

ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)

ХИМИЯ ВЫСОКАМАЛЕКУЛЯРНЫХ ЗЛУЧЭННЯЎ
POLYMER CHEMISTRY

УДК 543.544.152.544.147.2.547-31/-39.54.057.543.64
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2024-60-1-45-52>

Поступила в редакцию 31.01.2023
Received 31.01.2023

А. С. Боймирзаев¹, Г. Е. Бердимбетова², Б. П. Карлыбаева²

¹Наманганский инженерно-технологический институт, Наманган, Узбекистан

²Каракалпакский научно-исследовательский институт естественных наук,
Каракалпакское отделение Академии наук Республики Узбекистан, Каракалпакстан, Узбекистан

ЭКСКЛЮЗИОННАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
КАРБОКСИМЕТИЛХИТИНА И КАРБОКСИМЕТИЛХИТОЗАНА
ИЗ РАЧКОВ *ARTEMIA PARTHENOGENETICA* АРАЛЬСКОГО МОРЯ

Аннотация. Разработаны методики получения водорастворимых производных хитина и хитозана из цист рачков рода *Artemia Parthenogenetica* Аральского моря путем карбоксиметилирования ОН- и NH₂-групп их цепей. Изучены элюционные, вязкостные и полиэлектролитные свойства карбоксиметилхитина и карбоксиметилхитозана в эксклюзионной жидкостной хроматографии. Подавление электростатических эффектов и реализация эксклюзионного механизма разделения указанных полисахаридов достигнуто при использовании в качестве элюента водного раствора нитрата натрия с концентрацией 0,1 моль/л, который и был рекомендован для определения молекулярно-массовых характеристик.

Ключевые слова: эксклюзионная хроматография, карбоксиметилхитозан, карбоксиметилхитин, полиэлектролитное набухание, ионная эксклюзия, деацетилирование, сульфатирование

Для цитирования. Боймирзаев, А. С. Эксклюзионная жидкостная хроматография карбоксиметилхитина и карбоксиметилхитозана из рачков *Artemia Parthenogenetica* Аральского моря / А. С. Боймирзаев, Г. Е. Бердимбетова, Б. П. Карлыбаева // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2024. – Т. 60, № 1. – С. 45–52. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2024-60-1-45-52>

A. S. Boymirzaev¹, G. E. Berdimbetova², B. P. Karlybaeva²

¹Namangan Institute of Engineering and Technology, Uzbekistan

²Karakalpak Research Institute of Natural Sciences, Karakalpak Branch of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Karakalpakstan.

EXCLUSION LIQUID CHROMATOGRAPHY OF CARBOXYMETHYLCHITIN
AND CARBOXYMETHYLCHITOSAN FROM CRUSTACEAN
***ARTEMIA PARTHENOGENETICA* OF THE ARAL SEA**

Abstract. The article deals with the synthesis of water-soluble derivatives of chitin and chitosan from cysts of crustaceans of the genus *Artemia Parthenogenetica* of the Aral Sea by carboxymethylation of OH and NH₂ groups of their chains. The elution, viscosity and polyelectrolyte properties in size exclusion liquid chromatography of carboxymethylchitin and carboxymethylchitosan were studied. The suppression of electrostatic effects and the implementation of the exclusion mechanism for the separation of these polysaccharides were achieved by using an aqueous solution of sodium nitrate with a concentration of 0.1 mol/l as an eluent, which was recommended for determining molecular weight characteristics.

Keywords: size exclusion chromatography, carboxymethylchitosan, carboxymethylchitin, polyelectrolyte expansion, ionic exclusion, deacetylation, sulphation

For citation. Boymirzaev A. S., Berdimbetova G. E., Karlybaeva B. P. Exclusion liquid chromatography of carboxymethylchitin and carboxymethylchitosan from crustacean *Artemia Parthenogenetica* of the Aral sea. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2024, vol. 60, no. 1, pp. 45–52 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2024-60-1-45-52>

Экспериментальная часть. Для получения хитозана по схеме, представленной на рис. 1, на основе хитина из цисты артемии Аральского моря выбирали щелочное деацетилирование хитина, обработкой 50%-м концентрированным раствором NaOH 1 : 15 (вес/объем) при температуре 120–130 °С в течение нескольких часов. Затем полученную суспензию фильтровали и промывали горячей дистиллированной водой до нейтрального pH. Полученный образец хитозана сушили при комнатной температуре в течение 24 ч [11].

