

УДК 541.183

ВЛИЯНИЕ ХИМИИ ПОВЕРХНОСТИ И РАЗМЕРОВ ПОР МОДИФИЦИРОВАННЫХ СИЛИКАГЕЛЕЙ НА АДсорБЦИЮ ОВАЛЬБУМИНА

Т.Д. Хохлова

(кафедра физической химии)

Сопоставлена адсорбция овальбумина на аэросиле и на двух сериях образцов из четырех силикагелей со средними диаметрами пор 5, 14, 36 и 50 нм, модифицированных триметилхлорсиланом и аминопропилтриэтоксисиланом. Показано влияние химии поверхности кремнезёмов и концентрации электролита (NaCl) на эффект исключения молекул белка из пор кремнезёма при адсорбции из 2%-го изопропанола в 0,02 М фосфатном буфере с pH 5,9. Наибольшие различия в проявлении этого эффекта имели место на силикагелях с диаметром пор 5 нм, близким к гидродинамическому диаметру глобул белка. При разных концентрациях NaCl адсорбция на анионообменном силикагеле была много больше, чем на гидрофобизированном. Причины таких различий обсуждаются.

При разработке твердых носителей иммобилизованных биополимеров или сорбентов для очистки растворов следует учитывать, что желательна как можно большая их емкость. Сорбционная емкость пористых материалов во многом определяется размерами поверхности, доступной для молекул адсорбатов, и зависит от эксклюзионного эффекта. С ростом удельной поверхности и, соответственно, с уменьшением среднего размера пор сорбента эксклюзионный эффект усиливается, что приводит к появлению максимума на кривой зависимости адсорбции (в расчете на единицу веса сорбента) от размера пор. Такого рода кривые с максимумом были получены при адсорбции и иммобилизации на носителе белков [1–4], а также красителей [5] на пористых кремнезёмах с систематически изменяющимися средними размерами пор – силикагелях [1–3, 5], силохромах [2, 3] и пористых стеклах [4]. Было найдено, что при адсорбции белков размер пор кремнезёма, соответствующий максимальной емкости, примерно в 5–10 раз превышает гидродинамический размер глобул белков [3]. При адсорбции красителей на триметилсилилированных и аминопропилсилилированных силикагелях [5] это соотношение размеров пор и молекул, соответствующее максимальной емкости, существенно различается. В случае триметилсилилированных силикагелей максимальная адсорбция соответствует размеру пор в три раза большему, чем размер молекулы красителя. В случае аминопропилсилилированных силикагелей максимальной адсорбции соответствует довольно широкий интервал размеров пор, превышающих размер молекул в 5–50 раз.

В данной работе с целью оптимизации пористой структуры адсорбентов для достижения их максимальной емкости рассмотрено влияние размера пор и химии поверхности на адсорбцию белка (овальбумина). Исследования проводили на двух сериях образцов триметилсилилированных и аминопропилсилилированных силикагелей с размерами пор от 5 до 50 нм, т.е. от примерно равных размеру глобул белка до превышающих его в 10 раз.

Экспериментальная часть

В работе использовали овальбумин фирмы «Sigma». Структурные характеристики и марки взятых для химического модифицирования пористых кремнезёмов (силикагелей) отечественного производства приведены в табл. 1. Их удельная поверхность S была измерена по адсорбции криптона, удельный объем пор V – по капиллярной конденсации бензола, средний диаметр пор D был рассчитан по формуле $D = 4V/S$. Средний размер частиц силикагелей составлял 40 мкм. Для сравнения был взят непористый кремнезём (аэросил) с удельной поверхностью 115 м²/г. Модифицирование силикагелей и аэросила триметилхлорсиланом и γ -аминопропилтриэтоксисиланом проводили по методике, описанной в [5]. Для адсорбции использовали по 100 мг модифицированных кремнезёмов и по 5 мл растворов белка в 0,02 М фосфатном буферном растворе с pH 5,9, содержащем 0, 0,3; 0,6 и 1,2 М хлористого натрия. Поскольку триметилсилилированные кремнезёмы не смачиваются водой, то их (также как и аминопропилсилилированные) перед добавлением водного раствора белка смачивали изопропанолом объемом 100 мкл. Таким образом, концентрация изопропанола в растворе белка составляла 2 об.%. Адсорбцию проводили в пробирках при перемешивании в течение 2 сут до установления адсорбционного равновесия. Концентрацию белка определяли по оптической плотности растворов при длине волны 280 нм.

