

УДК 661.185.1:547.99-54.386

## ПАВ-полиэлектролитные комплексы на основе производных хитина

М. Ринодо, Н. Р. Кильдеева, В. Г. Бабак

*МАРГЕРИТ РИНОДО (M. RINAUDO) — профессор ассоциированной лаборатории Университета Ж.Фурье Научного центра по растительным макромолекулам Национального центра научных исследований Франции (CERMAV-CNRS, Гренобль, Франция). Область научных интересов: физическая химия полисахаридов, структурообразование в растворах производных хитина и хитозана. E-mail marguerite.rinaudo@cermav.cnrs.fr*

*НАТАЛИЯ РУСТЕМОВНА КИЛЬДЕЕВА – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической, физической и коллоидной химии Московского государственного текстильного университета им. А.Н. Косыгина. Область научных интересов: структурообразование в растворах биосовместимых полимеров, полимерные системы с контролируемым выделением биологически активных соединений. E-mail: kildeeva@mail.ru*

*ВАЛЕРИЙ ГЕОРГИЕВИЧ БАБАК – доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории физической химии полимеров Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (ИНЭОС РАН). Область научных интересов: нано- и микрокапсулирование биологически активных веществ, коллоидная химия, высококонцентрированные эмульсии, термодинамика микроскопических жидких пленок.*

119991 Москва, ул. Вавилова, 28, ИНЭОС РАН, тел. (499)135-65-02, факс (499)135-50-85,  
E-mail babak@ineois.ac.ru

### Введение

Взаимодействие между противоположно заряженными полиэлектролитами (или их взаимодействие с ПАВ) в водной среде приводит к самопроизвольному образованию интерполиэлектролитного (ИПК) или ПАВ/полиэлектролитного (ПАВ-ПЭК) комплексов, соответственно. В зависимости от различных факторов (соотношение между противоположно заряженными группами, концентрация полимера, концентрация электролита и т. д.) эти комплексы растворимы или нерастворимы в воде. Нерастворимые комплексы могут быть использованы для получения нано- и микрокапсул.

Образующийся при смешивании белка (желатина) и полисахарида (гуммиарабика) нерастворимый ИПК в виде нано- и микрочастиц был определен Бунгенбергом де Йонгом как коацерват [1, 2]. Такие комплексы на основе природных полимеров используют для формирования оболочек микрокапсул [3]. Образование плотного и бездефектного защитного слоя на поверхности микрокапсул возможно только при условии, что коацерватные капли нерастворимого ИПК обладают свойствами вязкоупругой жидкости, которая обволакивает микрокапсулы в результате хорошей адгезии к поверхности микрокапсул и коалесценции между капельками ИПК. Необходимым условием формирования жидкоподобных коацерватных капель является относительно низкая линейная плотность заряженных функциональных групп полиэлектролитов, что характерно для белков и полисахаридов, содержащих амино-группы и карбоксильные группы.

При взаимодействии синтетических полиэлектролитов с высокой плотностью заряженных групп образуются твердоподобные ИПК и затем наночастицы плотной структуры. Такого рода комплексы образуются между ДНК и катионными полиэлектролитами при получении векторов ДНК [4, 5]. При стехиометрическом соотношении зарядов ( $z = 1 = [+]/[-]$ ) комплекс агрегирует и затем дает осадок; таким образом, получение капсул в результате классической коацервации в этом случае исключено. Разработанный недавно метод «послойного» образования ИПК на поверхности коллоидных частиц также способствует образованию плотной структуры микро- и микрокапсул [6]. Этот метод позволяет избежать образования осадка в объеме раствора в момент смешивания полиэлектролитов. Толщина стенок капсул в данном случае определяется количеством слоев противоположно заряженных полиэлектролитов.

Нано- и микрокапсулы, стенки которых состоят из нерастворимого комплекса типа ПАВ-ПЭК, впервые были получены при помощи метода, описанного в [7, 8]. Этот метод основан на образовании нерастворимого комплекса на границе раздела жидкость/жидкость в результате фронтальной диффузии противоположно заряженных соединений: хитозана и додецилсульфата натрия (ДСН) через межфазную поверхность [9]. Исследования свойств ПАВ-ПЭК в жидкой фазе и на границе раздела позволили подобрать оптимальные условия для образования стенок микрокапсул, состоящих из твердоподобного физического геля [10–14]. Капсулы, образованные из геля ПАВ-ПЭК (хитозан-ДСН), применялись

для инкапсулирования ферментов (протеаза, уреазы) [15—17].

Несмотря на то, что механические и реологические свойства микрокапсул определяют их применение в различных областях, таких как медицина, катализ, сельское хозяйство, биотехнология, они никогда не изучались подробно по причине сложности такого исследования. Вязкоупругие свойства физических гелей ПАВ-ПЭК исследовали на плоских макроскопических слоях в условиях, идентичных тем, в которых были получены капсулы [18, 19]. Упругие свойства слоев ИПК измерялись косвенно с помощью атомного-силового микроскопа при деформировании микрокапсул сжимающей силой [20]. Было показано, что pH и концентрация соли сильно влияют на устойчивость и прочность этих капсул [21].

