

УДК 541.64:532.135

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АДСОРБЦИОННЫХ СЛОЕВ ИНТЕРПОЛИМЕРНЫХ АССОЦИАТОВ ПОЛИДИМИТИЛСИЛОКСАНА И БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ГРАНИЦЕ ДВУХ НЕСМЕШИВАЮЩИХСЯ ЖИДКОСТЕЙ¹

© 2002 г. В. Н. Измайлова*, И. А. Грицкова**, С. М. Левачев*, Т. В. Булатова**,
А. А. Капустина**, П. В. Нусс**, Г. П. Ямпольская*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Химический факультет
119899 Москва, Ленинские горы

**Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова
117571 Москва, пр. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 26.04.2001 г.
Принята в печать 07.05.2001 г.

Изучены смешанные межфазные адсорбционные слои ПДМС и бычьего сывороточного альбумина на границе вода–*m*-ксилол. На кривых течения межфазных адсорбционных слоев на границе фаз обнаруживается предел текучести, и реологические свойства слоев характеризуются сочетанием упругих и вязкостных свойств. Обнаружен синергетический эффект реологического поведения интерполимерных ассоциатов. Предложена модель двумерных ассоциативных структур самоорганизующихся межфазных адсорбционных слоев на границе раздела вода–*m*-ксилол.

ВВЕДЕНИЕ

Многокомпонентные и многофазные системы, состоящие из двух несмешивающихся жидкостей и ПАВ, имеют большое теоретическое и практическое значение в связи с образованием в таких системах ассоциативных и ЖК-структур, микроЭмульсий и межфазных слоев с особым составом и реологическими свойствами.

Свойства смешанных межфазных слоев, сформированных на границе раздела фаз и содержащих несколько поверхностно-активных компонентов, водо- и маслорастворимых, представляют значительный интерес для медицины, биологии и ряда биотехнологических процессов. Исследование строения и свойств межфазных адсорбционных слоев (МАС) белков и полимеров важно в связи с их применением в качестве диагностиков, имплантантов, для иммобилизации ферментов и клеток [1–4].

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 01-03-32129а).

E-mail: Izmailova@colloid.chem.msu.ru (Измайлова Виктория Николаевна).

В данной работе для исследования смешанных МАС синтетического ПАВ и белков использован водорастворимый белок – бычий сывороточный альбумин (БСА), являющийся основным транспортным белком крови. Этот белок солюбилизирует большое количество соединений различной природы [5] и переносит их по организму в токе крови, участвуя, таким образом, в процессе метаболизма. Закономерности поведения альбумина на границах фаз определяют характерные черты процесса метаболизма.

Контакт крови с имплантированными синтетическими материалами часто является спусковым механизмом процесса адсорбции белка с промоторионом отложения форменных элементов крови и последующего образования тромбов, которые сбрасываются в поток крови и закупоривают кровеносные сосуды [6]. Закономерности транспорта и освобождение лекарственных веществ из полимерных носителей, а также продолжительность функционирования *in vivo* биосенсоров тесно связаны со структурой и реологическими свойствами МАС белков. Практическая важность определяется возможностью расширения границ использования интерполимерных ассоциатов, ко-

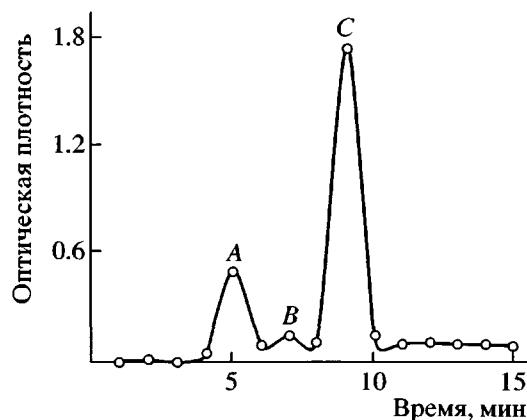


Рис. 1. Данные ВЭЖХ, характеризующие состав БСА. Пик С относится к мономеру белка.

торые являются перспективным материалом для создания нанокомпозитов и высокоориентированных ультратонких пленок Ленгмюра–Блодже со специальными свойствами.

Ранее [7] были изучены реологические и термодинамические параметры межфазных адсорбционных слоев ПДМС на границе двух несмешивающихся жидких фаз. Было обнаружено, что на границе фаз вода–*m*-ксилол формируется двумерная самоорганизующаяся структура ПДМС, отвечающая ЖК-состоянию и обладающая тиксотропными свойствами. Предложена модель двумерной структуры ПДМС на границе раздела вода–*m*-ксилол.

