

УДК 547(426.1+298.1):668.317.546.212

ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ СТУДНЕЙ ЖЕЛАТИНЫ ПРИ ЗАМЕНЕ
ВОДЫ НА ФОРМАМИД И ГЛИЦЕРИН*Л. З. Роговина, Г. Л. Слонимский, Л. Л. Аксенова*

Изменение химических и физико-химических свойств среды, в которой образуется студень, позволяет по способности полимера к студнеобразованию и свойствам образующегося студня судить о природе и механизме процесса студнеобразования. В данной работе проведено изучение изменения физико-механических свойств 5%-ных студней желатины при последовательной замене воды на формамид и глицерин.

Работу проводили на пищевой желатине, подвергнутой очистке по методу Леба, с $[\eta] = 1,5$. Образцы желатины заливали смесью воды и формамида (или глицерина) в заданном соотношении, и желатину растворяли при постоянном перемешивании при 40° в течение 1 часа. Специальные опыты показали, что в этих условиях достигалось равновесное состояние раствора. В чистом глицерине желатина не растворяется, поэтому при большом содержании глицерина в растворе последний приготавливали следующим образом: желатину смешивали с небольшим количеством воды, в которой она набухала и растворялась при 40° , а затем вливали необходимое количество глицерина, и смесь прогревали 1 час при 80° . За студневание происходило при 10° в течение четырех суток, т. е. за время, достаточное для достижения студнями равновесия в этих условиях [1]. Основным методом исследования явилось измерение ползучести студней, выражаемой в виде податливости $I \text{ см}^2/\text{дин} = \varepsilon / \sigma = 1/E$ под действием постоянного напряжения σ и уменьшения деформации ε при разгрузке образцов по методике [2, 3]. Из экспериментальных кривых вычисляли такие вязкоупругие характеристики студней, как условно-мгновенный модуль упругости $E_{\text{мн}} = 1/I_{\text{мн}}$, модуль высокоэластичности $E_{\text{эл}}$, остаточную деформацию $\varepsilon_{\text{ост}} = I_{\text{ост}} - I_0$ и вязкость η [3]. Остаточную деформацию измеряли через 17 час. после снятия нагрузки.

Вязкость растворов при их застудневании измеряли на реовискозиметре Гепплера. Температуру плавления студней определяли по началу опускания металлического шарика, помещенного под поверхностью студня, при медленном линейном нагреве со скоростью $1 \text{ grad}/10 \text{ мин}$.

Формамид известен как один из немногих органических растворителей, хорошо растворяющих желатину, так же как и другие белки. Желатина ни при каких концентрациях и температурах не образует студня в формамиде. Влияние формамида на растворяющую способность воды и других жидкостей по отношению к желатине и на вязкость желатины в этих растворах исследовали в работе [4]; в работе [5] констатировали отсутствие студнеобразования желатины в чистом формамиде.

Цель данной работы — выяснить, как меняются процесс студнеобразования и физико-механические свойства студней желатины при постепенном переходе от среды, в которой происходит ярко выраженное студнеобразование, — воды, к такому хорошему растворителю, как формамид.

Из приведенных на рис. 1 и в таблице данных видно, что с возрастанием содержания формамида уменьшается условно-мгновенный и высокоэластический модули (т. е. уменьшается высокоэластичность системы), возрастает остаточная деформация, т. е. текучесть системы и, соответственно, понижается вязкость. Эти изменения тем больше, чем ближе температура измерения к температуре плавления студня с определенным содержанием формамида. Так, особенно резко возрастает податливость и остаточная деформация студней, содержащих 25% формамида при 16° (т. пл. $18,1^\circ$) и содержащих 20% формамида при 20° (т. пл. $21,2^\circ$).

Нужно отметить, что при приближении к температуре плавления студня форма кривой ползучести всегда меняется и приближается к прямолинейной, т. е. утрачиваются высокоэластические свойства студней и все более преобладает процесс необратимого течения с соблюдением закона Ньютона [2]. В этом отношении сравнение изменения свойств водных студней желатины при повышении температуры и при увеличении концентрации формамида в среде указывает на эквивалентность действия температуры и формамида. Так, ползучесть студней желатины в водной среде при 26° почти такая же, как при 20° в среде, содержащей 20% формамида. Наблюдающееся течение студней желатины может происходить только под действием приложенного напряжения по механизму химического течения благодаря разрушению поперечных связей, образующих сетку студня. С повышением температуры происходит ослабление межмолекулярного взаимодействия и числа или прочности поперечных связей, приводящее к более интенсивному течению студней. Очевидно, что возрастание концентрации формамида в среде также приводит к постепенно уменьшающемуся количеству образующих сетку связей, вплоть до полного исчезновения сетки при 30% формамида. При помещении готового водного 5%-ного студня желатины в среду, содержащую 30% формамида, происходит полное его растворение вследствие разрушения в этой среде всех связей в сетке студня.

