

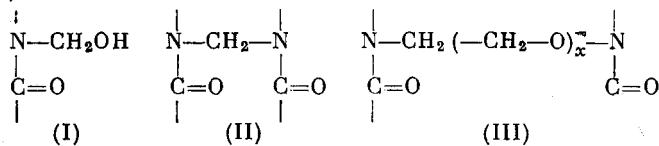
## О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ЖЕЛАТИНЫ С ФОРМАЛЬДЕГИДОМ

*В. А. Пчелин, М. А. Салимов*

Взаимодействие формальдегида с полиамидами и протеинами и, в частности, с кожей обычно сообщает им повышенную стойкость к воде, к действию микроорганизмов и некоторых химических реагентов. Теория этих процессов довольно подробно изложена в ряде монографий [1—3], а также в оригинальных статьях [4—7].

По мнению большинства исследователей, дубящее действие формальдегида обусловлено в значительной степени образованием поперечных связей между протеиновыми цепочками.

Кайрис и сотрудники [4] при исследовании взаимодействия формальдегида с полиамидами установили, что при этом образуются метилольные производные (I), поперечные метиленовые (II) и полиоксиметиленовые мостики (III).



Было установлено, что глубина реакции связывания формальдегида протеинами зависит от химической активности реагирующих групп, от значений pH-среды, от температуры и т. д.

Густавсон [6] обнаружил, что при действии формальдегида на коллаген и дезаминированный коллаген образование метиленовых мостиков зависит от присутствия ε-аминогрупп лизинового остатка (при значении pH-6—8). При значении pH-12 формальдегид взаимодействует как с радикалами лизина, так и аргинина.

Установлено [3], что желатина связывает около 4—4,8% по весу формальдегида. Уже давно замечено, что большая часть связанного коллагеном формальдегида при промывании водой снова выделяется. Предполагают, что выделяющаяся часть формальдегида связана с протеинами неочно, тогда как остальная часть формальдегида связана с протеином химическиочно [3].

Успехи, достигнутые в области применения инфракрасной спектроскопии, дают основание предполагать, что упомянутые выше изменения химической структуры коллагена при обработке его формальдегидом можно легко проследить при помощи инфракрасных спектров, что весьма важно для углубления наших представлений о сущности процесса дубления. Между тем подобных работ в литературе нет. С целью выяснения некоторых деталей взаимодействия формальдегида с желатиной нами было предпринято исследование этого процесса методом инфракрасной спектроскопии.

## Экспериментальная часть

Инфракрасные спектры поглощения снимали на спектрометре ИКС-11. Для автоматической записи использовали потенциометр ЭПП-09. В об-

ласти  $4000-2000 \text{ см}^{-1}$  применяли призму LiF, а в области  $2000-650 \text{ см}^{-1}$  призму NaCl. Объектом исследования служила желатина фирмы «Кодак» в виде пленки. В начале экспериментальной работы необходимо было решить два методических вопроса. Во-первых, установить наиболее выгодную толщину пленки желатины, которая при необходимой механической прочности обеспечивала бы достаточно удовлетворительное разрешение полос поглощения. Для этой цели были сняты инфракрасные спектры пленок различной толщины (рис. 1), в результате чего было установлено, что наилучшее разрешение достигается при толщине пленки, равной  $6\mu$ . Толщина пленок измерялась по методу поглощения слабого  $\beta$ -излучения \*.

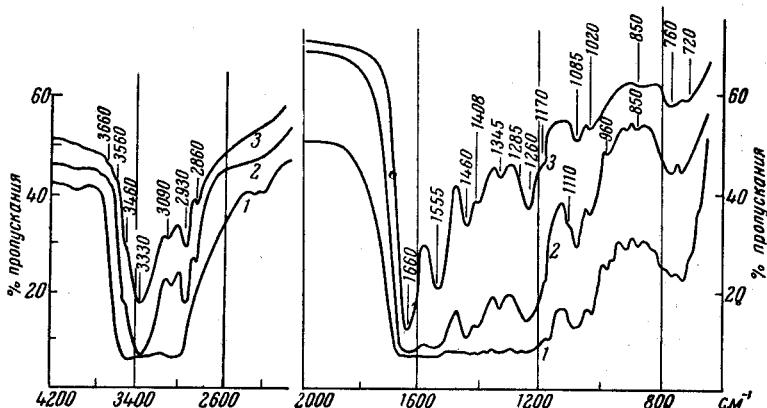


Рис. 1. Инфракрасный спектр пленок желатины различной толщины.

