

УДК 541.64:539.2:543.422.23

**ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ВОДНЫХ ГЕЛЕЙ ЖЕЛАТИНА
И ПРОЦЕССА ИХ ОБРАЗОВАНИЯ МЕТОДОМ ЯМР**

Гафуров И. Р., Скирда В. Д., Маклаков А. И.,
Перевезенцева С. П., Зимкин Е. А.

На основании данных о трансляционной подвижности макромолекул изучены процессы гелеобразования и структура гелей в системе желатин – вода. В гелях желатина обнаружены свободно перемещающиеся макромолекулы (золь-фракция) и часть макромолекул, участки цепей которых испытывают ограничения в движении (макромолекулы, образующие сетку геля). Величина ограничений зависит от концентрации раствора и времени выдержки при данной температуре. Получены зависимости доли макромолекул, образующих сетку геля, от времени гелеобразования. Обнаружена аномалия зависимости коэффициента самодиффузии макромолекул от температуры при гелеобразовании.

Трансляционная подвижность макромолекул и молекул растворителя изучена достаточно подробно [1]. Аналогичные исследования в гелеобразующих системах представлены только единичными работами [2, 3], хотя, очевидно, они имеют не только научный, но и практический интерес.

Цель настоящей работы – изучение структуры водных гелей желатина и процесса их образования на основе данных о трансляционной подвижности макромолекул, полученных методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля.

Использован желатин фирмы «Rousselot» с $\bar{M}_n = 9 \cdot 10^4$ и $\bar{M}_w/\bar{M}_n \approx 2,2$ [4]. Растворителем служил бидистиллят воды с добавками, для исключения бактериального разложения желатина использовали небольшое (~0,1%) количество азота натрия. Образцы готовили непосредственно в ампулах ЯМР по стандартной методике [5] с содержанием полимера в растворах 0,05–0,3 вес. долей (w_2). Измерения проведены при 293, 333 К на лабораторной установке ЯМР с частотой резонанса протонов 60 МГц и максимальной величиной градиента магнитного поля в импульсе $g = -50$ Тл/м [6]. Для определения характеристики трансляционного движения молекул использована методика стимулированного эха [7], где длительность δ-импульсов градиента магнитного поля и интервал Δ между ними, связанный с временем диффузии t_d соотношением $t_d = \Delta - \delta/3$, варьировали в пределах $3 \cdot 10^{-5} - 1,5 \cdot 10^{-3}$ и $10^{-2} - 1,9 \cdot 10^{-1}$ с соответственно. Времена спин-решеточной T_1 и спин-спиновой T_2 релаксаций определяли стандартными методиками [1] с использованием последовательности стимулированного эха и метода Карра – Парселя – Мейбума – Гилла [7], а также спада свободной индукции в случае малых значений T_2 ($< 10^{-3}$ с). Обработку измерений осуществляли с использованием микро-ЭВМ и графического дисплея [8].

Анализ релаксационных и диффузионных измерений показал, что система желатин – вода с точки зрения ЯМР является многофазной [1]. Было установлено, что в общем случае гелей и растворов зависимость амплитуды сигнала стимулированного эха от параметров эксперимента подчиняется выражению

$$A(k, \tau, \tau_1) \approx \frac{A_0}{2} \left[p_a \exp \left(-\frac{2\tau}{T_{2a}} - \frac{\tau_1}{T_{1a}} \right) \exp(-kD_a) + \right. \\ \left. + p_b \exp \left(-\frac{2\tau}{T_{2b}} - \frac{\tau_1}{T_{1b}} \right) \int_0^\infty D_b \exp(-kD_b) dD_b + \right]$$

$$+ p_c \exp\left(-\frac{2\tau}{T_{2c}} - \frac{\tau_1}{T_{1c}}\right) \exp(-k\bar{D}_c^{ef}) + p_e \exp\left(-\frac{2\tau}{T_{2e}} - \frac{2\tau}{T_{1e}}\right) f_e(k) \quad (1)$$

Здесь $k = \gamma^2 g^2 \delta^2 t_d$; γ — гиromагнитное отношение протонов; p_i ($i=a, b, c, e$) — населенности компонентов с временами спин-спиновой T_2 , спин-решеточной T_1 релаксации и коэффициентами самодиффузии D_a , D_b и \bar{D}_c^{ef} соответственно (для растворов p_c и $p_e=0$); $f_e(k)$ — некоторая функция, описывающая диффузионное затухание фазы с индексом e ; $\rho(D_b)$ — функция распределения коэффициентов D_b в фазе b ; τ и τ_1 — временные интервалы между первым и вторым, вторым и третьим радиочастотными импульсами в последовательности стимулированного эха; A_0 — начальная амплитуда сигнала ЯМР.

