

УДК 541.64:532.77

МЕТОД РАСЧЕТА ПАРАМЕТРОВ ГЕЛЕООБРАЗОВАНИЯ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ БИОПОЛИМЕРОВ

© 2003 г. Ю. И. Матвеев

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
119991 Москва, ул. Вавилова, 28*

Поступила в редакцию 17.09.2002 г.
Принята в печать 09.01.2003 г.

Предложена система уравнений, позволяющая определить температуру T_{gel} и концентрацию P_{gel} перехода раствора биополимера в гелеобразное состояние (золь-гель-перехода), и температуру плавления геля T_m (гель-золь-перехода). Полученные выражения для T_{gel} , P_{gel} и T_m зависят от констант, имеющих универсальный характер для водных растворов биополимеров, температур плавления T_{mp} и стеклования T_g биополимеров. Это позволяет установить влияние химического строения биополимера на T_{gel} , P_{gel} и T_m . Найдены зависимости температур гелеобразования T_{gel} и плавления геля T_m от концентрации биополимера P при $P > P_{gel}$. Константы уравнений определены по экспериментальным данным для ПВС и желатина. На основании полученных выражений вычислены T_{gel} , P_{gel} и $T_m = f(P_{gel})$ для ряда белков (казеина, α -лактальбумина, β -лактоглобулина, овальбумина, глютенина, глиадина, БСА) и крахмала. Результаты расчетов хорошо согласуются с экспериментальными данными. В рамках предложенного подхода определены также концентрационные границы пластифицирующего действия воды, оценены температуры плавления для гелей из смеси биополимеров.

ВВЕДЕНИЕ

Известно [1, 2], что растворы полимеров при определенных температуре T_{gel} , концентрации P_{gel} и соответствующих способах приготовления переходят в гелеобразное состояние. Образующиеся при этом гели имеют коагуляционную структуру, при которой частицы дисперсной фазы (это могут быть некоторые ассоциаты полимерных молекул) соединены в местах контакта силами межмолекулярного взаимодействия непосредственно или через тонкую прослойку дисперсионной среды (растворителя). Согласно работе [1], гели этого типа отличаются отчетливо выраженным двухфазным состоянием. Они возникают вследствие распада однофазных растворов полимеров на две фазы, одна из которых содержит большое количество полимера и образует преимущественно непрерывный каркас, а вторая имеет очень низкую концентрацию полимера и включена в этот каркас в виде дисперсии. Такие гели часто образуются из растворов белковых веществ [3].

Обычно температуру T_{gel} определяют путем понижения температуры раствора при разных

концентрациях полимера P . Найденные таким способом величины T_{gel} , P_{gel} являются характеристиками перехода золь-гель (перехода части раствора в гель) [4], т.е. минимальными температурами и концентрациями, при которых возможно гелеобразование. При более высоких концентрациях полимера ($P > P_{gel}$) температура гелеобразования $T_{gel}(P)$ возрастает.

Если полученный гель нагреть, то при некоторой температуре $T_m(P)$ он расплывится (произойдет переход гель-золь) и образуется раствор полимера. При этом, как правило, $T_m(P) > T_{gel}(P)$. Для описания зависимости $T_m(P)$ Eldridge и Ferry [5] предложили уравнение

$$\lg P = -\Delta H/(RT_m) + \text{const}, \quad (1)$$

где ΔH – теплота гелеобразования. Это уравнение, однако, может быть использовано только для обработки экспериментальных данных (поиска ΔH и const). Для решения более общей задачи – получения геля с заданными характеристиками P_{gel} , T_{gel} , $T_m(P)$ и $T_{gel}(P)$ из растворов полимеров данного класса (например, гидрогелей из водных растворов биополимеров) – оно непригодно. Для этого в рамках работы [5] требуется проведение

E-mail: igm@fromru.com (Матвеев Юрий Игнатьевич).

большого объема измерений с целью определения ΔH и const для разных систем полимер–растворитель и выбора приемлемой системы.

Ниже мы покажем, что найденное в работе [6] выражение для θ_l -температуры (НКТР) как функции концентрации полимера P в сочетании с модифицированным уравнением Гордон–Тейлора [7] позволяют рассчитать, исходя из химического строения растворителя и биополимера, основные характеристики гелеобразования: T_{gel} , P_{gel} , T_m и учесть влияние температуры приготовления геля T_{pr} на величины T_m и T_{gel} при данной концентрации полимера P . В рамках предлагаемого подхода будет оценена граница концентрации полимера, при которой еще можно говорить о пластифицирующем эффекте, учтено влияние агрегации макромолекул на данные микрокалориметрии, рассмотрены величины T_m для смесей биополимеров. Вычисления будут выполнены в основном для биополимеров, так как для них в работе [6] найдены значения θ_l -температуры и θ_u -температуры (ВКТР). Кроме того, гели биополимеров представляют большой практический интерес в области пищевых технологий, при производстве фармацевтических и косметических препаратов, а также в биологии и медицине.

ТЕМПЕРАТУРА T_{gel} И КОНЦЕНТРАЦИЯ P_{gel} ЗОЛЬ-ГЕЛЬ-ПЕРЕХОДА БИОПОЛИМЕРОВ

Для определения T_{gel} и P_{gel} необходимо иметь уравнение, связывающее эти величины между собой. В качестве такого возьмем уравнение, устанавливающее связь между характерной температурой геля T_c (пока не будем уточнять смысл этой температуры) и концентрацией полимера в растворе P . Из экспериментальных данных следует, что при увеличении содержания воды в геле его характерная температура понижается. Более того, если это водорастворимый полимер, при определенной концентрации воды мы будем иметь не полимер, образующий каркас геля, а его раствор. Такого рода зависимости, учитывающие влияние воды на характерные температуры, могут быть описаны с помощью уравнения Гордон–Тейлора [7], если в нем вместо температуры стеклования полимера взять температуру его плавления T_{mp} . Следует заметить, что уравнение Гордон–Тейлора было получено для вычисления температуры стеклования сополимеров T_g или для оценки влияния пластификаторов на T_g в слу-