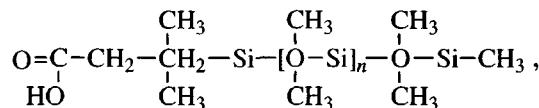
Было показано [8], что зависимость механических характеристик МАС на основе БСА от времени их формирования проходит через максимум. Это свидетельствует о конкуренции нескольких (по крайней мере двух) процессов при образовании МАС [9, 10]. При массопереносе БСА на межфазную границу возникает большое число случайных контактов между молекулами белка; при этом образуется прочная, но напряженная коагуляционная структура, которая термодинамически неустойчива и со временем разрушается при переходе системы в равновесное состояние.

В работе [11] с использованием атомно-силовой микроскопии изучены адсорбционные слои сывороточного альбумина, сформированные на границе фаз гексадекан–вода и перенесенные на твердую подложку. На фотографиях видна упорядоченная сетка глобул белка с толщиной слоя 2.8 ± 0.4 нм, что подтверждает формирование упорядоченной коагуляционной структуры в межфазном слое.

Цель настоящей работы – изучение реологических характеристик интерполимерных ассоциатов высокомолекулярных поверхностно-активных веществ ПДМС и БСА, образующихся на межфазной границе жидкость–жидкость (вода–*m*-ксилол).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве маслорастворимого ПАВ использовали α -(карбоксиэтил)- ω -(триметилсилокси) ПДМС общей формулы



где $n = 6.24$; COO = 6.44%; $M = 846$; $n_D^{20} = 1.4105$.

Вязкость образца $\eta_d^{25} = 3.5$ мПа с; образец синтезировали в ИНЭОС РАН по методике [12].

Водорастворимым ПАВ служил БСА производства Олайнского завода химреактивов НПО “Биохимреактив”. На рис. 1 представлены данные ВЭЖХ, характеризующие состав исходного препарата БСА. Видно, что препарат на 82% состоит из мономерного белка с $M = (6.65-6.70) \times 10^4$. Основная примесь представлена димером белка. БСА очищали с помощью гель-хроматографии на носителе ACA-34 (“Pharmacia”, Швеция), отбирая фракцию мономерного белка. Диск-электрофорез в полиакриламидном геле по методике [13], показал, что очищенный препарат БСА практически не содержит агрегатов.

Концентрацию водных растворов БСА определяли спектрофотометрически на длине волны 279 нм [14]. ММ белка принимали равной 6.7×10^4 . Молекула БСА состоит из трех доменов и представляет собой эллипсоид вращения с осями $14 \times 4 \times 4$ нм; белок содержит 55% α -спиралей. Изоэлектрическая точка БСА соответствует pH 4.8 [15].

В качестве неполярной среды использовали *m*-ксилол квалификации ч. Ангарского завода химреактивов.

Полярная среда – бидистилированная вода.

Реологические характеристики МАС определяли с помощью поверхностного эластовискозиметра [16, 17]. Принцип метода измерений заключается в закручивании диска, расположенного на границе раздела фаз и жестко связанного с динамометром (упругая вольфрамовая нить). Измерения проводили при постоянной скорости вращения столика, регистрируя изменения положения светового зайчика на шкале во времени. Напря-

жение сдвига пропорционально углу закручивания нити. Поскольку модуль упругости вольфрамовой нити много выше модуля упругости исследованных МАС, такой режим испытаний обеспечивает постоянство скорости деформации на начальной (линейной) и конечной стадиях развития напряжения сдвига.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сывороточный альбумин, как и другие белки, является ПАВ, снижающим поверхностное и межфазное напряжения. Он образует межфазные адсорбционные слои, обладающие свойствами коагуляционных кристаллоподобных структур [18].

Для исследования реологических характеристик смешанных МАС были выбраны следующие условия.

Из работы [19] известно, что минимальное межфазное напряжение на границе вода-*m*-ксилол достигается при 0.1%-ном растворе БСА, поэтому использовали именно такую его концентрацию. Значение pH 6.5 водного раствора БСА было выбрано в связи с тем, что это значение соответствует pH крови, и при таких pH молекулы БСА имеют небольшой отрицательный заряд. Поэтому при формировании смешанных МАС на границе вода-*m*-ксилол минимизируется электростатическое взаимодействие.

