

УДК 544.77:543.42.061

РЕОЛОГИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ ЭМУЛЬСИЙ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ В ПРИСУТСТВИИ ТВИНА 80

С.М. Левачев, А.Е. Харлов, А.Н. Кукушкина*, Н.В. Новоселова, В.Н. Матвеев, С.Р. Деркач

(кафедра коллоидной химии; e-mail: levachev@colloid.chem.msu.ru)

В работе исследовано реологическое поведение в воде концентрированных эмульсий толуола, содержащих глобулярный белок БСА и неионное ПАВ Твин 80, при температуре 22°C. Концентрация дисперсной фазы j составляла 74–83%. Изучено влияние неионного ПАВ, концентрация которого варьировалась в широком диапазоне до ККМ и выше ККМ. Показано, что эмульсии при сдвиговом деформировании ведут себя как неньютоновские жидкости и характеризуются пределом текучести, при низких скоростях сдвига на кривых течения присутствует область наибольшей ньютоновской вязкости, которая уменьшается при увеличении концентрации Твина 80. С ростом содержания Твина 80 предел текучести понижается по сравнению с эмульсиями, стабилизированными БСА без ПАВ. Полученные результаты объясняются изменением состава межфазных адсорбционных слоев на поверхности капель – вытеснением белка и заменой его низкомолекулярным ПАВ в процессе конкурентной адсорбции.

Эмульсии – сложные системы, разнообразное реологическое поведение которых необходимо рассматривать с учетом свойств образующих их частиц (капель) и взаимодействий между ними [1–7]. Сила и природа взаимодействий между каплями зависит от химической природы и концентрации используемого стабилизатора. В большинстве случаев концентрированные эмульсии на основе белков содержат в своем составе низкомолекулярные поверхностно-активные вещества (ПАВ). Свойства таких эмульсий зависят от взаимодействия между молекулами белка и ПАВ в объеме и на межфазной поверхности [7] и в большинстве случаев определяются образованием поверхностно-активных комплексов переменного состава.

Многие низкомолекулярные ПАВ способны вытеснять белки с межфазной поверхности в результате конкурентной адсорбции [8, 9], хотя кооперативная адсорбция белков и ПАВ также возможна. При определенных условиях (оптимальное соотношение компонентов в объеме водной фазы) состав и строение межфазных слоев определяются адсорбцией поверхностно-активных комплексов белка с ПАВ [10]. Поэтому реологическое поведение концентрированных эмульсий, стабилизированных смесями белка с ПАВ, может быть различно и будет определяться главным образом типом добавленного ПАВ

(неионное, анионное, катионное), концентрацией ПАВ, соотношением компонентов, а также физико-химическими параметрами водной фазы (рН, ионная сила, температура и т.д.) [5].

В работах, опубликованных в последнее время, влияние низкомолекулярных ПАВ на реологию концентрированных эмульсий, стабилизированных белками, рассматривается на примере молочных белков [11, 12]. Так, например, показано [13], что неионное ПАВ Твин 20, слабо взаимодействующее с белками, понижает вязкость эмульсий на основе казеината натрия, течение которых в присутствии этого ПАВ стремится к ньютоновскому. Это обусловлено способностью неионного ПАВ вытеснять макромолекулы белка с межфазной поверхности капель при адсорбции. Кроме того, при введении природного неионного ПАВ лецитина (фосфотидилхолина), способного взаимодействовать с белками, реологические параметры эмульсий (на основе β -лактоглобулина) увеличиваются [12].

Неионные ПАВ, большинство из которых являются нетоксичными и биоразлагаемыми веществами, представляют особый интерес для пищевой и фармацевтической промышленности, а также для извлечения и очистки белков, например, методом экстракции в обращенных мицеллах.

*Мурманский государственный технический университет; 183010 Мурманск, ул. Спортивная, 13.

Данная работа посвящена изучению роли глобулярного белка бычьего сывороточного альбумина (БСА) как стабилизатора в присутствии неионного ПАВ (Твина 80) в модельной эмульсии типа “масло в воде”, исследуемой реологическими методами.

