/PDADMCl bei AOEK_{0,55} — FL/PDADMCl fluorescencijos emisijos smailės intensyvumo prie 525 nm priklausomybės nuo terpės pH kreivės. Kaip matyti, bandiniai rūgštinėje terpėje faktiškai nefluorescuoja, o terpės pH pasiekus ~5,5, intensyvumas didėja ir yra didžiausias šarminėj terpėj. Reikia pastebėti, kad AOEK_{0,28} — FL/PDADMCl fluorescencijos emisijos smailės intensyvumas beveik du kartus buvo didesnis negu AOEK_{0,55} — FL/PDADMCl, kas buvo pastebėta ir AOEK—FL atveju.



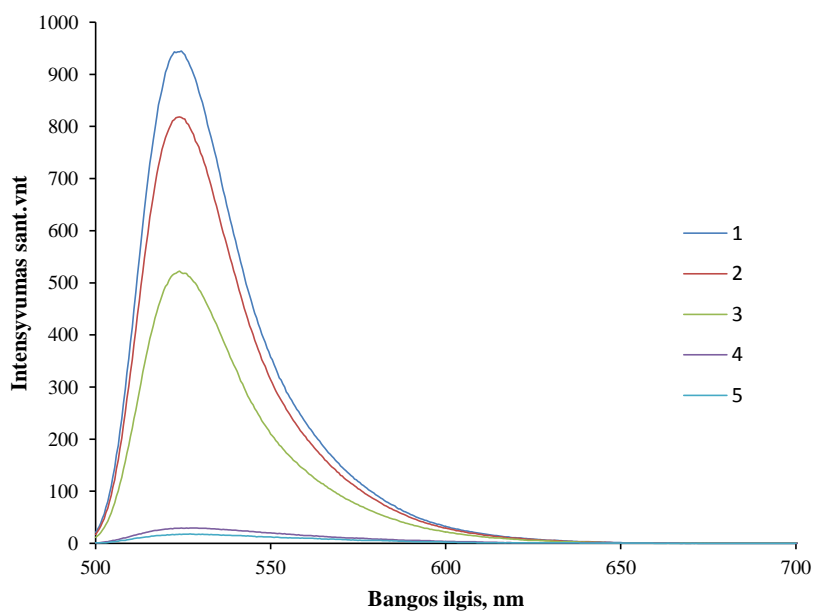
3.22 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28}/PDADMACl dalelių vandeninėse dispersinėse sistemose fluorescencijos emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 333 \text{ nm}$.



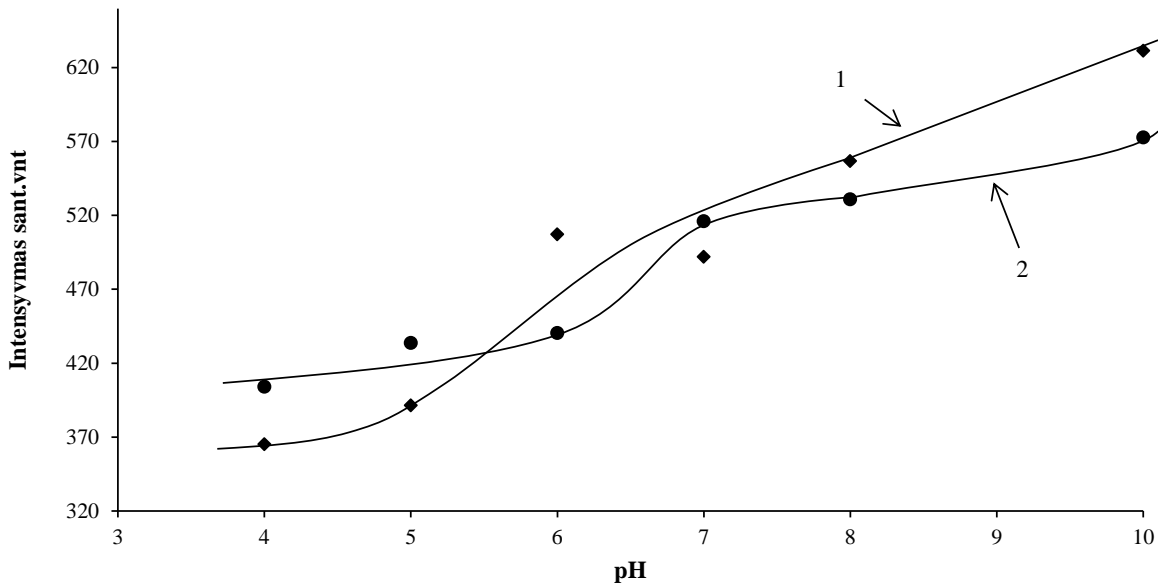
3.23 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,55}/PDADMACl dalelių vandeninėse dispersinėse sistemose fluorescencijos emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 333 \text{ nm}$.