При записи выражения (1) мы пренебрегли несущественной для данной работы неэкспоненциальностью релаксационных затуханий в фазах b, c, e и диффузионного затухания в фазе c , использовав [1] усредненные характеристики \bar{T}_{2j} , \bar{T}_{1j} ($j=b, c, e$) и \bar{D}_c^{ef} , определяемые из начальных наклонов соответствующих затуханий. Фазу b в дальнейшем также будем характеризовать средним [1] коэффициентом самодиффузии

$$\bar{D}_b = \int_0^\infty D_b \rho(D_b) dD_b \quad (2)$$

Анализ формы диффузионных затуханий для фазы b показал, что $\rho(D_b)$ подчиняется логарифмически нормальному распределению

$$\rho(D_b) = \frac{1}{D_b \sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left[-\frac{\ln^2\left(\frac{D_b}{D_0}\right)}{2\sigma^2}\right], \quad (3)$$

где σ^2 — параметр ширины распределения значений D_b ; D_0 — наивероятнейшее значение D_b , связанное с \bar{D}_b соотношением $\bar{D}_b = D_0 \exp(0,5 \sigma^2)$. Величины \bar{D}_b и \bar{D}_c^{ef} связаны [1] со среднеквадратичными смещениями $\langle r^2 \rangle$ протонов соотношением Эйнштейна

$$\langle r^2(t_d) \rangle_b = 6\bar{D}_b t_d \text{ и } \langle r^2(t_d) \rangle_c = 6\bar{D}_c^{ef} t_d \quad (4)$$

Установлено, что фаза a характеризует протоны молекул растворителя, а все остальные (b, c, e) с точностью до погрешности эксперимента — протоны макромолекул. При этом независимость \bar{D}_b от t_d , близость значений \bar{D}_b в гелях и растворах, а также тот факт, что значения $\langle r^2 \rangle_b^{0,5} \gg R$ (R — невозмущенный размер клубка макромолекулы желатина) дают основания отнести фазу b к свободно диффундирующем макромолекулам. Таким образом, в растворах ($p_c, p_e=0$) это все макромолекулы, а в гелях — макромолекулы, образующие золь-фракцию. Дополнительная информация о состоянии макромолекул в фазе b следует из поведения параметра ширины σ^2 спектра коэффициентов самодиффузии. Как видно из рис. 1 (кривая 5), величина σ^2 уменьшается с ростом t_d при $\bar{D}_b \neq f(t_d)$ (кривая 1). Такое поведение параметров σ^2 и \bar{D}_b характерно для систем с обменом и означает [1], что кинетической единицей в самодиффузии в фазе b является не одна макромолекула, а надмолекулярное динамическое образование — кластер. Кластер характеризуется конечным временем жизни τ_b , значение которого грубо может быть оценено из зависимости $\sigma^2 = \sigma_0^2 \exp(-t_d/\tau_b)$, где $\sigma_0^2 = \lim_{t_d \rightarrow 0} \sigma^2(t_d)$. Так, для раствора с $w_2=0,1$ при

333 K $\tau_b \approx 0,5$ с. Принимая во внимание то обстоятельство, что доля p_c становится не равной нулю только при температурах, меньших температуры гелеобразования ($T_{gel} \leq 35^\circ$ [9]) растворов желатина, можно отнести фазу c к протонам макромолекул сетки геля. Об этом же свидетельствует нетипичная для полимерных растворов зависимость $\bar{D}_c^{ef} \sim t_d^{-1}$, которая по-

Рис. 1. Зависимости от времени диффузии \bar{D}_b (1), \bar{D}_{c}^{ef} (2-4) и σ^2 (5) для водных растворов желатина с $w_2=0,1$ (1, 2, 4, 5) и $w_2=0,3$ (3) при 299 (1-4) и 333 К (5). Кривые 2 и 3 получены через 2 ч, а кривая 4 — через 8 сут после начала гелеобразования