Синтез 6-О-КМХ проводили по ранее описанной методике [12]. Схема синтеза показана на рис. 2. Для синтеза КМХ к 1,8 г хитина добавляли 8 г NaOH и 4 г мочевины, заливали водой до 100 мл и перемешивали 2 ч при комнатной температуре. Через 2 ч раствор замораживали при температуре –20 °С в течение 36 ч. Во время заморозки ледяную смесь дважды размалывали стальной палочкой и перемешивали. Через 36 ч смесь разморозили до комнатной температуры. К жидкой смеси прибавили 3,72 г монохлоруксусной кислоты и 2,08 г карбоната натрия. Затем смесь постоянно перемешивали в течение 84 ч при 15 °С и к этой смеси добавляли HCl до достижения pH 7.

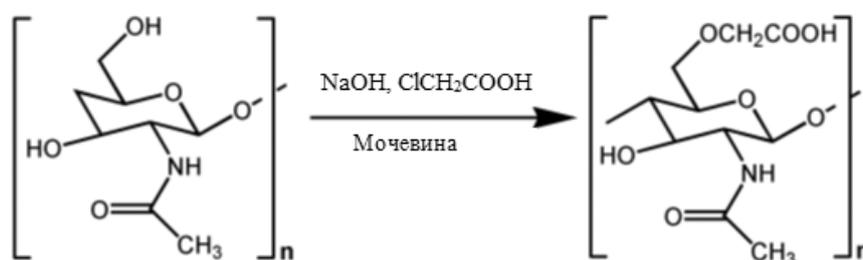


Рис. 2. Схема синтеза 6-О-карбоксиметилхитина в кислой форме

Fig. 2. Synthesis of 6-O-carboxymethylchitin in acid form

Синтез КМХТ проводили по известной методике [13] с небольшими изменениями в условиях модификации. На рис. 3 представлена схема синтеза N,O-КМХТ.

Для получения КМХТ 1,5 г хитозана растворяли в 32,5 мл изопропилового спирта (ИПС) в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем к суспензии последовательно прибавляли 11 мл 40%-го NaOH и 35 мл ИПС (при комнатной температуре и постоянном перемешивании в течение 30 мин). Далее в суспензию добавляли 7,5 г монохлоруксусной кислоты, повышали температуру раствора до 50 °С и перемешивали в течение 3 ч. После этого раствор охлаждали до комнатной температуры и отфильтровывали. Осадок промывали метанолом. Затем осадок с фильтровальной бумаги переносили в стакан вместимостью 200 мл, добавляли 100 мл метанола и 10 капель уксусной кислоты, стакан накрывали пленкой и перемешивали на магнитной мешалке в течение 14 ч при комнатной температуре. После 10-минутного отстаивания раствор фильтровали, остаток промывали этиловым спиртом 3 раза.

ЭЖХ проводили на высокоскоростном жидкостном хроматографе фирмы Agilent 1260 Infinity (США) с рефрактометрическим детектором. В качестве сорбента использовали TSK GM PW_{XL} (Tosoh Bioscience, Германия) с линейной калибровочной зависимостью в диапазоне разделения

