

Для хімічного аналізу важливою є можливість кількісного елюювання сорбованого металу. Як десорбуючий реагент було обрано 5 %-й розчин тіосечовини в 1 М НСІ. Об'єм елюенту, достатній для 99.8 % десорбції золота та паладію, становить 5 см<sup>3</sup>. Концентрацію досліджуваних металів в елюенті визначали атомно-адсорбційним або атомно-емісійним методами. Експериментальні дані сорбції-десорбції вказаних металів з різних об'ємів водневої фази наведено в табл. 2.

Таким чином, на основі проведених досліджень встановлено, що оптимальними умовами сорбції досліджуваних металів на МФПСС є область рН 0–3 для Au(III) та рН 1.3–3 для Pd(II). Вилучення цих металів за даних умов є кількісним і селективним, що дозволяє проводити їх визначення в присутності кольорових та важких металів.

**РЕЗЮМЕ.** Исследованы процессы сорбции золота и палладия на поверхности силикагеля, химически модифицированного N-(4-меркаптофенил)-N'-пропилмочевинными группами (МФПМС). Определена возможность количественного извлечения данных металлов из растворов больших объемов в присутствии сопутствующих металлов. Предложены сорбционно-атомно-адсорбционный и сорбционно-атомно-эмиссионный методы определения Au(III) и/или Pd(II) с их предварительным концентрированием на МФПМС. Разработан тест-метод определения палладия в водных растворах исследуемым сорбентом с пределом обнаружения 25 мкг Pd на 0.1 г сорбента.

Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка  
НАН України, Київ  
Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

**SUMMARY.** Processes of gold and palladium sorption on the surface of silica gel, chemically modified by N-(4-mercaptophenyl)-N'-propylurea groups (MPhPUS), have been researched. The opportunity of quantitative extraction of these metals from the solutions of great volumes in the presence of concomitant metals has been established. The method of atomic-adsorption and atomic-emission determination of Au(III) and/or Pd(II) with their preliminary concentration on the MPhPUS has been proposed. Test-method of palladium determination in aqueous solutions by the studied sorbent has been developed with the determination limit of 25 mkg of Pd on 0.1 g of the sorbent.

1. *Мохоедова О.Б., Мясоєдова Г.В., Кубракова И.В.* // Журн. аналит. химии. -2007. -**62**, № 7. -С. 679—695.
2. *Кузьмин Н.М., Золотов Ю.А.* Концентрирование следов элементов. -М.: Наука, 1988.
3. *Пат. № 41225, Україна, МПК(2009) B01J 45/00.* Оpubл. 12.05.2009; Бюл. № 9, 2009.
4. *Вайбель С.* Идентификация органических соединений. -М.: Изд-во иностр. лит., 1957.
5. *Беллами Л.* Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул. -М.: Мир, 1971.
6. *Бабко А.К., Пятницкий И.В.* Количественный анализ, изд. 3-е. -М.: Высш. шк., 1968.
7. *Сиггица С., Хана Дж.Г.* Количественный органический анализ по функциональным группам. -М.: Химия, 1983.
8. *Марченко З.* Фотометрическое определение элементов / Под ред. Ю.А. Золотова. -М.: Мир, 1971.
9. *Пат. № 41777, Україна, МПК(2009) G01N 31/22, G01N 31/20.* -Оpubл. 10.06.2009; Бюл. № 11, 2009.

Надійшла 17.09.2009

УДК 543.2:542.61:611.185.1

**В.С. Старова, С.А. Куличенко**

## **КОЛЛОИДНО-ХИМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ В РАСТВОРАХ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ В ПРИСУТСТВИИ МОДИФИКАТОРОВ**

Исследовано влияние модифицирующих добавок электролита и гидротропа на взаимодействие додецилсульфата натрия с белками в водных растворах. Установлен характер изменения степени дисперсности растворов овальбумина, казеина и бычьего сывороточного альбумина в присутствии додецилсульфата натрия, салициловой кислоты и хлорида натрия при варьировании концентрационных и температурных условий. Показано разнонаправленное влияние салициловой кислоты и хлорида натрия на размеры формирующихся в мицеллярных растворах агрегатов. Высказано предположение о механизме мицеллярно-экстракционного концентрирования белков гидротроп-модифицированными фазами на основе додецилсульфата натрия.