Рис. 2. Температурные зависимости D_a (1), \bar{D}_b (2), p_{sol} (3), σ_0^2 (4), T_{2a} (5) для водного раствора желатина с $w_2=0,1$

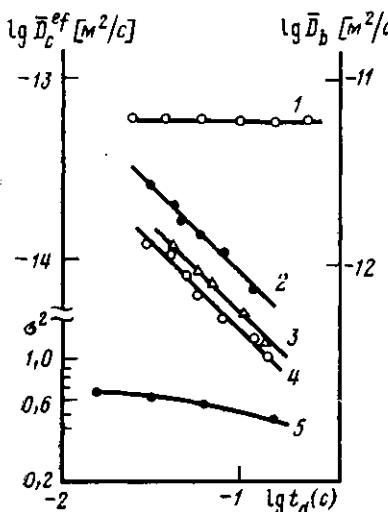


Рис. 1

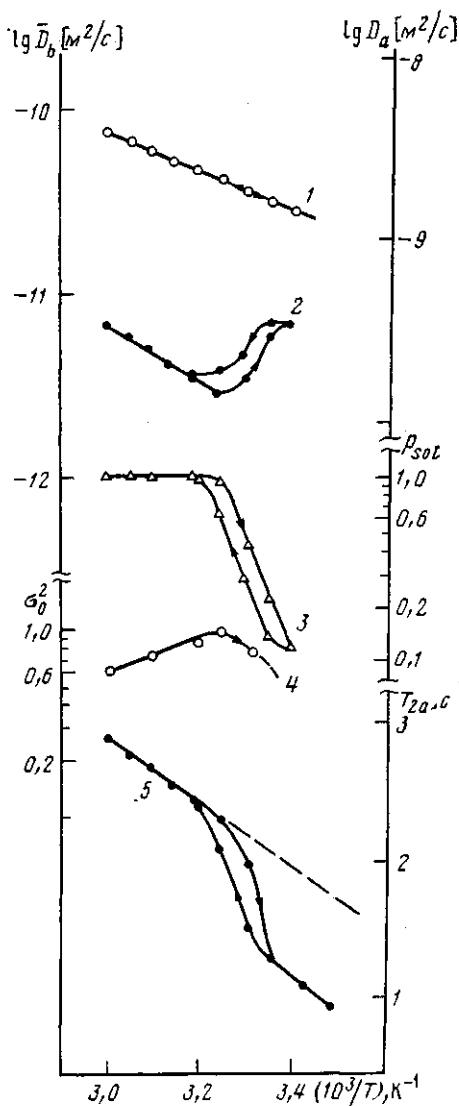


Рис. 2

казывает, что протоны части полимерной цепи полностью ограничены в своих трансляционных перемещениях. Действительно, согласно выражению (4) мы имеем $\langle r^2(t_d) \rangle_c \sim t_d^0$. Причиной, приводящей к появлению подобных ограничений, в нашем случае является образование трехмерной сетки геля.

Вид функции $f_e(k)$ непосредственно в эксперименте установить не удается, так как в диффузионных измерениях из-за малости \bar{T}_{2e} ($\bar{T}_{2e} \sim 4 \cdot 10^{-5}$ с) всегда выполняется $\tau_e \gg \bar{T}_{2e}$. Однако фазу e можно интерпретировать как долю полимерных цепей, входящих в узлы сетки геля, поскольку в гелях желатина узлы трехмерной сетки представляют спирализованные агрегаты с сильно заторможенным сегментальным движением элементов макроцепи [9], $p_e \neq 0$ наблюдается только при $p_e \neq 0$ и p_c существенно больше p_e ($p_c \geq 4p_e$). Отметим, что фазы b и c в гелях по релаксационным характеристикам отличаются настолько мало, что без проведения диффузионных измерений не могли бы быть разделены, в то время как \bar{D}_b и \bar{D}_c^{ef} различаются почти на два десятичных порядка. Поскольку параметры ядерной релаксации определяются в основном мелкомасштабными вращательными модами движения элементов полимерной цепи — сегментальным движением [10], из сказанного выше следует, что в отличие от гелей агарозы [2] в системе желатин — вода сегментальное движение

участков макромолекул, находящихся между узлами, нечувствительно к образованию сетки геля.