Недавно нами был разработан новый метод дилатантной реометрии адсорбционных слоев в проточной кювете с непрерывным или периодическим потоком [22, 23], позволяющий проводить исследования вязкоупругих дилатантных свойств нерастворимых ПАВ-ПЭК и ИПК. Этот метод, основанный на исследовании скорости изменения поверхностного натяжения путем анализа формы висящей капли (или всплывающего пузырька), был модифицирован для случая образования межфазной пленки в результате послойной адсорбции противоположно заряженных компонентов. Пропуская через измерительную кювету последовательно потоки растворителя и растворов ПАВ (или полиэлектролитов) удается изучать кинетику формирования ПАВ-ПЭК (или ИПК) на межфазной границе и исключить влияние адсорбции таких комплексов, образовавшихся в объеме смешанного раствора.

На протяжении ряда лет нашими лабораториями проводились совместные исследования свойств электростатических комплексов как ИПК, так и ПАВ-ПЭК. В данной работе представлены результаты исследования электростатических комплексов между производными хитина и ПАВ.

### Получение капсул на основе ПАВ-полиэлектролитных комплексов

#### Производные хитина

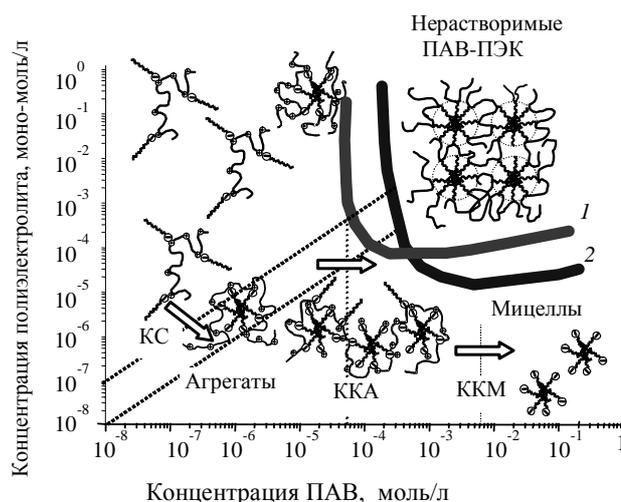
Хитин является природным полисахаридом, его получают из панцирей ракообразных. Хитин имеет молекулярную структуру гомополимера поли-(N-ацетил-D-глюкозамина), как правило, хитины частично дезацетилированы. Наибольший интерес представляют производные хитина. Так, например, карбоксиметилирование хитина по OH- группам позволило получить анионное производное — карбоксиметилхитин (КМХ), растворимое в воде в широком интервале pH. В результате обработки щелочью, приводящей к деацетилированию хитина, получают хитозан, растворимый в кислой среде при степени ацетилирования (СА) менее 0,5 из-за наличия группы D-глюкозамина и протонирования NH<sub>2</sub>- групп при pH < 6. Аминогруппа может быть легко модифицирована, что позволяет изменять физико-химические

свойства этого природного полимера в растворе [24]. Например, в результате алкилирования хитозана и карбоксиметилхитинов были получены амфифильные полимеры. Свойства этих полимеров в растворе определяются равновесием между силами электростатического отталкивания, которое зависит от концентрации ионов, и гидрофобными взаимодействиями, зависящими от температуры и полярности растворителя. Кроме того, наличие алкильных цепей придает производным хитина поверхностную активность, которая способствует образованию физических гелей в растворе [12, 13].

#### Образование нерастворимых ПАВ-полиэлектролитных комплексов

Взаимодействия между водорастворимыми производными хитина и противоположно заряженными ПАВ ведут к образованию стехиометрических или нестехиометрических комплексов ПАВ-ПЭК. Катионный хитозан способен в кислой среде связывать жирные кислоты (олеиновая, линолевая, стеариновая, пальмитиновая, линоленовая кислоты), в результате чего образуются нерастворимые ПАВ-ПЭК. Это обуславливает его применение в пищевых добавках [25], косметике [26], при очистке сточных вод различных дистилляционных производств [27], в фармацевтике для увеличения адсорбции пептидов при назальном администрировании [28] и т. д. Было показано, что образование осадка нерастворимых комплексов хитозан—додецилсульфат натрия (ДСН) начинается при концентрации ДСН > 10<sup>-4</sup> М.

На рис. 1 показана фазовая диаграмма смесей полиэлектролит/ПАВ. Область образования осадков уменьшается при уменьшении молярной массы полимера или при увеличении ионной силы раствора. Растворимые комплексы образуются только при концентрациях полиэлектролитов ниже 10<sup>-4</sup> моль/л, хотя в зависимости от



**Рис. 1. Фазовая диаграмма смесей полиэлектролит/ПАВ:**  
 1 - хитозан/додецилсульфат натрия [29]; 2 - карбоксиметилхитин/додецилсульфат натрия [30]. ККМ - критическая концентрация мицеллообразования; ККА - критическая концентрация агрегации; КС - критический состав

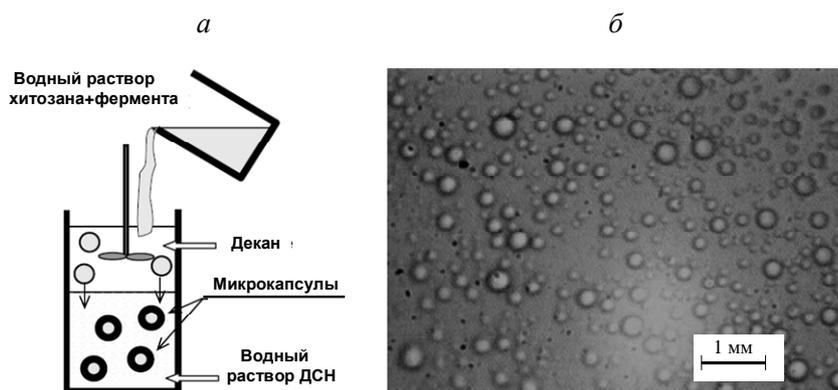


Рис. 2. Получение микрокапсул путем эмульгирования и формирования комплекса хитозан/ДСН :

