

УДК 577.346

ВЛИЯНИЕ pH НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

А.В. Адельянов, О.А. Горобченко, О.Т. Николов, С.В. Гаташ

Кафедра биологической и медицинской физики, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков 61077, Украина;

e-mail: adel_vil@mail.ru

Поступила в редакцию 11 октября 2007 г.

В работе исследовано влияние pH на электропроводность растворов бычьего сывороточного альбумина (БСА). Установлено, что для растворов БСА с pH 2,63 и 6,15 в интервале температур 5–40 °С, а также с pH 3,6 и 7,4 при температурах до 23–33 °С основной вклад в электропроводность дисперсной системы вносит объемная проводимость ионов электролита и величина удельной электропроводности растворов БСА меньше удельной электропроводности соответствующих буферных растворов. С повышением температуры электропроводности растворов БСА с pH 3,6 и 7,4 растут быстрее, чем электропроводности соответствующий буферов за счет увеличения вклада поверхностной проводимости двойного ионного слоя и при температурах выше 23–33 °С наступает режим сверхпроводимости. Электропроводность раствора БСА в изоэлектрической точке при pH=4,6 существенно превышает электропроводность буферного раствора с тем же значением pH. Предполагается, что наблюдаемое явление обусловлено протонной проводимостью по поверхности макромолекул белка, связанной с понижением степени гидратации белка до критического уровня.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: БСА, удельная электропроводность, pH, поверхностная проводимость.

Изучение электропроводности позволяет определить подвижность ионов в растворах, находит практическое применение при моделировании процесса переноса количества движения и количества заряда в растворах [1], исследовании биологических процессов в клетках [2]. Величина электропроводности растворов зависит от химической природы исследуемого вещества, от величины заряда молекул, от переноса количества движения в водных растворах [3, 4]. Изучение электрических свойств веществ в зависимости от температуры, частоты, давления, pH, напряжённости электрического поля, концентрации и прочих факторов имеет важное значение для изучения физико-химических свойств дисперсных систем. В настоящее время электрические и низкочастотные диэлектрические измерения широко используются в биофизике для исследования таких жидких дисперсных систем, как макромолекулярные суспензии (водные растворы белков) [1,5,6] и микроэмульсии [7].

В данной работе представлены результаты исследования влияния pH и температуры на электропроводность сывороточного альбумина быка в буферных растворах методом низкочастотной проводимости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для приготовления буферных растворов с pH=3,6; 4,6; 7,4 смешивали в необходимых пропорциях раствор лимонной кислоты концентрации 0,2 М и раствор гидрофосфата натрия концентрации 0,1 М. Ионная сила полученных буферов составляла 0,25 М, 0,41 М, 1,03 М соответственно (С=0,13 М; 0,15 М; 0,19 М). Для получения буферных растворов с pH=2,63; 6,15; 7,4 и ионной силой 0,02 М, 0,18 М и 0,26 М соответственно (С=0,028 М; 0,043 М; 0,048 М) исходные растворы лимонной кислоты и гидрофосфата натрия разводили в 4 раза дистиллированной водой. Растворы БСА готовили путём растворения сухого лиофилизированного препарата БСА (производство ДИА – М, США) в буферных растворах. Концентрация белка в растворах составляла 10 мг/мл. Низкочастотную проводимость буферных растворов и растворов БСА измеряли в интервале температур 5–40 °С мостом переменного тока Р 568 на частоте 1000 Гц [8]. Образцы набирали в измерительную ячейку, представляющую собой стеклянную трубочку диаметром 4,5 мм с двумя впаянными электродами из платины. Ячейка с образцом помещалась в термостат. Температуру образца измеряли при помощи медь-константановой термопары. Константу ячейки отпределяли измеряя электропроводность стандартных водных растворов хлористого калия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены температурные зависимости удельных электропроводностей буферных растворов и соответствующих им растворов БСА с pH=2,63; 6,15; 7,4 (растворы с ионной силой 0,02 М, 0,18 М и 0,26 М) и с pH=3,6; 4,6; 7,4 (растворы с ионной силой 0,25 М, 0,41 М, 1,03 М). Как видно из рисунка, для растворов БСА с pH=2,63 и 6,15 наблюдается уменьшение удельной электропроводности

