

СТАТИЧЕСКОЕ ПОВЕРХНОСТНОЕ НАТЯЖЕНИЕ РАСТВОРОВ ЖЕЛАТИНЫ

B. A. Пчелин, P. A. Кульман

Растворы полиамфолитов и, в частности, белков, обладают рядом интересных и важных свойств. Одним из таких свойств является способность макромолекул протеинов снижать поверхностное натяжение на границе раздела фаз. Однако это сложное явление еще мало изучено (см., например, [1—12]).

Как показали предыдущие работы, для изучения поверхностных свойств протеинов необходимо использование статических методов.

В связи с этим мы предприняли попытку применения метода неподвижной капли (пузырька) к растворам протеинов (желатины) с целью получения истинных статических значений поверхностного натяжения и для изучения кинетики образования поверхностного слоя.

Экспериментальная часть

Метод неподвижной капли (или пузырька) является абсолютным и может быть использован в двух вариантах: метод лежащей капли (пузырька) и метод висящей капли (пузырька). Теория этого метода хорошо разработана и базируется на различных приемах приближенного интегрирования уравнения капиллярной статики, которое описывает форму капли или пузырька, представляющих собой тела вращения [13—19].

Основными достоинствами этого метода (при условии тщательного экспериментального выполнения) являются [20]: независимость результатов измерения от смачивания; возможность измерения поверхностного натяжения на границе с газом и на границе раздела двух жидкостей независимо от их вязкости; удобство измерений при высоких температурах и давлениях; строгая статичность метода.

Принципиально метод неподвижной капли заключается в получении капли или пузырька с хорошо сформированной поверхностью (рис. 1) и точном измерении необходимых линейных размеров, после чего с помощью таблиц вычисляется абсолютное значение поверхностного натяжения.

Поскольку для равновесия пузырька или капли под действием сил тяжести и поверхностного натяжения необходимо наличие плоскости опоры в виде кончика или пластиинки, условия смачивания этой опоры будут влиять на форму свободной поверхности жидкости. Однако это влияние существенно оказывается лишь в непосредственной близости от периметра смачивания. Поэтому независимость результатов измерения от смачивания обеспечивается лишь на таком расстоянии от трехфазной границы раздела, которое значительно больше размеров шероховатости или несимметричности поверхности твердой фазы (21).

Первоначально предполагалось применить вариант лежащей капли. Однако быстро получить устойчивую лежащую каплю на границе с воздухом не удавалось, несмотря на специальную гидрофобизацию стеклянного кончика. Белковые молекулы, адсорбируясь на гидрофобизованной поверхности стекла, увеличивали его смачиваемость [22], и капля жидкости через короткий срок после образования стекала с кончиком. Тогда был использован вариант лежащего пузырька, который позволял применять чистые стеклянные кончики и быстро получать пузырьки с хорошо образованной поверхностью, что имеет большое значение для изучения кинетики изменения поверхностного натяжения.

Экспериментальная установка в принципе не отличалась от описанной ранее [20]. Использовали стеклянный кончик с полированной торцевой поверхностью (рис. 2), с внешним диаметром около 11 мм и внутренним диаметром — около 7 мм. Кончик соединяли с обычным медицинским шприцем, снабженным фиксатором положений поршина.

Для определения поверхностного натяжения по методу лежащей капли необходимо знать максимальный диаметр капли и ее высоту (расстояние от плоскости максимального диаметра до вершины капли — рис. 3) [21]. В случае лежащего пузырька нужны те же самые линейные размеры.

Для изучения кинетики изменения поверхностного натяжения необходима регистрация мгновенных размеров пузырька в течение определенного промежутка времени. Это лучше всего делать, фотографируя пузырек против света, в результате чего на пленке получится контрастное изображение контура пузырька, что дает возможность производить необходимые измерения.

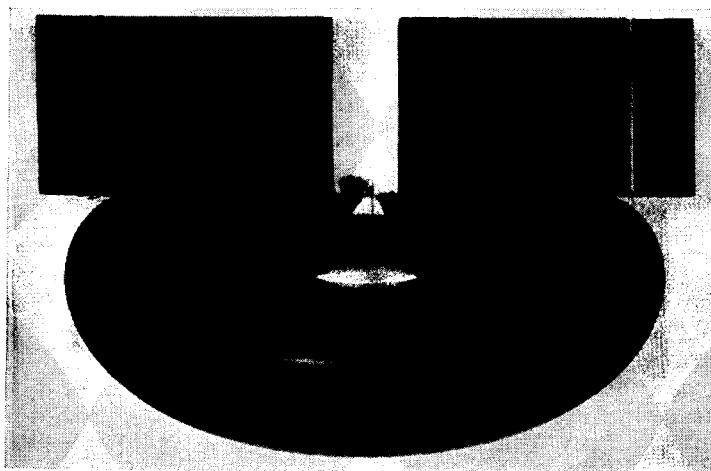


Рис. 1. Фотография лежащего пузырька в проходящем свете.

