

PACS numbers: 61.82.Pv, 76.30.Rn, 82.35.Pq, 87.15.Pc, 87.53.Ay, 87.64.kh, 87.80.Lg

## **ЕПР-діягностика кровоспинних препаратів на основі полісахаридів**

А. А. Кончиць, Б. Д. Шаніна, І. Б. Янчук, С. В. Красновид

*Інститут фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України,  
просп. Науки, 41,  
03028 Київ, Україна*

В  $\beta$ -опромінену біополімері хітозані виявлено 2 типи парамагнетних дефектів ПЦ1 і ПЦ2, індукованих розривом Карбонових зв'язків. Визначено природу дефектів та їхні параметри, досліджено кінетику накопичення з ростом дози опромінення  $D$ . Порівнянням експерименту з теоретичними розрахунками було визначено кінетичні параметри процесів. Виявлено ефект «самозаліковування» матеріялу, тобто спаду концентрації ПЦ з часом після опромінення. Показано, що швидкість цих процесів залежить від концентрацій «мілких» і «глибоких» пасток для електронів. Встановлено, що в зразках хітозану з більш «кристалічною» структурою процеси відновлення проходять значно повільніше.

Two types of the paramagnetic defects, PC1 and PC2, induced due to breaking carbon bonds in the  $\beta$ -irradiated biopolymer chitosan are found. The nature of defects, their parameters, and kinetics of the accumulation with increasing dose of the irradiation,  $D$ , are determined. The kinetic parameters of the process are estimated due to the comparison of experimental data with theoretical calculations. The effect of the self-healing material, namely, the decrease of the PC concentration with time after the irradiation, is revealed. As shown, the rates of processes depend on concentrations of the shallow and deep traps for electrons. The recovery processes in the chitosan samples with a more perfect crystallinity of a structure are much slower.

В  $\beta$ -облучённом биополимере хитозане выявлены 2 типа парамагнитных дефектов ПЦ1 и ПЦ2, индуцированных разрывом углеродных связей. Определена природа дефектов и их параметры, исследована кинетика накопления с ростом дозы облучения  $D$ . Исходя из сравнения эксперимента с теоретическими расчётами, определили кинетические параметры процессов. Обнаружен эффект «самозалечивания» материала, то есть спад концентрации ПЦ со временем после облучения. Показано, что скорость этих процессов зависит от концентраций «мелких» и

«глибоких» ловушек для электронов. Установлено, что в образцах хитозана с более «кристаллической» структурой процессы восстановления происходят гораздо медленнее.

**Ключові слова:** хітозан, хітин, парамагнетні центри.

**Key words:** chitosan, chitin, paramagnetic centres.

**Ключевые слова:** хитозан, хитин, парамагнитные центры.

(Отримано 7 лютого 2017 р.; після доопрацювання — 12 липня 2017 р.)

## 1. ВСТУП

Хітин та його деацетилювана форма хітозан (рис. 1) разом представляють другу за розповсюдженістю в природі групу полісахаридів після целюлози та мають унікальні фізико-хімічні властивості. Вони складаються зі стійких піранозних кілець, є нетоксичні, біоактивні, біосумісні та біодеградабельні і широко застосовуються, зокрема у формі наночастинок, як антиоксиданти, в антиканцерній терапії, тераностиці, мають антимікробну дію та властивість поглинання важких металів [1–7]. Вони застосовуються також в якості гемостатиків (препарат Celox) та антимуtagenних препаратів [8].

Хітин — лінійний полісахарид з нерозгалуженими ланцюжками, що складаються із елементарних ланок 2-ацетамідо-2-дезоксид-*D*-глюкози, з'єднаних глікозидним зв'язком. Відмінність його будови від целюлози полягає в тому, що в другого атома Карбону елементарної ланки є не гідроксильна, а ацетамідна група. Макромолекула природного хітину містить невелику кількість ланок з вільними первинними аміногрупами  $\text{NH}_2$ . Велика довжина ланцюгів і їх гнучкість допомагають створювати складні надмолекулярні структури, високо орієнтовані агрегати макромолекул довжиною у 20–25 нм, що складаються з мікрофібрил у 2,5–2,8 нм. Такі структури мають ознаки, характерні для кристалічного фазового стану.

Хітозан одержують обробленням хітину 40–50% водяним роз-

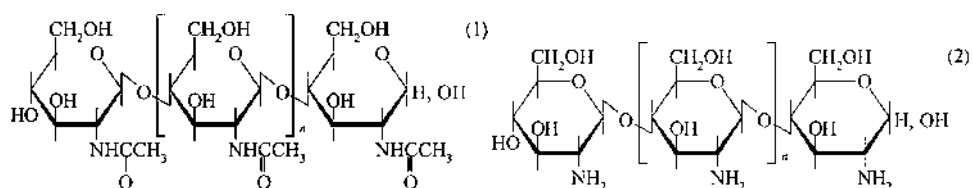


Рис. 1. Структура хітину (1) та хітозану (2).<sup>1</sup>

чином NaOH при  $T = 110\text{--}140^\circ\text{C}$  протягом 4–6 годин. Довжина ланцюгів, як і в хітині, може досягати  $10^3$  нм.