а — схема эмульгирования, б — готовые микрокапсулы ( $C_{ДСН} = 0,1$  моль/л;  $C_x = 0,1$  моно-моль/л)

концентрации ПАВ в растворе появляются различные молекулярные структуры (растворимые агрегаты, стабилизированные адсорбцией полимера мицеллы). Использование фазовой диаграммы позволяет оптимизировать экспериментальные условия в соответствии с условиями применения материалов на основе ПАВ-полиэлектrolитных комплексов.

*Образование микрокапсул из нерастворимых комплексов ПАВ-хитозан*

Полые микрокапсулы, в которых водный раствор биологически активного соединения окружен стенками из комплекса ПАВ-ПЭК (рис. 2), получают в соответствии с ранее описанным методом [31]. Готовят эмульсию

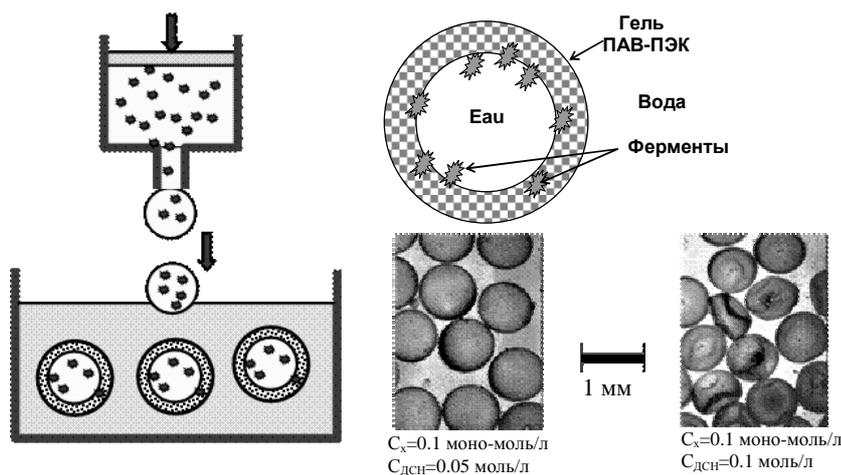


Рис. 3. Образование капсул с водной фазой внутри при прикапывании водного раствора хитозана в водный раствор ДСН

водной фазы, содержащей хитозан и ферменты, в масляной фазе (декан). В результате образуются капли диаметром порядка 200 мкм, которые осаждают в фазе, содержащей ДСН; нерастворимый ПАВ-ПЭК образуется на границе раздела фаз, что приводит к формированию микрокапсул.

Аналогичные микрокапсулы меньшего размера могут образовываться самопроизвольно при «эмульгировании» водного раствора хитозана в водном растворе додецилсульфата натрия. Образование эмульсии типа «вода-в-воде» возможно при достаточно высокой концентрации полимера. При этом спонтанно образуются т.н. «полимерсомы», содержащие внутри водную фазу со стенками из нерастворимых ПАВ-ПЭК.

Методом прикапывания водного раствора хитозана в водный раствор ДСН получают микрокапсулы размером порядка 1 мм, стенки которых состоят из ПАВ-ПЭК (рис. 3). Если раствор хитозана содержит активные соединения (например, ферменты), то при смешивании с раствором ДСН он образует электростатический комплекс на границе раздела фаз, толщина которого  $\delta$  растет с увеличением времени контакта; таким образом, образуется устойчивая капсула с активными соединениями внутри.

Капсулы образуются по механизму ионотропного гелеобразования в результате встречной фронтальной диффузии ПАВ и полиэлектролита через поверхность раздела жидких фаз (рис. 4а). Для образования стехиометрических гелеобразных комплексов потоки ПАВ  $j_{ДСН}$  и хитозана  $j_x$  должны быть одинаковыми, а концентрации должны быть достаточно высокими для образования сетки полимерного геля на границе раздела фаз. Раствор хитозана должен быть полуразбавленным, а концентрация додецилсульфата натрия превышать 0,05 М (ККМ ДСН  $8 \cdot 10^{-3}$  М). Установлено, что критическая концентрация агрегирования (ККА), отвечающая образованию мицеллоподобных агрегатов молекул ПАВ в комплексах, в 10—100 раз меньше, чем ККМ ДСН, и что число агрегирования  $N_{ag}$  молекул в мицелле ДСН выше, чем в агрегатах.