Материалы и методы исследования

Материалы

Бычий сывороточный альбумин (БСА) производства фирмы “Sigma” (содержание белка 97%, молярная масса $6,7 \cdot 10^4$ Да, изоэлектрическая точка 4.9). Твин 80 (полиоксиэтилен(20)сорбитан моноолеат) – неионное ПАВ, молярная масса $1,308 \cdot 10^3$ Да, содержит 20 оксиэтиленовых групп, ГЛБ 15,0; ККМ $1,5 \cdot 10^{-4}$ М [19] ($4,6 \cdot 10^{-5}$ М [13]). Структурная формула Твина 80 приведена на рис. 1. Смеси белка с неионным ПАВ получали смешением исходных растворов БСА и Твина 80 с добавлением азида натрия в качестве антисептика. Концентрация БСА в смесях составляла $5 \cdot 10^{-5}$ М (~0,33 мас.%), концентрация Твина 80 находилась в диапазоне от $3 \cdot 10^{-6}$ до $8 \cdot 10^{-4}$ М (до ККМ и выше). Значение pH (6,5–7,3) устанавливали при смешении.

Эмульсии (м/в) при объемном соотношении толуола и водной фазы 1:1 получали диспергированием при комнатной температуре, время диспергирования 5 мин, скорость перемешивания 10 000 об/мин. Затем в процессе седиментации (в течение 48 ч) этих эмульсий получали концентрированные эмульсии с содержанием дисперсной фазы (ϕ), равной 74–83% (табл. 1). Концентрированные эмульсии были устойчивы к коалесценции в течение всего периода наблюдений (1 мес).

Методы

Дисперсность концентрированных эмульсий определяли с помощью микрофотосъемки. Средний эффективный размер (радиус) капель эмульсий приведен в табл. 1. Реологические параметры концентрированных эмульсий толуола в воде, стабилизированных БСА и его смесями с Твином 80, измеряли в условиях сдвиговой деформации с помощью реометра “RheoStress I” (“Haake”) с контролируемым напряжением (CS-режим) и контролируемой скоростью

Т а б л и ц а 1

Средний радиус частиц и концентрация дисперсной фазы в эмульсиях толуола в воде, стабилизированных БСА ($C_{\text{БСА}} = 5 \cdot 10^{-5}$ М) и смесями БСА–Твин 80

| C(Твин-80), моль/л | ϕ , % | r, мкм |
|--------------------|------------|--------|
| 0 | 74,0 | 15 |
| $3 \cdot 10^{-6}$ | 80,3 | 14 |
| $3 \cdot 10^{-5}$ | 82,5 | 15 |
| $3 \cdot 10^{-4}$ | 82,3 | 15 |
| $8 \cdot 10^{-4}$ | 83,0 | 11 |

сдвига (CR-режим). Использовали измерительную ячейку “конус–плоскость”: диаметр измерительной ячейки 60,002 мм, угол конуса 1,989 град, зазор между конусом и плоскостью 0,104 мм. Образцы деформировали при разных скоростях сдвига в широком диапазоне от 10^{-4} до 10^2 с⁻¹ с целью получения кривых течения – зависимости напряжения сдвига от скорости сдвига и зависимости вязкости от скорости (или напряжения) сдвига. Все эксперименты выполняли при температуре 22°С.

Экспериментальные результаты и их обсуждение

Кривые течения концентрированных эмульсий толуола в воде с использованием БСА и смесей БСА с Твином 80 в качестве стабилизатора приведены на рис. 2. В условиях сдвигового деформирования эмульсии, стабилизированные белком без ПАВ (кривая 1) обнаруживают неньютоновское поведение. При низких напряжениях на кривых присутствует область наибольшей ньютоновской вязкости η_0 ; при высоких напряжениях эффективная вязкость уменьшается, причем при очень высоких напряжениях заметен переход к области наименьшей ньютоновской вязкости. Подобное реологическое поведение при сдвиге характерно для концентрированных эмульсий ($\phi \geq 0,64\%$), в том числе стабилизированных белками [14, 15].