Основними методами впливу на хітин і хітозан з метою його модифікації, зменшення молекулярної ваги  $M_w$ , розкладання аміногрупи є опромінення  $\gamma$ -променями, швидкими електронами й ультразвуком, а також хемічні впливи різних розчинників або добавок, що легують матеріал додатковою кількістю атомів водню. Для розвитку антиоксидантної активності хітозану необхідно долати погану розчинність і хемічну інертність внаслідок сильних водневих зв'язків у мережі між- та внутрішньомолекулярних взаємодій. Введення гідроксильних або карбоксильних груп у хітозані ефективно зменшує концентрацію вільних радикалів до величини  $\cong 3 \cdot 10^2$  г/мл.

Внаслідок зменшення  $M_w$  змінюються фізико-хемічні й біологічні властивості хітину/хітозану та здатність до розчинення, які визначають біоактивність матеріалу. Ключовими факторами, окрім  $M_w$ , є також ступінь  $N$ -ацетиляції (DA), полідисперсність ( $M_w/M_n$ ), кристалічність. Термін хітозан відноситься до групи повністю або частково деацетилизованого хітину, однак тверду номенклатуру за ступенем  $N$ -деацетиляції не встановлено. Згідно з номенклатурою Європейського хітинового суспільства (EUCHIS), хітин і хітозан визначаються за ступенем нерозчинності (хітин) і розчинності (хітозан) в оцтовій кислоті [10, 11].

Йонізувальне опромінення, залежно від умов, може індукувати розрив ланцюгів хітину/хітозану, перетинання зв'язків і відкриття кілець, приводячи до необоротних хемічних змін. Механізм радіолітичної деградації хітозану вивчався при різних температурах з використанням  $\gamma$ -променів  $^{60}\text{Co}$  в інтервалі доз 5–300 кГр [12, 13]. Зменшення середньої молекулярної ваги досягається при цьому в 3–4 рази. Участь аміногруп у механізмі радіолізу є однією з найважливіших проблем радіаційного впливу, оскільки наслідком може бути прояв ефектів токсичності.

Електронна мікроскопія, ІЧ-, Раманова спектроскопія та електронний парамагнетний резонанс (ЕПР) використовуються для діагностики хітину/хітозану, у т.ч. для вивчення продуктів розпаду й модифікації структури при опроміненні. Особливу роль відіграє ЕПР — пряма метода вивчення структури й властивостей парамагнетних центрів (ПЦ), у т.ч. дефектів, що виникають при опроміненні. У випадку хітину/хітозану, крім визначення  $g$ -фактора ПЦ, необхідно вивчати надтонкі (НТВ) і супернадтонкі (СНТВ) взаємодії, що характеризують оточення ПЦ. Так, в [14, 15] ЕПР чітко показав вплив хітозану на пригнічення супероксидних аніонних радикалів і радикалів ліпідів лінолевої кислоти. Залежно від джерела й способу одержання, у хітині та хітозані присутні ПЦ із  $g$ -фактором, що змінюється від 2,00117 до

2,00354; сигнали індукуються також під впливом кисню повітря, пероксиду водню або під дією гарячої води [16]. Складні багатокомпонентні ЕПР-спектри були зареєстровані [12] у хітозані після  $\gamma$ -опромінення у вакуумі при  $T = 77$  К з наступним відпалом від 120 К до кімнатної температури. Автори [12] простежили температурну модифікацію спектрів ЕПР і визначили константи НТВ: для амінорадикалу з ядрами Нітрогену  $A(N) = 5,0, 5,0, 29,0$  G; з ядром Гідрогену в оточенні Нітрогену  $A_N(H) = 16,5$  G і в оточенні Карбону  $A_C(H) = 24,0$  G. Ширина лінії  $\Delta H = 9,5$  G. Другий компонент спектру приписаний алкіламін-радикалу і є триплетом із шириною 34 G; вважається, що радикал з'являється при розриві зв'язку C–H на позиціях  $C_3$  та  $C_4$ , для якого спектер був одержаний шляхом адаптації відомих параметрів для цього класу радикалів. Як це часто спостерігається, усі СН-вузли в піранозних кільцях, а також у заміщувальній  $CH_2OH$ -групі, залучені в процес формування радикалів зі слабкою селективністю стосовно реактивних радикалів типу OH. Очікується, що аміногрупа відіграє основну роль у порівнянні з OH-групами внаслідок більш низького потенціалу йонізації. Втрата електрона окремою парою Нітрогену веде до формування аміно- та алкіламіно-радикалів.

Хоча метода ЕПР довела свою ефективність у дослідженнях хітину/хітозану, однак є необхідність у їхньому поглибленні із залученням даних не тільки тензорів  $g$  і  $A$ , а й аналізу функції форми сигналів, їх кінетичних і динамічних характеристик.

Дану роботу присвячено вивченню динамічних і кінетичних властивостей хітозану, в тому числі вивченню можливості «самозаліковування» дефектів після стерилізаційного опромінення швидкими електронами.