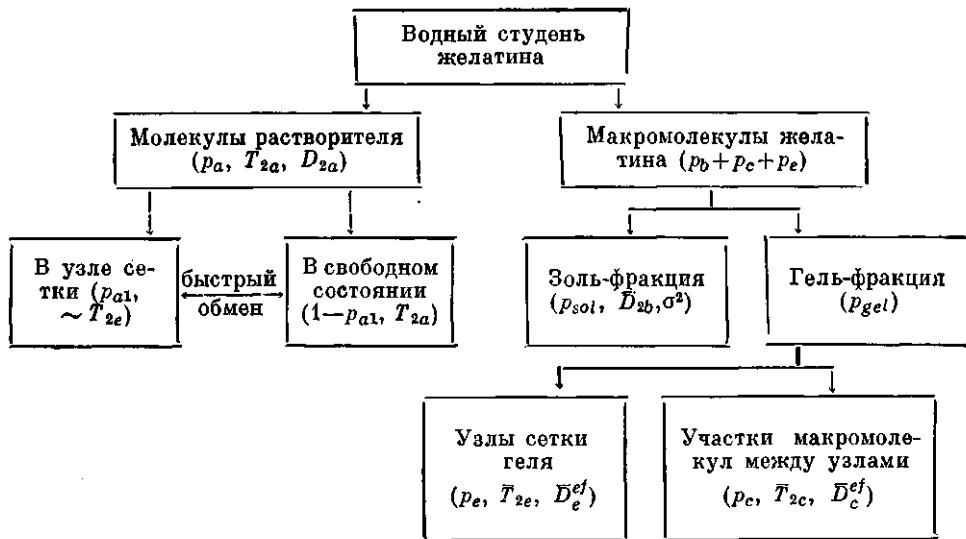
Приведенные выше факты позволяют заключить, что в водных растворах желатина макромолекулы фазы b характеризуются спектром значений D_b со средним \bar{D}_b и параметром ширины спектра σ^2 , обусловленным существованием динамических надмолекулярных образований — кластеров. Параметр σ^2 связан фактически с распределением кластеров по их размерам. В состоянии геля макромолекулы образуют золь-фракцию с параметрами \bar{D}_c и σ^2 и гель-фракцию с параметром \bar{D}_c^{eff} . Кроме того, к гель-фракции относится часть сегментов полимерных цепей, составляющих непосредственно узлы сетки. Для них характерно короткое время релаксации. Можно ввести параметры золь-гель-состава $p_{gel} = (p_c + p_e) / (p_c + p_e + p_b)$ и $p_{sol} = p_b / (p_c + p_e + p_b)$ — доли гель- и золь-фракций соответственно ($p_{gel} + p_{sol} = 1$). Соотношение (4) дает возможность сделать определенные суждения о структуре сетки геля, если предположить, что величина ограничений $\langle r^2 \rangle_c$ связана с густой сетки зацеплений. В самом деле, если участок полимерной цепи с некоторой молекулярной массой M_c между узлами сетки удовлетворяет гауссовой статистике, то максимальная величина ограничения должна быть [11] $\langle r^2 \rangle_c \sim R_c^2$, где R_c — размер клубка макромолекулы с $M=M_c$. Для исследуемого желатина с $\bar{M}_n \sim 10^5$, согласно [9], размер клубка макромолекулы $R \approx 430$ Å. Если величину участка цепи между узлами принять максимальной, предполагая ее равной половине от всей длины макромолекулы, то получим $R_c \approx 300$ Å. Для кривых 2–4 на рис. 1 регистрируемые значения $\langle r^2 \rangle_c^{0.5}$ оказываются равными 690, 550 и 490 Å соответственно, что существенно больше, чем R_c . Это обстоятельство указывает, на наш взгляд, на наличие значительной трансляционной подвижности самих узлов сетки геля.

Таким образом, в поведение $\bar{D}_c^{eff}(t_d)$ дает существенный вклад трансляционная подвижность узлов сетки, которая в уравнении (1) характеризуется функцией $f_e(k)$. Следовательно, $f_e(k)$ можно представить в виде $f_e(k) \approx \exp(-k\bar{D}_c^{eff})$, где эффективный коэффициент \bar{D}_c^{eff} с учетом приведенных выше оценок имеет, очевидно, тот же порядок величины, что и \bar{D}_c^{eff} , и обратно пропорционален t_d . Различия в значениях \bar{D}_c^{eff} на кривых 2 и 3 на рис. 1 можно интерпретировать как проявление зависимости густоты узлов сетки от концентрации исходного раствора, а кривые 2 и 4 указывают на изменения параметров сетки геля в течение продолжительного времени.