Аналогичное поведение проявляют эмульсии, стабилизированные смесями БСА с Твином 80 в обла-

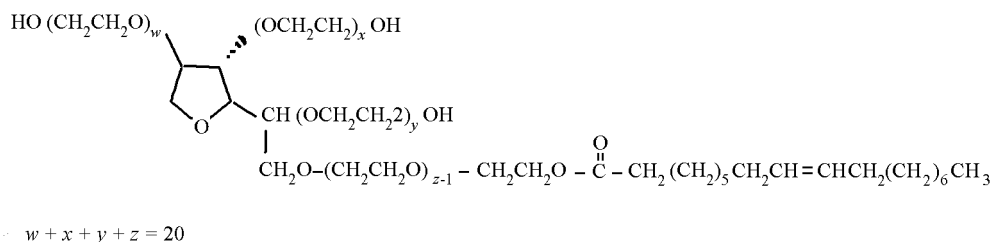


Рис. 1. Структурная формула Твина 80

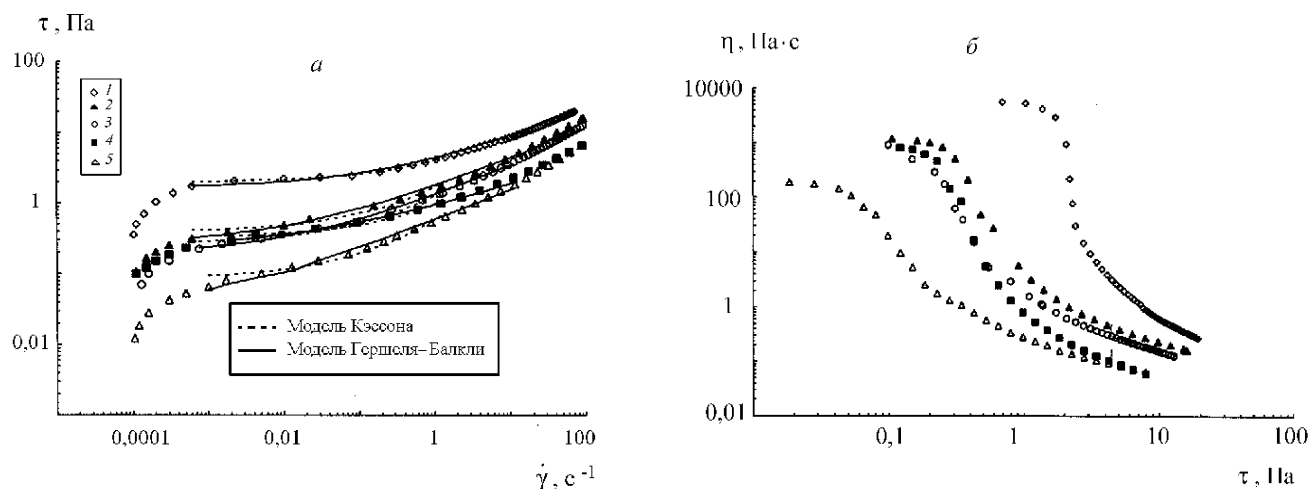


Рис. 2. Кривые течения (а) $\tau(\dot{\gamma})$ и (б) $\eta(\tau)$ эмульсий толуола в воде, стабилизированных БСА ($C_{\text{БСА}} = 5 \cdot 10^{-5}$ М) и смесями БСА–Твин 80 при концентрациях Твин-80 (C , моль/л): 1 – 0; 2 – $3 \cdot 10^{-6}$; 3 – $3 \cdot 10^{-5}$; 4 – $3 \cdot 10^{-4}$; 5 – $8 \cdot 10^{-4}$

сти исследованных концентраций ПАВ (рис. 2, а, кривые 2–5). Присутствие Твина 80 приводит к тому, что неньютоновская область наступает при меньших напряжениях сдвига, а в области низких напряжений наблюдаются меньшие значения ньютоновской вязкости. В то же время вязкость в неньютоновской области уменьшается (на рис. 2, б кривые 2–5 лежат ниже кривой 1). Влияние усиливается с ростом содержания неионного ПАВ в системе.