## 2. ЗРАЗКИ ТА МЕТОДИКА ВИМІРІВ

В цій роботі використовувалися зразки хітозану комерційного походження, які додатково очищувалися. Частка вихідних зразків (далі зразки X1) у процесі дослідження піддавалася перекристалізації (далі зразки X2). Оскільки головним завданням було проведення ЕПР-діягностики стосовно процесів дефектоутворення при  $\beta$ -опроміненні, на першому етапі роботи було детально вивчено парамагнетні властивості вихідних (неопромінених) зразків, включаючи пошук можливих сигналів ЕПР як в хітині/хітозані, так і в допоміжних речовинах, які застосовуються при виготовленні целоксу (розчинники, наповнювачі тощо). Спектри ЕПР реєструвалися на радіоспектрометрі 3-см-діапазону 'Radiopan' SE/X-2244 за кімнатної температури. Для збільшення точності визначення концентрації дефектів та параметрів їхніх ЕПР-спектрів у зразках, що досліджувалися, використовувався

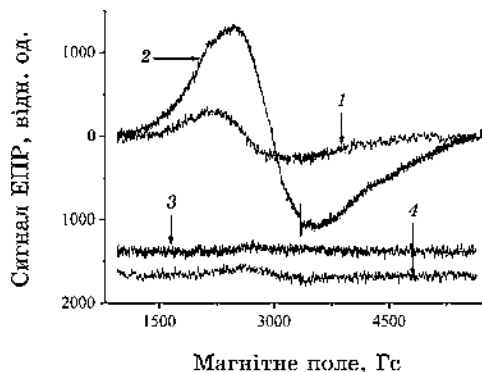
реперний зразок  $\text{MgO:Cr}^{3+}$  з відомим  $g$ -фактором ( $g = 1,9798$ ) та визначеною шляхом порівняння з еталоном фірми Varian кількістю спінів (визначено  $N = 3,4 \cdot 10^{14}$  спінів в зразку  $\text{MgO:Cr}^{3+}$ ). В дослідженні використовувалися порошкоподібні зразки, які насипались у кварцові трубки виготовлення фірми Wilmad–LabGlass, що є вільними від паразитних сигналів ЕПР. Всі спектри реєструвалися за кімнатної температури.

### 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕПР-МІРЯНЬ, ЇХ АНАЛІЗА Й ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Загальна характеристика спектрів ЕПР хітозану

На рисунку 2 показано спектри ЕПР вихідних зразків хітозану, целоксу та бурштинової кислоти (розчинника), а також спектр ЕПР зразка целоксу, підданого очистці.

З рисунку 2 видно, що неочищені зразки хітозану та целоксу показують наявність інтенсивних широких ліній магнетного резонансу з  $g \approx 2,5$ ,  $\Delta H_{pp} \approx 0,9$  кГц для зразка хітозану, та  $g \approx 2,25$ ,  $\Delta H_{pp} \approx 1,1$  кГц для зразка целоксу. Такі параметри характерні для сигналів суперпарамагнетного резонансу наночастинок оксидів заліза. Після очистки вихідних компонент ці сигнали в целоксі зменшуються на порядок (рис. 2, крива 4). Окрім цього, у вихідних зразках целоксу присутня вузька лінія ЕПР з  $g \approx 2,004$ ,  $\Delta H_{pp} \approx 10$  Гс (рис. 2, крива 2), характеристики якої співпадають з такими для дефектів структури, які були виявлені в роботі [16], присвяченій адсорбційним властивостям хітину/хітозану стосовно важких металів. ЕПР-лінія цих дефектів також майже зникає в очищених зразках (рис. 2, крива 4). Таким чином, спектри, що нами реєструвалися в подальшому дослідженні, належали ви-



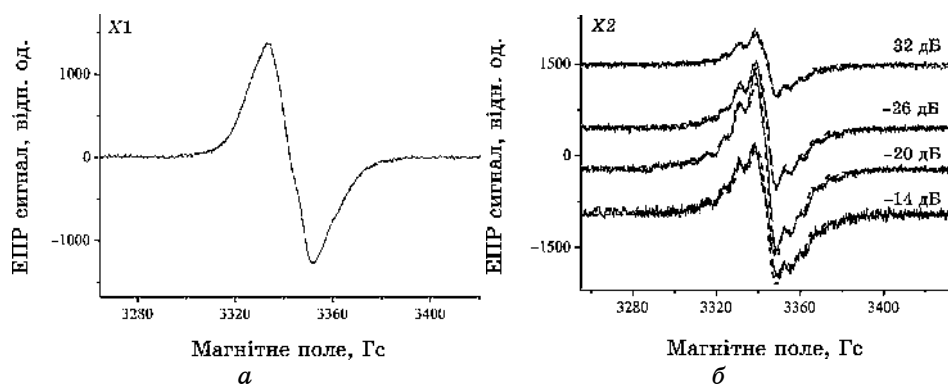
**Рис. 2.** Спектри ЕПР вихідних (неочищених) зразків хітозану (1), целоксу (2), бурштинової кислоти (3) та очищеного целоксу (4).<sup>2</sup>

ключно дефектам в активній матриці.

На рисунку 3, *а, б* показано спектри ЕПР зразків типів X1 та X2, підданих  $\beta$ -опроміненню дозою 25 кГр.

