

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Том (A) XI

1969

№ 3

УДК 668.317:678.01:53

ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СВЕРХСОКРАЩЕНИЕ ЖЕЛАТИНЫ

*Г. И. Бурдыгина, И. М. Фридман, П. В. Козлов,
В. А. Каргин*

Ранее [1, 2] нами было показано, что желатина в твердом состоянии в области высоких температур ($\sim 210^\circ$) способна претерпевать процесс сверхсокращения, обусловленный внутримолекулярным конформационным переходом спираль — клубок и зависящий от степени спирализации макромолекул желатины.

Влияние различных низкомолекулярных агентов на температуру сверхсокращения белков изучалось в ряде работ [3, 4]. При этом введение сшивок в фибрillлярные белки посредством специальных дубящих веществ приводит к повышению температуры гидротермического «плавления» коллагена [3] и желатины [5], однако температура сверхсокращения коллагена, помещенного в среду глицерина, понижается [6] по сравнению с температурой сверхсокращения сухого коллагена [3].

Данная работа посвящена изучению влияния активных низкомолекулярных веществ на особенности сверхсокращения желатины в твердом состоянии при термических воздействиях.

Экспериментальная часть

Поведение желатины при нагревании в широком интервале температур в зависимости от присутствия в ней различных активных добавок изучали методом линейной дилатометрии, особенно чувствительным к изменению подвижности молекул полимеров и их отдельных структурных элементов [7]. Методика и режим испытаний аналогичны описанным нами ранее [2]. В качестве пластифицирующих активных веществ были испытаны мочевина, глицерин и монодиэтаноламид алкенилянтарной кислоты, а в качестве дубящих веществ — ацетат хрома и смесь формальдегида с флороглюцином. Пленки формировали из 5%-ных водных растворов желатины на полиэтиленовой подложке при комнатной температуре (через студнеобразование). Количество вводимых в раствор пластификаторов варьировали от 2,5 до 60% от веса воздушно-сухой желатины. Ацетат хрома и смесь формальдегида с флороглюцином вводили в раствор в соответствии с методикой, предложенной для желатины в работе [8]. Различную степень задубливания желатины получали путем изменения количества вводимых в раствор дубителей.

Перед испытанием образцы желатиновых пленок выдерживали в экскаторе при относительной влажности воздуха 65% до постоянного значения влагосодержания.

На рис. 1, а — в представлены кривые температурной зависимости изменения линейных размеров желатиновых пленок с различным содержанием мочевины (рис. 1, а), глицерина (рис. 1, б) и монодиэтаноламида алкенилянтарной кислоты * (рис. 1, в). Как видно из рисунков, характер

* Влияние монодиэтаноламида алкенилянтарной кислоты на дилатометрические свойства желатины приведено для общей характеристики действия активных веществ на температурное поведение желатины. В дальнейшем эти данные не были использованы в расчетах ввиду неоднородности состава этого пластификатора.