Было установлено, что реологические параметры адсорбционных слоев БСА и его смесей с ПДМС не изменяются в процессе формирования в течение 40 мин – 6 ч, и такие слои можно считать “условно равновесными”. В дальнейшем исследования реологических свойств межфазных адсорбционных слоев БСА и его интерполимерных ассоциатов с ПДМС проводили после формирования слоев в течение 40 мин.

Характер развития напряжения сдвига от времени $P_s(t)$ в смешанных адсорбционных слоях, сформированных ассоциатами БСА и ПДМС, на границе фаз вода-*m*-ксилол представлены на рис. 2. Слои белка [19], ПДМС [7] и смешанные МАС характеризуются аналогичными зависимостями $P_s(t)$. Для всех МАС характерно увеличение предела прочности P_{rs} (максимума на кривых) и ускорение момента появления максимума с повышением скорости деформации $\dot{\epsilon}$: при увеличении $\dot{\epsilon}$ на два порядка P_{rs} возрастает в 4–8 раз, а время достижения P_{rs} уменьшается. Однако при $\dot{\epsilon} = 0.46 \text{ c}^{-1}$ для смешанных МАС максимум отсутствует, и напряжение плавно увеличивается до величины напряжения стационарного течения P_{ss} . Кроме того,

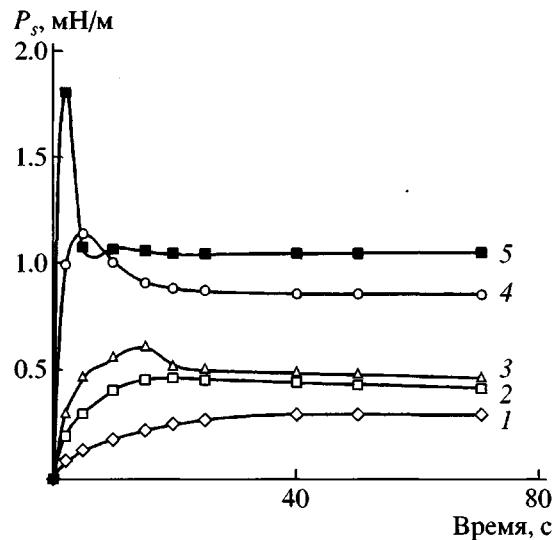


Рис. 2. Развитие напряжения сдвига P_s во времени на границе 0.1%-ный раствор БСА в воде (pH 6.85) – 1%-ный раствор ПДМС в *m*-ксилоле при разных скоростях деформации: $\dot{\epsilon} = 0.46$ (1), 0.92 (2), 1.85 (3), 9.26 (4), 18.52 c^{-1} (5). Время формирования МАС 40 мин.

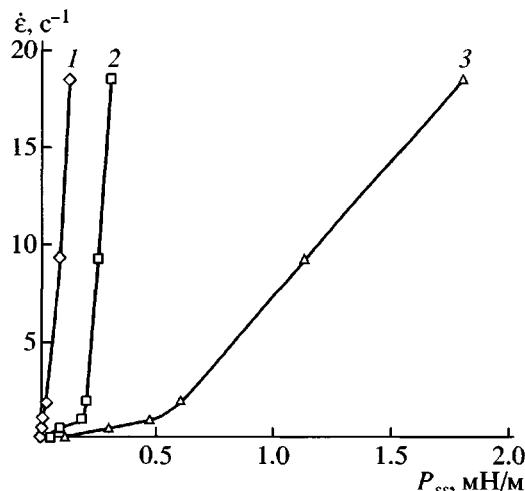


Рис. 3. Зависимость скорости деформации $\dot{\epsilon}$ от напряжения сдвига P_{ss} на границе вода-*m*-ксилол для 2% ПДМС (1), 0.1% БСА (2) и системы 1% ПДМС – 0.1% БСА (3).

следует отметить, что при формировании смешанных МАС P_{rs} возрастает по сравнению с МАС индивидуальных компонентов. Образование интерполимерных ассоциатов в МАС приводит к увеличению как P_{rs} так и P_{ss} .