© В.С. Старова, С.А. Куличенко, 2010

Существующие традиционные методы выделения белков из биологических объектов основаны на явлении полной или частичной денатурации протеинов при введении электролитов, органических растворителей, ионов тяжелых металлов, а также при нагревании [1]. Денатурация белка приводит к потере его биологической активности. Наиболее часто используемые методы осаждения и экстракции растворителями обеспечивают лишь частичное извлечение белковых субстанций из сложных объектов. Для повышения эффективности извлечения белков процесс проводят многократно, что неизбежно сказывается на экспрессности метода. Кроме того, такие методы концентрирования малопригодны для извлечения микроколичеств лабильных белковых субстратов [1]. Поэтому создание новых эффективных, экспрессных и избирательных методов извлечения и концентрирования белков является актуальной задачей [2, 3].

Эффективным методом концентрирования и разделения биологических субстратов в настоящее время выступает мицеллярная экстракция фазами неионных поверхностно-активных веществ (НПАВ) при температуре помутнения [4]. Перспективность мицеллярной экстракции обусловлена способностью фазы НПАВ избирательно извлекать гидрофобные белки [4], возможностью достижения высоких коэффициентов абсолютного концентрирования при использовании небольших объемов пробы, а также хорошей сочетаемостью с физико-химическими методами определения [5—7]. Однако необходимость нагревания системы ограничивает возможности применения фаз неионных ПАВ для концентрирования лабильных биологических субстратов [8].

Альтернативой мицеллярной экстракции фазами неионных ПАВ выступают низкотемпературные фазовые переходы в растворах ионных ПАВ (ИПАВ). Формирование фаз ИПАВ происходит при охлаждении мицеллярных растворов ниже температуры фазообразования (точки Крафта), а также при добавлении электролитов [9—11] и органических растворителей [12]. Использование фаз ионных ПАВ может способствовать повышению эффективности извлечения белков благодаря подключению электростатических взаимодействий. Отмечено существенное повышение эффективности концентрирования белков в присутствии гидротропных добавок. Так, степень извлечения альбумина фазами, формирующимися из растворов

додецилсульфата натрия (ДДСН) в присутствии модифицирующих добавок электролита и гидротропа, составляет более 99 % [13]. Во многих системах на основе ПАВ как эффективный гидротроп проявила себя салициловая кислота [14].

С нашей точки зрения, изучение коллоидно-химического состояния растворов белков в присутствии ионных ПАВ и модифицирующих добавок позволяет расширить представления о закономерностях извлечения белковых субстратов и об изменении их биологической активности при концентрировании мицеллярными фазами.

Коллоидно-химическое состояние белков в водном растворе так же, как и эффективность их извлечения в мицеллярные фазы ПАВ, зависит от гидрофобности, заряда, строения и размера молекулы [1, 6, 15]. Существенно на эти параметры влияет кислотность среды, концентрация ПАВ и электролитов. Так, в присутствии большого количества электролита происходит нейтрализация заряда белка и в растворе формируется осадок. Аналогичный эффект наблюдается при рН, близких к изоэлектрической точке белка ( $pH_{IE}$ ) [1].

В растворах белки взаимодействуют с ПАВ с образованием ассоциатов (комплексов) переменного состава [16, 17]. Состав и устойчивость комплексов ПАВ—белок являются предметом систематического исследования [18—21]. Характер образующихся продуктов зависит преимущественно от природы и концентрации компонентов системы. Взаимодействия белка с неионным ПАВ основаны преимущественно на механизмах гидрофобного связывания. В зависимости от концентрации НПАВ в системе образуются гидрофильные либо гидрофобные комплексы. Последние склонны к коагуляции и выпадению в осадок [17]. Устойчивые комплексы белок—ИПАВ формируются в системе за счет одновременного проявления гидрофобных и электростатических взаимодействий. При этом характер взаимодействия ионного ПАВ с белком зависит от концентраций обоих компонентов в системе [16].

На специфику взаимодействий в системе ПАВ—белок существенное влияние оказывают добавки электролитов и органических модификаторов [21—23]. Однако механизмы взаимодействия ПАВ—белок в присутствии электролитов и гидротропов детально не изучены, а вопрос о коллоидно-химическом состоянии системы в момент фазообразования при концентрировании белка остается открытым. Поэтому целью работы было изуче-

ние коллоидно-химического состояния растворов белков в присутствии додецилсульфата натрия, электролита (хлорида натрия) и гидротропа (салициловой кислоты).