Таблица 1

Структурные характеристики силикагелей

Силикагель	S , м ² /г	V , см ³ /г	D , нм
КСК-1 (образец 1)	74	0,9	50
КСК-1 (образец 2)	130	1,2	36
КСК-2	340	1,2	14
КСК-3	600	0,7	5

Результаты и обсуждение

В качестве адсорбата был выбран белок овальбумин, обладающий кислотными свойствами (изоэлектрическая точка pI 4,3). Поэтому при адсорбции овальбумина на аминопропилсилилированных силикагелях должны проявляться ионообменные взаимодействия, а при адсорбции на триметилсилилированных – гидрофобные. Гидродинамический радиус глобул овальбумина составляет 2,8 нм и, следовательно, размер молекулы примерно равен размеру пор самого узкопористого силикагеля и на порядок меньше размера пор наиболее широкопористого из взятых силикагелей.

Зависимость адсорбции овальбумина, отнесенной к 1 г адсорбента, от удельной поверхности модифицированных силикагелей приведена на рис. 1, 2. В адсорбции овальбумина на аминопропилсиликагелях возможно проявление ионообменных взаимодействий, так как при выбранном для адсорбции значении pH 5,9 глобулы белка заряжены отрицательно, а модифицирующие поверхность силикагеля аминопропильные группы – положительно. На рис. 1 показано, что при максимально выраженном ионном обмене (в отсутствие хлористого натрия) адсорбция довольно мало зависит от удельной поверхности силикагеля (рис. 1). С уменьшением размера пор эффект исключения молекул из пор усиливается, что выражается в значительном уменьшении адсорбции, отнесенной к единице поверхности силикагеля. С увеличением в растворе концентрации электролита (хлористого натрия) адсорбция белка на всех аминопропилсилилированных силикагелях падает из-за подавления электролитом ионного обмена, и адсорбция на самом узкопористом силикагеле становится существенно больше, чем на самом широкопористом. Следовательно, эффект исключения из пор в растворах с

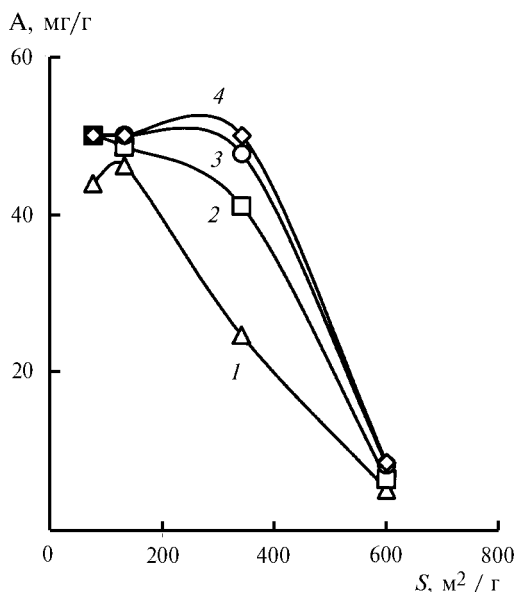


Рис. 1. Зависимость адсорбции a (мг/г) овальбумина от удельной поверхности s аминопропилсилилированных силикагелей (адсорбция из растворов белка в 0,02 М фосфатном буфере с pH 5,9, содержащем хлористый натрий в концентрации: 1 – 0; 2 – 0,3; 3 – 0,6; 4 – 1,2 моль/л)