1 — ИК-спектр пленки толщиной  $20\mu$ ; 2 —  $12\mu$ ; 3 —  $6\mu$

Во-вторых, необходимо было определить степень влияния воды, содержащейся в воздушно-сухой желатине в количестве 10—12%. При регистрации инфракрасных спектров воздушно-сухой пленки и пленки, обезвоженной прогреванием, было обнаружено их совпадение; следовательно, количество воды, содержащейся в воздушно-сухой желатине, не оказывает заметного влияния на спектр.

Во всех опытах предварительно снимали спектры поглощения необработанных пленок желатины, после чего пленки на 15 мин. погружали в 10%-ный раствор формальдегида.

Были приготовлены растворы формальдегида со значением pH-11; 9; 4,5.

После обработки и сушки пленок регистрировали их спектр поглощения. Затем пленки промывали в дистиллированной воде в течение 30 мин. и после просушивания вновь регистрировался их спектр поглощения.

### Обсуждение результатов

Прежде чем перейти к обсуждению полученных данных, нам кажется целесообразным рассмотреть инфракрасный спектр обычной желатины и сравнить с литературными данными. В спектре пленки желатины (рис. 1) в области валентного колебания N—H и C—H-связей наблюдаются полосы 3330, 3090, 2930 и  $2860 \text{ см}^{-1}$ . При более узкой щели у полосы  $2930 \text{ см}^{-1}$  с коротковолновой стороны появляется спутник с частотой  $2960 \text{ см}^{-1}$ . Первые две из них относятся к колебаниям N—H-связи,

\* Авторы выражают благодарность Ю. А. Ромакову, выполнившему эти измерения.

а последние две к колебаниям C — H-связей [8]. В области 2000—650  $\text{см}^{-1}$  в спектре наблюдаются следующие полосы поглощения: 1660, 1555, 1460, 1408, 1345, 1285, 1260, 1170, 1085, 1020, 850, 760 и 720  $\text{см}^{-1}$ . Частоты полученных полос поглощения хорошо согласуются с данными других авторов [8—13].

Полоса поглощения 1660  $\text{см}^{-1}$  в полипептидах и протеинах интерпретируется как полоса валентного колебания карбонильной группы [8]. Ее обычно называют амидной полосой I [8, 18]\*.

Отнесение полосы 1555  $\text{см}^{-1}$  к какому-либо виду колебания полипептидной цепочки явилось предметом многочисленных дискуссий. Эту полосу называют амидной полосой II (8, 13). Ряд авторов предполагает, что она относится к плоскому деформационному колебанию N — H-связи, а другие считают, что она относится к валентному колебанию с C — N-связи [8, 13]. Имеется высказывание относительно того, что в поглощение в этой области вносит вклад как колебание N — H-связи, так и C — N-связи [8, 14]. Такое толкование этой полосы, по-видимому, более правдоподобно.

Мицушима и сотрудники [13] предложили полосу, находящуюся вблизи 1250  $\text{см}^{-1}$ , назвать амидной полосой III и считают, что она характерна для всех амидов и пептидов. В протеинах эта полоса расщепляется до двух и более полос, охватывающих область 1350—1220  $\text{см}^{-1}$ . Положение и интенсивность этих полос чрезвычайно чувствительны к структуре пептидной цепочки [15]. По мнению [13, 16] ряда авторов, она, как и амидная полоса II, не может быть отнесена к отдельному колебанию пептидной цепочки.

Полосы поглощения амидов, находящиеся вблизи 700 и 600  $\text{см}^{-1}$ , были названы ими [13] амидными полосами V и IV соответственно. По мнению Мицушима и сотрудников, полоса, находящаяся около 700  $\text{см}^{-1}$ , главным образом характеризует N — H-связи, а полоса, находящаяся около 600  $\text{см}^{-1}$ , относится к деформационному колебанию скелета с участием  $\geq \text{C=O}$ -группы. Из остальных полос полосы 1460 и 1408  $\text{см}^{-1}$  относятся к плоским деформационным колебаниям метиленовых и метильных групп (8, 13). В интервале 1100—1000  $\text{см}^{-1}$  находятся как валентные колебания C — C-связей в скелете, так и неплоские деформационные колебания C — H-связей [8, 13—17]. Таким образом, рассмотрение спектра желатины и сопоставление его с работами других авторов показывает, что полученный нами спектр удовлетворительно согласуется с литературными данными.