З рисунку 3 видно, що зразки X1 і X2 характеризуються одиночною лінією ЕПР з деяким перегином у її центрі. Зразок X2, крім того, показує помітну структуру при всіх рівнях НВЧ-потужності. Детальну аналізу спектрів було виконано з метою з'ясування природи сигналів, виділення складових спектру та визначення спектроскопічних характеристик ПЦ.

Спостережуваний спектр має специфічну форму, яка в цілому характеризується меншою амплітудою високопольового крила похідної поглинання й чітко спостережуваним перегином поблизу її центру. Є дві можливі причини такої поведінки: 1) спектр складається із двох резонансних сигналів із злегка одмінними  $g$ -факторами; 2) є тільки один сигнал ПЦ із анізотропним  $g$ -тензором, усередненим по кутах між зовнішнім магнетним полем і головними осями  $g$ -тензора. Теоретичні розрахунки форми сиг-



**Рис. 3.** Спектри ЕПР зразків X1 (*а*) та X2 (*б*) через 1 день після  $\beta$ -опромінення дозою у 25 кГр. Спектри зразка X2 зареєстровано при різних рівнях НВЧ-потужності. Пунктирні лінії — підгонка.  $\nu = 9380$  МГц.<sup>3</sup>

**ТАБЛИЦЯ 1.** ЕПР-параметри центрів ПЦ1 та ПЦ2.<sup>4</sup>

| $g_1$                                 | ПЦ1                      |                         |                   |                   |                   |                   | ПЦ2                                   |                          |                         |                 |
|---------------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------|
|                                       | $\Delta H_1, \text{ Гс}$ | $I_1, \text{ дов. од.}$ | $A_1, \text{ Гс}$ | $A_2, \text{ Гс}$ | $A_3, \text{ Гс}$ | $A_4, \text{ Гс}$ | $g_2$                                 | $\Delta H_2, \text{ Гс}$ | $I_2, \text{ дов. од.}$ | $A, \text{ Гс}$ |
| $2,0050$<br>( $\pm 2 \cdot 10^{-4}$ ) | 8,8                      | 97,6                    | 22,2              | 38                | 51                | 64                | $2,0029$<br>( $\pm 2 \cdot 10^{-4}$ ) | 7                        | 57,3                    | —               |

налу для випадку 2 показали їх невідповідність експерименту, оскільки ПЦ із анізотропним  $g$ -тензором дає високопольове крило з більшою амплітудою, ніж низькопольове. Тому спектри були описані теоретичними функціями як сума двох ЕПР-сигналів 1 і 2 Лоренцевої форми з різними  $g$ -факторами та спіном  $S = 1/2$ . Спостережуване розщеплення спектру (рис. 3, б) пояснюється надтонкою взаємодією. Аналіза показала, що всі НТВ-лінії відносяться до сигналу 1 з більшим  $g$ -фактором. Фактично ЕПР-спектри були записані для великої кількості різних порошкових зразків, і всі вони показують аналогічні спектри. Якщо частинки порошку мали субмікронний розмір, НТВ-розщеплення присутнє в спектрі, але з поганим розрізненням через більшу ширину. Чітке розрізнення, подібне показаному на рис. 3, б, спостерігається тільки в зразках X2 з частинками високо упорядкованими та з гарною кристалічністю. Таблиця 1 показує одержані характеристики парамагнетних сигналів після підгонки теоретичних та експериментальних ЕПР-спектрів для ПЦ1 і ПЦ2.

Усі НТВ-лінії відносяться до сигналу 1. НТВ-компонента з максимальною величиною НТВ-константи  $A_{hf} = 67 (\pm 3)$  Гс має мінімальну інтегральну інтенсивність, яка в  $\sim 100$  разів менше, ніж центральна лінія спектру ПЦ1, що свідчить про НТВ електрона вільного радикала із власним ядерним спіном Карбону, оскільки поширеність  $C^{13}$  з ядерним спіном  $1/2$  дорівнює 1%. Інші НТВ-лінії відносяться до НТВ електронного спіну з ядрами трьох атомів Гідрогену в оточенні атома Карбону.

### 3.2. Насичення та релаксація парамагнетних центрів

Швидкість спінової релаксації може бути знайдена методом безперервного насичення сигналу ЕПР. Рисунок 4 демонструє ре-

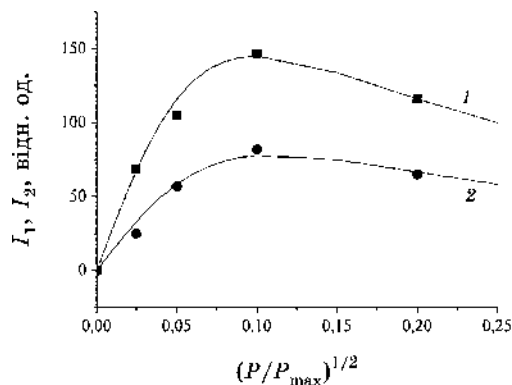


Рис. 4. Криві насичення сигналів 1 і 2.<sup>5</sup>

зультати вимірів кривих насичення сигналів 1 і 2 і теоретичні криві насичення за формулою для інтегральної інтенсивності однорідно розширеного сигналу [17]:

$$I(P/P_{\max})^{0,5} = \text{const} \times \frac{(0,25\gamma^2 H_1^2 T_1 T_2)^{1/2}}{(1 + 0,25\gamma^2 H_1^2 T_1 T_2)}; \quad (1)$$