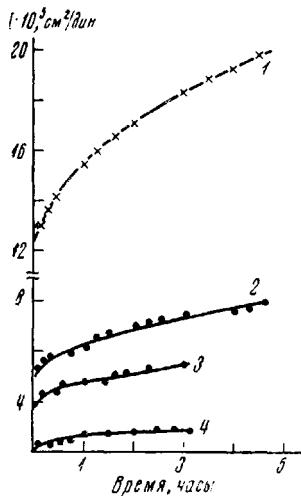


Рис. 1. Кривые ползучести 5%-ных студней желатины при 16°.

Содержание формамида, %:
1 — 25, 2 — 20, 3 — 10, 4 — 0

Формамид легко сольватирует желатину, разрушая поперечные связи, образованные пептидными группами, в отличие от воды, в которой водородные связи между гидроксилами слабее, чем водородные связи между пептидными группами. В работе [5] высказано предположение, что эта сольватация формамидом сопровождается *циклизацией* пептидных групп желатины. С увеличением содержания формамида в водной среде сольватируется все большее число пептидных связей. Содержание формамида в дисперсионной среде, необходимое для разрушения всех образующих сетку связей, будет возрастать с увеличением концентрации желатины.

Зависимость вязкоупругих характеристик 5%-ных студней желатины от концентрации формамида в среде при 16°

Соотношение вода : формамид, %	$E_{\text{МГ}} \cdot 10^{-4}$, дин/см ²	$E_{\text{ЭЛ}} \cdot 10^{-4}$, дин/см ²	$J_{\text{макс}} \cdot 10^5$, см ² /дин	$I_{\text{ост}} \cdot 10^6$, см ² /дин	$\frac{I_{\text{ост}}}{J_{\text{макс}}}$	$\eta_1^* \cdot 10^{-8}$, спусзы	$\eta_2^* \cdot 10^{-8}$, спусзы	T. пл., °C
Вода	4,69	17,7	3,1	0,545	0,136	24,5	19,8	30,2
90 : 10	2,45	10,2	5,8	0,09	0,0156	8,4	12	24,3
80 : 20	2,06	8,7	8,47	1,19	0,13	6,4	13,6	21,2
75 : 25	0,814	3,55	19,7	4,9	0,248	3,38	3,31	18,6

* η_1 вычисляется как ctg угла наклона прямолинейного участка кривой податливости; η_2 вычисляется как отношение времени нагружения к равновесному значению остаточной деформации.

Интересно, что наряду с приведенными выше значительными изменениями свойств студня при увеличении содержания формамида, энергия связей в сетке остается неизменной. Каждая энергия активации течения студней, соответствующая энергии разрушения связей в сетке, была определена из температурного коэффициента вязкости, вычисленной по закону течения Ньютона на прямолинейном участке кривых ползучести. Как

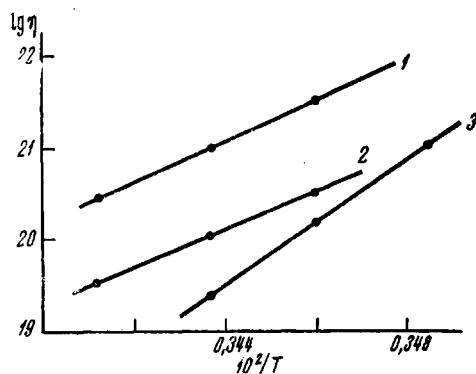


Рис. 2

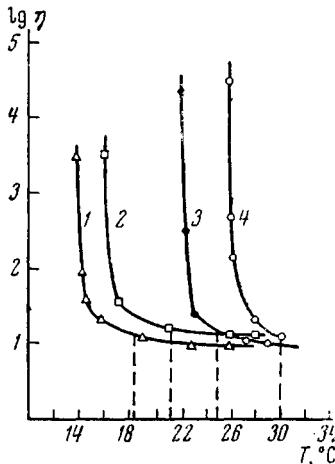


Рис. 3

Рис. 2. Температурная зависимость вязкости 5%-ных студней желатины в смеси воды и формамида, определенной из кривых ползучести: 0 (1), 10 (2), 20% формамида (3)

Рис. 3. Температурная зависимость вязкости в процессе формирования студня из раствора