Обработка пленки желатины при pH-4,5; 9 и 11 (рис. 2, а, б и в) вызывает заметное изменение в спектре.

Необходимо отметить, что во всех опытах не наблюдается уменьшение интенсивности полос N — H-связей (3330 и 3090  $\text{см}^{-1}$ ), тогда как Кайрнс [4] при обработке высокомолекулярных полиамидных пленок формальдегидом наблюдал некоторое ослабление интенсивности этих полос; следовательно, можно предположить, что обработка формальдегидом затрагивает незначительное число N — H-связей у желатины. Как предполагают некоторые авторы [6, 7], по-видимому, при обработке формальдегидом главным образом реагируют первичные аминные группы лизина и аргинина.

При обработке желатины формальдегидом при pH-4,5 наблюдается увеличение поглощения на участках 1450—1270  $\text{см}^{-1}$  и 1100—980  $\text{см}^{-1}$  (рис. 2, а), причем после промывания водой эти изменения исчезают. Увеличение поглощения на участке 1450—1270  $\text{см}^{-1}$  можно объяснить увеличением числа C — N-связей [8, 13—17], а рост поглощения на участке

\* По-видимому, при этом авторы считают, что этот термин характеризует молекулу амида как целого.

1100—980  $\text{см}^{-1}$ , по-видимому, связан с увеличением числа С—С-связей [13, 17]. Исчезновение поглощения при промывке показывает, что формальдегид был связан с желатиной непрочно.

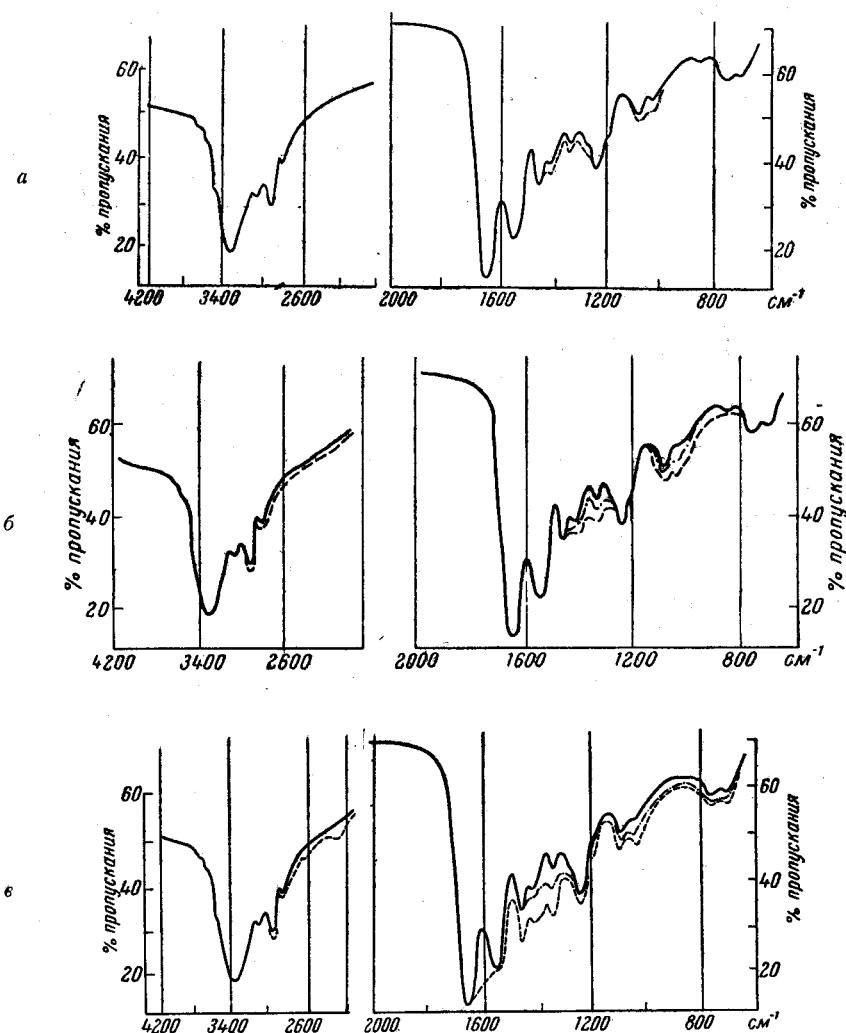


Рис. 2. ИК-спектр пленки желатины, обработанной формальдегидом: а — при рН-4,5; б — при рН-9; в — при рН-11;  
— спектр исходной пленки; — спектр пленки после обработки формальдегидом; -·- спектр пленки после промывки водой