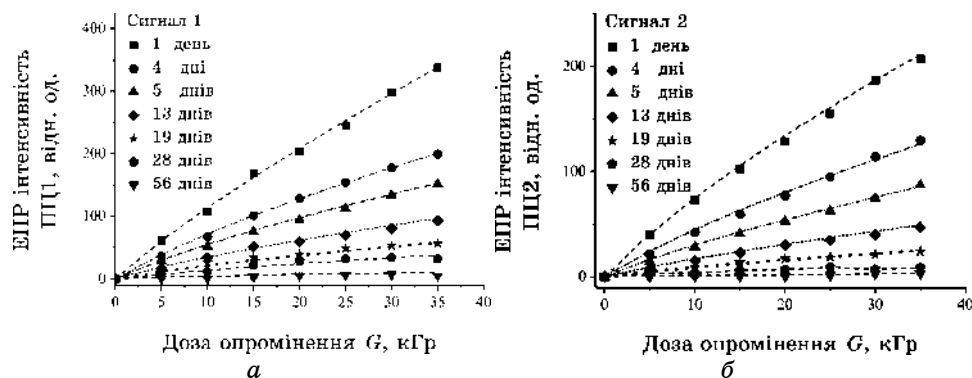
тут  $I = A_{pp}^* (H_{pp})^2$ ;  $A_{pp}$  — амплітуда сигналу між екстремумами похідної поглинання;  $\Delta H_{pp}$  — ширина сигналу між екстремумами;  $H_1$  — амплітуда мікрохвильового поля;  $\gamma = g\beta/h$ ,  $\beta$  — Борів магнетон;  $T_1$  і  $T_2$  — спін-гратницеві та спін-спінові часи релаксації ПЦ. Підгонка (1) до експериментальних кривих уможливорює знайти ці часи для двох ПЦ, оскільки з рис. 3, б і формули (1) маємо величину  $S = 0,25\gamma^2 H_{1,\max}^2 T_1 T_2$ , де  $H_{1,\max}$  є максимальною величиною НВЧ-поля  $H_1$ , яка є характеристикою спектрометра. Знайдемо  $S_1 = 100$  для центрів 1 і  $S_2 = 80$  для центрів 2. Використовуючи  $T_2 = 1,31 \cdot 10^{-7} / g / \Delta H_{pp}$  [Гс], знаходимо  $T_2(1) = 7,4 \cdot 10^{-9}$  с для центрів 1 і  $T_2(2) = 9,3 \cdot 10^{-9}$  с для центрів 2. Враховуючи  $H_{1,\max} = 0,3$  Гс, з (1) знаходимо й  $T_1(1) = 10^{-3} / (2,39 H_{1,\max})^2 = 1,9$  мс і  $T_1(2) = 10^{-4} / (1,9 H_{1,\max})^2 = 0,3$  мс.

### 3.3. Залежність парамагнетного поглинання від дози опромінення для зразків Х1

Низка зразків, одержаних шляхом поділу на рівні частини стандартного пакету порошкоподібного хітозану, були піддані опроміненню пучком швидких електронів з різними дозами. Після опромінення були записані сигнали ЕПР для кожного зразка з певною дозою опромінення (результати, починаючи з 1-го дня після опромінення показано на рис. 5). Потім зразки витримувалися кілька днів і знову проводився запис сигналів ЕПР. Таким чином, вивчався процес зникнення вільних радикалів, що з'явилися після опромінення. Розкладання ЕПР-спектру на два сигнали з вищенаведеними  $g$ -факторами виконувалося для кожного інтервалу часу, а інтегральна інтенсивність визначалася для кожного із двох ЕПР-сигналів; її показано на рис. 5 в залежності від дози і від тривалості витримки зразка на повітрі (інтегральна інтенсивність пропорційна концентрації радикалів). Усі криві для двох сигналів показують аналогічну залежність від дози.

Експериментальні залежності, показані на рис. 5 символами, описуються кривими (штрихові лінії), обчисленими згідно з тео-





**Рис. 5.** Залежність інтенсивності ЕПР-сигналів ПЦ1 (ліворуч) та ПЦ2 (праворуч) від дози опромінення та часу зберігання зразків на повітрі після опромінення. Штрихові лінії — теорія.<sup>6</sup>