В начале образования геля на границе раздела фаз рост толщины стенок пропорционален  $\sqrt{t}$  (рис. 4б), что соответствует механизму диффузионного формирования стенок [7, 9]. Используя

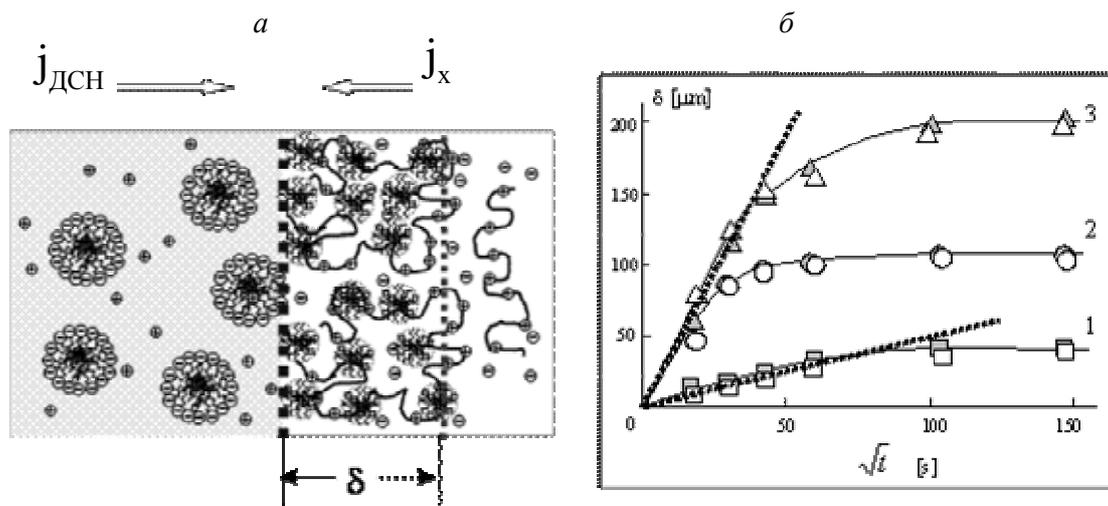


Рис. 4. Формирование гелеобразного слоя:

*a* — схема образования сетчатой структуры; *б* — динамика изменения толщины  $\delta$  гелеобразного слоя;  $C_{DCH}=0,1M$ ;  $V_{DCH}=50$  мл; 1 —  $Cx=0,1$  мономоль/л;  $Vx=10$  мл; 2 —  $Cx=0,05$  мономоль/л;  $Vx=10$  мл; 3 —  $Cx=0,05$  мономоль/л;  $Vx=20$  мл.

простое соотношение  $\delta(t)=\sqrt{2Dt}$ , был рассчитан эффективный коэффициент диффузии  $D$  компонентов (в данном случае, хитозана):  $D \sim 10^{-13}—10^{-12} \text{ м}^2 \cdot \text{с}^{-1}$ .

Интересно отметить, что стенки капсул имеют наноструктуру (рис. 5а), что было выявлено с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния (МРР) [9]. Характеристическим размером данной структуры  $d = 3,8$  нм можно считать среднее расстояние между агрегатами в геле (рис. 5б). Объемная доля твердой фазы в таких физических ПАВ-ПЭК гелях составляет ~ от 30 до 50% [17].

Оценка модуля эластичности  $E$  плоских слоев геля, полученных в тех же условиях, что и микрокапсулы, была проведена методом Герца по измерению деформации  $\Delta z$  слоя толщиной  $\delta \sim 300$  мкм в зависимости от сжимающей силы  $f_p$ , прикладываемой к этому слою стеклянным шариком радиусом  $R = 1$  мм [18, 19]. Мо-

дуль упругости  $E$ , рассчитанный по формуле Герца

$$f_p = \frac{4}{3} E \sqrt{R} \sqrt{\Delta z^3}$$

составил  $10^4—10^5$  Па, что соответствует эластическим свойствам физического геля, объемная доля твердой фазы которого ~ 50%. Характерное время релаксации напряжений в геле под нагрузкой было порядка  $\tau_r \sim 10^2$  с, что позволяет оценить эффективную вязкость  $\eta$  геля по соотношению  $\eta = E_r/E_{\tau_r} \sim 10^6—10^7$  Па·с.

Кроме того, возможно связать модуль эластичности этих гелей  $E$  с их упорядоченной структурой, определяемой из малоуглового рентгеновского рассеяния (МРР). Объемную концентрацию узлов сетчатой структуры  $v$  (рис. 5б) можно в первом приближении вычислить из соотношения  $E \approx vRT$ , откуда  $v \sim 4—40$  моль/м<sup>3</sup>. Учитывая стехиометрию комплексов в геле, можно

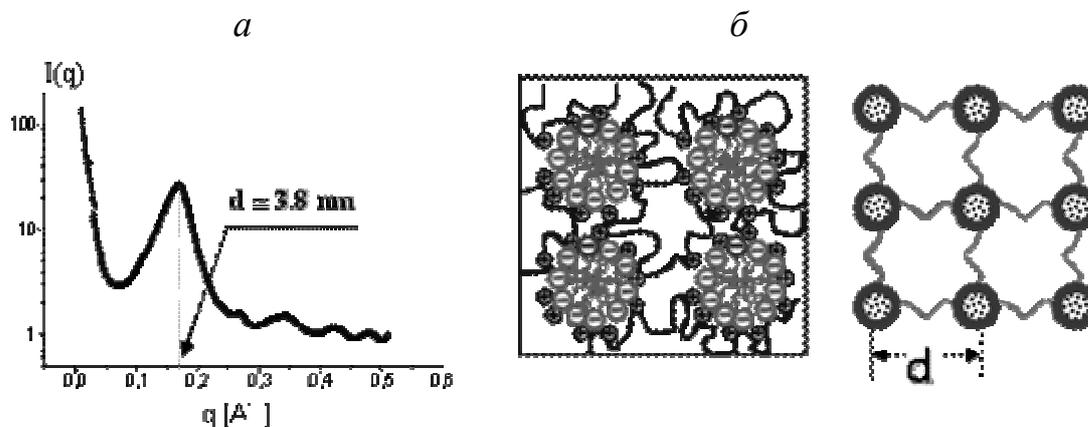


Рис. 5. Рентгеновская дифракция на геле комплекса хитозан/додecilсульфат натрия:

*a* — часть рентгенограммы комплекса; *б* — сетчатая структура стенки капсулы с характеристическим параметром  $d$

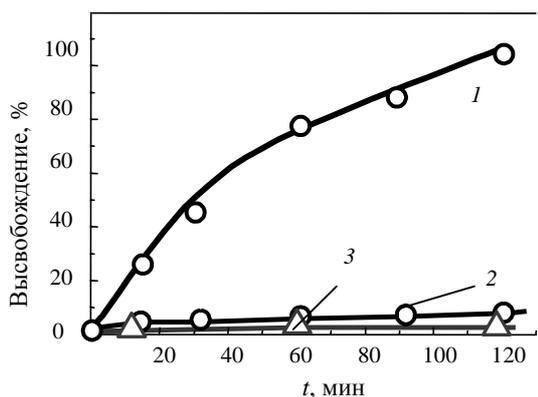


Рис. 6. Высвобождение ферментов, инкапсулированных в капсулы из комплексов ПАВ-хитозан:

Время формирования капсул 30 мин; 1 – трипсин, 1 М NaCl; 2 – трипсин, 0,2 М NaCl; 3 – уреаза, 0,2 М NaCl

оценить концентрацию ДСН в геле как  $\sim 500$  моль/м<sup>3</sup>. Соответственно, агрегационное число ДСН в агрегатах, играющих роль центров сетчатой структуры, равно  $N_{ag} = C_{SDS}/v \cong 50$ . Отсюда можно найти расстояние между узлами  $d \approx (vN_A)^{-1/3} \cong 3,5\text{--}7,5$  нм, что соответствует результатам, полученным из данных рентгеновской дифракции (рис. 5а).

В результате проведенных исследований мы предложили метод получения капсул из комплексов ПАВ с производными хитина для пролонгированного высвобождения белков [15, 16]. Было показано, что ферменты (трипсин, уреаза) сохраняют активность в присутствии хитозана, в то время как в присутствии ДСН они денатурируют. При помощи гель-хроматографии было показано, что трипсин образует электростатический комплекс с хитозаном, что не влияет на его активность. Скорость высвобождения ферментов из микрокапсул зависит от молярной массы белка и его взаимодействия с хитозаном; в частности, уреаза – фермент с высокой молекулярной массой диффундирует гораздо медленнее, чем трипсин с меньшей молекулярной массой; рост концентрации соли во внешней среде сильно облегчает высвобождение в результате диссоциации электростатического комплекса трипсин - хитозан (рис.6). Скорость диффузии также зависит от толщины  $\delta$  стенки капсулы (рис. 7). Толщина  $\delta$  растет с увеличением времени контакта между растворами хитозана и ПАВ, что дает возможность регулировать скорость диффузии ферментов.

Инкапсуляция ферментов комплексами ПАВ-ПЭК может представлять интерес для регенерации тканей, где требуется медленное высвобождение фермента в течение нескольких дней [32]. Додецилсульфат натрия можно заменить на различные жирные кислоты или аминокислоты. Капсулы с уреазой могут найти применение в качестве гетерогенных биокатализаторов для создания искусственной почки.

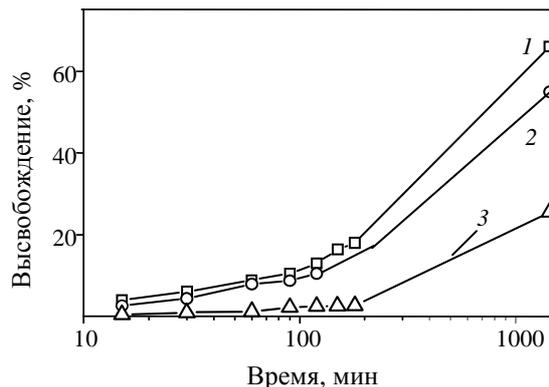


Рис. 7. Влияние времени формирования капсул на кинетику высвобождения ферментов:

1 — 10 мин; 2 — 30 мин; 3 — 60 мин

*Дилатантная вязкоупругость слоев ПАВ-ПЭК*

Вязкоупругие свойства тонких слоев ПАВ-ПЭК исследовались методом дилатантной реометрии [33, 34], основанным на использовании капельного тензиометра (Tracker, IT concert, Франция) [35]. Капля или пузырь заданного объема  $V$  (порядка 5–10 мм<sup>3</sup>) формируется на конце капилляра (рис. 8). Поверхность капли (или пузыря) подвергают периодической синусоидальной деформации малой амплитуды, что позволяет непрерывно измерять поверхностное (или межфазное) натяжение  $\gamma$  и комплексный двумерный модуль эластичности  $\bar{E}$  межфазного слоя при больших временах формирования адсорбционных слоев (более 50000 с для достижения квазиравновесного состояния). Данный метод был описан ранее [33, 34, 36].