В работе использовали додецилсульфат натрия (Merck, содержание основного вещества >98.5 %). Модификаторы хлорид натрия и салициловая кислота были квалификации ч.д.а. Их рабочие растворы готовили растворением соответствующих точных навесок в дистиллированной воде.

Рабочие растворы овальбумина ( $M_r=4.3 \cdot 10^4$  Да,  $pI=4.8$ ) готовили растворением соответствующих навесок в воде согласно [24]. Концентрацию овальбумина рассчитывали в мг/мл (в расчете на сухое вещество). Рабочие растворы казеина ( $M_r=(7.5-10) \cdot 10^4$  Да,  $pI=4.7$ ) и бычьего сывороточного альбумина — БСА ( $M_r=6.7 \cdot 10^4$  Да,  $pI=4.9$ ) готовили растворением точных навесок в 0.05 М растворе ДДСН.

Фазовое состояние системы оценивали по светорассеянию растворов в длинноволновой области (400—800 нм). Измерение спектров в растворах ДДСН проводили при температурах выше температуры фазообразования ( $T_{\text{фО}}$ ). В эксперименте оценивали мутность ( $\tau$ ) и фактор рассеивания ( $F$ ) растворов в системе ДДСН—белок—гидротроп—электролит. Значение мутности рассчитывали по формуле:  $\tau = 2.3A/l$ , где  $A$  — оптическая плотность,  $l$  — толщина кюветы. Величину  $F$  определяли как тангенс угла наклона зависимости в координатах  $\lg A - \lg \lambda$ . Значение фактора рассеивания  $F$  меньше 4 соответствует коллоидной степени дисперсности системы. В литературе приведены таблицы пересчета  $F$  в интервале значений 2—4 на размер коллоидной частицы [25].

Светорассеяние растворов изучали, измеряя спектры поглощения на спектрофотометрах СФ-46 и КФК-3. Кислотность растворов контролировали с помощью рН-метра рН340 со стеклянным электродом ЭСЛ-43-07.

Светопоглощение водных растворов овальбумина при концентрации 0.1 мг/мл в интервале длин волн 400—800 нм минимально, а значение фактора рассеивания ( $F > 4$ ) свидетельствует о псевдомолекулярной степени дисперсности системы. Увеличение концентрации овальбумина более 0.3 мг/мл приводит к уменьшению  $F$  и возрастанию мутности раствора, что логично связать с формированием коллоидных частиц. Для растворов казеина и БСА тенденция к увеличению размера частиц с ростом концентрации белка сохраняется.

Для водных растворов белков при  $pH \approx pH_{IE}$  зависимости  $\tau=f(pH)$  и  $F=f(pH)$  обнаруживают логичный максимум мутности и соответствующий минимум фактора рассеивания. При этом характер изменения коллоидно-химического состояния растворов во времени зависит от рН. Так, в широком интервале рН фактор рассеивания во времени увеличивается, мутность растворов изменяется мало, что можно объяснить перераспределением частиц по размерам. Однако при  $pH \approx pH_{IE}$  для всех изученных белков мутность и фактор рассеивания растворов со временем уменьшаются, что свидетельствует о постепенном укрупнении частиц и одновременной их седиментации.

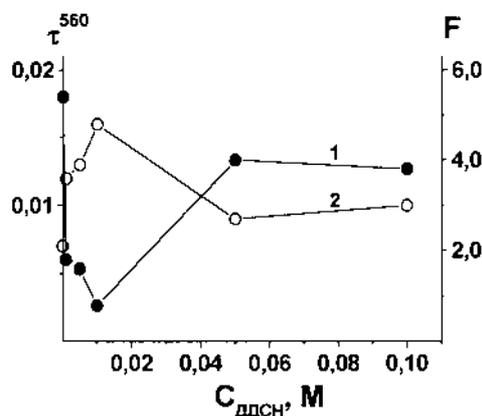


Рис. 1. Зависимость фактора рассеивания (1) и мутности (2) растворов овальбумина от концентрации ДДСН.  $C_{\text{белка}}=2$  мг/мл,  $t=5$  мин,  $\lambda=560$  нм.