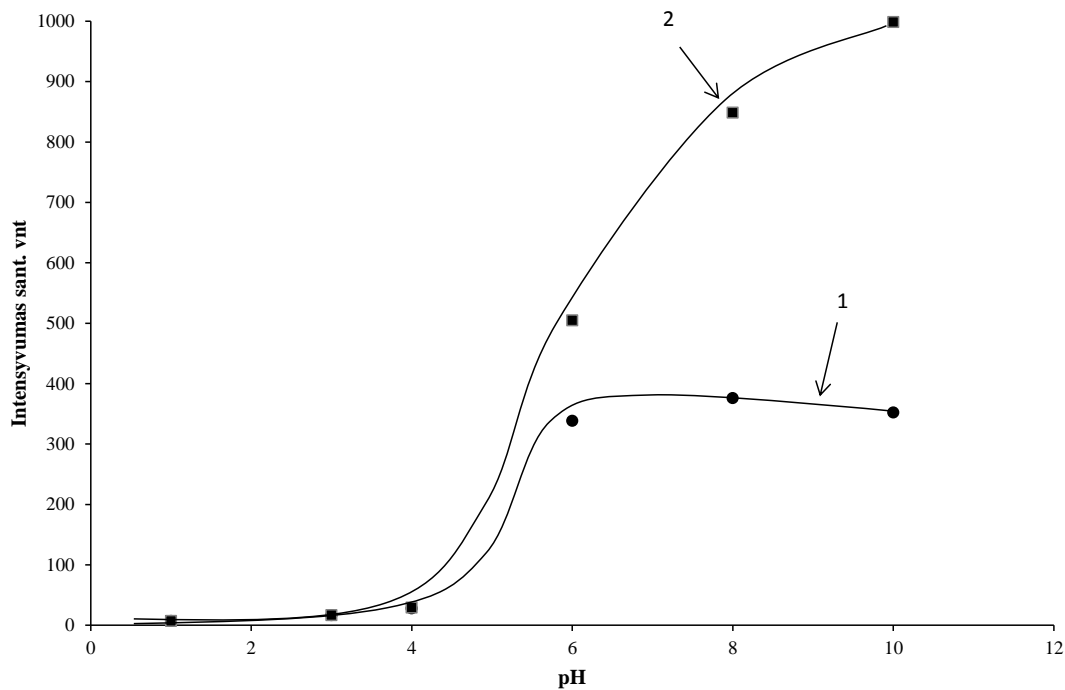
3.24 pav. AOEK_{0,28} — FL/PDADMACl dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490 \text{ nm}$. Kreivių pH yra pH=10 (1), pH=8 (2), pH=6 (3), pH=4 (4), pH=3 (5).



3.25 pav. AOEK_{0,55} — FL/PDADMACl dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos emisijos spektrai esant įvairiam terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490 \text{ nm}$. Kreivių pH yra pH=10 (1), pH=8 (2), pH=6 (3), pH=4 (4), pH=3 (5).



3.26 pav. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0.28}/PDADMACl (1) ir AOEK_{0.55}/PDADMACl (2) dalelių vandeninėse dispersinėse sistemose emisijos smailės intensyvumo priklausomybė nuo terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 333$ nm. $\lambda_{\text{em}} = 373$ nm.



3.27 pav. AOEK_{0.28} — FL/PDADMACl (1) ir AOEK_{0.55} — FL/PDADMACl (2) dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos emisijos smailės intensyvumo priklausomybė nuo terpės pH. $\lambda_{\text{sužad.}} = 490$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 525$ nm.

AOEK_{0,28}/PDADMACl bei AOEK_{0,55}/PDADMACl hidrofobiškumui įvertinti buvo išmatuoti pirmosios (I₁ prie 372 nm) ir trečiosios (I₃ prie 383 nm) pireno emisijos juostų intensyvumo pokyčiai, keičiant terpės pH. 3.12 lentelėje pateikti šių smailių intensyvumų santykiai (I₁/I₃), keičiant terpės pH. Ištyrus fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28}/PDADMACl bei AOEK_{0,55}/PDADMACl vandeninėse dispersinėse sistemose charakteringųjų emisijos smailių intensyvumo santykio (I₁/I₃) priklausomybę nuo terpės pH, nustatyta, kad rūgštinėje terpėje pirenas buvo labiau hidrofobinėje aplinkoje, apie ką liudija nustatytos mažesnės I₁/I₃ parametro reikšmės. Nustatyta, kad tiek AOEK_{0,28}/PDADMACl, tiek AOEK_{0,55}/PDADMACl molekulės tiek rūgštinėje, tiek šarminėje aplinkoje suteikė pirenui daug labiau hidrofobinę aplinką negu vanduo. Taip pat galima pastebėti, kad AOEK_{0,55}/PDADMACl suteikė zondui pirenui mažiau hidrofobinę aplinką (šiek tiek didesnės I₁/I₃ parametro reikšmės) negu AOEK_{0,28}/PDADMACl.