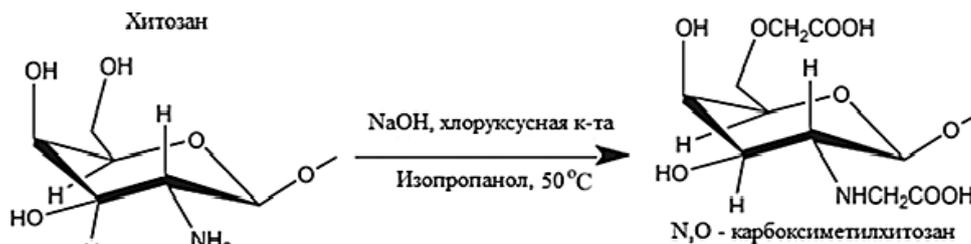


Рис. 3. Синтез N,O-карбоксиметилхитозана

Fig. 3. Synthesis of N,O-carboxymethylchitosan

макромолекул по ММ от 1×10^2 до 2×10^6 . Скорость потока элюента составляла 0,8 мл/мин. Объем вводимой пробы – 25 мкл. Обработку хроматографических данных осуществляли с помощью программы Windows Chemstation 7.

Результаты и их обсуждение. Наличие аминогрупп придает хитозану многие ценные свойства – растворимость в кислых водных средах, способность к комплексообразованию, ионному обмену и т. д. Однако неменьший интерес для практического применения представляют и другие водорастворимые производные хитина полиэлектролитной природы (например, поликислота КМХ), который по строению, свойствам и способу получения аналогичен широко известной и производимой в крупных масштабах карбоксиметилцеллюлозе. С экономической точки зрения немаловажным является и то, что выход КМХ на единицу массы хитина в 1,5–2 раза превышает выход хитозана. В отличие от карбоксиметилцеллюлозы и хитозана КМХ является малоизученным производным, что, очевидно, сдерживает развитие его производства и практическое использование. Интересными и перспективными в практическом плане гидрофильными производными хитина являются продукты их карбоксиметилирования и сульфатирования, обладающие выраженной биологической активностью.

В настоящее время среди физико-химических методов исследования полимеров ЭЖХ является экспрессным и наиболее информативным методом определения средних ММ полимеров. В литературе анализу и определению средних ММ гидрофильных производных хитина методом ЭЖХ посвящено ограниченное число работ, а исследованию электростатических эффектов уделено недостаточно внимания. Анализ полиэлектролитов в бессолевых растворах осложняется наличием полиэлектролитных эффектов, таких как полиэлектролитное набухание, ионная эксклюзия и молекулярная адсорбция, которые нарушают молекулярно-ситовой механизм разделения ЭЖХ [14]. Наличие карбоксиметильных групп в цепях КМХ придает ему полиэлектролитное свойство, в вискозиметрии эффект полиэлектролитного набухания проявляется в резком увеличении приведенной вязкости ($\eta_{уд}/C$) с уменьшением концентрации раствора КМХ в воде [15]. На рис. 4 представлена зависимость приведенной вязкости $\eta_{уд}/C$ от концентрации

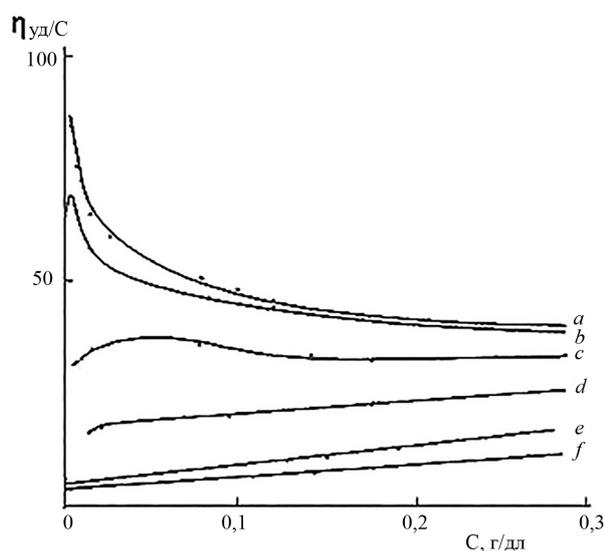


Рис. 4. Зависимость приведенной вязкости $\eta_{уд}/C$ от концентрации раствора (С) КМХ в воде (а) и в водном растворе NaCl различной концентрации (b–f). Концентрации NaCl в воде у кривых (моль/л): а – 0; b – 0,0002, c – 0,0008, d – 0,004, e – 0,05, f – 0,1 [15]

Fig. 4. Dependence of reduced viscosity η_{rel}/C on the concentration of carboxymethylchitin (C) in water (a) and aqueous NaCl solutions at various concentrations (b–f).