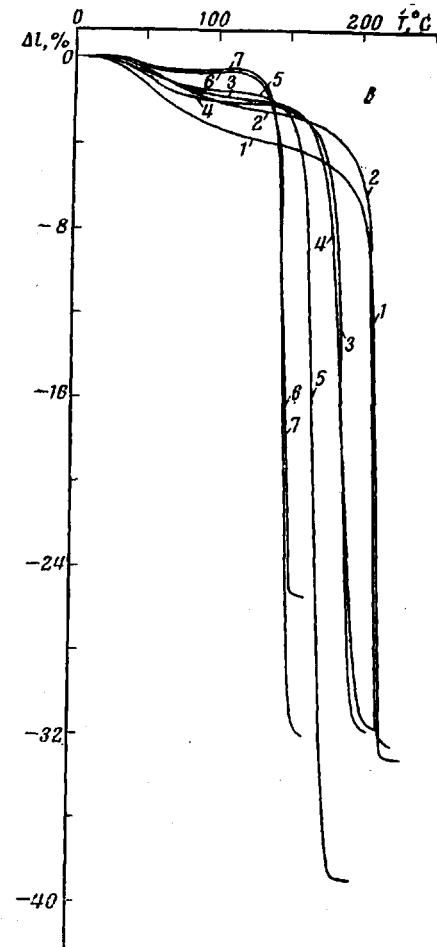
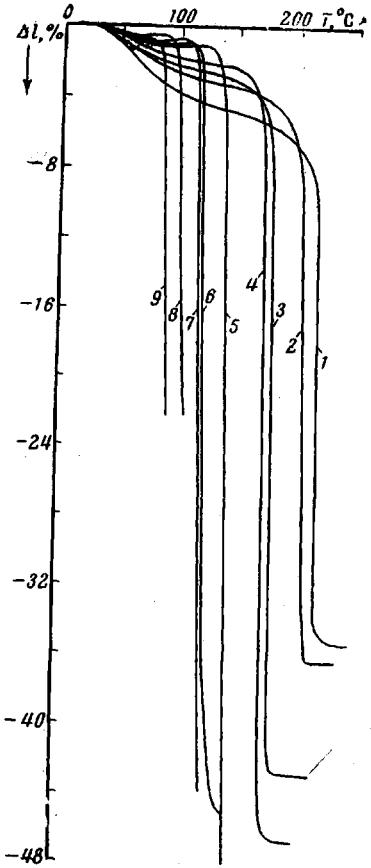
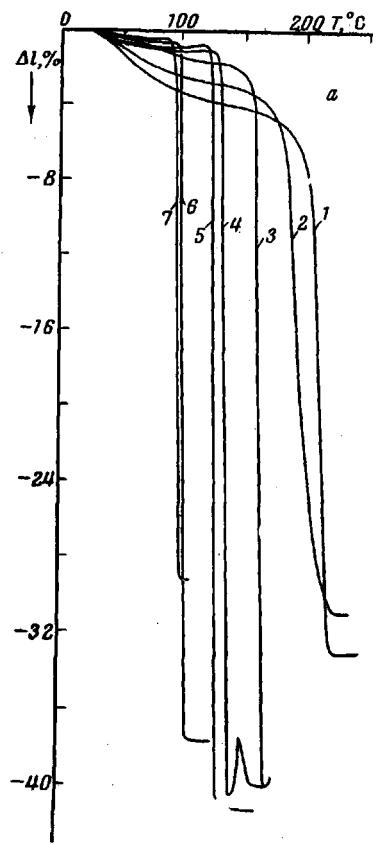


Рис. 1. Температурная зависимость изменения линейных размеров желатиновых пленок

a — с различным содержанием мочевины: 1 — исходной; 2—7 — соответственно с 5; 10; 20; 30; 40; 50% мочевины; *b* — с глицерином: 1 — исходной; 2—9 — соответственно с 10; 20; 30; 40; 50; 60% пластификатора

кривых независимо от типа пластификатора, совершенно аналогичен. А именно, во всех случаях с увеличением количества пластификатора температура сверхсокращения желатины понижается. При этом величина сверхсокращения вначале повышается (до содержания пластификаторов в количестве 20—30%), а затем уменьшается до значений, более низких, чем величина сверхсокращения исходной непластифицированной желатины. Кроме того, с увеличением количества пластификаторов становится более узким и четким температурный участок начала конформационного перехода спираль — клубок.

По данным дилатометрических испытаний была построена зависимость температуры сверхсокращения желатины от объемных долей пластифи-

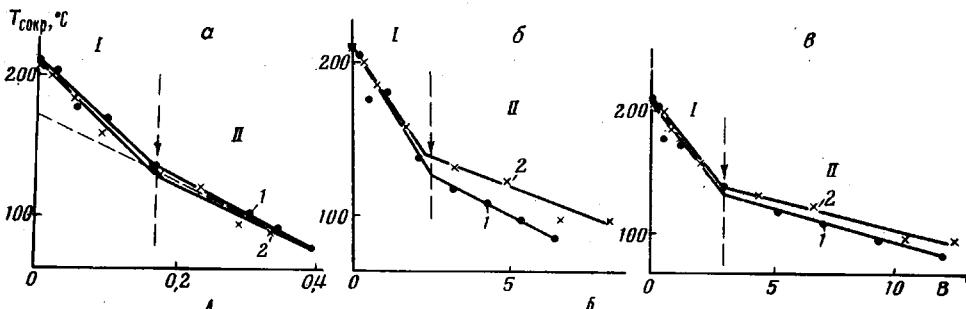


Рис. 2. Влияние объемных долей (а) и числа молей (б, в) пластификаторов на температуру сверхсокращения желатины:

а, б: 1 — глицерин; 2 — мочевина; в: 1 — глицерин + вода; 2 — мочевина + вода. I — неограниченная и II — ограниченная области совместности с полимером. А — объемные доли пластификатора; Б — количество молей воды и пластификатора на 1000 г желатины

каторов в смеси (мочевина и глицерин) и от количества молей пластификаторов в расчете на 1000 г желатины (рис. 2, а — в).

Как видно из рис. 2, а, глицерин и мочевина одинаково снижают температуру сверхсокращения желатины пропорционально их объемной доле в смеси с точкой изгиба, разделяющей кривую на два прямолинейных участка. Экстраполяция второго участка на нулевую концентрацию пластификаторов дает в среднем температуру 175°, которая, по-видимому, соответствует температуре стеклования непластифицированной желатины [9]. Что касается зависимости температуры сверхсокращения от количества молей пластификаторов (рис. 2, б, в), то характер полученных кривых аналогичен кривым рис. 2, а. Однако в этом случае, если до точки изгиба прямые, характеризующие действие глицерина и мочевины на температуру сверхсокращения желатины, практически сливаются, то после точки изгиба прямая для мочевины располагается несколько выше соответствующей прямой для глицерина. При этом точки изгиба соответствуют одному и тому же числу молей введенных в желатину глицерина и мочевины. Количество воды в желатине к моменту сверхсокращения (рис. 2, в) рассчитывали из кривой десорбции влаги из желатины при ее нагревании [2], принимая исходное содержание воды, равное 15%.

Расхождение прямых для мочевины и глицерина после точки изгиба с повышением количества пластификатора объясняется, по-видимому, несовместимостью мочевины с желатиной в пленках при концентрации мочевины выше 20 вес. %, что видно по помутнению указанных пленок во времени. Таким образом, часть мочевины, принимаемая в расчет, не участвует во взаимодействии с желатиной, и температуры сверхсокращения желатины на этом участке соответствуют фактически более низкому содержанию мочевины в пленках. Одна и та же закономерность пластификации желатины как в случае введения объемных долей, так и в случае числа молей пластификаторов свидетельствует о сложности химиче-