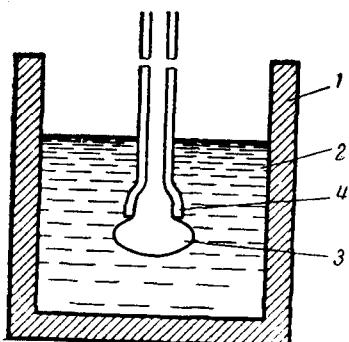


Рис. 2

Рис. 2. Положение кончика с пузырьком в кювете

1 — оптическая кювета; 2 — исследуемая жидкость; 3 — пузырек; 4 — стеклянный кончик

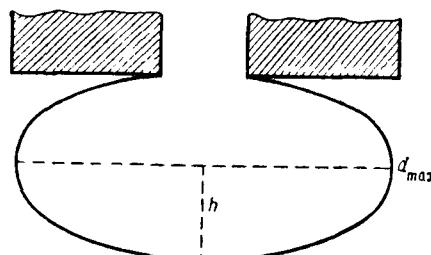


Рис. 3

Рис. 3. Схема размеров пузырька (капли)

h — высота; d_{\max} — максимальный диаметр

Линейные измерения контура пузырька удобнее всего делать на измерительном микроскопе со столиком, перемещающимся во взаимно перпендикулярных направлениях и имеющим соответствующие отсчетные шкалы. Нужно учитывать, что самым ответственным является измерение высоты, так как трудно правильно определить точку касания вертикального штриха в поле зрения окуляра микроскопа и боковой части контура пузырька в точке максимального диаметра. Кроме того, небольшие погрешности измерения высоты приводят к большим ошибкам при вычислении поверхностного натяжения.

Окончательный расчет поверхностного натяжения в $\text{эр}\cdot\text{см}^{-2}$ ведется по формуле:

$$\sigma = \frac{D_1^2 \cdot D_2^2 \cdot \Delta \rho \cdot g \cdot (1/H)}{D_3^2},$$

где D_1 — максимальный диаметр пузырька на снимке (в см); D_2 — истинный диаметр кончика (точнее, его проекции, перпендикулярной оптической оси установки, в см); $\Delta\rho$ — разность плотностей фаз (в $\text{г}/\text{см}^3$); g — ускорение силы тяжести (в $\text{см}/\text{сек}^2$); $1/H$ — безразмерный параметр; D_3 — размер изображения кончика на фотоснимке (в см).

В эту формулу входит безразмерный параметр $1/H$, зависящий от $d/2h$ (см. рис. 3) и определяющий форму пузырька. Значения этого параметра берутся из таблиц Куликова, Лубмана и Кошевника [21], рассчитанных на основе классических таблиц Башфорта и Адамса [13]. Другие существующие в настоящее время таблицы [24—25], также рассчитанные на основе таблиц [13], даются для более «круглых» пузырьков и менее удобны в работе. Следует отметить, что в литературе появилось указание на то, что изучение очень «круглых» пузырьков (капель) снижает точность определения поверхностного натяжения [26]. Для значений $d/2h$, выходящих за пределы таблиц [21], нам пришлось воспользоваться менее точными эмпирическими таблицами Тейлора и Александера [27].

Экспериментальные данные

Для проверки работы установки были проведены опыты с бидистиллированной водой. Численно поверхностное натяжение определяли с точностью в 1,4%, что для наших условий можно считать удовлетворительным. В среднем для воды было найдено при $20^\circ \sigma = 72,5 \text{ эрг}/\text{см}^2$.

В наших опытах использовали фотожелатину, очищенную и приведенную в изоэлектрическое состояние по методу Леба [28]. Зольность после очистки практически отсутствовала.

Навеска очищенной воздушносухой желатины набухала при комнатной температуре в течение 10 час. После этого производили растворение при нагревании (водяная баня, $40-45^\circ$). Рабочие растворы готовили разбавлением исходного 1%-ного раствора. Все растворы готовили на бидистилляте. Было приготовлено пять растворов с концентрациями в 0,01, 0,05, 0,1, 0,5 и 1,0% желатины. Все измерения поверхностного натяжения производили при температуре $20 \pm 0,5^\circ$.