Модули эластичности определяли в интервале частот  $\omega = 0,01\text{--}0,63$  рад·с<sup>-1</sup> по методу, описанному в работе [37]. Модули сохранения  $E'(\omega)$  и потерь  $E''(\omega)$  были рассчитаны на основе модели с двумя временами релаксации:

$$E'(\omega) = E_{o1} \frac{(\omega/\omega_{o1})^2}{1 + (\omega/\omega_{o1})^2} + E_{o2} \frac{(\omega/\omega_{o2})^2}{1 + (\omega/\omega_{o2})^2} \quad (1)$$

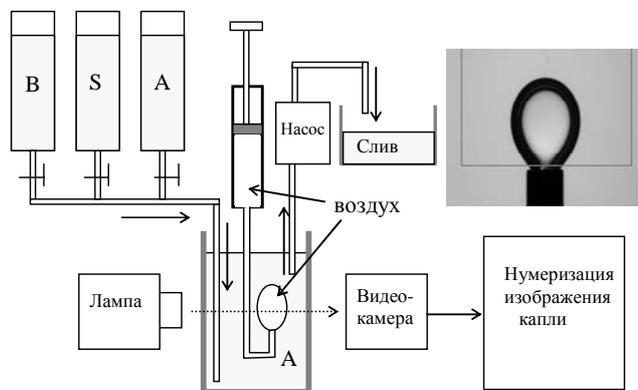


Рис. 8. Схема установки дилатантной реометрии в проточной кювете

$$E''(\omega) = E_{01} \frac{\omega/\omega_{01}}{1 + (\omega/\omega_{01})^2} + E_{02} \frac{\omega/\omega_{02}}{1 + (\omega/\omega_{02})^2} \quad (2)$$

где  $\omega_{0i}$  и  $E_{0i}$  ( $i = 1, 2$ ) – соответственно, характеристические частоты и модули, определенные из экспериментальных данных при изменении частоты в интервале  $\omega = 0,01-0,63$  рад·с<sup>-1</sup>. «Кроссинг-частота»  $\omega_c$ , соответствующая пересечению кривых  $E'(\omega)$  и  $E''(\omega)$ , является границей двух областей:  $\omega > \omega_c$ , в которой межфазный слой обладает свойствами твердого тела ( $E' > E''$ ), и  $\omega < \omega_c$ , со свойствами жидкости.

Метод дилатантной реометрии в проточной кювете [22, 23] позволяет осуществлять непрерывную смену жидкости в измерительной ячейке (рис. 8). Например, начальный водный раствор компонента с амфифильными свойствами (катионный ПЭ, хитозан А) образует адсорбционный слой на границе раздела фаз вода/воздух. По прошествии некоторого времени  $t_1$  раствор А заменяется чистым растворителем (буферным раствором S), а затем раствором второго, противоположно заряженного компонента В (ПАВ или полиэлектролит), который при взаимодействии с уже сформированным межфазным слоем полимера А образует электростатический комплекс (ПАВ-ПЭК или ИПК) на межфазной границе. Этот процесс можно воспроизводить многократно и получать многослойную систему. Данная методика также позволяет изменять рН и ионную силу раствора и изучать влияние этих параметров на свойства межфазных слоев.

На рис. 9 приведен пример изменения поверхностного натяжения на границе раздела фаз жидкость/воздух и компонентов  $E'$  и  $E''$  комплексного модуля эластичности в зависимости от времени формирования адсорбционного слоя. Во время первой фазы, соответствующей образованию адсорбционного слоя хитозана (концен-

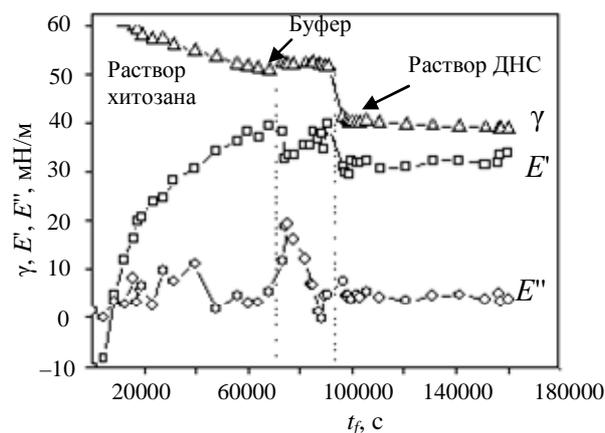


Рис. 9. Изменение во времени поверхностного натяжения  $\gamma$ , действительной  $E'$  и мнимой  $E''$  составляющих комплексного модуля эластичности адсорбционного слоя хитозана и комплекса хитозан-ДНС:

25°C;  $\omega=0,63$  рад/с

трация 0,26 г/л), величина  $E'$  непрерывно увеличивается до 40 мН/м при  $t_1=70000$  с, в то время как модуль  $E''$  достигает величины 10 мН/м ( $E'' < E'$ , что соответствует нашим последним результатам исследования комплексов полиэлектролитов и свойствам твердopodobного реологического тела в присутствии 0,1 М АсОНа) [38]. Влияние частоты деформирования на модули в момент времени  $t_1$  представлено на рис. 10а. Кроссинг-частота  $\omega_c$  имеет порядок 0,01 рад/с, времена релаксации  $\omega_{01} = 0,8$  рад/с и  $\omega_{02} = 0,012$  рад/с отвечают характеристическим модулям упругости  $E_{01} = 9$  мН/м и  $E_{02} = 37$  мН/м.