относительно буферных растворов во всем исследованном интервале температур. Удельная электропроводность растворов БСА с рН=3,6 и 7,4 меньше удельной электропроводности буферных растворов в интервале температур от +5°C до +33°C. При некоторых температурах значения удельной электропроводности этих растворов БСА и буферных растворов совпадают, а при более высоких значениях температуры растворы БСА имеют большие значения электропроводности, чем буферные растворы. При рН=4,6 (изоэлектрическая точка сывороточного альбумина $pI=4,7-5,2$ [9]), удельная электропроводность раствора БСА существенно превышает удельную электропроводность буферного раствора во всем исследованном интервале температур.

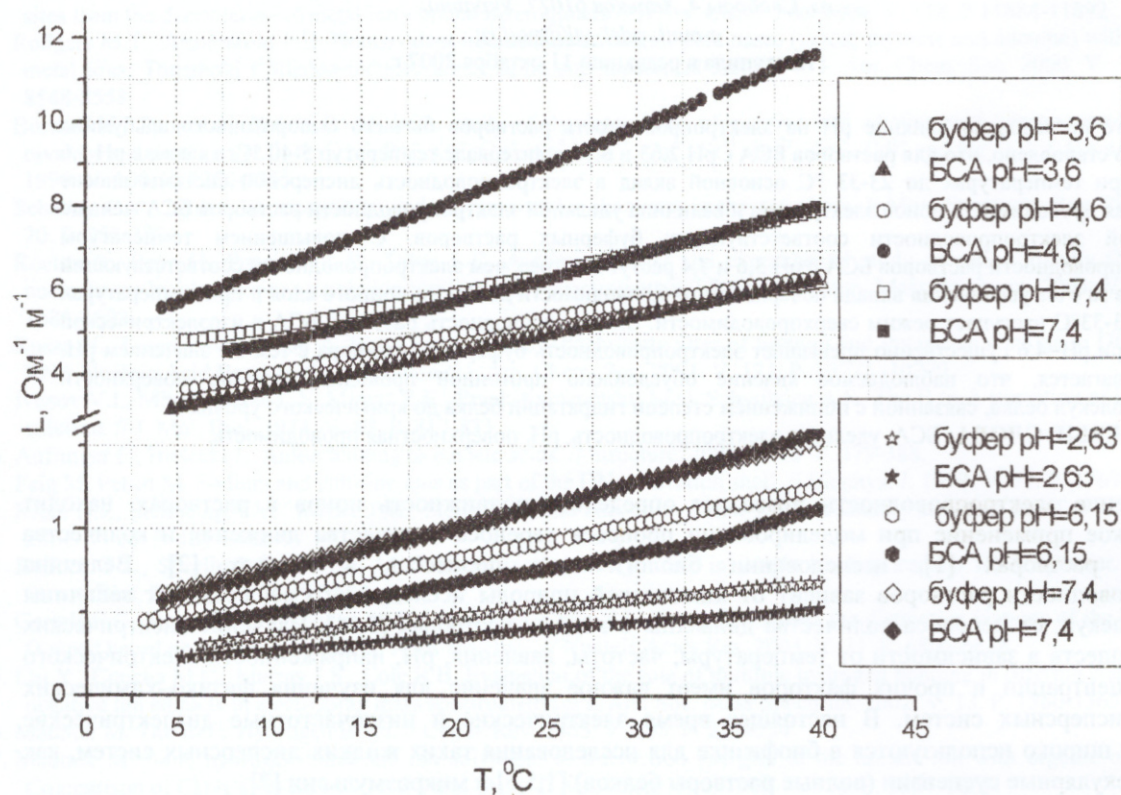


Рис. 1. Зависимости удельной электропроводности буферных растворов и растворов БСА от температуры при различных значениях рН.

Электропроводность зависит от подвижности ионов, которая характеризуется скоростью их перемещения в растворе при наличии внешнего электрического поля и в свою очередь зависит как от свойств самих ионов, так и от свойств среды, в которой они перемещаются и с которой взаимодействуют. Раствор сывороточного альбумина в буферной системе представляет собой дисперсную систему, в которой частицы дисперсной фазы (макромолекулы белка) находятся в электролите. Электропроводность такой дисперсной системы может как понижаться, так и повышаться по сравнению с электропроводностью самого равновесного электролита [3,4].