Проанализируем вид зависимостей D_a , \bar{D}_b , p_{sol} , σ^2 и T_{2a} от температуры (рис. 2). Видно, что коэффициент самодиффузии молекул растворителя (кривая 1) не чувствителен к процессу гелеобразования в водных растворах желатина. Для T_{2a} (кривая 5) видны, однако, характерные отклонения от аррениусовой зависимости в области температуры гелеообразования. Такой результат можно объяснить в рамках двухфазной модели [12] при условии, что некоторая доля (допустим, p_{a1}) молекулы воды входит в структуру узлов за счет водородных связей с макромолекулой по группам CO и NH и способна обмениваться с остальной частью растворителя. В приближении быстрого обмена и предполагая для простоты, что время T_{2a} молекул воды в узле $\sim 4 \cdot 10^{-5}$ с, а в свободном состоянии соответствует значениям, полученным из экстраполяции высокотемпературного участка кривой аррениусовой зависимости (штриховая линия), нетрудно найти величину p_{a1} . Она, конечно, должна зависеть от температуры и коррелировать, видимо, с поведением $p_e(T)$ для макромолекул. Оказалось, однако, что для описания кривой 5 в рамках указанных предположений достаточно, чтобы даже при самых низких температурах было $p_{a1} \leq 10^{-4}$. Столь малая доля молекул воды в сильно заторможенном состоянии в гелях, естественно, не может отразиться на поведении $D_a(T)$. Кривая 3 на рис. 2 отражает типичные изменения с температурой доли золь-фракции p_{sol} на примере раствора желатина с $w_2=0.1$.

Зависимость $p_{sol}(T)$ характеризуется гистерезисом и показывает, что существенная часть макромолекул при гелеобразовании остается в состоя-

нии золь-фракции. Поведение $\bar{D}_b(T)$ (кривая 2) также проявляет гистерезисные свойства и в области температур гелеобразования, а точнее в области температур, где существенна зависимость $p_{sol}(T)$, аномально, а именно: \bar{D}_b уменьшается с ростом температуры и, наоборот, увеличивается с ее понижением. При $T > 313$ К зависимость $\bar{D}_b(T)$ имеет обычный для растворов полимеров вид. Характерно, что величина σ_0^2 , характеризующая истинную ширину спектра D_b , с понижением температуры в области $T > 313$ К растет, а при более низких температурах, где p_{sol} становится меньше единицы, уменьшается. Подобное поведение для $p_{sol}(T)$, $\bar{D}_b(T)$ и $\sigma_0^2(T)$ наблюдалось нами и ранее [2, 3] для других гелеобразующих полимерных систем. На наш взгляд, наиболее вероятной причиной отмеченного аномального поведения $\bar{D}_b(T)$ является предположение о том, что при гелеобразовании в сетку геля включаются прежде всего самые крупные по размерам кластеры. Тогда оставшиеся в золь-фракции более мелкие кластеры, естественно, должны характеризоваться большим значением \bar{D}_b . Другими словами, при гелеобразовании имеет место «обрезание» спектра кластеров по размерам со стороны больших значений. Такая гипотеза подтверждается фактом уменьшения параметра ширины σ_0^2 в процессе гелеобразования и согласуется с идеологией [13]. В общем виде состояния молекул растворителя и желатина в студне можно изобразить в виде схемы (в скобках даны характеристики каждого состояния).



На рис. 3 представлена временная эволюция доли p_{gel} для растворов с $w_2=0,05$ (кривые 1, 2) и 0,1 (кривые 3-5) при различных температурах. Было найдено, что зависимость $p_{gel}(t)$ хорошо описывается известным [14] уравнением Аврами

$$p_{get}(t) = p_{get}^{\infty} [1 - \exp(-kt^n)], \quad (5)$$

где $p_{gel}^{\infty} = \lim_{t \rightarrow \infty} p_{gel}(t)$, а n, k — эмпирические константы.