На втором этапе раствор хитозана замещают на ацетатный буферный раствор, затем в момент времени  $t =$

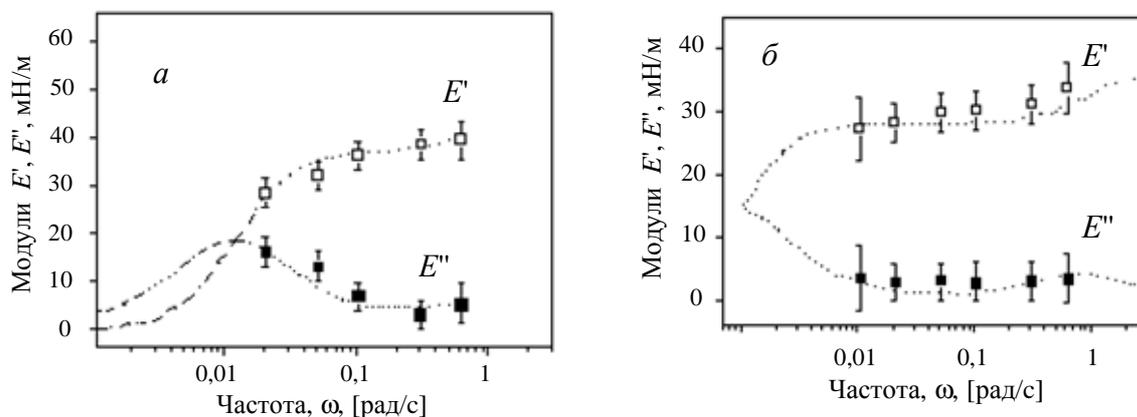


Рис. 10. Частотные зависимости модулей  $E'(\omega)$  ( $\square$ ) и  $E''(\omega)$  ( $\blacksquare$ ) адсорбционных слоев хитозана:

Метод реометрии в проточной кювете;  $C_x = 0,26$  г/л;  $[AcOH] = 0,3$  М;  $C_{AcONa} = 0,1$  М;  $C_{DCH} = 10^{-4}$  моль/л.  $\omega_{01}=0,8$  рад/с;  $E_{01}=9$  мН/м; а — чистый хитозан,  $\omega_{02}=0,012$  рад/с;  $E_{02}=37$  мН/м;  $t_f=70.000$  с; б — после добавления додецилсульфата натрия,  $\omega_{02}=0,001$  рад/с;  $E_{02}=28$  мН/м;  $t_f=160.000$  с. Точки — экспериментальные данные; пунктир — расчет по уравнениям (1) и (2).

90000 с вводят раствор додецилсульфата натрия. Образование электростатического комплекса ведет к уменьшению поверхностного натяжения и модуля  $E'$ , в то время как величина модуля  $E''$  не изменяется. Межфазный гель становится более твердым, а кроссинг-частота  $\omega_c$  ( $\omega_c \sim 10^{-3}$  рад/с) и  $E_{01}$  (10 мН/м) сильно уменьшаются, в то время как величина  $E_{02}$  остается на уровне 28 мН/м. Данный метод успешно применялся в наших работах по исследованию полиэлектролитных комплексов хитозан/сульфат хитозана [22, 23, 39].

### Заключение

Настоящий обзор представляет результаты изучения формирования и свойств гелеобразных электростатических комплексов между противоположно заряженными полиэлектролитами и ПАВ. В данной работе рассматриваются примеры межфазных слоев (пленок), образованных производными хитина и ПАВ (ПАВ-ПЭК). Показано, что эти пленки имеют упорядоченную наноструктуру, в которой мицеллярные агрегаты, играют роль центров сетки физического геля.