чае гомополимеров. При выводе этого уравнения рассматривалось тепловое расширение удельного объема сополимера в стеклообразном и высокоЭластическом состояниях. Аналогичным образом можно получить уравнение для определения температуры плавления пластифицированного полимера, если рассматривать его как поликристалл (в этом случае обеспечивается изотропия свойств полимера, например температурного коэффициента объемного расширения). Тогда зависимость характерной температуры геля T_c от содержания воды W можно записать следующим образом:

$$T_c(W)/T_{mp} = 1 - W(1 - T_{mw}/T_{mp})/(W + (1 - W)k), \quad (2)$$

где T_{mp} и T_{mw} – температуры плавления сухого биополимера и льда, выраженные в К, а k – некоторая константа, которая, как будет показано ниже, зависит от химического строения биополимеров.

Преобразуем уравнение (2), выразив массовую долю воды W через концентрацию белка P (г/см³)

$$W = (1 + P/d_w)^{-1}$$

Здесь d_w – плотность воды в г/см³. В этом случае уравнение (2) примет вид

$$T_c(x)/T_{mp} = 1 - (1 - T_{mw}/T_{mp})/(1 + kx) \quad (3)$$

($x = P/d_w$). Вынося T_{mw}/T_{mp} перед правой частью уравнения (3), его можно записать как

$$T_c(x)/T_{mp} = (T_{mw}/T_{mp})(T_{mp}/T_{mw})kx + 1)/(1 + kx) \quad (4)$$

Уравнение Гордон–Тейлора хорошо описывает пластификацию полимеров при больших концентрациях полимера в системе полимер–вода. Однако при малых концентрациях пластификатора (соответствующих нескольким массовым процентам) зависимость температуры стеклования от состава системы имеет более сложный характер [8]. Если воспользоваться уравнением Гордон–Тейлора для описания плавления пластифицированного полимера, то можно увидеть, что оно не согласуется с поведением системы полимер–растворитель при больших концентрациях растворителя (особенно в области его замерзания).

Известно, что добавление солей, спиртов, сахаров, олигосахаридов к воде приводит к снижению температуры замерзания воды. Если мы по-

пытаемся с помощью уравнения (4) описать поведение системы полимер–растворитель в области больших концентраций растворителя, то убедимся, что это невозможно сделать. Поэтому уравнение (4) нуждается в модификации. Запишем его следующим образом:

$$T_c(x)/T_{mw} = ((T_{mp}/T_{mw})kx + f(x))/(1 + kx), \quad (5)$$

где $f(0) = 1$ (соответствует предельному переходу при $x = 0$). Разлагая функцию $f(x)$ в области малых концентраций в ряд по x и ограничиваясь членами второго порядка малости, запишем уравнение (5) в виде

$$T_c(x)/T_{mw} = 1 + ((T_{mp}/T_{mw} - 1)k + a_1 + a_2x)x/(1 + kx) \quad (6)$$

Значения констант a_1 , a_2 и k в уравнении (6) определим из данных измерений для ПВС [9]. Расчеты дают $a_1 = 0.96$, $a_2 = 3.61$ и $k = -1.23$. При найденных значениях a_1 , a_2 и k характерные точки для ПВС соответствуют: $x_2 = 0.02$, $x_{min} = 0.01$ и $T_m(0.01) = -0.1^\circ\text{C}$. Чтобы исключить влияние химического строения полимера на константы a_1 и a_2 , нормируем их на $(T_{mp}/T_{mw} - 1)$. Тогда уравнение (6) выглядит так:

$$T_c(x)/T_{mw} = 1 + (T_{mp}/T_{mw} - 1)(k + a_{10} + a_{20}x)x/(1 + kx) \quad (7)$$

Здесь константы a_{10} и a_{20} не зависят от химического строения полимера. Воспользовавшись значениями a_1 и a_2 , найденными для ПВС, получим $a_{10} = 1.14$, $a_{20} = 4.285$.

Коротко остановимся на физическом смысле константы k . По аналогии с работой [7], константу k можно записать как

$$k = (\alpha_w^{sol} - \alpha_w^{gel})/(\alpha_p^{sol} - \alpha_p^{gel}), \quad (8)$$

где α_w^{sol} , α_w^{gel} , α_p^{sol} , α_p^{gel} – коэффициенты объемного расширения воды и полимера (индексы w и p) в растворе и в геле (индексы *sol* и *gel*).

Согласно работе [1], молекулы каркаса в геле находятся в стеклообразном состоянии, а в растворе – в вязкотекучем. Кроме этого, степень полимеризации биополимеров N обычно удовлетворяет условию $N < N_c$ (N_c – критическая степень полимеризации). Учитывая эти обстоятельства можно записать, что $\alpha_p^{sol} - \alpha_p^{gel} = \alpha_L - \alpha_G$, где α_L и α_G – коэффициенты объемного расширения полимера в вязкотекучем и стеклообразном состоя-

ниях. Так как по правилу Симхи–Бойера для полимеров величина $(\alpha_L - \alpha_G)T_g \sim 0.115$, выражение (8) преобразуется к следующему виду:

$$k = ((\alpha_w^{sol} - \alpha_w^{gel})T_{mw}/0.115)T_g/T_{mw} \quad (9)$$

В дальнейшем будем полагать, что в случае водорастворимых полимеров $\alpha_w^{sol} - \alpha_w^{gel}$ не зависит от химического строения полимеров. Тогда, привлекая данные измерений для ПВС, k можно выразить как

$$k = -0.92T_g/T_{mw} \quad (10)$$

Таким образом, константа k зависит от химического строения полимера (через T_g).