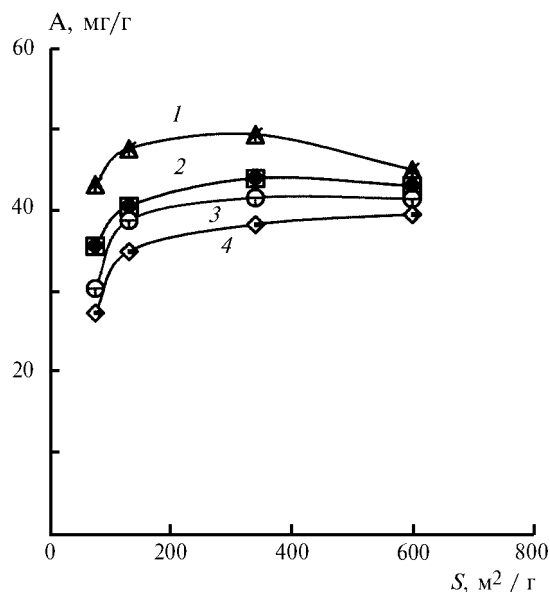


Рис. 2. Зависимость адсорбции овальбумина a (мг/г) от удельной поверхности триметилсилилированных силикагелей (обозначения и условия приведены в подписи к рис. 1)

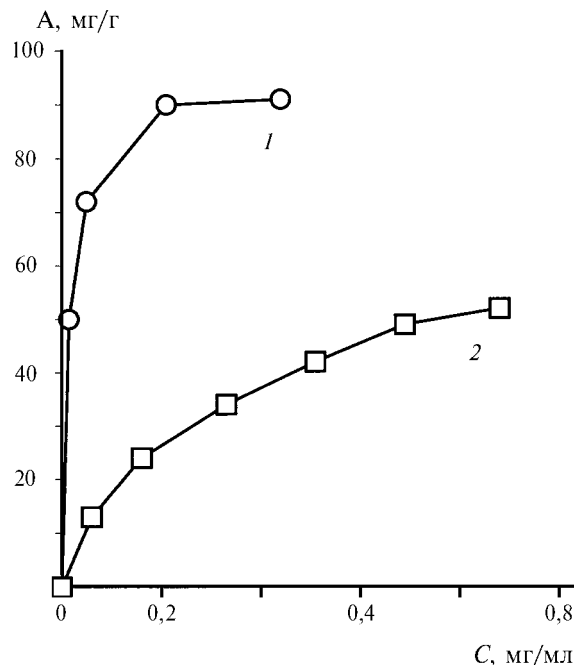


Рис. 3. Изотермы адсорбции овальбумина на силикагеле КСК-1 с диаметром пор 50 нм: 1 – триметилсилилированном из 0,02 М фосфатного буфера с pH 5,9, содержащего 1,2 моль/л хлористого натрия; 2 – аминопропилсилилированном из 0,02 М фосфатного буфера с pH 5,9

большой ионной силой проявляется в гораздо меньшей степени, чем в растворах без электролита. Причина относительного увеличения доступности узких пор при увеличении концентрации электролита заключается, вероятно, в сжатии ионных атмосфер вокруг глобул белка и у заряженной поверхности адсорбента.

На гидрофобных триметилсилилированных силикагелях эффект исключения молекул овальбумина из узких пор выражен еще сильнее, чем на аминопропилсиликагелях. Это проявляется в значительном уменьшении адсорбции при сужении пор. Степень адсорбции на

Т а б л и ц а 2

Характеристики адсорбции овальбумина на кремнеземах
(K – константы Генри, a_m – предельная адсорбция,
 ω_m – эффективная площадка молекулы в полном монослое)

Силикагель	K , см ³ /м ² (мкм)	a_m , мг/м ²	ω_m , нм ²
Триметилсилил			
Аэросил	28	2,3	31
КСК-1 (50 нм)	10	1,4	49
КСС-3 (5 нм)		0,014	4900
Аминопропилсилил			
Аэросил	17	1,8	38
КСК 1 (50 нм)	2,8	1,7	42
КСС 3 (5 нм)		0,10	710

самом узкопористом гидрофобном силикагеле (рис. 2) в несколько раз меньше, чем на таком же анионообменном (рис. 1). При возрастании ионной силы раствора адсорбция на триметилсилилированных силикагелях увеличивается, в то время как адсорбция на аминопропилсилилированных силикагелях уменьшается. Причина этого заключается, вероятно, в усилении гидрофобных взаимодействий между молекулами белка и поверхностью триметилсилилированных силикагелей с ростом ионной силы растворов. Однако и при наибольшей ионной силе раствора адсорбция на самом узкопористом гидрофобном силикагеле остается в несколько раз меньшей, чем на остальных гидрофобных силикагелях.