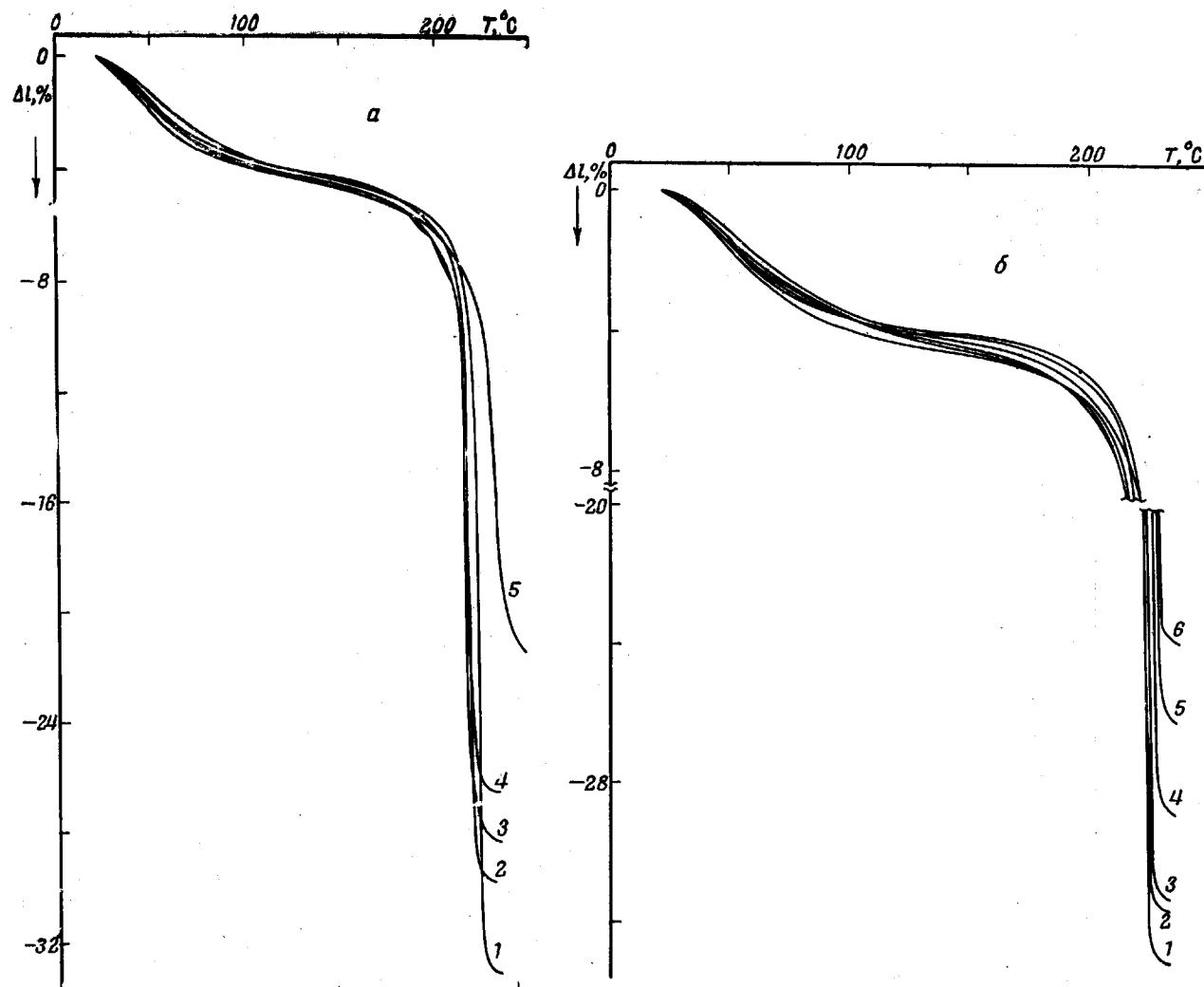


Рис. 3. Температурная зависимость изменения линейных размеров желатиновых пленок, задубленных ацетатом хрома (а) и смесью формальдегида с фтороглюцином (1 : 3) (б):

1 — без дубителя; 2—6 — с дубителем (степень дубления повышается с увеличением порядкового номера)

ского состава желатины по числу и характеру взаимодействия в ней групп. Близкое расположение кривых для глицерина и мочевины свидетельствует об идентичности характера снижения температуры сверхсокращения в зависимости от числа разрушенных пластификатором межмолекулярных связей и независимо от типа введенного в желатину активного низкомолекулярного пластифицирующего вещества.

Как и следовало ожидать, действие поперечной химической сшивки молекул желатины на молекулярную подвижность с помощью введения в желатину специальных дубящих веществ оказывается противоположным действию пластификаторов. Из представленных на рис. 3, а и б ди-

Влияние степени дубления на величину сверхсокращения желатиновых пленок

Дубитель	Температура плавления желатиновых пленок в воде, °С	Величина сверхсокращения желатины, %
Незадубленная желатина	32	27
Ацетат хрома	46	23,8
	65	21,6
	>100	19,7
	>100 *	13
Смесь формальдегида и флороглюцина (1 : 3)	45	25,1
	93	23,2
	>100	20,7
	>100	17

* Пленка задублена диффузионным способом.