Использование уравнения (9) для описания зависимости $T_{gel}(x)$ дает $k < 0$. Так как $\alpha_L - \alpha_G > 0$, найденному для ПВС значению $k < 0$ соответствует неравенство $\alpha_w^{sol} - \alpha_w^{gel} < 0$ или $\alpha_w^{sol} < \alpha_w^{gel}$. Последнее означает, что при образовании геля вода переходит в “льдоподобное” состояние.

Уравнение (7) имеет две характерные точки x в области больших концентраций воды, определяемые из условия $T_m(x)/T_{mw} = 1$: $x_1 = 0$, $x_2 = -0.215T_{mp}/T_{mw} - 0.266$. Кроме того, $T_m(x)$ имеет минимум при

$$x_{min} \sim 0.5x_2 \quad (11)$$

При выводе уравнения (11) был использован тот факт, что для биополимеров и ПВС $|kx_2| \ll 1$.

С учетом принятых обозначений уравнение (7) можно записать следующим образом:

$$T_c(x)/T_{mw} = 1 + (T_{mp}/T_{mw} - 1)a_{20}(x - x_2)x/(1 + kx) \quad (12)$$

Уравнение (12) можно использовать как для описания переходов золь–гель при охлаждении раствора полимера, т.е. зависимости $T_{gel}(x)$, так и для описания перехода гель–золь при нагревании геля, т.е. зависимость $T_m(x)$.

Анализ экспериментальных данных по ПВС [10] показывает, что началу гелеобразования по всему объему раствора соответствуют концентрация $x = x_{min}$ и температура $T_{gel}(x_{min})$. В общем случае для образования сетки геля необходимо обеспечить притяжение между молекулами рас-

творенного полимера, которое возможно при выполнении условия

$$\theta_l(x_{\min}) \leq T_{gel}(x_{\min})$$

При этом θ_l , согласно работе [6], определяется из соотношения

$$X_l = 0.158(f_1(P) - 1.473(f_1(P)T_m/T_{go} - 0.998 + 0.461f_1^2(P))^{0.5}), \quad (13)$$

где T_{go} – температура стеклования сухого полимера, $X_l = (\theta_l - T_{mw})/T_{go}$, $f_1(P) = 1 + 0.172\eta_0 P$, $\eta_0 = 0.035 \text{ мл/мг}$; выражение для $f_1(P)$ можно преобразовать к виду $f_1(P) = 1 + 0.172\eta_0 d_w x = 1 + 6.02x$. Однако, если считать, что каркас геля не содержит воды (не пластифицирован), и в качестве температуры стеклования взять температуру стеклования сухого полимера, то $\theta_l(x_{\min})$ окажется больше $T_{gel}(x_{\min})$ и при $T_{gel}(x_{\min})$ гель не образуется. Чтобы кривые $\theta_l(x)$ и $T_{gel}(x)$ пересекались, необходимо выполнение условия

$$T_g = \xi T_{go}, \quad (14)$$

где $\xi < 1$, т.е. полимерный каркас должен быть пластифицирован. Подставляя в уравнение (13) выражение (14) и беря $\theta_l(x_{\min}) = T_{gel}(x_{\min})$, найдем ξ . В случае раствора ПВС (при $x_{\min} = 0.01$, $T_{gel}(0.01) = -0.1^\circ\text{C}$) $\xi = 0.796$, т.е. полимерный каркас пластифицирован.

Как показывают расчеты и экспериментальные данные для двух предельных случаев по температуре стеклования полимера (данные [10, 11] для ПВС, имеющего минимальную T_g , и амилопектин, имеющего максимальную T_g), в области, где кривая $X_l(P)$ пересекается с кривой $T_{gel}(P)$, величина $X_l(P_{gel}) \sim 0$. Поэтому P_{gel} можно найти из условия $X_l(P_{gel}) = 0$, и тогда

$$P_{gel} = 0.166d_w(\xi T_g/T_{mw} - 1) \quad (15)$$

Из выражения (15) следует, что P_{gel} существенно зависит от степени пластификации полимера ξ . Определим влияние химического строения полимера, т.е. T_g , и температуры приготовления геля T_{pr} на величину ξ . Пусть $\xi = f(T_g/T_{pr})$. Ограничиваюсь первым членом разложения по T_g/T_{pr} , можно записать

$$\xi = \xi_0 + \xi' T_g/T_{pr}$$

Для определения ξ_0 и ξ' воспользуемся данными по ПВС [10] и амилопектину [11]. Выбор полимеров диктовался тем, что они имеют сильно отличающиеся значения T_g и разные температуры приготовления геля T_{pr} . Беря ξ из выражения (15), а P_{gel} из экспериментальных данных для ПВС ($P_{gel} = 5 \text{ мг/мл}$, $T_{pr} = -20^\circ\text{C}$) и амилопектина ($P_{gel} = 1 \text{ мг/мл}$, $T_{pr} = -6^\circ\text{C}$), получим систему уравнений для определения ξ_0 и ξ' . Расчеты дают $\xi_0 = 1.376$, $\xi' = -0.42$. Окончательное соотношение для P_{gel} примет вид

$$P_{gel} = 0.166d_w((1.376 - 0.42T_g/T_{pr})T_g/T_{mw} - 1) \quad (16)$$

Анализ выражения (16) показывает, что при повышении температуры приготовления геля T_{pr} величина P_{gel} растет. При этом T_{pr} меняется в ограниченных пределах: $-31^\circ\text{C} \leq T_{pr} < 100^\circ\text{C}$, где нижний предел определяется из уравнения (16) при $P_{gel} \sim 0$, а верхний предел соответствует величине θ_u для биополимеров.