3.12 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28}/PDADMACl ir AOEK_{0,55}/PDADMACl vandeninėse dispersinėse sistemose charakteringųjų emisijos smailių intensyvumų santykio (I₁/I₃) priklausomybė nuo terpės pH

pH	Bandinys	
	AOEK _{0,28} /PDADMACl	AOEK _{0,55} /PDADMACl
	I ₁ (372 nm)/I ₃ (383 nm)	I ₁ (372 nm)/ I ₃ (383 nm)
3	1,354	1,384
4	1,361	1,409
6	1,413	1,442
8	1,430	1,448
10	1,457	1,462

3.5.2 Dalelių dispersinių sistemų laiko skyros fluorescencijos tyrimai

AOEK/PDADMACl ir AOEK-FL/PDADMACl dalelių savybėms vandenyje, esant skirtingai pH, ištirti buvo atlikti laiko skyros fluorescencijos matavimai. Tyrimai atlikti naudojant du fluorescencinio tyrimo metodus: naudojant fluorescencinį zondą pireną bei fluorescencinį žymeklį fluoresceiną, kuris buvo prijungtas prie AOEK modifikavimo reakcijos metu.

Keičiantis fluorescencinio zondo pireno mikroaplinkos polariškumui gali keistis ir jo fluorescencijos gyvavimo trukmė. Todėl buvo užrašytos zondo pireno soliubilizuoto įvairios pH skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK/PDADMACl vandeninėse dalelių dispersinėse sistemose fluorescencijos gesimo kreivės bei paskaičiuotos fluorescencijos gyvavimo trukmės (žr. 3.13, 3.14 lenteles).

3.13 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,28}/PDADMACl dalelių vandeninėse dispersinėse sistemose fluorescencijos gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH.

pH	τ_1 , ns	τ_2 , ns	$\tau_{\text{vidurkinė}}$, ns	χ^2
3	138,00 ± 1,070 (96,66%)	6,497 ± 0,747 (3,34%)	137,786	1,060
4	135,296 ± 0,508 (99,06%)	3,254 ± 0,411 (0,94%)	135,266	1,033
6	134,061 ± 0,576 (92,76%)	9,790 ± 0,339 (7,24%)	133,357	1,058
8	136,823 ± 0,564 (92,73%)	10,868 ± 0,381 (7,27%)	136,043	1,021
10	133,569 ± 0,498 (98,00%)	3,798 ± 0,253 (2,00%)	133,494	1,171

Nustatyta, kad pireno emisijai yra būdinga šiek tiek didesnė gyvavimo trukmė, kai jis buvo disperguotas AOEK_{0,28}/PDADMACl arba AOEK_{0,55}/PDADMACl vandeninėse dispersinėse sistemose rūgštinėje terpėje. Didėjant terpės pH, fluorescencijos gyvavimo trukmė mažėjo. Tai patvirtina kompleksadario - anijoninio hidroksietilkrakmolo konformacinį virsmą iš tampriai susisukusio raizginėlio rūgštinėje terpėje, kur pireno emisija yra labiau apsaugota nuo gesiklių, į laisvesnės struktūros raizginėlį šarminėje terpėje.

3.14 lentelė. Fluorescencinio zondo pireno soliubilizuoto AOEK_{0,55}/PDADMACl dalelių vandeninėse dispersinėse sistemose fluorescencijos gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH.

pH	τ_1 , ns	τ_2 , ns	$\tau_{\text{vidurkinė}}$, ns	χ^2
4	138,165 ± 0,747 (84,17%)	0,206 ± 0,002 (15,83%)	138,126	1,218
6	138,790 ± 0,870 (94,56%)	5,184 ± 0,258 (5,44%)	138,504	1,627
8	135,690 ± 0,881 (90,07%)	8,173 ± 0,306 (9,93%)	134,849	1,814
10	135,528 ± 0,734 (88,58%)	9,229 ± 0,266 (11,42%)	134,429	1,227