**ТАБЛИЦЯ 2.** Кінетичні параметри, що визначають залежність концентрації ПЦ  $N^+$  від часу витримки, одержані для зразка, опроміненого дозою 35 кГр.<sup>7</sup>

| Час після опромінення, дні      | 1     | 4     | 5     | 13    | 19    | 28    | 56    |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $N_0^+/N_0$                     |       |       |       |       |       |       |       |
| 1                               | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  |
| 2                               | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  | 0,17  |
| $c_1, 10^3$                     |       |       |       |       |       |       |       |
| 1                               | 0,232 | 0,154 | 0,090 | 0,065 | 0,037 | 0,018 | 0,005 |
| 2                               | 0,110 | 0,082 | 0,050 | 0,030 | 0,016 | 0,007 | 0,002 |
| $\xi, 10^{-3} \text{ кГр}^{-1}$ |       |       |       |       |       |       |       |
| 1                               | 3,00  | 3,00  | 2,20  | 2,00  | 2,00  | 2,00  | 2,00  |
| 2                               | 0,7   | 0,45  | 0,45  | 0,4   | 0,2   | 0,2   | 0,2   |
| $\beta, \text{ кГр}^{-1}$       |       |       |       |       |       |       |       |
| 1                               | 0,12  | 0,12  | 0,14  | 0,12  | 0,13  | 0,14  | 0,14  |
| 2                               | 0,16  | 0,14  | 0,15  | 0,14  | 0,14  | 0,13  | 0,14  |

ретичними функціями дози  $D$ :

$$I_{1,2} = 0,17 + c_{1,2}(1 + \xi_{1,2}D)((1 + \beta_{1,2}D)^{1/2} - 1). \quad (2)$$

Хоча функції залежності від дози для сигналів 1 і 2 однакові, величини  $I_1$  і  $I_2$  різняться параметрами  $\xi$ ,  $c$ ,  $\beta$ , яких наведено в табл. 2.

Розглянемо різні процеси, що впливають на формування й зникнення парамагнетних вільних радикалів у зразку. Нехай  $N_0$  — повна концентрація молекул певного сорту, здатних створити вільний радикал після руйнування зв'язків, як парамагнетних,

так і непарамагнетних. Їхня парамагнетна фракція  $N^+$  є концентрацією вільних радикалів даного сорту; тоді  $N_0 - N^+$  є концентрацією непарамагнетної фракції молекул, які породили вільні радикали в процесі зіткнення із частинками, що опромінюють;  $n$  — концентрація вільних електронів, що з'явилися після зіткнення непарамагнетної молекули з частинками, що опромінюють;  $G$  — швидкість генерації частинок у зразку;  $W_t$  — швидкість захоплення електронів на пастки, створені структурними порушеннями під дією опромінення;  $R$  — швидкість взаємного знищення електрона та ПЦ при їхнім зіткненні.

Кінетичні рівняння для зміни  $n$  та  $N^+$  у процесі опромінення:

$$\frac{\dot{n}}{N_0} = (W_{G,e} + W_{i,e}) - (W_{G,e} + W_{i,e} + W_t) \frac{n}{N_0} - W_R \frac{n}{N_0} \frac{N^+}{N_0}, \quad (3)$$

$$\frac{\dot{N}^+}{N_0} = (W_G + W_i) - (W_G + W_i) \frac{N^+}{N_0} - W_R \frac{n}{N_0} \frac{N^+}{N_0},$$

де  $W_G$ ,  $W_{G,e}$  — ймовірності народження вільного радикала та вільного електрона, пропорційні дозі опромінення  $D$ :  $W_G = \alpha D$ ,  $W_{G,e} = \alpha_e D$ , причому  $\alpha_e > \alpha$ ;  $W_{i,e}$ ,  $W_i$  — ймовірність теплової йонізації атомів і молекул;  $W_t$  — ймовірність захоплення електрона на пастки,  $W_R = RN_0$  — ймовірність рекомбінації електронів і вільних радикалів. Стаціонарний розв'язок (при  $t \rightarrow \infty$   $\dot{n} = 0$ ,  $\dot{N}^+ = 0$ ) системи рівнянь (3) є точним і зводиться до квадратного рівняння для  $N^+$  типу  $y^2 + cy - b = 0$ , розв'язок якого можна представити у вигляді:

$$\frac{N^+}{N_0} = \frac{N_0^+}{N_0} + 0,5c \left( \sqrt{1 + \beta D} - 1 \right), \quad (N_0^+ / N_0) = N^+(D=0) / N_0, \quad (4)$$

де

$$c = c_0(1 + \xi D); \quad c_0 = (W_{i,e} / W_i) + (W_t + W_{i,e}) / W_R;$$

$$\xi = \alpha_e W_i / (W_{i,e} W_R + W_i W_t) \ll 1; \quad \beta = \alpha_e / (W_{i,e} + W_t).$$

Зазначимо, що час  $t$  в (3) означає час зміни концентрацій частинок у процесі опромінення на відміну від інтервалу часу очікування між вимірами ЕПР після опромінення.

Порівняння (4) з (2) і табл. 2 приводить до висновку, що концентрація ПЦ визначається швидкістю генерації та відношенням швидкостей захоплення на пастки та парамагнетний центр, тобто  $c_0$  є найбільшою та найбільш мінливою величиною в процесі релаксації зразка після опромінення У виразі для  $c_0$  швидкість захоплення електронів на пастки є єдиною величиною, яка зміню-

ється в процесі релаксації; отже,  $c_0 \approx W_t/W_R$ .

Вищеописані процеси — швидкі, однак з часом після опромінення проявляються повільні затягнуті процеси, яких в результатах вимірів на рис. 5 видно як зменшення стаціонарного значення  $N^+$  при будь-якій дозі опромінення після декількох днів перебування зразка на повітрі. Особливо яскраво ця властивість проявляється при максимальній дозі опромінення.