В таблице приведены значения параметров гелеобразования P_{gel} и T_{gel} при $T_{pr} = -3^\circ\text{C}$ для ряда биополимеров, широко используемых в практических целях. Расчеты показывают, что для рассмотренных белков P_{gel} слабо зависит от их химического строения. Поэтому с погрешностью $\leq 2\%$ в качестве P_{gel} для белков можно взять его среднее значение 18.6 мг/мл. Разброс значений P_{gel} у полисахаридов больше $\sim 30\%$, а среднее значение $\sim 3.4 \text{ мг/мл}$. Аналогичные тенденции (меньшие значения средних физических величин у полисахаридов по сравнению с белками) наблюдаются и при определении других параметров (например, постоянных Вильямса–Ландела–Ферри [12]). Значения T_{gel} находятся в пределах $-0.62\ldots-2.32^\circ\text{C}$ и близки к температуре приготовления геля T_{pr} . Однако, как показывают расчеты и экспериментальные данные, P_{gel} сильно зависит от температуры приготовления геля. Так, в случае ПВС при $T_{pr} = -20^\circ\text{C}$ расчеты приводят к $P_{gel} = 4.9 \text{ мг/мл}$, но $T_{gel} = -0.61^\circ\text{C}$.

ТЕМПЕРАТУРА ПЛАВЛЕНИЯ ГЕЛЯ T_m КАК ФУНКЦИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОЛИМЕРА

Как показывают опыты, при нагревании гели плавятся при температуре T_m , которая больше температуры гелеобразования T_{gel} . Различие между T_m и T_{gel} может быть связано с тем, что при

Гелеобразующие свойства водных растворов биополимеров

Биополимер	T_g , °C	T_{mp} , °C	P_{gel}^* , мг/мл	T_{gel} , °C	T_m , °C
α-Казеин	152	176	18.7	-1.0	16.5
β-Казеин	148	171	18.6	-0.91	16.7
α-Лактальбумин	159	184	18.9	-1.15	16.4
β-Лактоглобулин	146	169	18.5	-0.87	16.8
Овальбумин	157	192	18.9	-1.3	17.2
Желатин	207	243	17.7	-2.32	18.6
Глютенин	189	220	18.7	-1.88	16.9
Глиадин	179	208	18.9	-1.63	16.5
БСА	152	177	18.7	-1.02	16.6
Амилоза	302	311	2.4	-0.62	51.6
Амилопектин	294	303	4.3	-1.03	46.1
ПВС	92	230	13.4	-1.57	36.7

* При температуре приготовления геля $T_{pr} = -3^\circ\text{C}$.

нагревании геля его каркас теряет часть воды. Это соответствует тому, что в уравнении (7) меняется коэффициент k . Обозначим этот новый коэффициент через k_1 , при этом будем полагать, что $k_1 = k + \Delta$. С учетом сказанного выше, уравнение (7) примет вид

$$\frac{T_m(x)}{T_{mw}} = \frac{1 + (T_{mp}/T_{mw} - 1)(k + \Delta + a_{10} + a_{20}x)x/(1 + (k + \Delta)x)}{(17)}$$

Разлагая правую часть уравнения (17) в ряд по Δ и ограничиваясь членами первого порядка малости, получим уравнение для $T_m(x)$

$$\frac{T_m(x)}{T_{mw}} = \frac{(T_{gel}(x)/T_{mw}) + \phi(x)}{(18)}$$

где $\phi(x) = (\Delta x/(1 + kx)^2)(T_{mp}/T_{mw} - 1)(1 - a_{10}x - a_{20}x^2)$.

Используя значения k , a_{10} и a_{20} для ПВС, приведенные выше, и экспериментальные величины $T_m(x)$, взятые из работы [13], а также учитывая, что $\phi(x) = (T_m(x) - T_{gel}(x))/T_{mw}$, найдем Δ . Вычисления показывают, что Δ меняется при изменении концентрации x . Это связано с тем, что $\phi(x)$ зависит от x более сложным образом. Определим зависимость Δ от x из экспериментальных данных для ПВС. Она имеет гиперболический характер: $\Delta(x) = (0.16/x) + 0.26$. Соответственно произведение Δx можно записать как $\Delta x = A(x + 0.615)$, где $A = 0.26$ в случае ПВС.

Расчеты $\phi(x)$ для различных полимеров (таблица) показывают, что коэффициент A зависит

от химического строения полимера. Воспользовавшись данными по T_m при $P = P_{gel}$ для амилопектина [11], желатина [5] и ПВС, полученными в настоящей работе, найдем зависимость A от T_g

$$A = 0.916(T_g/T_{mw})^2 - 3.142(T_g/T_{mw}) + 2.824$$

Соответственно $\phi(x)$ в окончательном виде можно записать следующим образом:

$$\phi(x) = \phi_0(x + 0.615)(1 - 1.14x - 4.285x^2)/(1 - 0.92(T_g/T_{mw})x)^2, \quad (19)$$

где

$$\phi_0 = 0.916[(T_g/T_{mw})^2 - 3.43(T_g/T_{mw}) + 3.083](T_{mp}/T_{mw} - 1) \quad (20)$$

При концентрации $x \rightarrow 0$ ($P_{gel} \rightarrow 0$) величина $T_{gel}(x) \rightarrow T_{mw}$, а $\Delta T_{gel} \rightarrow 0$. Однако $T_m(x \rightarrow 0) \rightarrow \phi_0 T_{mw}$, т.е. к конечному значению. Это означает, что даже при ничтожно малых концентрациях биополимера в воде его воздействие на воду ("льдоподобное" состояние) настолько велико, что плавление такой воды можно обнаружить при температурах $T_m(x \rightarrow 0)$.