Влияние ДДСН на коллоидно-химическое состояние раствора овальбумина существенно зависит от содержания обоих компонентов. Так, при увеличении концентрации ДДСН до 0.01 М мутность раствора возрастает, значение фактора рассеивания уменьшается, и в системе формируются коллоидные частицы (рис. 1). При этом максимальное значение мутности и, соответственно, минимальное значение фактора рассеивания наблюдается при концентрации ДДСН, близкой к критической концентрации мицеллообразования (ККМ). Дальнейшее повышение концентрации ДДСН приводит к уменьшению интенсивности светорассеяния растворов и возрастанию величин  $F$ , что свидетельствует о постепенном переходе системы в псевдомолекулярную степень дисперсности (рис. 1). Для БСА характер зависимостей  $\tau=f(C_{\text{ДДСН}})$  и  $F=f(C_{\text{ДДСН}})$  сохраняется. Однако мутность и размер коллоидных частиц в растворах

казеина в интервале концентраций ДДСН 0.001—0.1 М практически не изменяется. Стабильность коллоидно-химических параметров растворов казеина связана с высокой гидрофобностью последнего и свидетельствует о необходимости введения больших (>0.1 М) концентраций ДДСН для перевода системы в молекулярную степень дисперсности.

В присутствии ДДСН влияние кислотности на состояние растворов белков становится менее значимым. Так, добавки ДДСН нивелируют проявление изоэлектрической точки белка на кривых  $\tau=f(\text{pH})$ , однако экстремум при  $\text{pH} \approx \text{pH}_{IE}$  на зависимости  $F=f(\text{pH})$  сохраняется.

Формирующиеся при охлаждении индивидуальных растворов ДДСН кристаллические фазы белок практически не извлекают и для дальнейшего применения в целях концентрирования белковых молекул малопригодны.

Добавки электролита снижают ККМ в растворах ПАВ, увеличивают числа агрегации и размер мицелл [26].

Повышение концентрации NaCl в мицеллярном растворе ДДСН приводит к постепенному увеличению мутности и способствует образованию крупных коллоидных частиц (рис. 2, кривые 2). При этом со временем, в результате перераспределения частиц по размерам, значение фактора рассеивания немного увеличивается.

Интересно отметить, что изменение параметров фазообразования и агрегатного состояния формирующихся в системе ДДСН—NaCl мицеллярных фаз происходит при концентрациях электролита  $\geq 0.3$  и  $\geq 0.7$  М. Это коррелирует с началом формирования коллоидных агрегатов в системе и увеличением их числа соответственно.

При повышении концентрации NaCl до 0.7 М происходит резкое уменьшение значения фактора рассеивания и в растворе белок—NaCl образуются крупные коллоидные агрегаты (рис. 2, кривые 1). Такие коллоидные системы достаточно стабильны во времени. Однако повышение концентрации NaCl выше 0.7 М способствует увеличению значения  $F$  и уменьшению мутности раствора, что вызвано седиментацией белка вследствие высаливающего действия больших концентраций электролита (рис. 2, кривые 1).

Увеличение содержания электролита в системе ДДСН—белок до 0.3 М приводит к уменьшению значения фактора рассеивания, однако на мутность практически не влияет. В интервале концен-

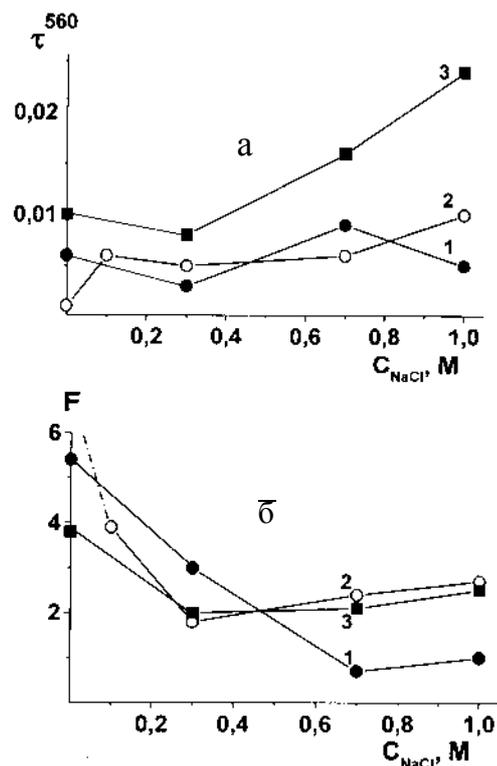


Рис. 2. Зависимость мутности (а) и фактора рассеивания (б) растворов овальбумина и ДДСН от концентрации хлорида натрия.  $C_{\text{белка}}=2$  мг/мл (1, 3),  $C_{\text{ДДСН}} = 0$  (1), 0.1 М (2, 3);  $t=5$  мин,  $\lambda=560$  нм.