Concentration of NaCl in water in lines (mol/l): a – 0; b – 0,0002, c – 0,0008, d – 0,004, e – 0,05, f – 0,1 [15]

(С) КМХ в воде (кривая а) и водно-солевом растворе (кривые b–f). Из нелинейной концентрационной зависимости в воде (кривая а) характеристическую вязкость КМХ можно вычислить, используя формулы Фуосса–Страуса для полиэлектролитов. Аномалия вязкости (нелинейные зависимости) постепенно исчезает с увеличением концентрации NaCl в растворе и в ее значениях от 0,05 до 0,1 моль/л наблюдаются линейные зависимости $\eta_{уд}/C$ от концентрации (С) КМХ (кривые e, f), характерные для нейтральных полимеров. В ЭЖХ такое аномальное поведение макромолекул КМХ проявляется в уменьшении удерживаемых объемов (или времени элюции) при их хроматографировании. Если на поверхности сорбента имеется малое остаточное количество отрицательно заряженных групп, то при хроматографировании анионных полимеров может наблюдаться эффект ионной эксклюзии, который накладывается на полиэлектролитное набухание. В данном случае оба эффекта действуют в одну сторону, то есть в сторону уменьшения времени удерживания (элюции) образца. Как правило, для подавления указанных эффектов в элюент добавляют либо низкомолекулярные нейтральные соли (NaCl,

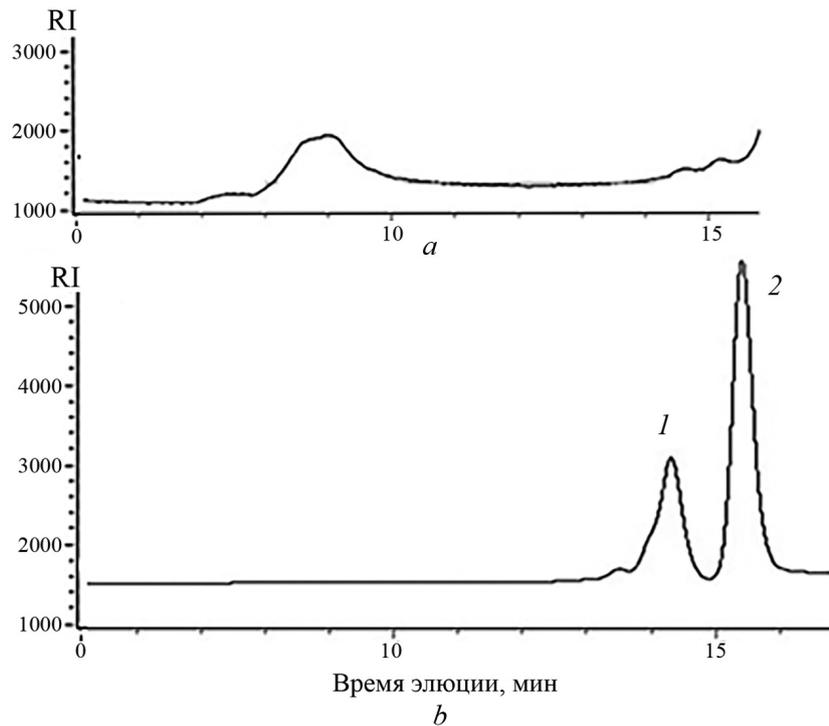


Рис. 5. Гель-хроматограммы карбоксиметилхитина в воде (а) и водном растворе 0,1 М NaNO_3 (b).
Кривые: 1– карбоксиметилхитин, 2– пик растворителя

Fig. 5. Chromatograms of carboxymethylchitin in water (a) and aqueous 0,1 M NaNO_3 (b).
Elution curves: 1– carboxymethylchitin, 2 – solvent peak