На рис. 1 приведены зависимости $T_m(x \rightarrow 0)$ от T_g/T_{mw} при разных коэффициентах $\gamma = T_g/T_{mp}$, построенные на основании выражения (20). Диапазон T_g/T_{mw} определялся границами изменения T_g [14], при которых возможен переход $x \rightarrow 0$. Нижняя граница $T_m(x \rightarrow 0)$ соответствует предель-

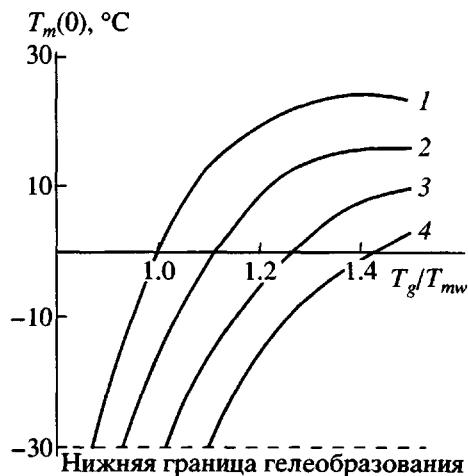


Рис. 1. Зависимости температуры плавления “льдоподобных” структур $T_m(x \rightarrow 0)$ от относительной температуры стеклования полимера или низкомолекулярного вещества T_g/T_{mw} при разных $\gamma = T_g/T_{mp}$: $\gamma = 1$ (1), 0.9 (2), 0.8 (3) и 0.7 (4).

ной температуре образования геля $T_{pr} = -31^\circ\text{C}$. Область изменения γ задавалась от 1 (округленно соответствует биополимерам – белкам и полисахаридам) до 0.7 (отвечает низкомолекулярным соединениям типа сахарозы, глюкозы, сорбита). Видно, что при переходе от высокомолекулярных соединений к низкомолекулярным веществам (уменьшение γ) температура плавления “льдоподобного” состояния сильно понижается, особенно при уменьшении T_g . При $\gamma = 1$ функция $T_m(x \rightarrow 0)$ имеет максимум $T_m(x \rightarrow 0) = 24.1^\circ\text{C}$ при $T_g/T_{mw} = 1.4$.

Анализ гелеобразного состояния на основании предлагаемого подхода наводит на мысль, что температура плавления геля $T_m(x)$ есть не что иное, как температура плавления воды, находящейся в “льдоподобном” состоянии. Эта вода, согласно работе [1], фактически является разбавленным раствором биополимера. Она содержит малое количество полимерных молекул, концентрация которых влияет на температуру плавления геля. Однако при понижении концентрации полимера мы выходим на предельную температуру $T_m(x \rightarrow 0)$, когда макромолекул недостаточно для образования каркаса геля, но вполне достаточно для образования “льдоподобного” состояния. При этом в случае криогелей замораживание воды в этой фазе способствует образованию “льдоподобного” состояния в процессе оттаива-

ния. Однако при $x = 0$ или x , близких к нулю, “льдоподобное” состояние исчезает.

Плавление “льдоподобного” состояния может быть обнаружено с помощью светорассеяния, когда флуктуации параметров жидкости в области температуры плавления начинают резко расти. При этом зависимость температуры плавления этих структур от степени полимеризации будет подчиняться уравнению (20).

Заметим, что полученные значения $T_m(x)$ меньше Θ_u . Кроме того, при $x = x_e = 0.368$ выполняется условие $T_m(x_e) = T_{gel}(x_e)$, т.е. происходит слияние T_m и T_{gel} . Однако значение $x_e = 0.368$ находится за пределами аппроксимации, принятой в данной работе, и не имеет физического смысла. Напомним, что все константы были получены при аппроксимации $T_{gel}(x)$ в области концентраций $0.09 \leq x \leq 0.2$.

СЛЕДСТВИЯ ИЗ ПРЕДЛОЖЕННОГО ПОДХОДА

Влияние агрегации молекул на данные микрокалориметрии

Экспериментальные исследования растворов денатурированных белков в диапазоне температур 30–130°C показывают [15], что при их нагревании имеет место фазовый переход первого рода, температура которого больше температуры денатурации отдельной молекулы белка, а энталпия растет с повышением концентрации белка. В рамках развитого выше подхода можно выполнить ряд числовых оценок результатов работы [15], и проанализировать причины этого перехода.

Согласно уравнениям (18) и (19) и данным таблицы, в случае овальбумина при его концентрации в растворе $P = 10 \text{ мг/мл}$ гель не образуется, но белок способен влиять на температуру плавления “льдоподобного” состояния. Так как в области $0 \leq P \leq P_{gel}$ выполняется соотношение $T_m(0.01) \sim T_{mw}$, все будет определяться функцией $\phi(x)$. При $x = P/d_w = 0.01$ функция $\phi(0.01) = 0.104$ и $T_m = 17.5^\circ\text{C}$, т.е. должен наблюдаться переход, связанный с плавлением “льдоподобного” состояния воды, обусловленного воздействием белка на структуру воды.

В диапазоне температур от 30°C до Θ_u (верхняя критическая температура расслоения раствора,

составляющая для овальбумина 99.3°C [6]) происходит агрегация денатурированных макромолекул овальбумина в кластеры. При $T > \theta_u$ кластеры распадаются из-за отталкивания макромолекул между собой, причем этот распад реализуется в виде фазового перехода первого рода при $T = 100^\circ\text{C}$ [15], т.е. при температуре, близкой к θ_u . Это означает, что в области температур $\theta_l \leq T \leq \theta_u$, кроме фазовых переходов, связанных с плавлением “льдоподобных” структур, существует еще один переход, обусловленный плавлением кластеров.

Процессы агрегации макромолекул при $T < \theta_u$, влияние на них концентрации полимера были исследованы в работе [16] на примере раствора ПММА в изоамилацетате. Было показано, что с повышением концентрации полимера размер кластеров увеличивается быстрее (характерное время роста кластера τ уменьшается с ростом концентрации полимера P как $\tau \propto P^{-1}$). Поэтому при заданных скорости сканирования температуры и концентрации полимера в растворе, размер кластера будет тем больше, чем больше концентрация полимера (в работе [15] концентрация полимера была в 10 раз больше, чем в работе [16]). Соответственно возрастет энタルпия перехода такого кластера. Однако при заданном времени роста (скорости сканирования температуры) кластер не может вырасти больше определенной величины, даже если концентрация раствора будет повышаться. Поэтому энталпия перехода при плавлении такого кластера перестанет меняться [15].