латометрических кривых видно, что по мере увеличения степени задубленности путем повышения плотности поперечной сшивки молекул (увеличением количества добавляемых дубителей при прочих равных условиях) уменьшается величина сверхсокращения желатины. Указанная зависимость наблюдается как для ацетата хрома, так и для смеси формальдегида с фтороглюцином. Степень задубленности желатины оценивали значением температуры плавления пленки в воде (таблица). К сожалению, водная среда не позволяет определить температуру плавления выше 100°. Между тем, именно для пленок, плавящихся в воде выше 100°, наиболее сильно снижается величина сверхсокращения. При этом температура сверхсокращения практически остается неизменной. И только при значительной степени дубления, например ацетатом хрома (рис. 3, а, кривая 5), достигнутой диффузионным способом, повышается и температура сверхсокращения желатины. С этой целью желатиновую пленку выдерживали в растворе ацетата хрома в течение 10 мин. Подобную степень дубления желатины введением необходимого количества дубителя в раствор получить не удается вследствие коагуляции желатины. Дальнейшее увеличение времени выдерживания пленки в растворе ацетата хрома не отразилось ни на температуре, ни на величине сверхсокращения желатины. Кроме того, как видно из рисунков, дубление желатины не оказывает, по существу, влияния на температурное сокращение желатины до конформационного перехода спираль — клубок, что свидетельствует, по-видимому, о наличии такой плотности сшивки, которая не препятствует свободному удалению воды из желатины при повышении температуры на этом участке.

Обсуждение результатов

Выбор пластифицирующих и дубящих веществ из числа низкомолекулярных соединений как с теоретической, так и с практической точки зрения преследовал определенные цели. И пластификаторы и дубители в первую очередь влияют на структурную и молекулярную подвижность полимера, определяющую весь комплекс физико-механических свойств. Однако, если пластификаторы повышают гибкость цепных макромолекул [10], то дубители оказывают обратное действие, фиксируя поперечной спивкой имеющуюся жесткоцепную структуру белка [11]. Поэтому сопоставление их влияния на характер сверхсокращения желатины представляет несомненный интерес.

Используемые в работе пластифицирующие вещества не только ослабляют взаимодействие между макромолекулами желатины и тем самым снижают вязкость системы, но, по-видимому, основная роль указанных пластификаторов заключается в активном взаимодействии с реакционными группами желатины. Как известно, действие мочевины на белки заключается в разрушении водородных связей, скрепляющих спиральную структуру полипептидных цепей [12], а также в препятствовании образованию новых поперечных связей [13]. Это выражается неизменно в понижении температуры сверхсокращения фибриллярных белков [4]. Полученные нами данные по изучению влияния мочевины на температурное поведение желатины находятся в хорошем согласии с ранее сделанными выводами [4] для других фибриллярных белков, хотя условия проведения экспериментов резко различны. Если авторы указанной работы определяли температуру сверхсокращения белков в водном растворе мочевины, то результаты, полученные нами, касаются желатины, находящейся в твердом состоянии, в условиях, когда не только окружающая воздушная среда не может сколько-нибудь активно воздействовать на поведение желатины (испытания проводили в токе паров азота), но и имеющаяся в самой желатине влага удаляется по мере нагревания образца [2], при этом мочевина входит в состав желатиновых пленок. Поэтому полученные данные по влиянию мочевины на температуру и величину сверхсокращения желатины свидетельствуют о сильном взаимодействии CO-групп мочевины с пептидными NH-группами молекул желатины, что приводит к разрушению межмолекулярных водородных связей и понижению температуры сверхсокращения. Сопоставление кривых для глицерина с кривыми для мочевины позволяет провести аналогию между ними относительно их действия на желатину. По-видимому, глицерин, имеющий свободные гидроксильные группы, также разрушает водородные связи, активно реагируя с пептидными CO-группами цепи белка. При этом введение пластифицирующих компонентов уменьшает температуру сверхсокращения желатины пропорционально объемной доле, а также мольной концентрации низкомолекулярного вещества. Однако на прямой этой зависимости, во всяком случае для мочевины и глицерина как пластификаторов, обнаружен достаточно резкий изгиб, показывающий, что в зависимости от концентрации пластификатора существуют, по-видимому, две области совместимости его с полимером: неограниченная (I) и ограниченная (II). По этим точкам изгиба можно, очевидно, судить о степени совместимости пластификатора с желатиной по аналогии с изменением температур стеклования полимеров при введении пластифицирующих компонентов [14].