На основании полученных данных была построена зависимость $\dot{\epsilon}$ от P_{ss} (кривая течения) для смешанных адсорбционных слоев ПДМС и БСА (рис. 3). Для сравнения на том же рисунке приве-

Реологические параметры МАС на основе ПДМС, БСА, а также интерполимерных ассоциатов ПДМС и БСА на границе фаз вода-*m*-ксилол

Система	Первый предел текучести P_{k1} , мН/м	Второй предел текучести P_{k2} , мН/м	Модуль упругости E , мН/м	“Шведовская” вязкость η_0^* , мН с/м	“Бингамовская” вязкость η^* , мН с/м
2%-ный раствор ПДМС в <i>m</i> -ксилоле–вода	0.01	0.06	0.0098	0.0125	0.0013
0.1%-ный раствор БСА в воде– <i>m</i> -ксилол	0.05	0.2	2.8	170	70.6
0.1%-ный раствор БСА в воде–1%-ный раствор ПДМС в <i>m</i> -ксилоле	0.15	0.45	12	300	72

дены кривые течения для индивидуальных компонентов. Кривые течения МАС имеют вид, характерный для твердообразных структур с пределами текучести P_{k1} и P_{k2} .

Основные исследованные реологические параметры представлены в таблице. Видно, что модуль упругости для смешанных МАС на основе ПДМС и БСА возрастает в 4 раза, “шведовская” вязкость также увеличивается в 1.5 раза по сравнению с соответствующими параметрами МАС белка. С помощью рассчитанных значений модуля упругой деформации и эффективной вязкости смешанных МАС на основе ПДМС и БСА можно охарактеризовать эти слои как упруговязкие (модель Кельвина).

Результаты измерений реологических характеристик МАС на основе ПДМС и БСА позволяют предложить модель их строения (рис. 4).

В настоящее время принято рассматривать молекулы БСА с помощью трехдоменной модели. Согласно этой модели, молекула белка состоит из трех относительно независимых доменов (I, II и III), каждый из которых образован тремя петлями (субдоменами) аминокислотной цепи и имеет близкий аминокислотный состав. Все домены и субдомены сшиты дисульфидными мостиками и стабилизированы электростатическими и гидрофобными взаимодействиями. Центральный домен имеет более плотную структуру и диаметр 5.3 нм, два менее плотных домена расположены симметрично относительно центрального и имеют меньший диаметр 3.8 нм.

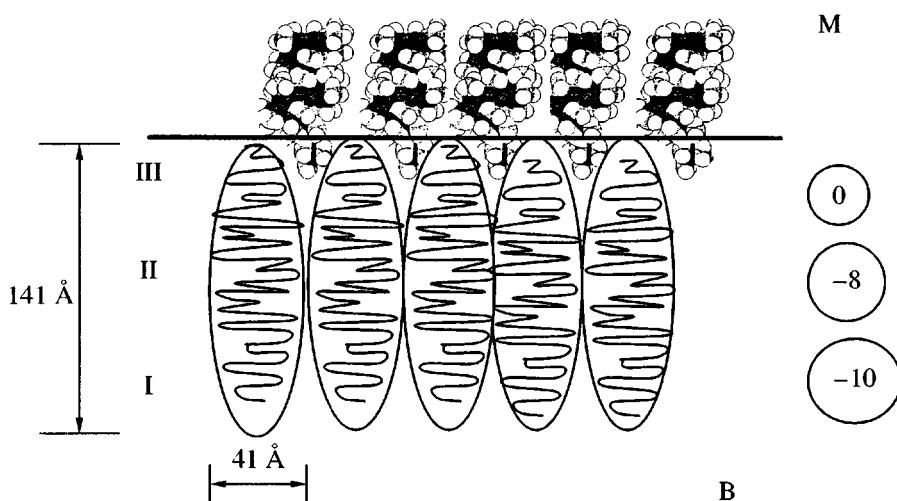


Рис. 4. Модель строения МАС, сформированных ПДМС и БСА на границе вода-*m*-ксилол. М – масляная фаза, В – водная фаза. I, II и III – домены макромолекулы БСА. В кружках даны заряды на макромолекулах БСА.

Распределение зарядов (в зависимости от pH среды) неоднородно: при pH ~ 7.4 заряд домена I – 10, домена II – 8, домен III не заряжен. Поэтому представляется, что в МАС предпочтительной является вертикальная ориентация молекул БСА преимущественно третьим доменом в сторону *m*-ксилола.

Интерполимерные ассоциаты МАС, сформированные упорядоченными структурами ПДМС и БСА, на границе двух несмешивающихся жидкостей, вероятно, представляют собой высокоупорядоченную коагуляционную структуру с контактами, образованными в результате гидрофобных взаимодействий. Фактически на межфазной границе взаимодействуют ЖК-структуры ПДМС и БСА, поддерживая двумерную организацию.