*Концентрация полимера,
при которой еще можно говорить
о пластифицирующем эффекте*

Рассмотрим поведение системы полимер–вода в области концентраций полимера $x > 0.2$ (за пределами границы аппроксимации функции (12)). Для этого представим функцию (5) в виде

$$\begin{aligned} (T_{gel}(x) - T_{mw})/(T_{mp} - T_{mw}) &= \\ &= (kp(x) + f(x) - 1)/(1 + kp(x)) \end{aligned} \quad (21)$$

Известно [1], что у геля желатина при $x > 0.2$ зависимости $T_{gel}(x)$ и $T_m(x)$ являются практически линейными, т.е.

$$(T_{gel}(x) - T_{mw})/(T_{mp} - T_{mw}) = \alpha_0(x - x_0)$$

Полагая, что у всех биополимеров зависимость $T_{gel}(x)$ имеет линейный характер при $x > x_0$ (некоторой характерной концентрации), найдем выражение для α_0 как функции химического строения биополимера.

Разложим правую часть соотношения (21) в ряд. Ограничивааясь членами первого порядка малости по $x - x_0$, получим

$$\alpha_0 = (1 - f(x_0)kp'(x_0) + (1 + kp(x_0))f'(x_0))/(1 + kp(x_0))^2$$

Зависимость α_0 от химического строения выражается через коэффициент k , так как функции $f(x)$ и $p(x)$ от химического строения не зависят.

В общем случае задача об определении α_0 может быть решена, если известно асимптотическое поведение функций $p(x)$ и $f(x)$ при $x \rightarrow \infty$. Однако для этого необходимо построить физическую модель гелеобразования. Ниже для оценки коэффициентов при k в выражении для α_0 воспользуемся следующим приемом. Возьмем в качестве функций $p(x)$ и $f(x)$ их выражения при $x \leq 0.2$. Тогда первая производная от $T_{gel}(x)$ внутри интервала $0 \leq x \leq 0.2$ запишется как

$$\alpha_0 = (k + a_{10} + 2a_{20}x + a_{20}kx^2)/(1 + kx)^2$$

Подберем такое x_{01} , чтобы при $x > 0.2$ величина $\alpha_0(x_{01})$ соответствовала экспериментальному значению α_0 для желатина [1]. Это будет $x_{01} = 0.057$. Тогда

$$\alpha_0 = (1.667 - 0.93T_g/T_{mw})/(1 - 0.052T_g/T_{mw})^2$$

$$T_{gel}(x) = T_{gel}(0.2) + \alpha(x - 0.2),$$

где $\alpha = (T_{mp} - T_{mw})\alpha_0$.

Анализ выражения для α в зависимости от T_g показывает, что с увеличением T_g коэффициент α стремится к нулю. Учитывая, что для определения числовых коэффициентов в выражении для α_0 были использованы данные по желатину, при оценке $T_{gel}(x)$ и $T_m(x)$ для биополимеров, имеющих более высокие T_g , будем полагать, что $\alpha_0 = 0$, если расчеты дают $\alpha_0 < 0$.

При определении $T_m(x)$ в области $x > 0.2$ воспользуемся выражением (19) и тем экспериментальным фактом, что для желатина кривые $T_{gel}(x)$ и $T_m(x)$ являются эквидистантными. В этом случае $\phi(x > 0.2) = \text{const}$, а точка x_{02} , при

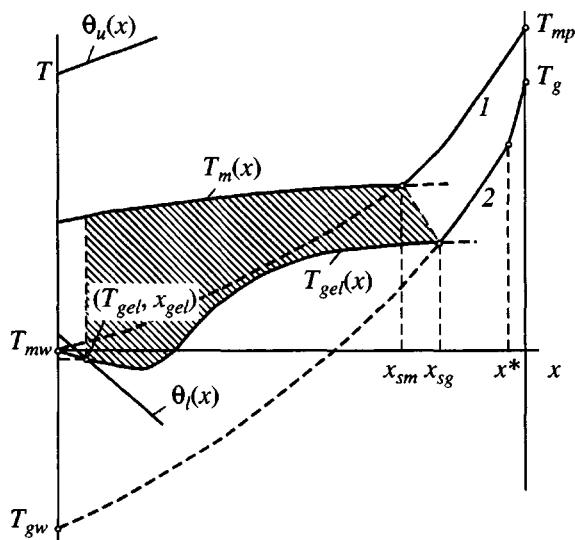


Рис. 2. Концентрационные зависимости температур переходов гель-золь $T_m(x)$ и золь-гель $T_{gel}(x)$ в коагуляционных гелях. x_{gel} , T_{gel} – концентрация и температура начала гелеобразования, x_{sm} , x_{sg} – концентрации перехода пластифицированного полимера (соответственно кристаллического и аморфного) в гелеобразное состояние, x^* – предельная концентрация полимера, при которой действует механизм пластификации Журкова. Заштрихована область существования геля. $\theta_u(x)$ и $\theta_l(x)$ – концентрационные зависимости θ -температур биополимера в растворе. 1 и 2 – зависимости температур плавления и стеклования биополимера от содержания воды (кривые пластификации); в области, где их аналитическое продолжение лишено физического смысла, они обозначены штриховыми линиями.

которой $T_{mw}\phi(x_{02})$ соответствует данным по жевательной резине, равна $x_{02} = 0.36$. Тогда

$$T_{mw}\phi(x_{02}) = 8.98\phi_0/(1 - 0.34T_g/T_{mw})^2$$

и

$$T_m(x) = T_m(0.2) + \alpha(x - 0.2)$$

Здесь $T_m(0.2) = T_{gel}(0.2) + T_{mw}\phi(x_{02})$.