Buvo užrašytos AOEK_{0,28} – FL/PDADMACl ir AOEK_{0,55} – FL/PDADMACl dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos gesimo kreivės bei paskaičiuotos fluorescencijos ($\lambda_{\text{em}} = 525$ nm) gyvavimo trukmės (žr. 3.15 lentelę). Nustatyta, kad fluorescencijos gyvavimo trukmė yra mažiausia polimerui esant rūgštinėje terpėje, o didžiausia – šarminėje terpėje. Fluorescencijos gesimas buvo fiksuotas prie 525 nm emisijos bangos ilgio, o ši emisijos juosta yra būdinga fluoresceino molekulės dianijono formai, kuri vyrauja fluoresceinui esant šarminėje terpėje. Taigi, labai tikėtina, kad šarminėje terpėje dianijono fluorescencijai yra būdinga ir didžiausia gyvavimo trukmė. Tuo tarpu spręsti apie polikompleksų dalelių savybes vandenyje anijoninio hidroksietilkrakmolo konformacinius virsmus iš AOEK_{0,28} – FL/PDADMACl ir AOEK_{0,55} – FL/PDADMACl dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos gyvavimo trukmių duomenų yra sudėtinga.

3.15 lentelė. AOEK_{0,28} — FL/PDADMACl ir AOEK_{0,55} — FL/PDADMACl dalelių vandeninių dispersinių sistemų fluorescencijos gyvavimo trukmės priklausomybė nuo terpės pH.

pH	Bandinys			
	AOEK _{0,28} -FL/PDADMACl		AOEK _{0,55} -FL/PDADMACl	
	τ , ns	x^2	τ , ns	x^2
3	3,3186 ± 0,0169	1,24	3,0654 ± 0,0140	1,11
4	3,7863 ± 0,0195	1,16	3,3870 ± 0,0148	1,16
6	3,7897 ± 0,0186	1,14	3,9765 ± 0,0194	1,07
8	3,7917 ± 0,0175	1,35	4,0873 ± 0,0178	1,06
10	3,8193 ± 0,0168	1,29	4,0212 ± 0,0138	1,43

3.6 Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos technologinis aprašymas

Apibendrinus gautus rezultatus, pateiktus 3.1 - 3.5 skyreliuose, buvo parinktos anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių formavimo sąlygos, kurioms esant gaunama didžiausia išeiga (~ 70%). Dalelių gamybos technologinė schema yra pateikta 3.28 pav., o gamybai (109,44 kg produkto per parą, dirbant dviem pamainomis) reikalingi žaliavų kiekiai ir technologinio režimo parametrai nurodyti 3.16 lentelėje. Submikroninių dalelių gamyba vykdoma dviem stadijomis. Pirmojoje stadijoje vykdoma AOEK sintezė, o antrojoje jau formuojamos submikroninės AOEK/ PDADMACl dalelės.

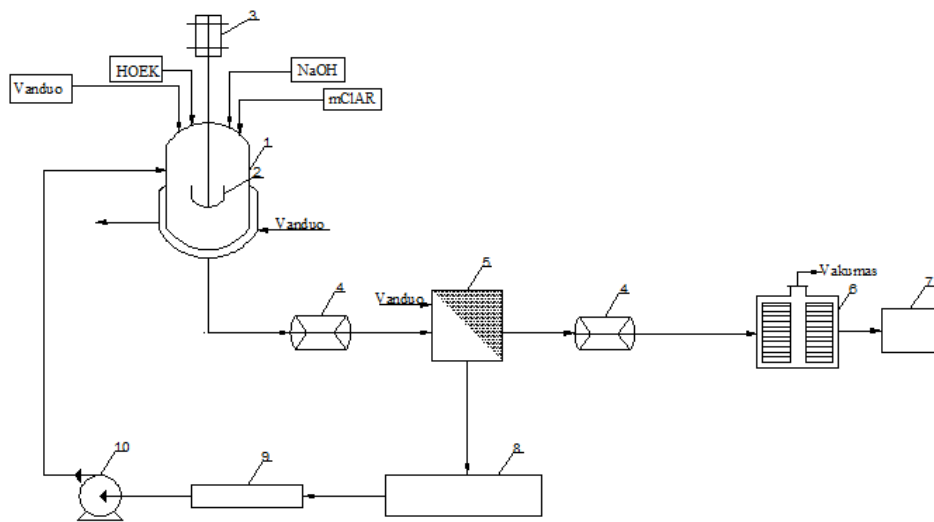
Pirmojoje stadijoje 1500 litrų talpos nerūdijančio plieno periodinio sumaišymo reaktoriuje *I* yra vykdoma hidroksietilkrakmolo (HOEK) eterinimo natrio monochloracto rūgštimi (mClAR) reakcija šarminėje terpėje (žr. 3.28 pav.). Siekiant užtikrinti pakankamus šilumos ir masės mainus, suspensija yra maišoma inkarine maišykle 2, kurią suka variklis 3. Sumaišymo reaktorius *I* yra katilas su dvigubomis sienelėmis: išorinės špižinės sienelės ir nerūdijančio plieno vidinės sienelės. Tarpe tarp vidinės ir išorinės sienelės teka karštas vanduo. Atidavęs šilumą, vanduo išleidžiamas į kanalizaciją. AOEK sintezės reakcija vykdoma 5 val. 50 — 55 °C. Gautas produktas — klampus kleisteris yra transportuojamas diafragminiu siurbliu 4 į filtravimo įrenginį 5. Ultrafiltravimo metu stambiamolekuliniai junginiai (produktas) yra atskiriami nuo mažamolekulinių. Nuotekos, likusios po šio proceso yra išvalomos panaudojant atvirkštinio osmoso įrenginius 8, švarus vanduo surenkamas tirpiklio surinkimo talpoje 9 ir vėl gali būti panaudotas technologiniame procese. Po ultrafiltravimo švarus anijoninio hidroksietilkrakmolo tirpalas yra transportuojamas membraniniu siurbliu 4 į liofilizatorių 6, šiame įrenginyje AOEK yra užšaldomas iki –80 °C, tada sudaromas 2–3 MPa slėgis bei vakumo pagalba pašalinama drėgmė. Po šio proceso sausas produktas iškraunamas į saugojimo talpą 7.