Для выяснения причин таких различий в адсорбции на гидрофобных и ионообменных силикагелях были измерены изотермы адсорбции овальбумина на двух силикагелях – с наибольшим и наименьшим диаметрами пор (5 и 50 нм), а также на непористом кремнеземе – аэросиле. Адсорбция на триметилсилилированных кремнеземах была измерена из буферных растворов, содержащих 1,2 М хлористого натрия, т.е. в условиях, когда в наибольшей степени могли проявляться гидрофобные взаимодействия. Адсорбцию на аминопропилсилилированных кремнеземах определяли из тех же буферных растворов, но без хлористого натрия, в условиях, когда адсорбция в большей степени определяется ионообменными взаимодействиями. Характеристики адсорбции, полученные на основании этих изотерм (константа Генри, величина предельной ад-

сорбции a_m , эффективная площадка молекулы в предельном монослое ω_m , рассчитанная по уравнению Лэнгмюра), приведены в табл. 2, откуда видно, что адсорбция на гидрофобных кремнеземах характеризуется большими константами Генри, чем на ионообменных. Площадка ω , рассчитанная из гидродинамического радиуса молекулы овальбумина, составляет 31 нм², что совпадает со значением ω_m на гидрофобном непористом кремнеземе (аэросиле) и немного меньше, чем на анионообменном аэросиле (38 нм²). Возможно, что при этом в адсорбции на гидрофобном аэросиле проявляется большая, чем на ионообменном вероятность образования в растворе ассоциатов белков из-за большей концентрации электролита в первом случае. Из сопоставления эффективных площадок ω_m с площадкой ω , рассчитанной по размеру молекулы, видно, что эффект исключения из пор молекул белка на гидрофобных силикагелях проявляется сильнее, чем на ионообменных. Так, на широкопористом гидрофобном силикагеле размер площадки в 1,6 раза больше, чем на гидрофобном непористом кремнеземе (аэросиле), а на ионообменном – только в 1,1 раза. На узкопористых силикагелях эффект исключения существенно более заметен, чем на широкопористых, но при этом на гидрофобном силикагеле он гораздо значительнее, чем на ионообменном. Это видно из того, что размер площадки на узкопористом гидрофобном силикагеле в 100 раз больше, чем на аэросиле, а на узкопористом ионообменном силикагеле – только в 19 раз. Причина того что узкие поры ионообменного силикагеля гораздо более доступны для проникновения молекул белка, чем поры гидрофобного силикагеля, заключается, вероятно, в том, что ионообменная сорбция определяется дальнедействующими кулоновскими силами, а адсорбция на гидрофобном кремнеземе определяется относительно короткодействующими дисперсионными силами. Кроме того, усилению эффекта исключения молекул из узких пор гидрофобного силикагеля способствует, возможно, неполное экранирование силанольных групп кремнезема. Известно, что при модифицировании триметилхлорсиланом в реакцию может вступить не более половины силанольных групп кремнезема [6]. Поэтому наряду с короткодействующими дисперсионными силами притяжения могут проявляться также и дальнедействующие силы отталкивания отрицательно заряженных глобул белка от одноименно заряженных ионизированных силанольных групп поверхности кремнезема.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисова М.А., Некрасов Л.И., Кобозев Н.И. и др. // ЖФХ. 1969. **43**. С. 529.
2. Хохлова Т.Д., Никитин Ю.С., Ворошилова О.И. // Журн. ВХО им. Д.И. Менделеева 1989. **39**. С. 363.
3. Хохлова Т.Д., Янина М.М., Дихтярев С.И. и др. // Прикл. биохим. и микробиол. 1983. **19**. С. 378.
4. Robinson P.J., Dunniell P., Lilly M.D. // Biochim. and Biophys. Acta. 1971. **242**. P. 649.
5. Хохлова Т.Д., Никитин Ю.С. // Химия и технология воды. 1991. **13**. С. 681.
6. Киселев А.В., Королев А.Я., Петрова Р.С., Щербакова К.Д. // Коллоидн. журн. 1960. **22**. С. 671.