NaNO_3 и др.), либо изменяют рН элюента (растворитель, протекающий сквозь частиц сорбента) в сторону уменьшения диссоциации ионогенных групп как на поверхности сорбента, так и в цепях макромолекул. Для реализации эксклюзионного механизма разделения анионных полиэлектролитов, имеющих в цепях карбоксильные или сульфатные группы, в большинстве случаев достаточно использования элюента с ионной силой 0,1 моль/л. На рис. 5 представлены гель-хроматограммы КМХ при использовании в качестве элюента воды (а) и водного раствора NaNO_3 с концентрацией 0,1 моль/л (b). Из гель-хроматограммы (рис. 5, а) видно, что в воде значение времени элюции образца ниже, чем в водно-солевом элюенте. Это говорит о том, что в воде происходит полиэлектролитное набухание макромолекул за счет кулоновских электростатических отталкивающих сил анионов в цепях молекул КМХ. Как видно из рис. 5, а, максимум хроматографического пика образца КМХ, полученного при использовании в качестве элюента воды, находится ближе к исключенному объему колонки, то есть он соответствует времени элюции 8 мл, что характерно для полиэлектролитного набухания. При добавлении в воду NaNO_3 с концентрацией 0,1 моль/л ситуация меняется, хроматографический пик образца КМХ смещается в сторону больших значений времени удерживания, и оно становится равным 14,1 мин (рис. 5, b). Данный факт свидетельствует о подавлении полиэлектролитного эффекта за счет экранирования ионогенных (анионных) групп в цепях КМХ. Аналогичные гель-хроматограммы получены и при хроматографировании КМХТ (рис. 6, а). КМХТ также, как и КМХ, проявляет полиэлектролитное свойство в воде, так как имеет карбоксиметильные группы в цепях его макромолекул, способные вызывать набухание цепей за счет электростатических отталкиваний карбоксил анионов. Как видно из рис. 6, а, у образца КМХТ время элюции равно 7,8 мин вблизи исключенного объема колонки за счет полиэлектролитного эффекта. При использовании в качестве элюента водного раствора NaNO_3 с концентрацией 0,1 моль/л (рис. 6, б) пик смещается в сторону больших удерживаемых объемов (времени элюции). Этот факт свидетельствует о подавлении эффекта полиэлектролитного набухания, как и в случае КМХ, и разделение макромолекул КМХТ про-

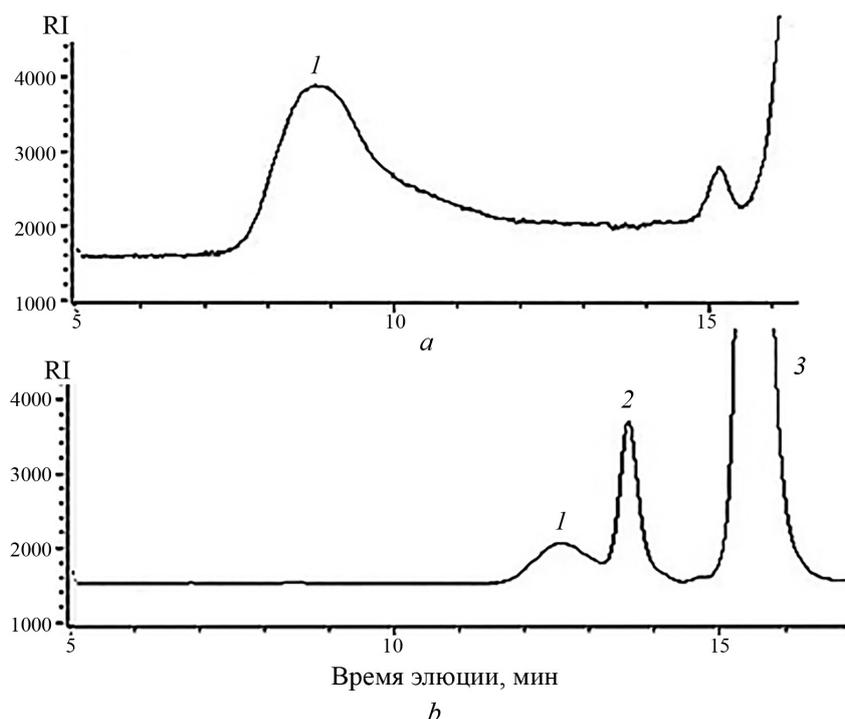


Рис. 6. Гель-хроматограммы карбоксиметилхитозана в воде (а) и водном растворе 0,1 М NaNO₃ (б).
Кривые: 1 и 2 – фракции КМХТ, 3 – пик растворителя