Для всех исследованных концентраций при разных температурах $n \sim 1$, а параметр k , характеризующий скорость процесса гелеобразования, зависит как от температуры, так и от концентрации: для раствора с $w_2=0,1$ при 303 К $\lg k = -2,58$, при 299 К $\lg k = -2,27$, для раствора с $w_2=0,05$ при 303 К $\lg k = -3,77$. Важной характеристикой гелеобразующих систем является также равновесное значение p_{gel}^{∞} . Из сравнения кривых рис. 3 видно, что оно также зависит от температуры и концентрации; p_{gel}^{∞} увеличивается при уменьшении температуры и увеличении концентрации. Равновесное значение p_{gel}^{∞} достигается достаточно быстро. Однако вели-

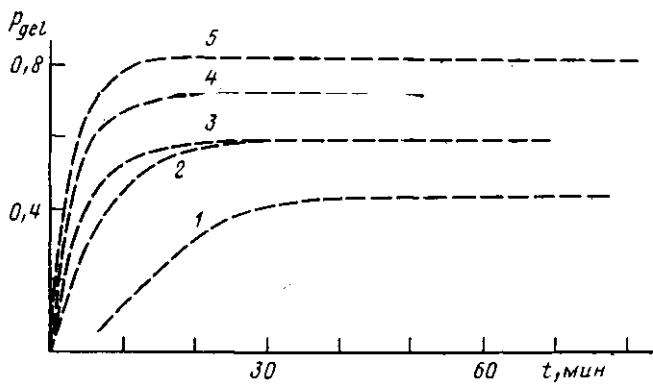


Рис. 3. Зависимости p_{gel} от времени гелеобразования для раствора с $w_2=0,1$ (3, 4, 5) и с $w_2=0,05$ (1, 2) при 333 (1, 3), 300 (4, 2) и 299 К (5)

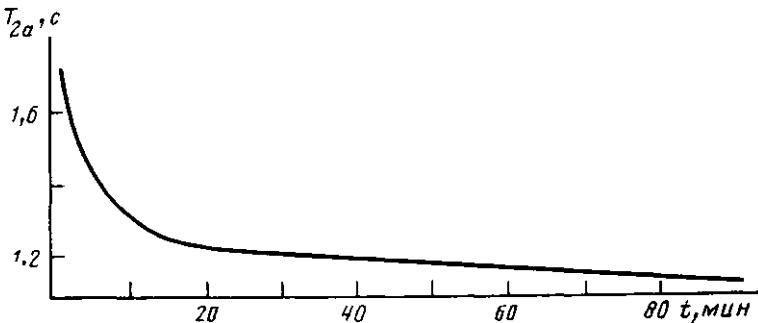


Рис. 4. Зависимость $T_{2a}(t)$ при 299 К для раствора с $w_2=0,1$

чина \bar{D}_c^{eff} , взятая при фиксированном t_d , меняется (рис. 1, кривые 2 и 4) в течение продолжительного времени (8 сут).

Интересный в связи с этим представляется зависимость T_{2a} молекул воды от времени гелеобразования. Как видно из рис. 4, сначала T_{2a} резко уменьшается за время, примерно равное времени установления p_{gel}^∞ , далее, как и для \bar{D}_c^{eff} , следует медленное уменьшение T_{2a} , приводящее асимптотически к предельному значению $T_{2a}(\infty)$ в течение большого промежутка времени. Можно предположить, что процесс гелеобразования происходит в две стадии. Вначале происходит образование каркаса студня из существующих в растворе кластеров макромолекул. Затем без существенного изменения золь-гель состава осуществляется упрочнение этого каркаса либо за счет образования новых узлов, либо за счет увеличения размеров «старых». В пользу этого говорит прежде всего то, что размер ограничений, испытываемый участками макроцепей, уменьшается со временем. Так, для раствора с $w_2=0,1$ после двухчасового выдерживания при 299 К (при этом p_{gel}^∞ уже установилось) $\langle r^2 \rangle_c^{0,5} \approx 690 \text{ \AA}$, а после хранения при этой температуре в течение 8 сут $\langle r^2 \rangle_c^{0,5} \approx 490 \text{ \AA}$. Значения T_{2a} в гелях, как отмечено выше, на основе анализа $D_a(T)$ и $T_{2a}(T)$ контролируется долями p_{a1} , заторможенных молекул воды в узлах сетки. Таким образом, зависимость T_{2a} от времени гелеобразования в области больших значений этого времени обусловлена медленным ростом доли p_{a1} , который естественно связать с ростом доли p_e полимерных участков, образующих узлы сетки.