Новый метод получения капсул с водным ядром позволяет осуществлять инкапсулирование ферментов без их денатурации. Исследована кинетика высвобождения ферментов и показано, что скорость диффузии зависит от их молярной массы, способности к комплексообразованию и ионной силы раствора. Предложены возможные области использования инкапсулирования ферментов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Bungenberg de Jong H.G., Kruyt H.R.* Proc. Koninkl. Med. Akad. Wetenschap, 1929, v. 32, p. 849—856.
2. *Bungenberg de Jong H.G.* In: Colloid Science. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1949, v. 12, ch. 3, p. 232—258.
3. *Babak V.G.* Colloid Chemistry in Microencapsulation Technology. Sverdlovsk, Ural University Press, 1991.
4. *Kumar M., Behera A.K., Lockey R.F., Zhang J., Bhullar G., Cruz C.P.D.L., Chen L.-C., Leong K.W., Huang S.-K., Mohapatra S.S.* Hum. Gene Ther., 2002, v. 13, p. 1415—1425.
5. *Ercelen S., Zhang X., Duportail G., Grandfils C., Desbrieres J., Karaeva S., Tikhonov V., Mely Y., Babak V.* Colloids & Surfaces B: Biointerfaces, 2006, v. 51, p. 140—148.
6. *Donath E., Sukhorukov G.B., Caruso F., Davis S.A., Mohwald H.* Angew. Chem. Int. Ed., 1998, v. 37, p. 2201—2205.
7. *Babak V.G., Merkovich E.A., Desbrieres J., Rinaudo M.* Polym. Bull., 2000, v. 45, p. 77—81.
8. *Babak V.G., Kildeeva N.R., Merkovich E.A., Desbrieres J., Rinaudo M.* In: Euroforum «Biopolymers: Food and Cosmetic Applications» (Polymerix 2000), Rennes, France 2000, p. 27—38.
9. *Babak V.G., Merkovich E.A., Galbraikh L.S., Shtykova E.V., Rinaudo M.* Mendeleev Commun, 2000, v. 3, p. 94—95.
10. *Babak V.G., Vikhoreva G.A., Anchipolovsky M.A.* Mendeleev Commun, 1996, p. 73—75.
11. *Babak V.G., Vikhoreva G.A., Lukina I.G.* Colloids & Surfaces. A. Physicochemical and Engineering Aspects, 1997, v. 128, p. 75—89.
12. *Babak V.G., Rinaudo M., Desbrieres J., Vikhoreva G.A., Michalski M.-C.* Mendeleev Commun, 1997, v. 4, p. 149—151.
13. *Rinaudo M., Auzely R., Vallin C., Mullagaliev I.* Biomacromolecules, 2005, v. 6, № 5, p. 2396—2407
14. *Babak V.G., Lukina I.G., Vikhoreva G.A., Desbrieres J., Rinaudo M.* Colloids & Surfaces A: Physicochem. and Eng. Asp., 1999, v. 147, p. 139—148.
15. *Babak V.G., Kildeeva N.R., Merkovich E.A.* In: 28th Int. Symp. on Controlled Release of Bioactive Materials, San Diego, California, USA, 2001.
16. *Babak V.G., Kildeeva N.R., Merkovich E.A., Rinaudo M.* In: Chitin Enzymology 2001, Ed. R.A.A. Muzzarelli, Ated ed. Grottammare (Italy), 2001, p. 591—594.
17. *Babak V.G.* In: Chitin and chitosan. Production, Properties and Usage. Eds. K.G. Skryabin, V.P. Varlamov. Moscow: Nauka, 2003, p. 201—216.
18. *Babak V.G.* In: Int. Symp. «Particles 2002». Medical/Biochemical Diagnostic, Pharmaceutical and Drug Delivery Applications of Particle Technology, Orlando, Florida, USA, 2002.
19. *Babak V.G., Rinaudo M.* Colloids & Surfaces B: Biointerfaces, 2007.
20. *Lulevich V.V., Radtchenko I.L., Sukhorukov G.B., Vinogradova O.I.* J. Phys. Chem. B, 2003, v. 107, p. 2735—2740.
21. *Lulevich V.V., Vinogradova O.I.* Langmuir, 2004, v. 20, p. 2874—2878.
22. *Babak V.G., Auzely R., Rinaudo M., Khokhlov A.R.* Mendeleev Commun, 2005, v. 15, p. 239—241.
23. *Babak V., Auzely R., Khokhlov A., Rinaudo M.* In: 4th World Congr. on Emulsions, Lyon, France, 2006, p. 193.
24. *Desbrieres J., Rinaudo M., Babak V., Vikhoreva G.* Polymer Bull., 1997, v. 39, p. 209—215.
25. *Muzzarelli R.A.A.* Carbohydrate Polymers, 1996, v. 29, p. 309—316.
26. *Baschong W., Huglin D., Maier T., Kulik E.* SOFW-journal, 1999, v. 125, p. 22—24.
27. *Lalov I.G., Guerginov I.I., Krysteva M.A., Fartsov K.* Water Res., 2000, v. 34, p. 1503—1506.
28. *Tengamnuay P., Sahamethapata A., Sailasutab A., Mitrac A.K.* Int. J. Pharmaceutics, 2000, v. 197, p. 53—67.
29. *Vikhoreva G.A., Babak V.G., Galich E.F., Galbraikh L.S.* Polymer Sci. Ser. A, 1997, v. 39, p. 617—622.
30. *Vikhoreva G.A., Babak V.G., Lukina I.G., Galbraikh L.S.* Ibid., 1998, v. 40, p. 201—205.
31. *Merkovich E.A.* In: Moscow state textil university, 2001, p. 210.
32. *Kildeeva N.R., Babak V.G., Vikhoreva G.A.* Bull. of Moscow state university, Ser.2 Chemistry, 2001, v. 41, p. 423—425.
33. *Babak V.G., Desbrieres J.* Mendeleev Commun, 2005, v. 1, p. 35—38.
34. *Babak V., Desbrieres J.* Colloid and Polym. Sci., 2006, v. 284, p. 745—754.
35. *Saulnier P., Boury F., Malzert A., Heurtault B., Ivanova T., Cagna A., Panaiotov I., Proust J.E.* Langmuir, 2001, v. 17, p. 8104—8111.
36. *Babak V.G., Boury F.* Colloids and Surfaces A: Physicochem. and Eng. Asp., 2004, v. 243, p. 33—42.
37. *Babak V.G., Desbrieres J., Tikhonov V.E.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Eng. Asp., 2005, v. 255, p. 119—130.
38. *Babak V.G., Auzely R., Rinaudo M.* J. Phys. Chem. B, 2007, (in press).
39. *Babak V.G., Auzely R., Khokhlov A.R., Rinaudo M.* Biomacromolecules, 2008, (in press).