Точки пересечения x_{sm} и x_{sg} кривых пластификации $T_{mp}(x)$ и $T_g(x)$ с кривыми $T_m(x)$ и $T_{gel}(x)$ соответственно будут теми граничными концентрациями, начиная с которых процесс пластификации полимера (при увеличении концентрации воды) переходит в процесс гелеобразования. Если в пластифицированном состоянии система полимер–вода является однофазной и при повышении концентрации воды наблюдается только набухание

полимера, то при $x < x_{sm}$ (или x_{sg}) происходит разрыв сплошности полимера, образуется капиллярно-пористая структура, заполненная разбавленным раствором полимера, вода в порах переходит в “льдоподобное” состояние и понятие пластификации теряет смысл. Далее мы будем иметь либо гель, либо раствор мицелл при $x < x_{gel}$.

При $x > x_{sm}$ (или x_{sg}) коэффициент k меняет знак; в этом нетрудно убедиться, если описать пластифицирующее действие воды с помощью исходного уравнения Гордон–Тейлора (3). Иначе говоря, при $x > x_{sm}$ (или x_{sg}) вода в полимерной матрице ведет себя обычным образом (так что $\alpha_w^{sol} > \alpha_w^{gel}$), но ее коэффициент объемного расширения отличается от такового для чистой воды. Соответственно при $x > x_{sm}$ (или x_{sg}) концентрационные зависимости $T_m(x)$ и $T_{gel}(x)$ будут описываться кривыми пластификации.

Таким образом, попытка построить гладкую кривую пластификации биополимера во всем диапазоне концентраций воды ($0 \leq W \leq 1$) заведомо обречена на провал с физической точки зрения. Это связано с тем, что при низких концентрациях полимера $x < x_{sm}$ (или x_{sg}) происходит его растворение и переход в гелеобразное состояние (другое агрегатное состояние системы полимер–вода), а при высоких концентрациях полимера имеет место излом кривой пластификации, связанный с действием механизма пластификации Журкова [8].

На рис. 2 схематически изображена фазовая диаграмма системы биополимер–вода с отмеченными на ней характерными точками, найденными в данной работе. Здесь x_{sm} – точка пересечения $T_m(x)$ и кривой пластификации кристаллического полимера $T_{mp}(x)$, а x_{sg} – точка пересечения $T_{gel}(x)$ и кривой пластификации аморфного полимера $T_g(x)$. В общем случае x_{sm} и x_{sg} не совпадают из-за более медленного спада $T_{mp}(x)$, чем $T_g(x)$ [17].

Оценим значения $T_{mw}\phi(x_{02})$ и α для биополимеров, имеющих предельные значения температур T_g и T_{mp} . В случае ПВС получим $\phi_0 = 0.22$, $T_g/T_{mw} = 1.337$, $T_{mw}\phi(x_{02}) = 6.6^\circ\text{C}$, $\alpha = 112.5^\circ\text{C}$. Найденное значение α позволяет вычислить для ПВС величину $T_{gel}(0.3)$, которая соответствует экспериментальному значению [4, 8], и $T_m(0.3)$. В случае β -лактоглобулина имеем $\phi_0 = 0.0987$, $T_g/T_{mw} = 1.535$, $T_{mw}\phi(x_{02}) = 3.8^\circ\text{C}$, $\alpha = 47.8^\circ\text{C}$.

Заметим, что если синтетические полимерные материалы используются в основном области $x > x_{sg}$, то для биополимеров в их различных приложениях (биология, пищевая и фармокологическая промышленности) основной интерес представляет область $0 < x < x_{sg}$, т.е. область растворов и гелей.

T_m для смеси биополимеров

В большинстве случаев, представляющих практический интерес, приходится иметь дело с гелеобразованием в смеси биополимеров. При этом важно знать такую характеристику как T_m , которая определяет границу устойчивости геля при нагревании. Рассмотрим такой распространенный процесс как гелеобразование в процессе перемешивания (замеса), когда в зависимости от времени перемешивания образуется гель определенной вязкости. Так как в процессе перемешивания исходных компонентов вязкость растет, то соответственно увеличивается количество энергии, передаваемое в единицу времени формирующемуся гелю, а следовательно, возрастает его температура. Зная T_m для смеси, можно найти предельное время формирования геля.

Рассмотрим на примере теста (смеси глиадина, глютенина и крахмала) метод определения температуры плавления геля T_m . Согласно работе [18], крахмал не принимает участия в замесе и находится в тесте в виде твердых зерен. Поэтому при вычислении T_m ограничимся рассмотрением смеси белков.

Обычно при замесе теста используют ~36–42 мас. % воды. Возьмем среднее количество воды 40 мас. %, т.е. $W = 0.4$, $P/d_w = 1.5$. В пшеничной муке высшего сорта содержится белков 11%, крахмала 74%. Полагая, что мука состоит только из белка и крахмала, найдем концентрации компонентов (путем перенормировки) в такой модельной среде: содержание белка 13%, крахмала 87%. Соответственно, для белка $P/d_w = 0.195$. Так как соотношение между глютенином (glu) и глиадином (gli) равно 1 : 1 [18], зная P/d_w для белка можно найти $T_{gel}(x)$ и $T_m(x)$ глютенина и глиадина по данным таблицы и выражениям (12), (18)–(20). Для упрощения оценок будем полагать, что глютенин и глиадин совместимы. В этом случае будет существовать одна температура плавления геля белка $T_m(x)_{pr}$, определяемая из условия

$$T_m(x)_{pr}^{-1} = 0.5(T_m(x)_{glu}^{-1} + T_m(x)_{gli}^{-1})$$

Вычисления с помощью выражений (12), (18)–(20) дают следующие значения T_m для компонентов белка при заданной концентрации $x = 0.0975$ и температуре приготовления геля $T_{pr} = 0^\circ\text{C}$: $T_m(0.0975)_{glu} = 22.3^\circ\text{C}$, $T_m(0.0975)_{gli} = 26^\circ\text{C}$. Соответственно температура плавления геля $T_m = 24.2^\circ\text{C}$.

