

УДК 539.143.43:541.182

## ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ МЕЖФАЗНЫХ АДСОРБЦИОННЫХ СЛОЕВ ЖЕЛАТИНЫ НА ЖИДКИХ ГРАНИЦАХ РАЗДЕЛА

Б.Н. Тарасевич, В.Н. Измайлова

(кафедра органической химии, кафедра коллоидной химии)

На основании экспериментальных данных по адсорбции желатины из ее водного раствора на границе раздела с жидкими неполярными фазами предложена качественная модель динамических процессов, приводящих к образованию межфазных адсорбционных слоев (МАС). Представлены величины толщин МАС, определенные методом нарушенного полного внутреннего отражения, проведена оценка величин коэффициентов диффузии и времен релаксации макромолекул МАС.

Межфазные адсорбционные слои (МАС) белков, образуются на границах раздела водный раствор белка – неполярная фаза (воздух). Исследования закономерностей динамики формирования межфазных МАС желатины актуальны по ряду причин теоретического и прикладного характера и включают различные направления. Существующие представления о реологических и структурно-механических свойствах МАС, развитые в ряде основополагающих работ [1–4], могут быть углублены на основе исследований динамики сгущения массы в межфазном слое, выполненных с использованием метода ИК-спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).

### Экспериментальная часть

В работе использовали фотографическую обессоленную желатину, очищенную по методу Леба [10], ее молекулярно-массовое распределение показано в табл. 1.

Предложенный и развитый нами экспериментальный подход к получению ИК-спектров межфазных адсорбционных слоев основан на их переносе с границы раздела жидких фаз на поверхность плоского оптического элемента внутреннего отражения методом, сходным с методом Ленгмюра–Блоджетт [7–10]. Физические основы и техника эксперимента спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) подробно изложены в [11–15].

Т а б л и ц а 1

Распределение молекулярных масс желатины, определенное методом ВЭЖХ-хроматографии [5, 6]

Молекулярная масса	$2.69 \cdot 10^3$	$54.01 \cdot 10^3$	$144.54 \cdot 10^3$	$891.22 \cdot 10^3$
Количество, %	2.67	58.31	34.04	4.98

В качестве основных аналитических полос в ИК-области выбраны полосы Амид А ( $3300 \text{ см}^{-1}$ ) и Амид I ( $1660 \text{ см}^{-1}$ ). Для проверки результатов, полученных методом НПВО, проведены эллипсометрические измерения толщин перенесенных слоев для одних и тех же образцов [9]. Несмотря на то что при проведении количественных оценок толщин перенесенных МАС приходится использовать некоторые допущения, полученные величины находятся в удовлетворительном согласии с результатами независимых измерений методом эллипсометрии. Наряду с представлением о геометрических и эффективных толщинах  $d$  (нм) на МАС [11] мы использовали и величины сгущения массы белка в межфазном слое  $\Gamma$  ( $\text{г}/\text{см}^2$ ). Методы измерения реологических параметров МАС подробно изложены в монографии [2].

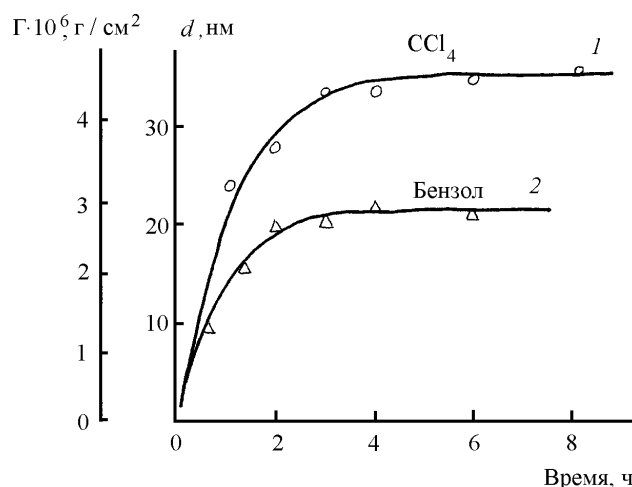


Рис. 1. Зависимости толщин МАС ( $d$  нм) и сгущения массы  $\Gamma$  ( $\text{г}/\text{см}^2$ ) желатины на границах: 1 – водный раствор – четыреххлористый углерод, 2 – водный раствор – бензол ( $T = 20^\circ\text{C}$ , концентрация желатины в воде 0.3 мас.%, pH 4.9)

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 показаны примеры зависимостей  $d_{эф}$  и  $\Gamma$  от времени для границ водных растворов желатины с бензолом и четыреххлористым углеродом. Время достижения предельных значений адсорбции на жидких границах раздела фаз достигает нескольких часов. Длительность формирования МАС обусловлена следующими факторами: а) диффузией макромолекул и их агрегатов из объема водного раствора на границу раздела; б) энергетическим барьером процесса выхода макромолекул на поверхность раздела; в) поверхностной диффузией макромолекул; г) структурированием адсорбционного слоя белка с особыми реологическими свойствами. В табл. 2 представлены времена достижения максимальной адсорбции желатины по данным НПВО на разных границах раздела. В случае диффузионного механизма адсорбции из растворов для ряда систем [1] показана выполнимость уравнения:

$$\Gamma = 2 C_0 \sqrt{D \tau / \pi},$$

где  $D$  – коэффициент диффузии,  $\tau$  – время адсорбции,  $C_0$  – начальная концентрация белка в водной фазе. Из полученных временных зависимостей были определены величины коэффициентов диффузии макромолекул желатины для водного раствора. В среднем эта величина оказалась равной  $1.5 \cdot 10^{-10}$  см<sup>2</sup>/с. Это значение на два-три порядка ниже, чем те, которые можно было бы ожидать на