Если приведенная аналогия справедлива, то можно предположить, что в процессе неограниченного совмещения имеет место диполь-дипольное взаимодействие молекул пластификатора с активными группами цепей желатины, что соответствует I участку прямой на рис. 2, a—e. Нарушение совместимости при повышении концентрации пластификатора связано уже с расслоением системы (помутнение желатиновых пленок с мо-

чевиной). Конформационный переход спираль — клубок в непластифицированной желатине происходит при температуре ($\sim 210^\circ$) на несколько десятков градусов выше температуры ($\sim 175^\circ$), при которой наступает достаточная молекулярная подвижность. С увеличением количества пластификаторов этот температурный интервал естественно сужается, так как гибкость цепей и их отрезков, необходимая для осуществления перехода спираль — клубок, повышается введением в желатину активных пластифицирующих веществ. Поэтому следует отметить, что пластификация желатины не соответствует общепринятым представлениям о пластификации жесткоцепочных полимеров, когда вследствие сильного взаимодействия между молекулами пластификатора и активными группами полимера повышается гибкость цепных макромолекул и резко понижается температура стеклования, расширяя температурную область обратимого высокоэластического состояния [10]. В случае желатины повышение гибкости цепных макромолекул благодаря их активному взаимодействию с низкомолекулярными веществами ведет к понижению не только температуры стеклования, но и к понижению температуры сверхсокращения, обусловленного переходом спираль — клубок, при котором все практически ценные физико-механические свойства полимера необратимо утрачиваются. Желатина, претерпевшая такой конформационный переход, несмотря на наличие в ней достаточного количества пластификатора, становится более хрупкой, чем непластифицированная желатина. Поэтому в случае белков пластификация их должна сводиться к повышению эластических свойств полимера в стеклообразной области без понижения температуры сверхсокращения. По-видимому, такой путь пластификации возможен при осуществлении межпачечной (структурной) пластификации без нарушения спиральной конформации цепей [14], либо при правильном сочетании пластификаторов со специальными веществами, стабилизирующими спиральную конформацию молекул, — путь получения подвижной, гибкой, но достаточно прочной сетки.

В связи с этим представляет значительный интерес изучение влияния дубящих веществ на характер и температуру сверхсокращения желатины. Как уже было сказано выше, химическая поперечная сшивка [11, 15—18] макромолекул желатины дубителями практически не влияет на температуру сверхсокращения желатины. Эти результаты находятся в согласии с данными по влиянию дубления на температуру сваривания сухого коллагена [3] и не согласуются с поведением оводненного коллагена и желатиновых студней, когда именно температура сваривания коллагена или температура плавления студня является наиболее чувствительным показателем образования дополнительных прочных химических связей, уменьшающих подвижность структурных образований белка [17]. Однако такая закономерность была бы, очевидно, вполне возможна и для твердой желатины, если бы ее сверхсокращение не сопровождалось термическим разложением белка. При повышенной степени дубления (рис. 3, а, кривая 5) действительно наблюдается некоторое повышение температуры сверхсокращения желатины. Фиксирующее действие дубителей вызывает уменьшение деформируемости желатины, выраженное понижением величины сверхсокращения. Механическая устойчивость структурной сетки даже при температуре сверхсокращения оказывает влияние на степень полноты протекания конформационного перехода спираль — клубок. Следовательно, с увеличением плотности поперечной сшивки макромолекул желатины дубителями повышается стабильность спиральной конформации молекул, полученной при формировании пленок через студнеобразование.

Авторы выражают искреннюю благодарность Н. Ф. Бакееву, Р. И. Фельдман и Э. З. Файнбергу за ценные советы и замечания при обсуждении данной работы.