Кривые течения имеют явно выраженную область ньютоновского течения, и на них отсутствует четко выраженный “предел текучести”, при котором эффективная вязкость должна скачкообразно уменьшаться. Однако кривые течения $\tau(\dot{\gamma})$ (рис. 2, а) в нелинейной области можно описать с помощью реологической модели Балкли–Гершеля (1) для вязкопластичных материалов и модели Кэссона (2) для флокулированных дисперсий (с хорошей корреляцией в области низких значений скоростей сдвига от $1,0 \cdot 10^{-3}$ до $1,2 \text{ с}^{-1}$) [15], представив экспериментальные данные в координатах, отвечающих этим уравнениям

$$\tau(\dot{\gamma}) = \tau_k' + K \cdot (\dot{\gamma})^n, \quad (1)$$

$$\tau^{1/2}(\dot{\gamma}) = (\tau_k'')^{1/2} + (\eta_p \cdot \dot{\gamma})^{1/2}, \quad (2)$$

где τ_k' – предел текучести по Балкли–Гершелю (Па); $\dot{\gamma}$ – скорость сдвига (с^{-1}); K – коэффициент консистенции; n – индекс течения (для исследованных эмульсий n лежит в диапазоне от 0,53 до 0,40); τ_k'' – предел текучести по Кэссону (Па); η_p – пластическая вязкость (Па·с) (для исследованных эмульсий пластическая вязкость изменяется в диапазоне от $4,1 \cdot 10^{-1}$ до $1,4 \cdot 10^{-1}$ Па·с, незначительно уменьшаясь с увеличением концентрации Твина 80).

Реологические параметры эмульсий, рассчитанные в рамках соответствующих реологических уравнений, при разных концентрациях Твина 80 в объеме водной фазы представлены в табл. 2. Обе модели достаточно хорошо описывают поведение эмульсий (значения τ_k' и τ_k''), при этом коэффициенты корреляции между экспериментальными и рассчитанными величинами выше в случае применения уравнения Балкли–Гершеля (рис. 2, а). Следует иметь в виду условность представления экспериментальных данных с помощью моделей вязкопластичных сред, поскольку, как уже говорилось, кривые течения во всех случаях имеют четко выраженную область ньютоновского течения при низких напряжениях сдвига и отсутствии “истинного” предела текучести. В этом смысле полученные параметры обеих моделей вязкопластичных сред носят условный характер. Однако можно полагать, что определенные указанным выше способом величины пределов текучести отражают некоторую прочность структуры, существующей в эмульсиях.

Кривые вязкости в координатах $\eta(\dot{\gamma})$ с хорошей точностью аппроксимируются уравнением Кросса [16]:

$$\eta(\dot{\gamma}) = \eta_0 / [1 + (\lambda\dot{\gamma})^n]$$

где η_0 – наибольшая ньютоновская вязкость (Па·с); λ – некоторое характерное время релаксации $\lambda(\text{с})$; индекс течения n лежит для всех исследованных эмульсий в интервале 0,43–0,63 (табл. 2).

Как видно из рис. 2 и табл. 2, наибольшая ньютоновская вязкость и условный предел текучести, определенный по любому из использованных выше уравнений течения вязкопластичных сред,

Т а б л и ц а 2

Реологические параметры эмульсий, стабилизированных БСА ($C_{\text{БСА}} = 5 \cdot 10^{-5}$) и смесями БСА–Твин 80, рассчитанные по уравнениям Балкли–Гершеля, Кэссона и Кросса

| $C(\text{Твин-80}), \text{M}$ | $\tau_k', \text{Па}$ | n | $\tau_k'', \text{Па}$ | $\eta_p, \text{Па}\cdot\text{с}$ | $\eta_0, \text{Па}\cdot\text{с}$ | n | $\lambda, \text{с}$ |
|-------------------------------|----------------------|------|-----------------------|----------------------------------|----------------------------------|------|---------------------|
| 0 | 2,01 | 0,53 | 1,99 | 0,37 | 5900 | 0,63 | $1,26 \cdot 10^5$ |
| $3 \cdot 10^{-6}$ | 0,26 | 0,43 | 0,42 | 0,41 | 1400 | 0,48 | $1,57 \cdot 10^6$ |
| $3 \cdot 10^{-5}$ | 0,24 | 0,49 | 0,30 | 0,33 | 1000 | 0,48 | $1,24 \cdot 10^6$ |
| $3 \cdot 10^{-4}$ | 0,23 | 0,40 | 0,35 | 0,14 | 980 | 0,55 | $4,12 \cdot 10^5$ |
| $8 \cdot 10^{-4}$ | 0,03 | 0,43 | 0,10 | 0,19 | 210 | 0,43 | $1,23 \cdot 10^6$ |

уменьшаются при увеличении концентрации неионного ПАВ.