Antrojoje stadijoje atliekamas AOEK/PDADMACl dalelių formavimas. Dalelės formuojamos 6000 l talpos reaktoriuje *II*. Dispersinė sistema maišoma inkarine maišykle 2. Dalelėms gauti sumaišomi poli(dialildimetilamonio chlorido) ir AOEK vandeniniai tirpalai,

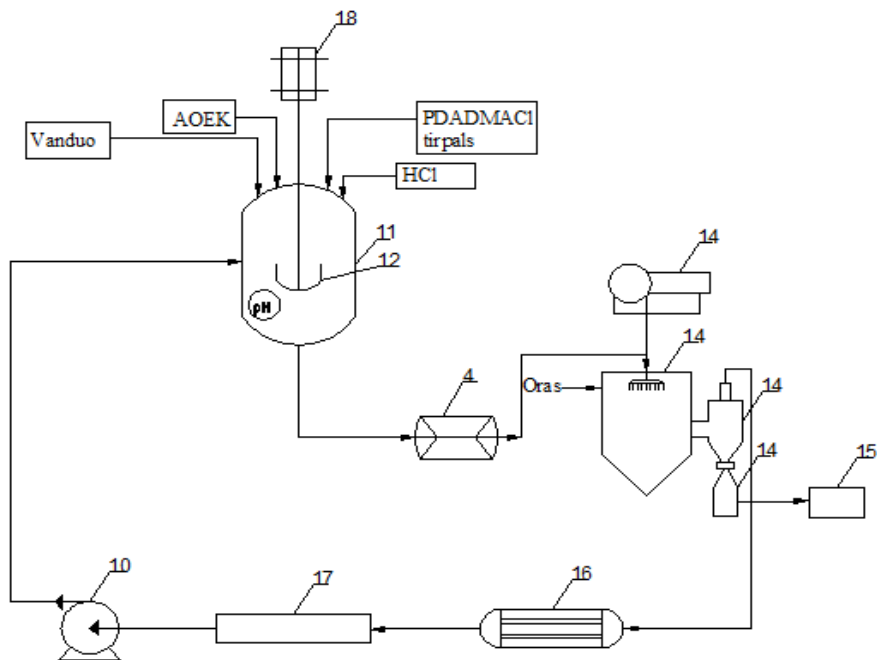
PDADMACl ir AOEK koncentracijai sumaišymo reaktoriuje atitinkamai esant 0,14 g/l ir 1g/l. Dalelių formavimas vykdomas silpnai rūgštinėje terpėje, parūgštinus tirpalą 0,5 M HCl iki pH=3. Susidarius AOEK/PDADMACl dalelėms, dispersinė sistema yra transportuojama išcentrinu siurbliu 10 į purkštuvinę džiovyklę 13. Purkštuvinėje džiovyklėje kompresorius 12 sudaro slėgį, kuris reikalingas išpurkšti suspensijai. Purškiant suspensiją į karšto oro srautą, dalelės išdžiūsta ir yra pernešamos į cikloną 14, kur jos yra atskiriamos ir surenkamos į rezervuarą 15. Gautos sausos dalelės iškraunamos į saugojimo talpas 7. Proceso metu sukondensuotas tirpiklis surenkamas tirpiklio surinkimo talpoje 9 ir vėliau gali būti panaudojamas procese. Norint gauti 109,44 kg produkto per parą (dirbant dviem pamainomis), antroje stadijoje procesas kartojamas 23 kartus.