траций хлорида натрия 0.3—1 М мутность раствора овальбумина резко возрастает, а значение  $F$  изменяется мало (рис. 2, кривые 3). Таким образом, небольшие добавки электролита увеличивают размеры частиц до коллоидной степени дисперсности, а наличие избытка хлорида натрия способствует увеличению числа агрегатов в системе.

Аналогичное действие электролит оказывает на состояние растворов БСА в ДДСН. Так, при  $C_{\text{NaCl}} > 0.7$  М размер агрегатов БСА увеличивается. Наиболее ярко высаливающее действие электролита проявляется на зависимостях  $\tau=f(C_{\text{NaCl}})$  и  $F=f(C_{\text{NaCl}})$  для системы ДДСН—казеин: увеличение размеров агрегатов происходит при существенно меньших концентрациях хлорида натрия. При постепенном увеличении концентрации электролита до 0.7 М в системе отмечается рост числа частиц и перераспределение их по размеру. При  $C_{\text{NaCl}} > 0.7$  М в растворе формируется осадок. Примечательно, что повышение концентрации ДДСН приводит к стабилизации коллоидно-

го раствора казеина. Поэтому при высоких концентрациях ДДСН ( $>0.05$  М) для образования осадка белка необходимо добавить большее количество электролита.

Во времени водные растворы белков стабильны в широком интервале концентраций хлорида натрия. Однако при  $C_{\text{NaCl}} > 0.7$  М со временем происходит постепенное укрупнение частиц, о чем свидетельствует небольшое уменьшение значения фактора рассеивания и увеличение мутности.

Добавки ДДСН оказывают стабилизирующее действие на коллоидно-химическое состояние раствора белка и частично уменьшают степень его денатурации в присутствии электролита (рис. 2, б). При этом белковые субстраты эффективно извлекаются формирующимися в системе ДДСН—NaCl кристаллическими фазами.

В литературе отмечается существование трех групп гидротропных добавок, характеризующихся имманентной спецификой влияния на КKM, размер и числа агрегации мицелл ПАВ [26]. Гидротропы первого типа увеличивают значения КKM, уменьшают размер и числа агрегации мицелл. Гидротропы второй группы (ароматические и алифатические спирты с  $n > 4$ , гликоли и эфиры) снижают КKM и образуют смешанные мицеллы. Понижение КKM способствует росту чисел агрегации и размера мицелл. Специфично влияние на числа агрегации ПАВ низших спиртов с  $n = 1-3$  (третья условно выделенная группа гидротропов). При небольших концентрациях они частично сольбилизируют мицеллами ПАВ и понижают КKM. При увеличении содержания таких спиртов в растворе значение КKM возрастает, а само явление мицеллообразования проявляется в меньшей степени [26].

Салициловая кислота относится к смешанному типу модификаторов. Так, при небольших концентрациях салициловой кислоты ( $< 0.01$  М) интенсивность светорассеяния мицеллярных растворов ДДСН и размер частиц увеличиваются (рис. 3, кривые 2). Дальнейшее повышение содержания гидротропа в растворе, наоборот, приводит к постепенному разрушению коллоидных агрегатов и при  $C_{\text{HSal}} > 0.02$  М система переходит в псевдомолекулярную степень дисперсности (рис. 3, кривые 2).

В присутствии небольших добавок салициловой кислоты ( $< 0.01$  М) мутность в водном растворе овальбумина растет, а значение фактора рассеивания уменьшается. Система при этом переходит в коллоидную степень дисперсности. Увели-

чение концентрации добавки приводит к повышению светорассеяния раствора белка и стабилизации показателя фактора рассеивания, что свидетельствует об увеличении числа коллоидных частиц в системе (рис. 3, кривые 1).