В наших опытах изучалась кинетика изменения поверхностного натяжения указанных выше растворов. Фиксировали точки через 10, 30 сек., 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 60 мин. В отдельных случаях снимали точки в течение более продолжительного времени. Как правило,

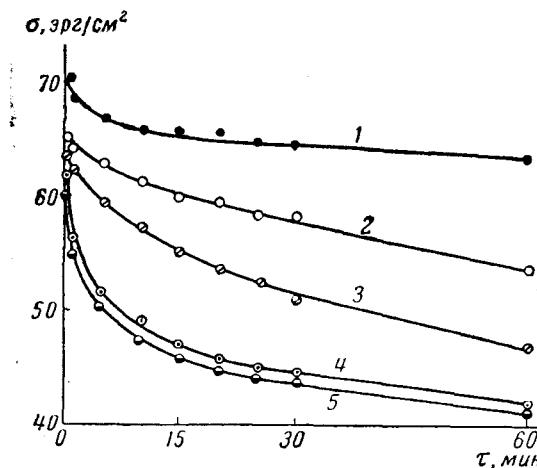


Рис. 4. Кинетика изменения поверхностного натяжения для растворов желатины разной концентрации

1 — 0,01%; 2 — 0,05%; 3 — 0,1%; 4 — 0,5%; 5 — 1,0%

снимали по три серии пузырьков для каждой концентрации, т. е. выдавливали последовательно три пузырька и для каждого снимали кинетику изменения поверхностного натяжения. Расхождение между отдельными сериями в конце экспозиции достигало 1 $\text{эрг}/\text{см}^2$ (по абсолютной величине).

При рассмотрении кривых на рис. 4, представляющих кинетику снижения поверхностного натяжения растворов желатины разной концентрации, сразу обращает на себя внимание то, что они имеют «ход» даже при относительно больших временах существования поверхностного слоя (до одного часа). Кривая для 0,01% раствора показывает небольшое понижение поверхностного натяжения относительно чистой воды (через один час поверхностное натяжение было = 63,4 $\text{эрг}/\text{см}^2$). За первые пять минут

происходит резкое снижение поверхностного натяжения и затем график переходит в прямую с очень малым наклоном.

Характерно, что все кривые примерно от 20 мин. переходят в прямые.

Кривые для растворов 0,5 и 1,0%-ной желатины мало отличаются друг от друга. Они идут параллельно, и их конечные значения равны соответственно 41,9 и 41,0 эрг/см². Здесь резкое снижение поверхностного натяжения заканчивается через 20 мин., после чего график переходит в прямую с углом наклона, несколько большим, чем в случае 0,01%-ного раствора.

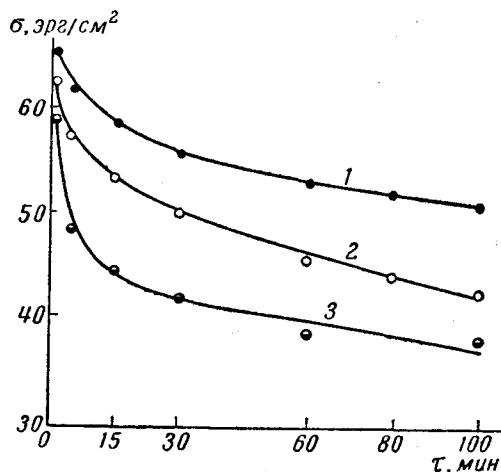


Рис. 5

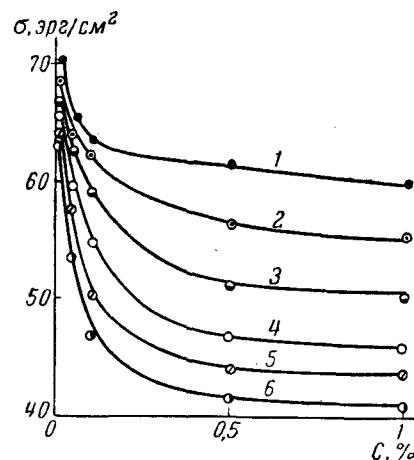


Рис. 6

Рис. 5. Кинетика изменения поверхностного натяжения растворов желатины для более продолжительного времени существования поверхности

1 — 0,05%; 2 — 0,1%; 3 — 1,0%

Рис. 6. Изотермы поверхностного натяжения (для разного времени существования поверхности)

1 — 10 сек.; 2 — 1 мин.; 3 — 5 мин.; 4 — 15 мин.; 5 — 30 мин., 6 — 1 час.