3.16 lentelė. Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos žaliavų kiekiai ir proceso režimo parametrai

Eil. Nr.	Žaliavos	Kiekis, kg	Technologinio režimo parametrai		
			Maišymo greitis, aps/min	Trukmė, min	Temperatūra, °C
1	Anijoninio hidroksietilkrakmolo gamyba				
1.1	HOEK	100,00	100 –200	300	50-55
1.2	mClAR	68,64			
1.3	NaOH	53,26			
1.4	H ₂ O	980,00			
2	Anijoninio hidroksietilkrakmolo ir poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamyba				
2.1	PDADMACl	0,84	200	10	20
2.2	AOEK	6,00			
2.3	H ₂ O	5500			
2.4	HCl	iki pH 3			



I



II

3.28 pav. Anijoninio hidroksietilkrakmolo/poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos technologinė schema:

- 1 – sumaišymo reaktorius; 2 – inkarinė maišyklė; 3 – variklis; 4 – diafragminis siurblys; 5 – filtravimo įrenginys;
 6 – liofilizatorius; 7 – saugojimo talpa; 8 – vandens valymo įrenginiai; 9 – tirpiklio surinkimo talpa; 10 – išcentrinis siurblys; 11 – sumaišymo reaktorius; 12 – kompresorius; 13 – purkštuvinė džiovyklė; 14 – ciklonas; 15 – dalelių surinkimo rezervuaras; 16 – kondensatorius.

Išvados

1. Skirtingo pakeitimo laipsnio vandenyje tirpus anijoniniai hidroksietilkrakmolai AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} buvo gauti vykdant hidroksietilkrakmolo eterinimo reakciją su natrio monochloracto rūgštimi šarminėje terpėje. AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} chemiškai modifikavus 5-aminofluoresceinu, gauti nauji fluorescenciniu žymekliu modifikuoto AOEK dariniai: AOEK_{0,28}—FL ir AOEK_{0,55}—FL.

2. Nuostoviosios ir laiko skyros fluorescencinės spektroskopijos metodais ištirti skirtingo pakeitimo laipsnio AOEK ir fluorescenciniu žymekliu modifikuoto AOEK konformaciniai virsmai vandenyje. Ištyrus fluorescencinio zondo pirenoli solubilizuoto AOEK_{0,28} ir AOEK_{0,55} vandeniuose tirpaluose charakteringų emisijos smailių intensyvumo ir gyvavimo trukmių priklausomybę nuo terpės pH, nustatyta, AOEK būdingas konformacinis virsmas iš tampaiai susisukusio raizginėlio rūgštinėje terpėje į laisvesnės struktūros raizginėlį šarminėje terpėje, o rūgštinėje terpėje pirenolis yra labiau hidrofobinėje aplinkoje.

3. Nustatyta, kad vandens terpėje sąveikaujant anijoniniam hidroksietilkrakmolui su polikacijonu poli(dialildimetilamonio chloridu) (PDADMACl) vyksta netirpių polielektrolitinių kompleksų susidarymas. Gautų nestechiometrinių anijoninio hidroksietilkrakmolo /poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitinių kompleksų ([anijoninės grupės]: [katijoninės grupės] > 1) dalelės yra teigiamo krūvio rūgštinėje terpėje bei neigiamo krūvio neutralioje ir šarminėje terpėse.

4. Atlikus dalelių dydžio ir skenuojančios elektroninės mikroskopijos tyrimus, nustatyta, kad gauti netirpūs anijoninio hidroksietilkrakmolo/poli(dialildimetilamonio chlorido) polielektrolitiniai kompleksai yra submikroninio dydžio dalelės. Didėjant terpės pH, dalelių dydis mažėja. Išmatuotas vidutinis dalelių dydis AOEK_{0,28}/PDADMACl buvo nuo 161 iki 1933 nm, o AOEK_{0,55}/PDADMACl — nuo 213 iki 1637 nm. Tuo tarpu vidutinis dalelių dydis AOEK_{0,28}—FL/PDADMACl buvo nuo 342 iki 2236 nm, o AOEK_{0,55}—FL/PDADMACl — nuo 239 iki 1430 nm.