### 3.4. Спад концентрації дефектів при зберіганні зразків X1 на повітрі після опромінення

Рисунок 6 показує залежність концентрації вільних радикалів від часу збереження зразка на повітрі після опромінення. Ця залежність описується двоєкспонентною функцією із часами спаду експонент  $t_1$  і  $t_2$  і показана на рис. 6 пунктирними лініями.

Видно, що інтенсивності сигналів міняються на порядок протягом  $\approx 50$  днів. З таблиці 2 випливає, що єдиною кінетичною характеристикою, яка змінюється також на порядок, є  $c \approx W_t/W_R$ . Таким чином, основним чинником, що впливає на хід  $N^+(t)$ , є вивільнення електронів з пасток, які є результатом руйнування міжатомових зв'язків під дією опромінення. Ці пастки зникають за час, потрібний для віднови молекулярної структури зразка в процесі релаксації.

Теоретичні функції, які описують експеримент на рис. 6, мають вигляд:

$$I_i(t) = I_{0,i} + A_{i1} \exp(-t / t_{0,i,1}) + A_{i2} \exp(-t / t_{0,i,2}); \quad (5)$$

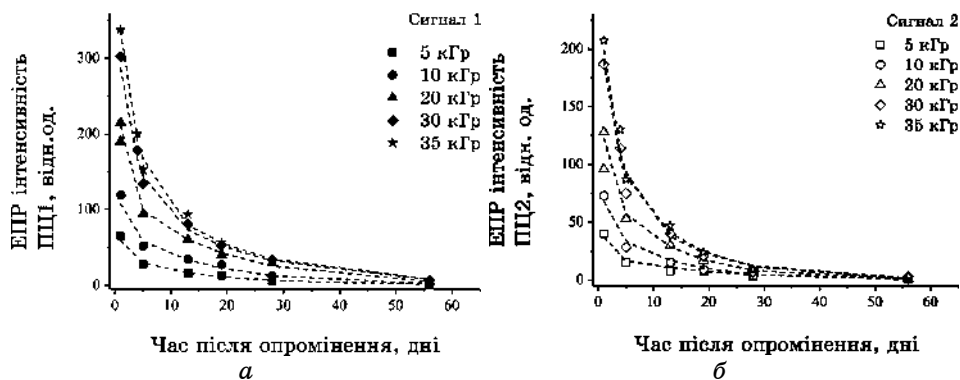


Рис. 6. Зменшення інтенсивності ЕПР-сигналів ПЦ1(ліворуч) та ПЦ2 (праворуч) з часом зберігання зразків на повітрі після опромінення. Штрихові лінії — теорія.<sup>8</sup>

**ТАБЛИЦЯ 3.** Тривалість структурного відновлення та вагові фактори відповідних експонентних функцій.<sup>9</sup>

| Доза | ПЦ1             |                   |                 |                   | ПЦ2             |                   |                 |                   |
|------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
|      | Вага 1-ої експ. | $t_{0,1,1}$ , дні | Вага 2-ої експ. | $t_{0,1,2}$ , дні | Вага 1-ої експ. | $t_{0,2,1}$ , дні | Вага 2-ої експ. | $t_{0,2,2}$ , дні |
| 5    | 0,4             | 15                | 0,6             | 1                 | 0,17            | 18                | 0,83            | 0,5               |
| 10   | 0,47            | 15                | 0,53            | 1                 | 0,45            | 12                | 0,55            | 1                 |
| 20   | 0,35            | 17                | 0,65            | 1                 | 0,41            | 12                | 0,59            | 1                 |
| 30   | 0,39            | 19                | 0,61            | 2,8               | 0,48            | 12                | 0,52            | 2                 |
| 35   | 0,36            | 19                | 0,64            | 3                 | 0,36            | 14                | 0,64            | 3                 |

тут  $A_{11}$ ,  $A_{12}$  — вагові фактори експонентних функцій. Зазначимо, що внесок більш швидкої експоненти становить 60% і практично не залежить від дози. Таку ж залежність показує  $W_t$ , очевидно, за рахунок зменшення числа пасток внаслідок їх розпаду в процесі дифузії атомів. Ці дані представлено в табл. 3.

Після завершення опромінення електрони поступово захоплюються на пастки, а в процесі відновлення кількість пасток зменшується на величину  $\delta N_t = N_{t_0} \exp(-wDt)$ , де  $wD$  — швидкість дифузії атомів, і  $n$  зростає як  $n = n_0 + \delta n \delta t = \delta N_t$ . Отже,

$$N^+ / N_0 = (W_G / R_{n_0}) (1 - (N_t / n_0)) \exp(-wDt). \quad (6)$$

Опромінення матеріалу приводить до появи великої кількості пасток з низьким потенційним бар'єром, які зникають протягом одного-двох днів. Пастки з більш високими бар'єрами тримають електрони 15–20 днів. Ця властивість є власною характеристикою матеріалу і не залежить від дози опромінення.

На закінчення зазначимо, що парамагнетні дефекти в зразках типу X2 є набагато більш стабільними, і їх концентрація зменшується за рік приблизно в 3 рази, у той час як у зразках X1 має місце зменшення на порядок за 2–3 місяця. Це пов'язане з більш високим ступенем кристалічності зразків типу X2.