Выходы

1. Исследование особенностей сверхсокращения желатины при введении низкомолекулярных пластифицирующих и дубящих компонентов в систему с помощью метода линейной дилатометрии показало, что:

а) пластифицирующее действие исследованных веществ (мочевина, глицерин) может быть рассмотрено по аналогии с изменением температуры стеклования полимера при введении в него ограниченно совмещающихся пластификаторов; при этом действие активных низкомолекулярных пластификаторов сводится, прежде всего, к понижению температуры сверхсокращения желатины, в результате которого утрачиваются физико-механические свойства полимера, характерные для фибриллярных структур;

б) дубящее действие исследованных низкомолекулярных дубителей может быть рассмотрено как переход системы в химически связанную сетчатую структуру, содержание узлов в которой позволяет регулировать степень сверхсокращения желатины при почти неизменной температуре этого явления.

2. Получение оптимальных свойств желатиновых пленок возможно, по-видимому, при правильном сочетании пластифицирующего и дубящего эффектов, т. е. при установлении числа узлов пространственной сетки с таким расчетом, чтобы осуществить необходимую гибкость структурных элементов желатины (цепи, пачки, фибриллы) между этими узлами.

Всесоюзный научно-исследовательский
кинотоинститут

Поступила в редакцию
20 III 1968

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. И. Бурдыгина, А. И. Ундзенас, И. М. Фридман, П. В. Козлов, В. А. Каргин, Докл. АН СССР, 178, 1360, 1968.
2. Г. И. Бурдыгина, И. М. Фридман, П. В. Козлов, В. А. Каргин, Высокомолек. соед., А 11, 118, 1969.
3. Г. И. Кутянина, Докл. АН СССР, 82, 405, 1952.
4. L. Mandelkern, W. T. Meuer, A. F. Diorio, J. Phys. Chem., 66, 375, 1962.
5. В. Л. Зеликман, Диссертация, 1946.
6. D. Lloyd, I. Boys, Trans. Faraday Soc., 42B, 228, 1946.
7. П. В. Козлов, И. Ф. Кайминь, З. З. Галейс, А. М. Курбанов, В. А. Каргин, Высокомолек. соед., 9, 2047, 1967.
8. В. Л. Зеликман, Труды НИКФИ, вып. 51, 39, 64, 1962.
9. П. В. Козлов, А. И. Ундзенас, Докл. АН СССР, 178, 638, 1968.
10. В. А. Каргин, Г. Л. Слонимский, Краткие очерки по физико-химии полимеров, изд-во «Химия», 1967.
11. P. Mason, I. C. Griffith, Nature, 203, 484, 1964.
12. F. S. Steven, G. R. Tristram, Biochem. J., 85, 207, 1962.
13. A. S. Szczesniak, R. V. MacAllister, J. Appl. Polymer Sci., 8, 1391, 1964.
14. П. В. Козлов, ЖВХО им. Д. И. Менделеева, 9, 660, 1964.
15. А. Л. Зайдес, Коллоидн. ж., 7, 387, 1941.
16. H. Fraenkel-Conrat, M. Cooper, H. S. Olcott, J. Amer. Chem. Soc., 70, 2673, 1948.
17. А. Н. Михайлов, Химия дубящих веществ и процессов дубления, Гизлегпром, 1953.
18. K. H. Gustavson, Leder, 13, 233, 1962.

EFFECT OF ACTIVE LOW MOLECULAR COMPOUNDS ON SUPERCONTRACTION OF GELATINE

G. I. Burdygina, I. M. Fridman, P. V. Kozlov, V. A. Kargin
Summary

By means of linear dilatometry supercontraction of gelatine films at heating has been studied in dependence on content of active low molecular plasticizing and tanning compounds. Plasticizers decrease temperature of supercontraction proportional to the content in films with flexion point which enables to estimate compatibility of gelatine with plasticizers in analogous way to determination of polymers glass temperature variation at introduction of limitly compatible plasticizers. Tanning agents fix gelatine structure, that results in lower supercontraction with degree of tanning.