5. Fluorescencinės spektroskopijos metodais nustatyta, kad esant įvairiam terpės pH anijoninio hidroksietilkrakmolo/poli(dialildimetilamonio chlorido), polielektrolitinių kompleksų dalelių savybės priklauso nuo anijoninio hidroksietilkrakmolo sandaros ir konformacinių virsmų vandenyje.

6. Paruoštas anijoninio hidroksietilkrakmolo/poli(dialildimetilamonio chlorido) dalelių gamybos technologinis aprašymas, pagal kurį galima pagaminti 109,44 kg produkto per parą.

Literatūros sąrašas

1. UNDŽENAS, A. Organinių junginių fotonikos pagrindai. Vilnius: Vilniaus universitetas, 1999, pp. 270.
2. LAKOWICZ, J. R. Principles of fluorescence spectroscopy. Third edition, New York: Springer, 2006, pp.954. ISBN 9780387312781
3. MATULIS D. Baltymų fizikinė chemija: mokomoji knyga. Vilnius: Vilniaus universitetas, 2008, pp.79-103. ISBN 9789955254287
4. Jablonski diagram [Interaktyvus]. [žiūrėta 2015-02-08]. Prieigaper internetą :http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Jablonski_diagram
5. BECKER, W. Advanced time – correlated single photon counting applications. Berlin: Springer, 2015, pp. 122. ISBN 9783319149295
6. FRANZ, K.,A. et al. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry: Luminescent Materials. Weinheim: Wiley-VCH, 1985, pp. 702. ISBN3527201505
7. BEMILLER J.N. and W. LAAYETE. Starch Modification : Challenges and Prospects. Starch/Stärke. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 1997, 49, pp. 127-131. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1002/star.19970490402>
8. LE CORRE D. et al. Starch nanoparticles: a review. Biomacromolecular. Washington: ACS publications, 2010, 11(5), pp. 1139-1153. ISSN 15264602
9. SIMANAVIČIŪTĖ, D. Krakmolo cheminis ir fizikinis modifikavimas. Cheminė technologija. Kaunas: Kauno technologijų universitetas, 2015, 1(66), pp.45-54. ISSN 13921231
10. KAVLANI N. et al. Various techniques for the modifications of starch and the applications of its derivatives. International research journal of pharmacy. Bareilly: Pharmacy, 2012, 3(5), 1-7pp. ISSN 22308407
11. ELIASSON, A. Starch in food. Cambridge: Woodhead Publishing limited, 2004, pp.605. ISBN1855737310
12. Carbohydrates [Interaktyvus]. [žiūrėta 2015-02-08]. Prieiga per internetą: : <http://www.rsc.org/Education/Teachers/Resources/cfb/carbohydrates.htm>
13. BOHARI, Y. et al. Optimization of Reaction Conditions for Carboxymethylated Sago Starch. Iranian Polymer Journal. Berlin: Springer, 2011, 20(3), pp. 195-204. ISSN10261265

14. LEE, S.J. et al. Modification of Granular Corn Starch with 4- α -Glucanotransferase from *Thermotoga maritima*: Effectson Structural and Physical Properties. *Journal of food science*. Chicago: Institute of food technologists, 2008, 73, pp. C158-C166.
ISSN17503841
15. KUNRUEDEE S., K. SIRIWANLAPHA and S. KLANARONG. The Role of Reaction Parameters on the Preparation and Properties of Carboxymethyl Cassava Starch. *Starch/Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2005, 57, pp 84-93. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1002/star.200400302>
16. STOJANOVIČ Ž., K. JEREMIČK and S. JOVANOVIČ. Synthesis of carboxymethyl starch. *Starch/Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2000, 52, pp. 413-419. . Prieiga per: doi: [http://dx.doi.org/10.1002/1521-379X\(200011\)52:11<413::AID-STAR413>3.0.CO](http://dx.doi.org/10.1002/1521-379X(200011)52:11<413::AID-STAR413>3.0.CO);
17. HEINZE, T. Carboxymethyl ethers of cellulose and starch – a review. *Macromolecular Symposia*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag , 2005, 3, pp. 13-29. ISSN 10221360
18. KITTIPONGPATANA, O. S. et al. An aqueous film-coating formulation based on sodium carboxymethyl mungbean starch. . *Starch/Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2006, 58, pp.587-589. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1002/star.200600528>
19. SPYCHAJ, T., K. WILPISEWSKA and M. ZDANOWICZ. Medium and high substituted carboxymethyl starch: Synthesis, characterization and application. *Starch/Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2013, 65, pp.22-33.
Prieiga per: doi:<http://dx.doi.org/10.1002/star.201200159>
20. TIJSEN, C., R. M. VONCKEN and A. A. C. M. BEENACKERS. Design of a continuous process for the production of highly substituted granular carboxymethyl starch. *Chemical engineering science*. Groningen: Pergamon, 2001, 56, pp. 411-418. Prieiga per: doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509\(00\)00243-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509(00)00243-8)
21. SHAH, U., L. AUGSBURGER L. Multiple sources of sodium starch glycolate, NF: Evaluation of functional equivalence and development of standard performance tests. *Pharmaceutical Development and Technology*. New York: Taylor & Francis, 2002, 7, pp. 345-359. ISSN 10837450
22. SEIDEL, C. et al. Synthesis and characterization of cross-linked carboxymethyl potato starch ether gels. *Starch/ Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2004, 56, pp. 157-166. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1002/star.200200165>
23. BHANDARI, P. N., M. A. HANNA. Preparation of highly substituted carboxymethyl starch using a twin-screw extruder. *Starch/ Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2011, 63, pp. 771-779. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1002/star.201100035>