Если температура приготовления геля берется выше (а она обычно определяется температурой воды T_w), то возрастет температура плавления геля, так как $T_{gel} \sim T_{pr} \sim T_w$. Поэтому можно предложить следующую приближенную формулу для определения $T_m(x)$:

$$T_m(x) = T_w + T_{mw}\Phi(x)$$

В случае $T_w = 15^\circ\text{C}$, $T_m(x) = 39.2^\circ\text{C}$.

Обычно все последующие процессы переработки геля настраивают на его определенную температуру. Поэтому путем регулирования температуры воды и времени замеса можно добиться получения геля необходимого качества (по температуре и вязкости). При замесе геля до температуры выше $T_m(x)_{pr}$ появляется оптимум по подводимой мощности, так как при $T > T_m(x)_{pr}$ гель начинает плавиться и его вязкость падает. Таким образом, предельной температурой завершения замеса теста является температура плавления геля клейковины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование уравнения Гордон–Тэйлора, а также уравнения для θ_l -температуры позволяет определить все параметры гелеобразования, т.е. минимальную концентрацию P_{gel} и соответствующие ей температуры гелеобразования T_{gel} и плавления геля T_m , концентрационные зависимости $T_{gel}(x)$ и $T_m(x)$. Найденные зависимости могут быть использованы при решении многих вопросов, связанных с получением и применением гелей из биополимеров различного химического строения.

Анализ поведения гелей в широком диапазоне изменения концентраций растворителя показывает, что понятие пластификации теряет смысл, когда появляются две фазы – одна насыщенная полимером (каркас геля), а другая, насыщенная

водой. В рамках выполненных оценок и полученных ограничений на процесс пластификации многие биологические структуры, включающие в себя биополимеры, по содержанию воды и агрегатному состоянию являются скорее гелями, чем пластифицированными полимерами. Поэтому в ряде случаев, когда рассматривается чисто химическое воздействие на ткани биологических структур (а не воздействие химических веществ на процессы регуляции в тканях), гели биополимеров могут быть использованы как модели этих структур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Папков С.П. Студнеобразное состояние полимеров. М.: Химия, 1974.
2. Липатов Ю.С. Коллоидная химия полимеров. Киев: Наукова думка, 1984.
3. Измайлова В.Н., Ребиндер П.А. Структурообразование в белковых системах. М.: Наука, 1974.
4. Hiltner A. // Polymer Handbook / Ed. by Brandrup J., Immergut E.H. New York: Wiley, 1989. P. VII/591.
5. Eldridge J.E., Ferry J. // J. Phys. Chem. 1954. V. 58. № 18. P. 992.
6. Matveev Yu.I. // Высокомолек. соед. А. 2000. Т. 42. № 9. С. 1554.
7. Gordon M., Taylor J.S. // J. Appl. Chem. 1952. V. 2. Pt 9. P. 493.
8. Matveev Yu.I., Grinberg V.Ya., Tolstoguzov V.B. // Food Hydrocolloids. 2000. V. 14. № 5. P. 425.
9. Komatsu M., Inone T., Miyasaka K. // J. Polym. Sci. Polym. Phys. 1986. V. 24. № 2. P. 303.
10. Damshkalin L.G., Simenel I.A., Lozinsky V.I. // J. Appl. Polym. Sci. 1999. V. 74. № 9. P. 1978.
11. Lozinsky V.I., Damshkalin L.G., Brown R., Norton I.T. // J. Appl. Polym. Sci. 2000. V. 75. № 8. P. 1740.
12. Matveev Yu.I., Levine H., Slade L. // Food Hydrocolloids. 2000. V. 13. № 5. P. 381.
13. Лозинский В.И., Домотенко Л.В., Вайнерман Е.С., Рогожин С.В. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т. 31. № 9. С. 1805.
14. Matveev Yu.I. // Высокомолек. соед. А. 1997. Т. 39. № 4. С. 690.
15. Grinberg V.Ya., Burova T.V., Grinberg N.V., Mashkevich A.Ya. // Food Proteins: Structure and Functionality / Ed. by Schwenke K.D. Mothes R. Weiheim: VCH, 1993. P. 40.
16. Nakato M., Nakagava T., Nakamura Y., Wakatsuki S. // J. Chem. Phys. 1999. V. 110. № 5. P. 2711.
17. Козлов П.В., Папков С.П. Физико-химические основы пластификации полимеров. М.: Химия, 1982.
18. Козьмина Н.П. Биохимия хлебопечения. М.: Пищевая пром-сть, 1978.

A Method of Calculating Gelation Parameters in Aqueous Solutions of Biopolymers

Yu. I. Matveev

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
ul. Vavilova 28, Moscow, 119991 Russia

Abstract—The proposed set of equations makes it possible to determine the temperature T_{gel} and concentration P_{gel} of the transition of a biopolymer solution into the gel-like state (the sol–gel transition) and the gel melting temperature T_m (the gel–sol transition). The resultant expressions for T_{gel} , P_{gel} , and T_m depend on constants that are universal for aqueous solutions of biopolymers, melting points of biopolymers T_{mp} , and their glass transition temperatures T_g . One can thus establish how the chemical structure of a biopolymer affects its T_{gel} , P_{gel} , and T_m values. The relationships between the gelation temperatures T_{gel} and gel melting temperatures T_m and the biopolymer concentration P at $P > P_{gel}$ are found. The constants of the equations are derived from the experimental data for poly(vinyl alcohol) and gelatin. On the basis of the resultant expressions, T_{gel} , P_{gel} , and $T_m = f(P_{gel})$ are calculated for a number of proteins (casein, α -lactalbumin, β -lactoglobulin, ovalbumin, glutennin, gliadin, and bovine serum albumin) and starch. The calculated results agree well with the experimental data. Within the framework of the proposed approach, the concentration limits of the plasticizing action of water are also determined and the melting temperatures of gels of biopolymer mixtures are estimated.