Содержание формамида в среде: 1 — 25, 2 — 20, 3 — 10, 4 — 0%; пунктир — температуры плавления соответствующих студней

видно из рис. 2, наклоны кривых $\ln \eta - 1/T$ почти не изменяются при возрастании содержания формамида. Вычисленные по ним энергии активации составляют 48,2, 42,5 и 49 ккал/моль для студней в чистой воде и с содержанием 10 и 20% формамида соответственно. Столь большая величина энергии связей в сетке характерна, как показано в недавно опубликованной работе [6], только для студней желатины и связана с высокой энергией перехода спираль — клубок, сопровождающего студнеобразование в желатине. Постоянство значений энергии активации свидетельствует о том, что с увеличением содержания формамида происходит только уменьшение числа связей в сетке, но природа их не изменяется.

Представляло интерес проследить возрастание вязкости систем с различным содержанием формамида в процессе формирования студня из раствора. Образцы прогревали 1 час при 40° и выдерживали 1 час при температуре измерения вязкости. Из рис. 3 видно, что с увеличением концентрации формамида возрастает температурный интервал между температурой плавления студня, отмеченной пунктиром, и температурой начала застудневания, о которой судят по резкому загибу кривой вверх, т. е. растет индукционный период студнеобразования. Это явление также связано с уменьшением числа поперечных связей и необходимостью понижения температуры для возможности образования сетки студня. Интересно отметить, что в системах, содержащих 30% формамида, когда студень уже не образуется, начиная с $15-16^\circ$, более резко возрастает вязкость с понижением температуры и возникает зависимость вязкости от напряжения, т. е. и в этих условиях протекает процесс ассоциации, хотя он и не завершается образованием сетки.

Действие глицерина на механические свойства 5%-ных студней желатины во всем противоположно действию формамида. Из рис. 4 видно, что с возрастанием содержания глицерина уменьшается податливость и текучесть студня, вплоть до полного отсутствия текучести при 80% глицерина при 20°, когда вся деформация становится высокоэластической (кривая 3). Эта высокоэластичность проявляется настолько ярко, что 5%-ные студни желатины, содержащие 80% глицерина, могут подвергаться многократному обратимому растяжению в пределах 100—150%.

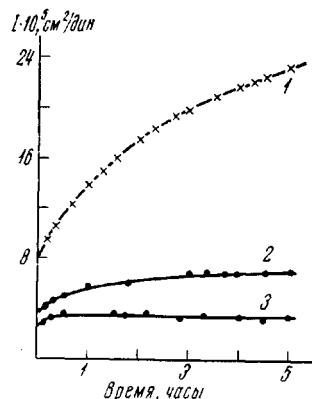


Рис. 4. Кривые ползучести 5%-ных студней желатины при 25° для:

1 — 20; 2 — 50; 3 — 80% глицерина; т. пл.: 1 — 32,3; 2 — 35,3; 3 — 42,5°С

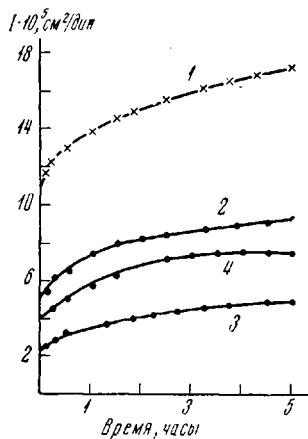


Рис. 5. Кривые ползучести 5%-ных студней желатины при введении в среду 20%:

1 — гексиленгликоль; 2 — бутиленгликоль; 3 — этиленгликоль; 4 — глицерина

Температура плавления студней также возрастает при увеличении концентрации глицерина, как это показано на рис. 4. Возрастание жесткости водно-глицериновых студней желатины с увеличением содержания глицерина было показано в ряде исследований [7]. Существенным является тот факт, что при введении глицерина в водные студни желатины возрастание жесткости сопровождается одновременным увеличением высокоэластичности студней, что не отмечалось указанными авторами. Подробное исследование вязкоупругих свойств водно-глицериновых и глицериновых студней желатины в широком интервале концентрации желатины и глицерина проведено в работах [8]. Указанный характер влияния глицерина на свойства студней желатины не позволяет считать глицерин пластификатором желатины, поскольку пластификация связана с уменьшением межмолекулярного взаимодействия, а введение глицерина приводит к увеличению последнего. Скорее глицерин является эластификатором, вызывающим повышение высокоэластических свойств студня.