Fig. 6. Chromatograms of carboxymethylchitosan in water (a) and aqueous 0,1 M NaNO₃ (b).
Elution curves: 1 and 2 – fractions of carboxymethyl chitosan, 3 – solvent peak

исходит по эксклюзионному (молекулярно-ситовому) механизму разделения ЭЖХ. Из рис. 6, б также можно видеть, что образец состоит из двух фракций (кривые 1 и 2), отличающихся ММ, что объясняется гидролизом хитозана в процессе карбоксиметилирования.

После подавления полиэлектролитных эффектов и реализации молекулярно-ситового механизма разделения макромолекул ЭЖХ хроматографическая колонка была откалибрована узкодисперсными стандартами пуллуланов фирмы Showa Denko (Япония). Средние ММ исследованных полисахаридов были рассчитаны с использованием принципа универсальной калибровочной зависимости (УКЗ) Бенуа [16]. Ниже в таблице приведены значения констант K и a в уравнении Марка–Куна–Хаувинка ($[\eta]=KM^a$) и значения моментов ММ молекулярно-массового распределения полисахаридов, где M_p – средняя ММ, соответствующая максимуму хроматографического пика, M_w – средневесовая ММ, M_n – среднечисленная ММ для пуллулана, хитозана, КМХ и КМХЗ.

Значения констант K и a , M_p и полидисперсности (M_w/M_n) для исследованных полисахаридов
Values of constants K and a , M_p and polydispersity (M_w/M_n) for analysed polysaccharides

Полимер	$K \times 10^4$, дл/г	a	M_p , кДа	M_w/M_n	Элюент
Пуллулан	1,91	0,67	(1–1 000)*	(1,02–1,1)	0,1 М NaNO ₃ в воде
Хитозан	1,38	0,85	10	1,20	0,2 М ацетат буфер
КМХ	0,87	0,9	1	1,06	0,1 М NaNO ₃ в воде
КМХЗ	0,87	0,9	3; 0,8	1,1; 1,01	0,1 М NaNO ₃ в воде

* Диапазон ММ стандартов пуллулана, использованный для калибровки хроматографической колонки.

Из полученных гель-хроматограмм (рис. 6, б) можно увидеть, что образец КМХЗ состоит из двух фракций с разной ММ и их рассчитанные средние значения ММ с помощью УКЗ составляют для 1-й фракции – 3 кДа, 2-й фракции – 800 Да.

Заклучение. На основании экспериментальных исследований установлено, что КМХТ и КМХ в ЭЖХ при использовании в качестве элюента воды проявляют полиэлектролитные свойства. В водно-солевом элюенте указанные эффекты подавляются и реализуется молекулярно-ситовой механизм разделения макромолекул в ЭЖХ. Определение молекулярно-массовых характеристик КМХ и КМХТ методом ЭЖХ можно рекомендовать проводить в водном растворе 0,1 М NaNO₃.