Единой теории, объясняющей неньютоновские свойства концентрированных эмульсий, пока не существует. Как было предварительно упомянуто, одним из основных факторов, определяющих реологическое поведение эмульсий, является сила и природа межчастичных взаимодействий при коагуляции, зависящая в свою очередь от концентрации и химической природы используемого стабилизатора, формирующего вязкоэластичные межфазные слои на поверхности капель. В большинстве случаев аномально-вязкое поведение (рис. 2) при напряжениях сдвига, больших предела текучести τ_k (но меньших давления Лапласа $\Pi_L = 2\sigma / r$, где σ – межфазное натяжение, r – радиус капель), объясняется разрывом контактов между каплями, перегруппировкой агрегатов и даже их разрушением до отдельных капель [1, 2].

В определенных условиях, отличных от наших, течение может вызывать коалесценцию, как показано для высокоэластичных ($G' \sim 10^4$ Па) монодисперсных эмульсий, стабилизированных БСА ($C_{\text{БСА}} = 1\text{--}3\%$) [6, 19] и β -лактоглобулином [17, 18] при $\phi > 0,9$. Это объясняется формированием прочных связей между каплями и структурными особенностями пленок при высоких концентрациях белка, которые разрываются при $\tau > \tau_k$.

На рис. 3 приведены графики зависимости предела текучести (рис. 3, а), и ньютоновской вязкости (рис. 3, б) исследованных эмульсий от концентрации Твина 80 в системе. Анализ реологических параметров показывает, что с увеличением концентрации неионного ПАВ Твина 80 прочность эмульсий понижается по сравнению с эмульсиями, стабилизированными БСА (без ПАВ), при этом вязкость уменьшается.

При совместном присутствии белка и низкомолекулярного ПАВ в объеме водной фазы межфазные слои формируются в условиях конкурентной адсорбции между макромолекулами белка, молекулами ПАВ и продуктами их взаимодействия – поверхно-

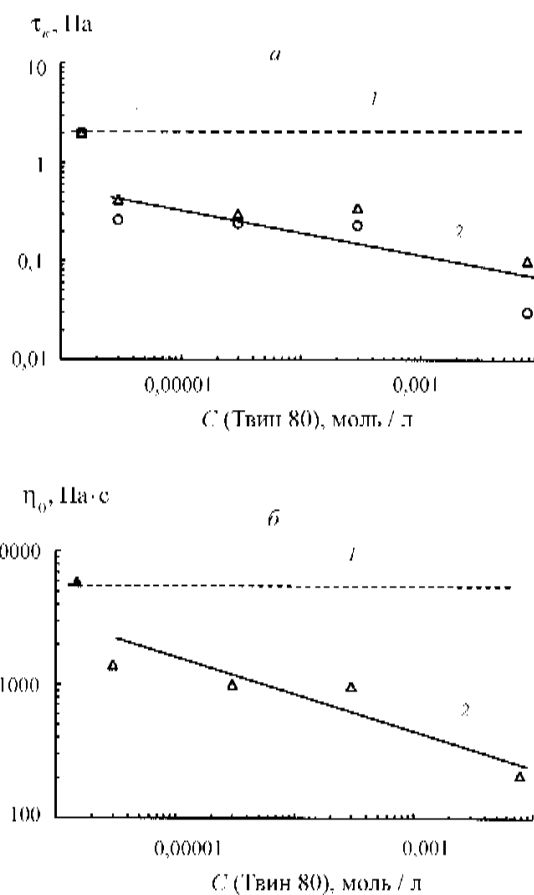


Рис. 3. Зависимость предела текучести τ_k (а) и вязкости η_0 (б) концентрированных эмульсий толуола в воде, стабилизированных БСА (1) и смесями БСА с Твином 80 от концентрации Твин 80 (2)

стно-активными комплексами белок-ПАВ [7, 8, 10, 20–23]. Состав квазиравновесного слоя и соответственно его свойства определяются соотношением компонентов и способности ПАВ к связыванию с белком. Известно, что неионные ПАВ, например, Твин 20, Твин 60 слабо связываются с БСА [9]. Являясь более конкурентоспособными при адсорбции, они вытесняют белок с поверхности раствор/углеводород, хотя при определенных условиях адсорбция совместных структур (комплексов БСА с неионным ПАВ) не исключается.