#### 4. ВИСНОВКИ

1. В  $\beta$ -опроміненому хітозані виявлено 2 типи парамагнетних дефектів зі спіном  $S = 1/2$ , індукованих розривом Карбонових зв'язків. Визначено параметри центрів, в т.ч. константи НТВ для ПЦ1.
2. Досліджено кінетику накопичення дефектів з ростом дози опромінення  $D$ . Одержано стаціонарне рішення кінетичних рів-

нянь стосовно цих процесів. З порівняння теорії та експерименту визначено кінетичні параметри процесів генерації дефектів під дією опромінення.

3. Виявлено ефект «самозаліковування» дефектів з часом витримки зразків після опромінення. Встановлено наявність «мілких» і «глибоких» пасток для електронів та показано, що швидкість відновлення контролюється концентрацією пасток, яка зменшується з часом.

4. Встановлено, що в зразках хітозану з більш «кристалічною» структурою також ефективно генеруються парамагнетні дефекти, але процес їх саморозпаду йде на порядок повільніше.

## ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. E. Szymanska and K. Winnicka, *Marine Drugs*, **13**: 1819 (2015).
2. H. Yamamoto and M. Amaika, *Macromolecules*, **30**: 3936 (1997).
3. S. C. Richardson, H. V. Kolbe, and R. Duncan, *Int. J. Pharm.*, **178**: 231 (1999).
4. S. Dumitriu, M. I. Popa, A. Cringu, and A. Stratone, *Colloid. Polym. Sci.*, **267**: 595 (1989).
5. R. Marguerite, *Prog. Polym. Sci.*, **31**: 603 (2006).
6. C. C. Peniche, L. W. Alvarez, and M. W. Arguelles, *J. Appl. Polym. Sci.*, **46**: 1147 (1987).
7. W. S. W. Ngah, S. A. Ghani, and A. Kamari, *Bioresour. Technol.*, **96**: 443 (2005).
8. N. R. Sudarshan, D. G. Hoover, and D. Knorr, *Food Biotechnol.*, **6**: 257 (1992).
9. W. Pasanphan, G. R. Buettner, and S. Chirachanchai, *Carbohydrate Research*, **345**: 132 (2010).
10. J. Kumirska, M. X. Weinhold, J. Thöming, and P. Stepnowski, *Polymers*, **3**: 1875 (2011).
11. G. A. F. Roberts, *Polymers*, **3**: 1875 (2007).
12. U. Gryczka, D. Dondi, A.G. Chmielewski, W. Migdal, A. Buttafava, and A. Fautitano, *Radiation Physics and Chemistry*, **78**: 543 (2009).
13. A. G. Chmielewski, W. Migdal, J. Swietoslowski, U. Jakubaszek, and T. Tarnowski, *Radiat. Phys. Chem.*, **76**: 1840 (2007).
14. L. I. Wenjun, J. Xuan, X. Peihua, and C. Shiming, *Chin. Science Bull.*, **47**: 887 (2002).
15. J. Y. Je and S. Kwon, *Bioorganic and Medicinal Chem. Letters*, **16**: 1884 (2006).
16. A. Riccardo, A. Muzzarell, F. Tanfani, G. Scarpini, and G. Maria, *Biochem. and Biophys. Res. Com.*, **89**: 706 (1979).
17. C. P. Poole, Jr., *Electron Spin Resonance: A Comprehensive Treatise on Experimental Techniques*. 2<sup>nd</sup> ed. (New York: Dover: 1997).

---

V. E. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics, N.A.S. of Ukraine,  
41 Nauky Ave.,  
03028 Kyiv, Ukraine

---

<sup>1</sup> Fig. 1. The chemical structures of chitin (1) and chitosan (2).

<sup>2</sup> Fig. 2. EPR spectra of initial (unpurified) samples of chitosan (1) celox (2), succinic acid (3) and purified celox (4).

<sup>3</sup> Fig. 3. EPR spectra for samples X1 (a) and X2 (b) after 1 day after  $\beta$ -irradiation by dose 25 kGy. Spectra of the X2 sample was registered at the different levels of the microwave power. The dash line is fitting.  $\nu = 9380$  MHz.

<sup>4</sup> TABLE 1. The EPR parameters of PC1 and PC2.

<sup>5</sup> Fig. 4. Signal saturation curves for centres 1 and 2.

<sup>6</sup> Fig. 5. The dependence of the intensity EPR signals PC1 (left side) and PC2 (right side) by the dose of the irradiation and the time store samples on the air after irradiation. Dashed lines are theory.

<sup>7</sup> TABLE 2. The kinetic parameters which determine the dependence concentration PC N<sup>+</sup> from the time of endurance were observed for samples which irradiated by the dose 35 kGy.

<sup>8</sup> Fig. 6. The decrease of the intensity EPR signals PC1 (left side) and PC2 (right side) with time of the storage samples on the air after irradiation. Dashed lines are theory.

<sup>9</sup> TABLE 3. Duration of structure recovery and the weight factors of the respective exponential functions.