Из сравнения полученных результатов с данными работ [2, 3], где исследовались растворы и гели агарозы в воде и триацетата целлюлозы (ТАЦ) в бензиловом спирте (БС), можно сделать несколько общих выводов, касающихся процессов физического гелеобразования. Наиболее характерной особенностью систем, способных к термообратимому гелеобразованию, является, на наш взгляд, существование значительной доли золь-фракции в гелях. Она зависит от температуры гелеобразования, кон-

центрации полимера в исходном растворе и ММ [2, 3]. Трансляционная подвижность золь-фракции характеризуется аномальным температурным поведением. Этот факт находит объяснение в рамках представлений об образовании кластеров макромолекул, что следует из анализа формы диффузионных затуханий. Общим для систем агароза – вода, ТАЦ – БС и желатина – вода является также проявление гистерезисных свойств для всех характеристик трансляционной подвижности макромолекул и золь-гель-состава. Трансляционная подвижность молекул растворителя оказывается при этом нечувствительной к процессу гелеобразования. Водные гели желатина отличаются при этом довольно развитым сегментальным движением участков полимерных цепей, заключенных между узлами сетки геля. Именно это обстоятельство позволило впервые провести в данной работе изучение параметра \bar{D}_e^{eff} , связанного с характеристиками самой сетки геля. Относительно большие значения \bar{D}_e^{eff} и T_{2a} свидетельствуют о том, что сетка геля желатина является менее напряженной по сравнению с гелями ТАЦ и агарозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маклаков А. И., Скирда В. Д., Фаткуллин Н. Ф. Самодиффузия в растворах и расплавах полимеров. Казань, 1987. С. 225.
2. Масимов Э. А., Скирда В. Д., Пименов Г. Г., Ибрагимов Ч. И. // Докл. АН СССР. 1984. Т. 278. № 4. С. 919.
3. Гафуров И. Р., Скирда В. Д., Маклаков А. И., Рыскина И. И. // Высокомолек. соед. А. 1988. Т. 30. № 7. С. 1551.
4. Lorry P., Vedrines M. Determination of Molecular Weight Distribution of Gelatines by HPSEC. Friborg, 1983. Р. 55.
5. Леб Ж. Белки и теория коллоидных явлений. М., 1933. С. 52.
6. Скирда В. Д., Серюгин В. А., Сундуков В. И. // Приборы и техника эксперимента. 1984. № 6. С. 122.
7. Вашман А. А., Пронин И. С. Ядерная магнитная релаксация и ее применение в химической физике. М., 1979. С. 236.
8. Сундуков В. И. Автореф. дис ... канд. физ.-мат. наук. Казань, 1986. 16 с.
9. Роговина Л. З. Дис ... д-ра хим. наук. М.: ИНЭОС АН СССР, 1983. 390 с.
10. Маклаков А. И., Дериновский В. С. // Успехи химии. 1979. Т. 49. № 4. С. 749.
11. Готлиб Ю. Я., Даринский А. А., Светлов Ю. Е. Физическая кинетика макромолекул. Л., 1986. С. 272.
12. Zimermann J. R., Brittin W. E. // J. Phys. Chem. 1957. V. 61. Р. 1328.
13. Де Жен П. Идеи скейлинга в физике полимеров. М., 1982. С. 368.
14. Манделькерн Л. Кристаллизация полимеров. М., 1966. С. 336.

Казанский государственный университет
имени В. И. Ульянова-Ленина

Поступила в редакцию
13.VII.1987

NMR STUDY OF THE STRUCTURE OF AQUEOUS GELATIN GELS AND OF THEIR FORMATION

Gafurov I. R., Skirda V. D., Maklakov A. I.,
Perevezentseva S. P., Zimkin Ye. A.

Summary

Gelation processes and structure of gels in the gelatin – water system have been studied basing on the data about translational mobility of macromolecules. The freely moving macromolecules (sol fraction) and macromolecules containing chains fragments of limited mobility (macromolecules forming the gel network) are observed in gelatin gel. The limitations value depends on the solution concentration and time of holding at given temperature. The dependences of the fraction of macromolecules included into the gel network on the time of gelation are obtained. The anomaly in the dependence of the coefficient of selfdiffusion of macromolecules on temperature at gelation is found.