При обработке желатины при рН-9 (рис. 2, б) наблюдаемое увеличение поглощения на участках 2960—2100  $\text{см}^{-1}$ , 1460—1260  $\text{см}^{-1}$  и 1100—800  $\text{см}^{-1}$  свидетельствует о том, что взаимодействие формальдегида с желатиной протекает с большей глубиной, чем при рН-4,5. Наблюдается более интенсивный рост поглощения на участках 1460—1260  $\text{см}^{-1}$  и 1180—800  $\text{см}^{-1}$ , а также увеличение поглощения на участке 2960—2100  $\text{см}^{-1}$ . В частности, увеличение интенсивности полос 2960  $\text{см}^{-1}$  и 2855  $\text{см}^{-1}$  свидетельствует об увеличении числа С—Н-связей (в частности  $\text{CH}_2$ -групп [8] при фиксации). Увеличение поглощения на участке 2800—2100  $\text{см}^{-1}$ , по-видимому, можно объяснить тем, что в этот район попадают обертоны возникших полос, находившихся в области 1450—1000  $\text{см}^{-1}$ . Однако необходимо отметить, что при промывке наблюдаемое ранее поглощение на участке 2960—2100  $\text{см}^{-1}$  исчезает, а на участках 1460—1260 и 1100—980  $\text{см}^{-1}$

наблюдается значительное ослабление интенсивности возникшего поглощения. По сравнению с предыдущим опытом отмечается не только увеличение поглощения на участках  $1460-1260 \text{ см}^{-1}$  и  $1100-980 \text{ см}^{-1}$  (притом более интенсивное, чем в случае обработки пленки желатины при рН-4,5), но и рост интенсивности полос  $2960$  и  $2855 \text{ см}^{-1}$ . Следовательно, обработка желатины при рН-9 обусловливает связывание большего количества формальдегида, чем при рН-4,5. При сравнении с предыдущим опытом наблюдается еще одно отличие, заключающееся в том, что промывка не вызывает полного исчезновения возникшего поглощения на участках  $1460-1260$  и  $1100-980 \text{ см}^{-1}$ , следовательно, часть формальдегида прочно связывается с желатиной с образованием новых C—N и C—C-связей [8, 13–17]. Обращает на себя внимание отсутствие избирательного поглощения на участках  $1460-1260$  и  $1100-980 \text{ см}^{-1}$ , наблюдается лишь увеличение общего поглощения и интенсивности находящихся в этом интервале полос. Это свидетельствует о том, что имеет место образование целого набора C—N и C—C-связей, с различным окружением. Таким образом, появление новых C—N и C—C-связей способствует увеличению густоты объемной сетки. Ранее одним из нас [18] и другими исследователями [19] при исследовании превращений полимеров под действием различных факторов тоже было показано, что увеличению густоты сетки в полимере сопутствует увеличение общего поглощения в спектре на участке  $1450-800 \text{ см}^{-1}$ .

Обработка пленки желатины формальдегидом при рН-11 (рис. 2, б), вызывает рост поглощения на участках спектра  $2960-2100$ , а также  $1660-700 \text{ см}^{-1}$ , причем увеличение поглощения на участках  $2960-2100$ ,  $1460-1260$  и  $1100-700 \text{ см}^{-1}$  по сравнению с предыдущим опытом выражено сильнее, что свидетельствует о дальнейшем углублении процесса связывания формальдегида желатиной при рН-11. Интенсивность общего поглощения на участках  $1460-1260$  и  $1100-700 \text{ см}^{-1}$ , наблюдавшегося после промывки водой, в условиях последнего опыта также сильнее; это означает, что число образовавшихся C—N и C—C-связей больше, чем в предыдущем опыте.

Труднее обстоит дело с интерпретацией возникшего поглощения в области  $1660-1550 \text{ см}^{-1}$ , которая полностью исчезает при промывке. Во всяком случае появление поглощения в этом участке спектра можно было бы истолковать как результат более интенсивного взаимодействия формальдегида с желатиной.

### Выводы

1. Исследовано взаимодействие формальдегида с желатиной при рН-11, 9 и 4,5 при помощи инфракрасных спектров и установлено, что при значении рН-11 в спектре наблюдается наибольшее изменение — увеличение поглощения на широком спектральном диапазоне, причем после промывки образцов водой часть поглощения исчезает, а часть сохраняется. Эти необратимые изменения истолковываются как результат увеличения числа C—N и C—C-связей.