основании расчетов по уравнению Марка–Куна–Хувинка [16–17]

$$D = K_D \cdot M^{-b},$$

где  $K_D$  и  $b$  – постоянные.

Для исследуемого образца желатины с учетом массово-вещного распределения эти величины оказались в интервале  $5.1 \cdot 10^{-8} - 4.47 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с. Полученные данные согласуются с выводом об агрегировании макромолекул желатины в водном растворе [4, 19].

Существенное отличие адсорбции макромолекул от адсорбции низкомолекулярных веществ возникает из-за большого числа конформаций, которые может принимать гибкая макромолекула как в объеме раствора, так и на границе раздела, а также по причине многоточечного закрепления макромолекулы [18]. Для высокомолекулярных ПАВ, к которым относятся белки, характерна полимолекулярная адсорбция, что может приводить к возникновению новой фазы и структурированию межфазного слоя ВПАВ. Эти и другие особенности позволяют расширить понятие адсорбции и говорить о межфазном сгущении массы адсорбата – межфазных адсорбционных слоях. На основе данных по сгущению массы желатины на каплях эмульсии бензола в воде [20], полученных независимым методом, был сделан вывод о том, что концентрация желатины в МАС соответствует концентрированному гелю, а толщина межфазного адсорбционного слоя, находящегося непосредственно на границе раздела жидких фаз больше толщины перенесенного на поверхность элемента МНПВО слоя, как минимум, на 30–40%. Приближенные значения толщин МАС можно использовать для нормировки величин их реологических параметров.

Количественное описание динамики процесса «сгущения массы»  $\Gamma = f(t)$  можно проводить в координатах  $\ln[\Gamma_{\max} / (\Gamma_{\max} - \Gamma_{\tau})] - \tau$ . В этих координатах кинетические зависимости выражаются в виде прямых линий

$$k\tau = \ln[\Gamma_{\max} / (\Gamma_{\max} - \Gamma_{\tau})],$$

где  $k$  – константа скорости увеличения массы адсорбата на межфазной границе (с<sup>-1</sup>),  $\tau$  – время (с),  $\Gamma_{\tau}$  – адсорбция, достигаемая за время  $\tau$ . Возможность применения этого уравнения была показана при описании сгущения массы желатины (а также и других глобулярных белков) на поверхностях полимеров [21], что позволило вычислить константы скорости адсорбции  $k_{ад}$ , равные  $0.072 - 0.132$  с<sup>-1</sup> [7]. На основании измерений их температурных зависимостей в интервале 283–328 К были определены кажущиеся энергии активации  $E_{акт}$  образования МАС. Полученные значения  $E_{акт}$  имеют порядок 11–14 кДж/моль для разных глобулярных белков и согласуются со значениями энергии активации разрушения МАС [22].

Использование уравнения Ребиндера [23]

$$\lg(\Gamma_{\infty} - \Gamma_{\tau}) = \lg(\Gamma_{\infty} - \Gamma_0) - (\tau/2.3 \cdot \Theta_r),$$

Т а б л и ц а 2

**Время достижения максимальной адсорбции ( $t$ , мин), предельные значения величин адсорбции ( $\Gamma$ , г/см<sup>2</sup>) и толщин МАС ( $d$ , нм) желатины на границах раздела водного раствора желатины и неполярной фазы (концентрация желатины 0.3 г/100 мл, рН 4.9)**

Неполярная фаза	Температура, °С	$t$ , мин	$\Gamma$ , г/см <sup>2</sup>	$d$ , нм
Воздух	20	250	1.9	15
		50	2.8	22
		180	2.6	21
Бензол	6	110	2.1	15
		240	4.4	34
		240	4.4	34
Четыреххлористый углерод	6	220	1.6	12
		240	4.4	34
		240	4.4	34

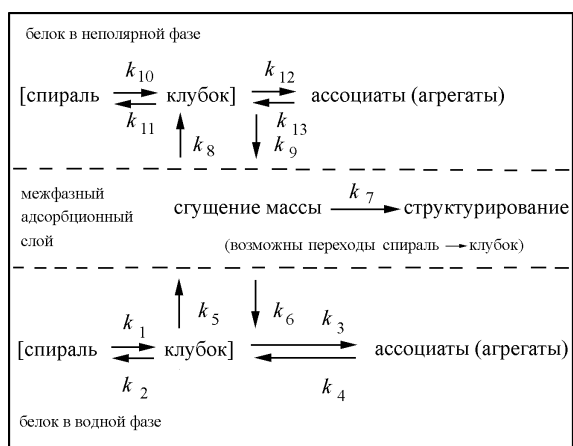


Рис. 2. Схематическое изображение процессов сгущения массы на границе раздела жидких фаз и образования межфазного адсорбционного слоя