24. VOLKERT, B. et al. Highly substituted carboxymethyl starch. *Starch/ Stärke*. Weinheim: WILEY – VCH Verlag, 2004, 56, pp. 307-314.
Prieiga per: doi :<http://dx.doi.org/10.1002/star.200300266>
25. WANDREY, C. et al. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. New York: Springer, 2010, pp. 31-100. ISBN 9781441910080
26. ZHANG, D. F., et al. Progress in the synthesis and application of green chemicals, carboxymethyl starch sodium. [Interaktyvus] *Proc. 3rd Int. Conf. Funct. Mol.* Dalian: 2003, pp. 25-30. [Žiūrėta 2016-04-17]. Prieiga per:
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.556.9715&rep=rep1&type=pdf>
27. YAACOB, B. et al. Optimization of reaction conditions for carboxymethylated sago starch. *Polymer Journal*. Berlin: Springer, 2011, 20, pp. 195-204. ISSN 10261265
28. LIU, J., W. LI and G. ZHAO. Synthesis, characterization and in vivo digestibility of carboxymethyl starch rapidly prepared with microwave-assistance. *Food chemistry*. New York: Elsevier, 2012, 133, pp. 1196 -1205. ISSN03088146
29. KUUTTI, L. et al. Starch hybrid fillers for paper. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*. Sundsvall: Mid Sweden University, 2010, 25, pp. 114-123. Prieiga per: doi <http://dx.doi.org/10.3183/NPPRJ-2010-25-01-p114-123>
30. PANT, B. R. et al. Radiation cross-linked carboxymethylated starch and iron removal capacity in aqueous solutions. *Macromolecular Research*. Berlin: Springer, 2011, 19(3), pp. 307-312. Prieiga per: doi :<http://dx.doi.org/10.1007/s13233-011-0316z>
31. VIEIRA, M. C et al. Dispersing agents for cement based on modified polysaccharides. New York: Elsevier, 2005, 35, pp. 883–890.
Prieiga per: doi :<http://dx.doi.org/10.1016/j.cemconres.2004.09.022>
32. NARMONTAITĖ I. Anijoninio krakmolo ir polidialildimetilamonio chlorido netirpių nanodūdžio polikompleksų gavimas: magistro baigiamasis darbas. Kaunas: KTU, 2012.
33. SOUTAR, I., L. SWANSON. *Luminescence Spectroscopic Studies of Water-Soluble Polymers*//ACS Symposium Series 598. Washington: American Chemical Society, 1995, pp.389-409. Prieiga per: doi: 10.1021/bk-1995-0598
34. WINNIK, F. M. Photophysics of preassociated pyrenes in aqueous polymer solutions and in other organized media. Washington: *Chemistry Reviews*, 1993, 93(2), pp. 587 – 614. Prieiga per: doi: 10.1021/cr00018a001
35. KALYANASUNDARAM, F.K., J.K. THOMAS. Environmental Effects on Vibronic Band Intensities in Pyrene Monomer Fluorescence and Their Application in Studies of Micellar Systems. Washington: *Journal of the American Chemical Society*, 1977, 99(7), pp.2039-2044. Prieiga per: doi: 10.1021/ja00449a004

36. DONG, D. C., M. A., WINNIK. The Py scale of solvent polarities. Solvent effects on the vibronic fine structure of pyrene fluorescence and empirical correlations with E_T and Y values. Washington: Photochemistry and Photobiology, 1982, 35, pp.17- 22. Prieiga per: doi: 10.1111/j.1751-1097.1982.tb03805.x
37. RUTKAITĖ R. Karbazolilalkil(met)akrilatų ir metakrilo rūgšties kopolimerų sintezė ir savybės: daktaro disertacija. Kaunas: KTU, 2000.