Список использованных источников

1. Shariatinia, Z. Carboxymethyl chitosan: Properties and biomedical applications / Z. Shariatinia // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 120. – P. 1406–1419.
2. Yang, L. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources / L. Yang, L.-M. Zhang // *Carbohydr. Polym.* – 2009. – Vol. 76. – P. 349–361.
3. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects / C. M. P. G. Dore [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2012. – Vol. 91. – P. 467–475.
4. Effect of sulfated derivatives of chitosan some blood coagulant factors / S. Hirano [et al.] // *Carbohydr. Res.* – 1985. – Vol. 137. – P. 205–215.
5. Nanobiocomposites of Pharmacophoric Iron and Bismuth Oxides with Arabinogalactan Matrix / G. P. Aleksandrova [et al.] // *Rus. J. Gen. Chem.* – 2020. – Vol. 90, № 4. – P. 672–679.
6. Gaikwad, B. V. Isolation and characterization of chitosan from crab (*Scylla serrata*) shell waste / B. V. Gaikwad, J. M. Koli, A. S. Desai // *Int. J. Scientific and Appl. Res.* – 2015. – Vol. 2, iss. 8. – P. 78–84.
7. Berdimbetova, G. E. Influence of the chemical sequence of processing of *Artemia Parthenogenetica* cysts of the Aral sea on the yield and physicochemical characteristics of chitin / G. E. Berdimbetova, B. P. Karlybaeva, A. S. Boymirzaev // *Actual Problems of Chemistry, Biology and Technology of Natural Compounds: XIV Int. Symp.* – Tashkent, 2021. – P. 237.
8. Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources / S. Hajji [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2014. – Vol. 65. – P. 298–306.
9. Шикера, В. В. Исследование биологической активности хитозановых препаратов из цист *Artemia Salina* / В. В. Шикера. – Barnaul, 2004. – 136 p.
10. Баташов, Е. С. Получение хитозаносодержащих препаратов из некондиционных цист *Artemia* sp. и изучение их влияния на растения: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Е. С. Баташов. – Бийск, 2006. – 217 с.
11. Abdou, E. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. / E. Abdou, K. Nagy, M. Elsabee // *Bioresour. Technol.* – 2008. – Vol. 99, iss. 5. – P. 1359–1367.
12. Synthesis of carboxymethyl chitin in aqueous solution and its thermo- and pH-sensitive behaviors / Q. Yang [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2016. – Vol. 137. – P. 600–607. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.11.025
13. Synthesis of Carboxymethyl Chitosan and its Rheological Behaviour in Pharmaceutical and Cosmetic Emulsions / H. Liu [et al.] // *J. Appl. Pharm. Sci.* – 2017. – Vol. 7, iss. 10. – P. 070–078.
14. Modification of the arabinogalactan matrix in the formation of metal-polymer nanobiocomposites / G. P. Aleksandrova [et al.] // *Nanotechnologies in Russia.* 2019. – Vol. 14, № 1–2. – P. 41–47.
15. Studies on Chitin VIII. Some properties of Water Soluble Chitin Derivatives / S. Tokura [et al.] // *Polym. J.* – 1983. – Vol. 15, № 6. – P. 485–489.
16. Боймирзаев, А. С. Об универсальной калибровке в эксклюзионной хроматографии поливинилпирролидона и полистирола в диметилформамиде / А. С. Боймирзаев, В. В. Нестеров, Б. Г. Бельский // *Высокомолекулярные соединения.* – 1986. – Т. 28, № 12. – С. 2623–2626.

References

1. Shariatinia Z. Carboxymethyl chitosan: Properties and biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 120, pp. 1406–1419.
2. Yang L., Zhang L.-M. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*, 2009, vol. 76, pp. 349–361.
3. Dorea C. M. P. G., Alvesa M. G. C. F., Willa L. S. E. P., Costa T. G., Sabryb D. A. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects. *Carbohydrate. Polymers*, 2012, vol. 91, pp. 467–475.
4. Hirano S., Tanaka Y., Hasegawa M., Tobetto, K., Nishioka, A. Effect of sulfated derivatives of chitosan some blood coagulant factors. *Carbohydrate Research*, 1985, vol. 137, pp. 205–215.
5. Aleksandrova G. P., Sapozhnikov A. N., Boymirzaev A. S., Sukhov B. G., Trofimov B. A. Nanobiocomposites of Pharmacophoric Iron and Bismuth Oxides with Arabinogalactan Matrix. *Russian Journal of General Chemistry*, 2020, vol. 90, no. 4, pp. 672–679.
6. Gaikwad B. V., Koli J. M., Desai A. S. Isolation and characterization of chitosan from crab (*Scylla serrata*) shell waste. *International Journal of Scientific and Applied Research*, 2015, vol. 2, no. 8, pp. 78–84.
7. Berdimbetova G. E., Karlybaeva B. P., Boymirzaev A. S. Influence of the chemical sequence of processing of *Artemia Parthenogenetica* cysts of the Aral sea on the yield and physicochemical characteristics of chitin. *XIV International Symposium "Actual Problems of Chemistry, Biology and Technology of Natural Compounds"*, Tashkent, 2021, p. 237.