Уменьшение удельной электропроводности растворов БСА относительно буферных растворов можно объяснить барьерным эффектом – макромолекулы препятствуют движению ионов, линии тока между электродами, огибающие поверхность непроводящих дисперсных частиц, удлиняются, что эквивалентно снижению удельной электропроводности системы [3]. Изменение состояния воды вследствие гидратации макромолекул приводит к еще большему уменьшению величины электропроводности по отношению к электропроводности исходного бинарного раствора.

Увеличение удельной электропроводности дисперсных систем относительно электролита объясняют обычно поверхностной проводимостью частиц дисперсной фазы, связанной с двойным электрическим слоем [3]. В первом приближении удельная поверхностная проводимость пропорциональна произведению подвижности иона на поверхностную плотность заряда. Подвижность ионов двойного электрического слоя более существенно зависит от температуры, чем подвижность объемных ионов, а поверхностная плотность зарядов при достижении насыщения от концентрации уже не зависит. Поэтому при низкой температуре или высокой концентрации электролита поверхностной проводимостью можно пренебречь, но при увеличении температуры или понижении концентрации

Влияние рН на электрические свойства БСА

электролита вклад поверхностной проводимости растет за счет избыточных ионов двойного слоя и в эксперименте наблюдается превышение удельной электропроводности дисперсной системы над удельной электропроводностью электролита [3]. Этот режим Фридрихсберг [10] называет режимом "сверхпроводимости" в том смысле, что, несмотря на уменьшение эффективного сечения для приложения тока, дисперсная система имеет большую электропроводность, чем равновесный электролит.

При некоторых условиях (концентрация электролита, температура дисперсной системы) дефицит проводимости за счет барьерного эффекта и рост проводимости за счет поверхностной проводимости компенсируют друг друга, и электропроводность дисперсной системы становится равной проводимости равновесного электролита. Этот режим называется режимом изопроводимости [3].

Исходя из вышеизложенного, полученные нами результаты можно объяснить следующим образом. Для растворов БСА с рН 2,63 и 6,15 в интервале температур 5-40 °С, а также с рН 3,6 и 7,4 при температурах до 23-33 °С основной вклад в электропроводность дисперсной системы вносит объемная проводимость ионов электролита и величина удельной электропроводности растворов БСА меньше удельной электропроводности соответствующих буферных растворов. С увеличением температуры электропроводности растворов БСА растут быстрее, чем электропроводности электролита за счет увеличения вклада поверхностной проводимости двойного ионного слоя. При некоторой температуре наступает режим изопроводимости. Эта температура различна для различных рН, т.к. изменение рН влияет на свойства поверхностного слоя, что и приводит к смещению в ту или иную сторону точки изопроводимости. При дальнейшем увеличении температуры наступает режим сверхпроводимости.

В случае раствора БСА с рН=4,6 режим сверхпроводимости наблюдается во всем исследованном температурном интервале. Однако это аномальное увеличение удельной электропроводности не может быть связано с двойным электрическим слоем, поскольку в изоэлектрической точке диффузный двойной электрический слой отсутствует [3]. Однако известно, что существуют механизмы поверхностной проводимости, не связанные с существованием двойного ионного слоя. Так, экспериментально наблюдаемое увеличение электропроводности для капиллярных систем, находящихся в растворе, по сравнению с проводимостью самого раствора объясняют повышением протонной проводимости на границе раздела фаз [11]. В работе [12] установлен перенос протона вдоль цепочек ОН – групп поливинилового спирта, что может быть связано с аномальным транспортом ионов H^+ по миграционному механизму [13]. Поскольку аномальный транспорт ионов H^+ и OH^- происходит при наличии определенной структуры в расположении молекул воды и обусловлен упрочнением водородных связей между ними, авторы [12] выдвигают гипотезу, что подобный механизм является универсальным для гидрофильных коллоидов, удерживающих связанную воду. Подтверждением этой гипотезы могут быть работы [5,6], в которых авторы установили зависимость протонного транспорта от степени гидратации макромолекул белка - ниже критического уровня гидратации (0,1 г воды/ г белка) протон может перколировать между водород связанными молекулами воды вдоль поверхности макромолекул. Поскольку, как известно, в изоэлектрической точке степень гидратации макромолекул белка минимальна [14], можно предположить, что с уменьшением гидратации до уровня, при котором наблюдается перколяция протонов вдоль поверхности макромолекул, и связано аномальное увеличение электропроводности растворов белка при рН=4,6.