Поведение кривых для растворов в 0,05 и 0,1% обращает на себя внимание резко отличным ходом по сравнению с более разбавленными и более концентрированными растворами. Эти кривые не обнаруживают резкого понижения в первой половине экспозиции, а почти прямолинейно падают со значительно большим углом наклона, чем для других изученных растворов. Создается впечатление, что при более продолжительной экспозиции эти кривые пересекут соответствующие кривые для более концентрированных растворов.

Важно отметить, что ход кривых на рис. 5, показывающих кинетику снижения поверхностного натяжения при более продолжительном времени существования поверхности, подтверждают характер кривых рис. 4. Поверхностное натяжение не пришло к равновесному значению даже после двух часов существования поверхности.

На рис. 6 представлены изотермы поверхностного натяжения, соответствующие различным временам существования поверхностного слоя. Для всех этих кривых характерно резкое падение в области низких концентраций (примерно до 0,1%) и выход на прямую с очень малым углом наклона при концентрации около 0,2%, причем прямолинейные части изотерм идут параллельно друг другу. Интересно, что этот перегиб изотерм поверхностного натяжения совпал с указанной в литературе [29] предельной концентрацией, ниже которой желатина существует в глобулярной форме.

Нами также была изучена зависимость поверхностного натяжения растворов желатины от рН. Литературные данные по этому вопросу весьма противоречивы [5, 6, 30—33].

Для опытов был взят 0,5%-ный раствор желатины и вышеуказанным образом снимались три параллельные серии. Воспроизводимость была того же порядка, что и в первых опытах. Полученные данные для зависимости поверхностного натяжения раствора желатины от рН представлены на рис. 7 и 8.

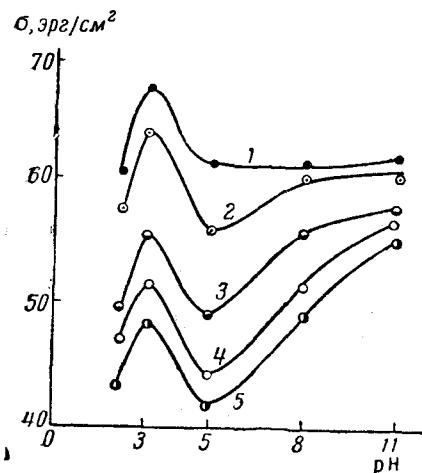


Рис. 7

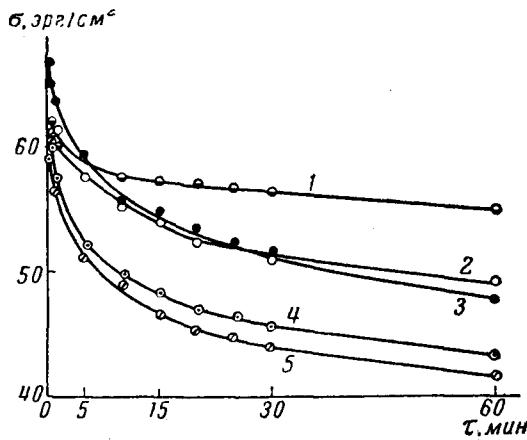


Рис. 8

Рис. 7. Зависимость поверхностного натяжения 0,5%-ного раствора желатины от pH
1 — 10 сек.; 2 — 1 мин.; 3 — 10 мин.; 4 — 30 мин.; 5 — 1 час.

Рис. 8. Кинетика изменения поверхностного натяжения 0,5%-ного раствора желатины в зависимости от pH
1 — pH 11; 2 — pH 8; 3 — pH 3; 4 — pH 2,4; 5 — pH 5,0

Показанные на рис. 7 кривые соответствуют зависимости поверхностного натяжения 0,5%-ного раствора желатины от pH во времени. Прежде всего здесь нужно отметить наличие резкого максимума при pH 3, абсолютная величина которого с течением времени падает. В более кислой области поверхностное натяжение вновь падает. В изоэлектрической точке обнаруживается четкий минимум. С увеличением pH раствора поверхностное натяжение также повышается, не обнаруживая при этом экстремальных точек. Интересно, что при малых экспозициях поверхностное натяжение в щелочной области не отличается от значений поверхностного натяжения в изоэлектрической точке.