Таким образом, изменение реологических свойств эмульсий (рис. 3) объясняется уменьшением содержания БСА в результате увеличения количества Твина 80. Эксперименты показали, что при высокой концентрации Твина 80 (10^{-3} М) эмульсии неустойчивы к коалесценции и практически полностью расслаиваются через несколько минут после получения. По-видимому, в этом случае концентрация Твина 80 достаточно высока для вытеснения белка с поверхности, но недостаточна для стабилизации эмульсии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mason T.G. // Cur. Opin. Col. & Interface Sci. 1999. 4. P. 231.
2. Tadros T.F. // Col. Surf. 1994. 91. P. 39.
3. Lequeux F. // Cur. Opin. Col. & Interface Sci. 1998. 3. P. 408.
4. Эмульсии / Под ред. Ф. Шермана. Л., 1972.
5. Dickinson E. // Col. & Surf. 2001. 20. P. 197.
6. Dimitrova T.D., Leal-Calderon F. // Adv. Col. Int. Sci. 2004. 108-109. P. 61.
7. Dickinson E. J. // Chem. Soc., Faraday Trans. 1998. 94. N 12. P. 1657.
8. Mackie A.R. // Cur. Opin. Col. & Interface Sci. 2004. 9. P. 357.
9. Gunning P.A., Mackie A.R., Gunning A.P., Wilde P.J., Woodward N.C., Morris V.J. // Food I. Hydrocolloids. 2004. 18. P. 509.
10. Kragel J., O'Neill M., Makiewski A.V., Michel M., Leser M.E., Miller R. // Col. Surf. 2003. 31. P. 107.
11. Dickinson E., Ritzoulis C. // J. Col. Interf. Sci. 2000. 224. P. 148.
12. Dickinson E., Ritzoulis C., Rovey J.W. // J. Col. Interf. Sci. 1999. 212. P. 466.
13. Поверхностно-активные вещества. Справочник / Под ред. А.А.Абрамзона и Г.М. Гаевого. Л., 1979.
14. Bower C., Gallegos C., Mackley M.R., Madiedo J.M. // Rheol. Acta. 1999. 38. P. 145.
15. Виноградов Г.В., Малкин А.Я. / Реология полимеров. М., 1977.
16. Cross M.M. // J. Col. Sci. 1965. 20. P. 417.
17. Van Aken G.A. // Langmuir. 2002. 18. P. 2549.
18. Van Aken G.A., van Vliet T. // Langmuir. 2002. 20. P. 7364.
19. Dimitrova T.D. // Langmuir. 2001. 17. P. 3235.
20. Flourey J., Desrumaux A., Lardieres J. // Innovative Food Sci. & Emerging Technologies. 2000. 1. P. 127.
21. Pal. R. Encyclopedia of emulsion technology. 1996. P. 93.
22. Dickinson E., Hong S.-T. // Col. Surf. 1997. 127. P. 1.
23. Gunning P.A., Mackie A.R., Gunning A.P., Wilde P.J., Woodward N.C., Morris V.J. // Food Hydrocolloids. 2004. 18. P. 509.

Поступила в редакцию 22.12.05

RHEOLOGICAL BEHAVIOR OF CONCENTRATED EMULSIONS STABILIZED BY BOVINE SERUM ALBUMIN AND TWEEN 80

S.M. Levachev, A.E. Harlov, A.N. Kukuchkina, N.V. Novosyolova, V.N. Matveenko, S.R. Derkatch

(Division of Colloid Chemistry)

Rheological behavior of concentrated emulsions toluene-in-water containing globular protein bovine serum albumin (BSA) and nonionic surfactant Tween 80 has been investigated at temperature 22°C. Concentration of disperse phase was 74 - 83 %. Influence nonionic surfactant which concentration varied in a wide range up to KKM and above KKM has been studied. It is shown, that emulsions under shear deformation behave as nonNewtonian liquids and are characterized by yield stress, at low shear rates on flow curves there is an area of the greatest Newtonian viscosity which decreases at increase in concentration of Twin 80. With increase in content of Twin 80 yield stress goes down in comparison with emulsions, stabilized by BSA without surfactant. The results are explained by changing composition of interphase adsorption layers formed on the surface of drops – replacement of protein by low-molecular-mass surfactant during competitive adsorption.