Можно было бы связать существенное уменьшение общей податливости и возрастание вязкости студня с высокой вязкостью самого глицерина. Однако из рис. 5, в котором приведены кривые ползучести 5%-ных студней желатины с одинаковым содержанием (20%) различных гликолов, характеризующихся сильно отличающимися значениями вязкостей, видно, что податливость студня совершенно не связана с вязкостью гликоля, вводимого в водную среду. Так, вязкость гексиленгликоля (805 спуз) очень близка вязкости глицерина (860 спуз), а податливость студня в первом случае существенно больше, в то время как вязкость этиленгликоля (12,5 спуз) почти на два порядка меньше вязкости глицерина, а податливости студней, содержащих 20% этиленгликоля и глицерина, примерно одинаковы. Увеличение податливости с возрастанием углеводородного радикала гликоля, вероятно, связано с нарушением гидрофобного

взаимодействия между неполярными участками макромолекул желатины. Из приведенного рисунка можно сделать вывод, что на податливость студня существенное влияние оказывает химическая природа вводимого в среду вещества, а не его вязкость.

По современным представлениям действие глицерина не только на студни желатины, но и на свойства желатины и коллагена, с одной стороны [9], и на свойства студней иных водорастворимых полимеров с другой стороны [10], может быть обусловлено следующими факторами: а) полиспирты являются одновременно донорами и акцепторами водородных связей и поэтому могут связывать молекулы белка межмолекулярными связями [11]; б) глицерин является очень гидрофильным веществом, поэтому в нем могут образовываться дополнительные гидрофобные взаимодействия между макромолекулами желатины; в) глицерин может оказывать дегидратирующее действие, связывая воду, что эквивалентно повышению концентрации полимера и ведет к увеличению контактов между макромолекулами.

Выводы

1. Проведено сравнительное исследование студней желатины при замене воды на формамид и глицерин.

2. Показано, что величина энергии разрушения узлов сетки студня желатины, впервые определенная из температурной зависимости вязкости при исследовании ползучести студней, находится в хорошем соответствии с результатами непосредственных теплофизических измерений.

3. Существенное уменьшение жесткости студней желатины при введении формамида при сохранении неизменной энергии разрушения узлов сетки указывает, что при уменьшении числа связей в сетке природа их остается постоянной.

4. Показано, что замена воды на глицерин приводит к одновременному возрастанию жесткости и высокоэластичности студней желатины.

Институт элементоорганических
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
30 VII 1969

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Пчелин, В. Н. Измайлова, В. П. Мерзлов, Докл. АН СССР, 150, 1307, 1963.
2. П. А. Ребиндер, Труды института физической химии АН СССР, вып. 1, 1950, стр. 5.
3. Л. И. Иванова-Чумакова, П. А. Ребиндер, Г. И. Крус, Коллоидн. ж. 18, 682, 1956; П. А. Ребиндер, Л. И. Иванова-Чумакова, Сб. Успехи химии и технологии полимеров, Госхимиздат, 1957.
4. E. W. J. Mardless, Biochem. Z., 18, 215, 1924.
5. J. Q. Umberger, Photogr. Sci. Eng., 11, 385, 1967.
6. H. C. Haas, R. Z. Mac-Donald, J. Polymer Sci., B8, 425, 1970.
7. D. Ceacareanu, J. Mindru, An Univ. Bucaresti Ser. Stiint Natur., 15, 25, 1966; J. R. Nixon, P. P. Georgakopoulos, J. E. Carlless, J. Pharm. Pharmac., 18, 283, 1966; E. Hatschek, Trans. Faraday Soc., 29, 1108, 1933.
8. J. V. Jannas, A. Tobolsky, J. Macromol. Chem., 1, 723, 1966; J. Appl. Polymer Sci., 12, 1, 1968.
9. E. Heidemann, H. W. Nill, Kolloid-Z., 232/1, 674, 1969.
10. S. J. Singer, Advances Protein Chem., 17, 1, 1962.
11. M. R. Nearn, Chemistry and Rheology watersolubles gums and Colloids., SCJ Monograph 24, London, 1966, стр. 106.

THE PROPERTIES OF GELATINE GELS AFTER SUBSTITUTION OF WATER BY FORMALDEHYDE AND GLYCERINE

L. Z. Rogovina, G. L. Slonimsky, L. L. Aksanova

Summary

An investigation of the physical and mechanical properties of gelatine gels during the gradual substitution of water in dispersion medium by formaldehyde and glycerine showed that the addition of formaldehyde brings about an increase in Compliance and a decrease in viscosity and in the melting point temperature of the gel in other words a gradual decrease in the number of network bonds up to a 30% content of formaldehyde when gel is no longer formed. The addition of glycerine brings about the opposite effect an increase in rigidity, in high-elasticity in the melting point temperature, and in viscosity.