ВЫВОДЫ

Вклад поверхностной проводимости в удельную электропроводность растворов БСА существенно зависит от рН. Для растворов БСА с рН 2,63 и 6,15 в интервале температур 5-40 °С, а также с рН 3,6 и 7,4 при температурах до 23-33 °С основной вклад в электропроводность дисперсной системы вносит объемная проводимость ионов электролита и величина удельной электропроводности растворов БСА меньше удельной электропроводности соответствующих буферных растворов. С увеличением температуры электропроводности растворов БСА с рН 3,6 и 7,4 растут быстрее, чем электропроводности соответствующий буферов за счет увеличения вклада поверхностной проводимости двойного ионного слоя и при температурах выше 23-33°С наступает режим сверхпроводимости.

Аномальное увеличение электропроводности раствора БСА с рН=4,6 во всем исследованном интервале температур по сравнению с буферным раствором, вероятно, обусловлено перколяцией протонов вдоль поверхности макромолекул БСА, связанной с уменьшением степени гидратации макромолекул белка.

Авторы выражают искреннюю признательность и благодарность доктору химических наук, профессору Н.О. Мчедлову-Петросяну за ценные советы при обсуждении полученных результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сячинова Н.В., Танганов Б.Б. Теоретическое и экспериментальное определение электропроводности и вязкости желатина и продукта растворения коллагена. // Материалы международной научной конференции «Химия, химическая технология и биотехнология на рубеже тысячелетий» - г. Томск, Россия. - 11-16 сентября 2006 г. С. 127.
2. Huang Y., Wang X-B., Tame J.A., Pethig R. Electrokinetic behavior of colloidal particles in traveling electric fields: studies using yeast cells. // J. Phys. D: Appl. Phys. - 1993.-V. 26. - P. 1528-1535.
3. Духин С.С. Электропроводность и электрокинетические свойства дисперсных систем. Киев: Наукова думка, 1975. - 346 с.
4. Челидзе Т.Л., Деревянко А.И., Куриленко О.Д. Электрическая спектроскопия гетерогенных систем. - Киев: "Наукова Думка", 1977. - 232 с.
5. Suherman P.M., Tylor P., Smith G. An investigation of water/protein interactions from temperature dependent dielectric properties. // British Pharmaceutical Conference. - 2001. - Abstract Book. - P. 30.
6. Suherman P.M., Smith G. A percolation cluster model of the temperature dependent dielectric properties of hydrated proteins. // J. Phys. D: Appl. Phys. - 2003. - V. 36. - P. 336-342.
7. Хамидуллин Р.Н., Зуев Ю.Ф., Вылегжанина Н.Н. Влияние этиленгликоля на структуру обратной мицеллы АОТ с солюбилизованным в ней трипсином. Исследование методами ЭПР спиновых зондов и электропроводности. // Структура и динамика молекулярных систем. - 2003. - Выпуск X, часть 2. - С. 71-74.
8. Иоффе В.А. Диэлектрическая спектроскопия: Москва, Издательство иностранной литературы. - 1960. - 362 с.
9. Соркина Д.А., Залевская И.Н. Структурно-функциональные свойства белков. - К.: "Высшая школа". - 1990. - 495 с.
10. Фридрихсберг Д.А. Курс коллоидной химии. - Л.:Химия, .1974. - 352 с.
11. Антонченко В.Я. Физика воды. Киев: "Наукова Думка". - 1986. - 128 с.
12. Попко К.К., Дейнега Ю.Ф., Ковчанин Н.Я. // ДАН УССР. - 1971. - Т. 10. - С. 921.
13. Глестон С. Введение в электрохимию. ИЛ., 1951. - 200 с.
14. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки: Пер. с нем. - М.: "Мир", 1985. - 456 с.