8. Hajji S., Younes I., Ghorbel-Bellaaj O., Hajji R., Rinaudo M., Nasri M., Jellouli K. Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, vol. 65, pp. 298–306.
9. Shikera V. V. *Study of the biological activity of chitosan preparations from Artemia salina cysts*. Barnaul, 2004. 136 p. (in Russian).
10. Batashov E. S. *Obtaining chitosan-containing preparations from substandard cyst Artemia sp. and study of their effect on plants*. Bijsk, 2006. 217 p. (in Russian).
11. Abdou E., Nagy K., Elsabee M. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 2008, vol. 99, pp. 1359–1367.
12. Liu H., Yang Q., Zhang L., Zhuo R., Jiang X. Synthesis of carboxymethyl chitin in aqueous solution and its thermo- and pH-sensitive behaviors. *Carbohydrate. Polymers*, 2016, vol. 137, pp. 600–607. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.11.025
13. Tzaneva D., Simitchiev A., Petkova N., Nenov V., Stoyanova A., Denev P. Synthesis of Carboxymethyl Chitosan and its Rheological Behaviour in Pharmaceutical and Cosmetic Emulsions. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2017, vol. 7, iss. 10, pp. 070–078.
14. Aleksandrova G. P., Boymirzaev A. S., Klimenkov I. V., Sukhov B. G., Trofimov B. A. Modification of the arabinogalactan matrix in the formation of metal-polymer nanobiocomposites. *Nanotechnologies in Russia*, 2019, vol. 14, no. 1–2, pp. 41–47.
15. Tokura S., Nishi N., Tsutsumi A., Somorin O. Studies on Chitin VIII. Some properties of Water Soluble Chitin Derivatives. *Polymer Journal*, 1983, vol. 15, no. 6, pp. 485–489.
16. Boymirzaev A. S., Nesterov V. V., Belenkii B. G. On universal calibration in size exclusion chromatography of polyvinylpyrrolidone and polystyrene in dimethylformamide. *Vysokomolekuljarnye soedinenija = High molecular compounds*, 1986, vol. 28, no. 12, pp. 2623–2626 (in Russian).

Информация об авторах

Боймирзаев Азамат Солиевич – доктор химических наук, профессор. Наманганский инженерно-технологический институт (ул. Касансай, 7, 160115, Наманган, Республика Узбекистан). E-mail: a.boymirzayev@nammti.uz

Бердимбетова Гулсара Есеновна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник. Каракалпакский научно-исследовательский институт естественных наук (ул. Бердак, 41, Нукус, Республика Каракалпакстан). E-mail: gulsara2@rambler.ru

Карлыбаева Бахтыгул Пердебаевна – докторант. Каракалпакский научно-исследовательский институт естественных наук (ул. Бердак, 41, Нукус, Республика Каракалпакстан). E-mail: bqarlibaeva@inbox.ru

Information about the authors

Boymirzaev Azamat S. – D. Sc. (Chemistry), Professor. Namangan Institute of Engineering and Technology (7, Kasantay Str., Namangan, Uzbekistan). E-mail: a.boymirzayev@nammti.uz

Berdimbetova Gulsara Y. – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Karakalpak Scientific Research Institute of Natural Sciences (41, Berdak Str., Nukus, Republic of Karakalpakstan). E-mail: gulsara2@rambler.ru

Karlybaeva Bakhtygul P. – Doctoral Student. Karakalpak Scientific Research Institute of Natural Sciences (41, Berdak Str., Nukus, Republic of Karakalpakstan). E-mail: bqarlibaeva@inbox.ru