Кинетика снижения поверхностного натяжения в зависимости от pH обладает рядом интересных особенностей (см. рис. 8). Изоэлектрическое состояние и кислую область характеризует довольно резкое падение поверхностного натяжения в начальное время существования поверхностного слоя с выходом на прямую с относительно большим углом наклона. Кривые же, соответствующие щелочной области, в момент образования поверхности не отличаются друг от друга. Затем эти кривые весьма плавно переходят в прямолинейные продолжения, которые резко расходятся. Интересно также, что серединные и конечные части кривых для pH 3 и pH 8 почти не отличаются друг от друга.

Обсуждение результатов

В отличие от низкомолекулярных веществ процесс адсорбции макромолекул на границах раздела фаз изучен еще недостаточно. Тем более недостаточно изучен вопрос межфазной адсорбции протеинов, поскольку

их химическая структура остается до настоящего времени предметом исследования.

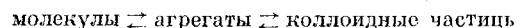
До сих пор еще не ясен вопрос, в какой степени приложимы классические законы адсорбции к эффектам понижения поверхностного натяжения растворов протеинов.

Несомненным является адсорбция макромолекул белка в пограничном межфазовом слое.

Важно отметить некоторые особенности изменения поверхностного натяжения в зависимости от различных факторов.

Кривые на рис. 4 и 5, демонстрирующие непрерывное понижение поверхностного натяжения в течение продолжительного времени, свидетельствуют либо о длительности процесса диффузии макромолекул желатины к поверхности раствора, либо о временных структурных превращениях молекул в поверхностном слое. Не исключена возможность, что в некоторых случаях могут иметь место и оба эти явления одновременно. Весьма интересно, что кривые для 0,05 и 0,1%-ных растворов обладают аномальным (по сравнению с кривыми для других концентраций) ходом и соответствуют области концентрации [29], в которой желатина может существовать в глобулярной форме. Однако кривая для раствора с концентрацией в 0,01%, при которой желатина также может быть в глобулярной форме, не обладает ходом, аналогичным ходу кривых для 0,05 и 0,1% растворов.

Относительно зависимости поверхностного натяжения растворов желатины от pH в литературе имеются разные точки зрения. Ермоленко [6] считает, что минимум поверхностного натяжения в изоэлектрической точке обусловлен минимальным зарядом молекулы желатины, вследствие чего она менее «гидрофильна», быстрее выходит на границу раздела фаз и прочнее там удерживается. С другой стороны, Банерджи [33] приписывает минимум поверхностного натяжения в изоэлектрической точке смещению равновесия:



в сторону агрегатов, которые, по мнению автора, сильнее понижают поверхностное натяжение, чем отдельные молекулы.

Мы рассматриваем наличие минимума поверхностного натяжения в изоэлектрической точке с точки зрения глобулярно-фибрillярного перехода. Как было показано в нашей лаборатории (методом измерения солубилизации), желатина в изоэлектрической точке глобулярна (или максимально свернута) [34]. Желатина в изоточке обладает соответственно минимальной вязкостью. Очевидно, глобулярная желатина, обладая минимальным свободным зарядом и минимальным гидродинамическим сопротивлением, относительно легко выходит на границу раздела фаз и там адсорбируется. При этом не исключаются некоторые деформации структуры глобулярных молекул.

Весьма интересен максимум поверхностного натяжения при pH 3. При этом значении pH по литературным данным имеет место резкий максимум вязкости [35], гидратации [36] и набухания [28]. Кривая кинетики (рис. 8) для этого значения pH имеет относительно резкий спад и пересекает кривые, соответствующие щелочным pH.

Выводы

1. Описан метод лежащего пузырька в применении к изучению поверхностного натяжения растворов желатины в статических условиях.

2. Изучена кинетика изменения поверхностного натяжения растворов желатины в зависимости от концентрации и pH среды.

3. На кривых $\sigma - \tau$ для концентраций раствора в 0,05 и 0,1% был обнаружен аномальный ход по сравнению с кривыми для других изученных растворов.