2. Обработка желатины при рН-9 обусловливает также рост поглощения в спектре. При промывке отмечается уменьшение возникшего поглощения. Оставшееся после промывки поглощение слабее, чем в случае обработки пленок при рН-11.

3. Обработка желатины при рН-4,5 не вызывает в спектре необратимых изменений. Небольшое увеличение поглощения полностью исчезает при промывке водой.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. Н. Михайлов, Химия дубящих веществ и процессов дубления, Госхимиздат, М., 1953, гл. XI.
2. Н. И. Егоркин, М. А. Мамедов, О. Д. Рокваргер, Формальдегидное дубление, Гизлэгпром, М., 1957.
3. Дж. Ф. Уоркер, Формальдегид, Госхимиздат, М., 1957.
4. Т. Л. Саирис, Н. Д. Foster, А. В. Лагенаг, А. К. Schneider, R. S. Schreiber, J. Amer. Chem. Soc., 71, 651, 1949.
5. D. French, J. T. Edsall, Advances protein Chem., New. York Acad. Press, 1945, vol. II, стр. 278—336.
6. K. H. Gustavson, Svensk. Kem. Tid., 52, 261—277, 1940. K. H. Gustavson, J. Intern. Soc. Leather Trades Chemists, 24, 337, 1940; K. H. Gustavson, J. Amer. Leather Chemists Assoc., 43, 741, 744, 1948.
7. E. R. Theis, E. F. Ohens, J. Amer. Leather Chemists Assoc., 36, 22—37, 1941.
8. Л. Беллами, Инфракрасные спектры молекул, Изд. ин. лит., М., 1957, гл. I—III.
9. Н. Лепогмант, Compt. rend. Acad. Sci., 221, 58, 1945.
10. Ж. Леконт, Инфракрасные спектры, Гос. изд. физ.-мат. лит. М., 1958, стр. 339.
11. Т. Е. Павловская, А. Г. Пасынский, Коллоид. ж., 14, 239, 1952; 17, 305, 1955.
12. Д. Н. Шигорин, Н. В. Михайлов, С. П. Макарьева, Докл. АН СССР, 94, 717, 1954; 97, 711, 1954.
13. Д. Н. Шигорин, Н. В. Михайлов, О. А. Клюева, Ж. физ. химии, 30, 1951, 1955.
14. S. I. Mizushima, T. Shimanouchi, M. T. Suboi, R. Souda, J. Amer. Chem. Soc., 74, 270, 1952, T. Migazawa, T. Shimanouchi, S. I. Mizushima, J. Chem. Phys., 24, 408, 1955.
15. Н. Лепогмант, Ann. Chim., 12, 459, 1950.
16. C. B. Keetschmeyer, J. Phys. Chem., 61, 1627, 1957.
17. R. D. Fraser, J. Chem. Phys., 24, 89, 1956.
18. M. C. Tobin, M. G. Caggiano, J. Chem. Phys., 25, 1044, 1956.
19. М. А. Салимов, А. Ф. Постовская, А. С. Кузьминский, В. М. Татевский, Вестн. МГУ, 1957, № 1, стр. 184; № 3, стр. 257.
19. А. Ф. Постовская, М. А. Салимов, А. С. Кузьминский, В. М. Татевский, Материалы по 10-му совещанию по спектроскопии, т. I, стр. 423. Изд-во Львовск. ун-та, 1957.
19. Н. А. Словохотова, В. Л. Карпов, Сб. работ по радиационной химии, М., Изд-во АН СССР, 1955, стр. 196, 206.

## INTERACTION OF GELATINE AND FORMALDEHYDE

*V. A. Pchelin, M. A. Salimov*

## Summary

The interaction of gelatine and formaldehyde at pH 11.9 and 4.5 is responsible for a number of changes in the infrared spectrum of the former. The greatest change is observed at pH 11, resulting in increase of absorption over a wide region of the spectrum; after washing the specimens with water part of the absorption disappears, whereas part remains. The irreversible changes are interpreted as the result of increase in the number of C—C and C—N bonds. Similar change is caused by treatment at pH-9. However the post-washing absorption is weaker than in the case of pH 11. Treatment of the gelatine at pH 4.5 does not bring about irreversible changes in the spectrum.