где  $\Gamma_{\infty}$  и  $\Gamma_0$  – стационарные значения адсорбции при равновесии и в нулевой момент времени,  $\Gamma_t$  – адсорбция в данный момент,  $\Theta_r$  – время релаксации молекулы в адсорбционном слое, позволило рассчитать времена релаксации молекулы белка в процессе формирования МАС, составляющие в зависимости от условий 18–20 и 40–45 мин при 328 и 283 К соответственно [24]. Величины предельных напряжений сдвига достигают предельных значений за 4–10 ч. Такой разброс во времени можно объяс-

нить разными скоростями процессов массопереноса макромолекул белка (или их агрегатов) к границе раздела из объема раствора и образования упрочняющих слой межмолекулярных контактов, сопровождающегося ориентацией макромолекул. Оба процесса приводят к формированию МАС с характерным для структурированного геля набором реологических параметров [2]. Знание приближенных толщин МАС позволяет провести нормировку измеренных в разных условиях реологических параметров с целью их сопоставления. Кроме того, нормировка предельных величин напряжения сдвига на начальном этапе, когда толщина слоя не достигла своего предельного значения, позволяет получить скорректированные значения этой величины и уточнить форму изотермы адсорбции. Формирование межфазного слоя представляется как сложный процесс (рис. 2), включающий транспорт макромолекул белка или их агрегатов к поверхности раздела фаз, их закрепление на этой поверхности, ориентацию в соответствии с гидрофильно-гидрофобными взаимодействиями и балансом меж- и внутримолекулярных водородных связей, массоперенос в неполярную фазу [19] и, наконец, образование структурированного геля. Относительные скорости этих процессов, энергетические и энтропийные факторы зависят от природы несмешивающихся фаз, температуры и состава водной фазы, природы белка, конформационного состояния макромолекул.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 95-03-08-438а.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Сумм Б.Д. Поверхностные явления в белковых системах, М., 1988.
2. Измайлова В.К., П.А.Ребиндер В.Н. Структурообразование в белковых системах. М., 1977.
3. Izmailova V.N. // Progress in Surface and Membrane Science. 1979. **13**. Р. 141.
4. Измайлова В.Н., Деркач С.Р., Зотова К.В., Данилова Р.Г. // Коллоидный журнал. 1993. **55**. С. 54.
5. Завлин П.М., Нусс П.В., Овчинников А.Н., Сакварелидзе М.А., Ямпольская Г.П. // Журнал научной и прикладной фотографии. 1993. № 5. С. 51.
6. Завлин П.М., Нусс П.В., Овчинников А.Н., Сакварелидзе М.А., Ямпольская Г.П. // ЖПХ. 1993. **66**. № 3. 616.
7. Бусол Т.Ф. Дис. ... канд. хим. наук. М., 1980.
8. Морозова Л.З. Дис. ... канд. хим. наук. М., 1986.
9. Тарасевич Б.Н., Пшеницын В.И., Бусол Т.Ф., Измайлова В.Н. // Высокомолек. соединения. 1984. **26**. С. 1106.
10. Бусол Т.Ф., Письменная Г.М., Измайлова В.Н., Тарасевич Б.Н., Жеглецова С.К. // Коллоидный журнал. 1979. **41**. С. 1055.
11. Харрик Н. Спектроскопия внутреннего отражения. М., 1970. С. 334.
12. Кизель В.А. Отражение света. М., 1973. С. 361.
13. Золотарев В.М., Лыгин Б.И., Тарасевич Б.Н. // Усп. хим. 1981. **XLX**. С. 24.
14. Fahrenfort J., Visser W.M. // Spectrochim. Acta. 1962. **18**. Р. 1103.
15. Золотарев В.М. // Ж. прикл. спектр. 1967. **7**. С. 286.
16. Маршелл Э. Биофизическая химия. М., 1981.
17. Цветков В.Н., Эскин В.Е., Френкель С.Я. Структура макромолекул в растворах. М., 1964.
18. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел / Под ред. Г. Парфита, К. Рочестера. М., 1986. С. 488.
19. Левачев С.М., Измайлова В.Н. // Коллоидный журнал. **56**. С. 193.
20. Измайлова В.Н., Туловская З.Д., Письменная Г.М., Ребиндер П.А. // Коллоидный журнал. 1972. **34**. С. 340.
21. Lee R.G., Kim S.W. // J. Biomed. Mater. Res. 1974. **8**. Р. 251.
22. Ямпольская Г.П., Богачева Е.К., Измайлова В.Н. // Коллоидный журнал. 1982. **44**. С. 1151.
23. Трапезников А.А., Винс В.Г., Широкова Т.Ю. // Коллоидный журнал. 1981. **43**. С. 322.
24. Тарасевич Б.Н., Морозова Л.З., Измайлова В.Н., Новоселова М.А. // Коллоидный журнал. 1984. **46**. С. 1191.