4. Для зависимости поверхностного натяжения от pH был обнаружен минимум в изоэлектрической точке и максимум при pH 3. Сделана попытка объяснить минимум поверхностного натяжения в изоэлектрической точке существованием желатины в глобулярной форме.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
8 IX 1960

ЛИТЕРАТУРА

1. G. Quincke, Ann. Physik, **10**, 507, 1903.
2. L. Zlobicki, Bull. Acad. Sci. Cracovie, 488, 1906.
3. C. E. Davis, H. M. Salisbury, M. T. Harvey, Industr. and Engng. Chem., **16**, 161, 1924.
4. A. Lasnitzky, L. F. Loeb, Biochem. Z., **146**, 96, 1924.
5. J. M. Johlin, J. Phys. Chem., **29**, 271, 1925.
6. Н. Ф. Ермоленко, Kolloid-Z., **48**, 141, 1929.
7. J. M. Johlin, J. Phys. Chem., **29**, 897, 1925.
8. M. P. du Nouy, C. r., **178**, 1904, 1924.
9. F. Haurowitz, P. Boucher, M. Disks, D. Therriault, Arch. Biochem. Biophys., **59**, 52, 1955.
10. Th. Ackermann, Kolloid-Z., **69**, 87, 1934.
11. J. M. Belton, Trans. Faraday Soc., **35**, 1342, 35, 1939.
12. К. Ф. Жигач, П. А. Ребиндер, Ж. физ. химии, **13**, 94, 1939.
13. F. Bashforth, J. C. Adams, An attempt to test the theories of capillary action..., Cambridge University Press, London, 1883.
14. Н. П. Кацерин, ЖРФХО, ч. физ., **25**, 203, 1903.
15. A. W. Porter, Phil. Mag., **15**, 163, 1933.
16. A. W. Porter, ibid, **24**, 823, 1937.
17. С. И. Попель, Н. И. Красовский, О. А. Есин, Ю. П. Никитин, Труды УИИ, **49**, 76, 1954.
18. Н. И. Красовский, Ю. П. Никитин, О. А. Есин, С. И. Попель, Ж. физ. химии, **28**, 1678, 1954.
19. См., напр., В. Д. Гаркин, в сб. «Физические методы органической химии» под ред. А. Вайсбергера, **1**, 163, 1950.
20. М. М. Кусаков, Н. М. Лубман, А. Ю. Кошевник, Труды института нефти АН СССР, **2**, 54, 1952.
21. М. М. Кусаков, А. Ю. Кошевник, Н. М. Лубман, Ж. физ. химии, **27**, 1887, 1953.
22. В. А. Пчелин, Поверхностные свойства белковых веществ, М., 1951, стр. 107.
23. J. M. Johlin, J. Biol. Chem., **84**, 543, 1929.
24. N. R. Tawde, K. G. Parvatikar, Ind. J. Phys., **28**, 345, 1954.
25. K. G. Parvatikar, ibid, **32**, 174, 1958.
26. E. B. Dismukes, J. Phys. Chem., **53**, 312, 1959.
27. H. J. Taylor, J. Alexander, Proc. Ind. Acad. Sci., **19A**, 149, 1944.
28. Ж. Леб, Белки и теория коллоидных явлений, 1933.
29. П. И. Зубов, З. Н. Журкина, В. А. Каргин, Докл. АН СССР, **67**, 567, 1949.
30. J. H. St. Johnston, G. T. Peard, Biochem. J., 1925, **19**, 281.
31. И. И. Жуков, И. Н. Бушмакин, ЖРФХО, **59**, 1061, 1927.
32. W. D. Harkins, F. E. Brown, J. Amer. Chem. Soc., **41**, 499, 1919.
33. S. N. Banerji, J. Ind. Chem. Soc., **29**, 270, 1952.
34. В. А. Пчелин, В. Н. Измайлова, Н. И. Серая, Высокомолек. соед., **1**, 1617, 1959.
35. Во. Паули, Э. Валько, Коллоидная химия белковых веществ, 1936.
36. И. Н. Путилова, в сб. «Труды Всесоюзной конференции по коллоидной химии», Киев, 1952, стр. 18.

STATIC SURFACE TENSION OF GELATINE SOLUTIONS

V. A. Pchelin, R. A. Kuhlman

С у м м а р у

The static surface tension of gelatine solutions at the boundary with vapor has been determined by the sessile drop (bubble) method. The kinetics of change of surface tension indicate prolonged formation of the surface layer for various gelatine concentrations and pH values of the medium. The unique character of the $\sigma - \tau$ curves for gelatine concentrations of 0.05% and 0.1% as compared with those of more concentrated and more dilute solutions has been stressed. A minimum value of surface tension occurs at the isoelectric point and a maximum at pH-3. The dependence of the surface tension of gelatine solutions upon the pH has been discussed in terms of globular-fibrillar transitions.