Таким образом, измеренные реологические параметры свидетельствуют о том, что в смешанных МАС, сформированных самоорганизующимися ЖК-структурами ПДМС и БСА на границе вода–*m*-ксилол, обнаруживается синергетический эффект.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Грицкова И.А., Крашенниковова И.Г., Дорохова Е.А., Нусс П.В., Гусев С.А., Аль-Хаварин // Коллоид. журн. 1994. Т. 56. № 4. С. 487.
- Грицкова И.А., Нусс П.В., Дорохова Е.А., Гусев С.А., Крашенниковова И.Г., Аль-Хаварин // Коллоид. журн. 1994. Т. 56. № 4. С. 491.
- Грицкова И.А., Крашенниковова И.Г., Аль-Хаварин, Нусс П.В., Дорохова Е.А., Гжиева-Никсиньска // Коллоид. журн. 1995. Т. 57. № 2. С. 182.
- Kowalczyk D., Marsault J.P., Slomkowski S. // Colloid Polym. Sci. 1996. V. 274. P. 513.
- Измайлова В.Н., Ребиндер П.А. Структурообразование в белковых системах. М.: Наука, 1974.
- Haynes Ch.A., Norde W. J. // Colloid Interface Sci. 1995. V. 169. P. 313.
- Измайлова В.Н., Грицкова И.А., Левачев С.М., Булатова Т.В., Капустина А.А., Нусс П.В., Ямпольская Г.П. // Высокомолек. соед. А. 2001. Т. 43. № 12. С. 2123.
- Пелех В.В., Алентьев А.Ю., Ямпольская Г.П., Измайлова В.Н. // Коллоид. журн. 1998. Т. 60. № 2. С. 235.
- Пелех В.В., Алентьев А.Ю., Ямпольская Г.П., Измайлова В.Н. // Коллоид. журн. 1998. Т. 60. № 2. С. 239.
- Левачев С.М., Измайлова В.Н. // Коллоид. журн. 1994. Т. 56. № 2. С. 194.
- Gunning A.P., Wielde P.J., Clark D.C., Morris V.J., Parker M.L., Gunning P.A. // J. Colloid and Interface Sci. 1996. V. 183. P. 600.
- Schilling F.C., Gomez M.A., Tonelli A.E. // Macromolecules. 1991. V. 24. № 24. P. 6552.
- Mayrер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971.
- Kirschenbaum D.M. // Anal. Biochem. 1997. V. 81. P. 220.
- Peters Th. // Adv. Protein Chem. 1985. V. 37. P. 161.
- Izmailova V.N. // Progress in Surface and Membrane Science. 1979. V. 13. P. 141.
- Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Туловская З.Д. // Коллоид. журн. 1998. Т. 60. № 5. С. 598.
- Izmailova V.N., Yampolskaya G.P. // Protein at Liquid Interfaces / Ed. by Mobius D., Miller R. Studies in Interface Science Series. Amsterdam: Elsevier, 1998. V. 7. P. 103.
- Измайлова В.Н., Левачев С.М., Ямпольская Г.П., Грицкова И.А., Капустина А.А., Нусс П.В., Мартынова Е.В., Адебайо Г. // Коллоид. журн. 2000. Т. 62. № 1. С. 70.

Rheological Characteristics of Adsorption Layers of Interpolymer Associates of Poly(dimethylsiloxane) and Bovine Serum Albumin at the Interface of Two Immiscible Liquids

V. N. Izmailova*, I. A. Gritskova**, S. M. Levachev*, T. V. Bulatova**,
A. A. Kapustina**, P. V. Nuss**, and G. P. Yampol'skaya*

* Faculty of Chemistry, Moscow State University,
Leninskoe gory, Moscow, 119899 Russia

** Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,
pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

Abstract—The mixed interfacial adsorption layers of poly(dimethylsiloxane) and bovine serum albumin at a water–*m*-xylene interface were studied. The flow curves of interfacial adsorption layers at the phase boundary display a flow limit, and the rheological properties of the layers are characterized by a combination of elastic and viscous properties. A synergistic effect is observed in the rheological behavior of interpolymer associates. A model is proposed for the two-dimensional associative structures of self-organizing interfacial adsorption layers at the water–*m*-xylene interface.