Для растворов ДДСН—белок характер гидротропного действия салициловой кислоты сохраняется: малые концентрации усиливают коллоидообразование в системе, а большие — наоборот, переводят систему в псевдомолекулярное состояние (рис. 3, кривые 3). Ход приведенных на рис. 3 зависимостей  $\tau = f(C_{\text{HSal}})$  и  $F = f(C_{\text{HSal}})$  свидетельствует о большей устойчивости растворов белок—ДДСН к дестабилизирующему действию гидротропа.

Аналогичное действие салициловая кислота оказывает и на коллоидно-химическое состояние растворов казеина. Так, при  $C_{\text{HSal}} < 0.02$  М в растворе казеин—ДДСН наблюдается уменьшение значения фактора рассеивания и увеличение мутности, а при  $C_{\text{HSal}} > 0.02$  М мутность и фактор рассеивания, наоборот, увеличивается. Однако во

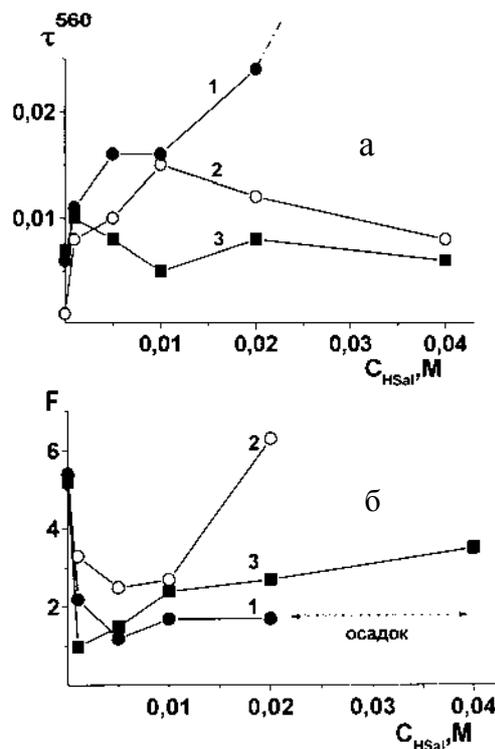


Рис. 3. Зависимость мутности (а) и фактора рассеивания (б) растворов белка и ДДСН от концентрации салициловой кислоты.  $C_{\text{белка}} = 0$  (2), 2 мг/мл (1, 3);  $C_{\text{ДДСН}} = 0$  (1); 0.1 М (2, 3),  $t = 5$  мин,  $\lambda = 560$  нм.

всем концентрационном интервале система обладает псевдоколлоидной степенью дисперсности ( $F < 3$ ). Введение салициловой кислоты в мицеллярные растворы БСА способствует укрупнению частиц и увеличению интенсивности светорассеяния, а при концентрации модификатора более 0.02 М в растворе образуется осадок.

Во времени гидротропное действие салициловой кислоты усиливается. Так, мутность водных растворов белка и ДДСН в присутствии салициловой кислоты со временем несколько уменьшается, а фактор рассеивания возрастает. Размеры коллоидных частиц стабильны лишь на протяжении 30 мин, затем происходит постепенное возрастание значения фактора рассеивания и уменьшение мутности. При этом интенсивность действия салициловой кислоты на коллоидно-химическое состояние системы во времени пропорциональна ее концентрации.

Предварительно было установлено, что формирующиеся при охлаждении в присутствии салициловой кислоты мицеллярные фазы ДДСН для концентрирования белковых молекул мало пригодны.

Вследствие противоположно направленного и взаимно компенсирующего влияния электролита и гидротропа в трехкомпонентной системе ДДН—НСал—NaCl при температурах больше  $T_{\Phi O}$  образуются агрегаты коллоидной степени дисперсности. При этом увеличение концентрации салициловой кислоты приводит к росту размеров и стабилизации коллоидных частиц (рис. 4, кривые 1,2). Добавки хлорида натрия увеличивают мутность раствора ДДСН—НСал—NaCl и практически не влияют на значение фактора рассеивания, что свидетельствует об увеличении числа коллоидных агрегатов в системе (рис.5, кривые 1,2).

Влияние концентрации гидротропа в системе белок—ДДСН—НСал—NaCl характеризуется увеличением мутности и фактора рассеивания, что свидетельствует об увеличении числа частиц в растворе и перераспределении их по размерам (рис. 4, кривые 3,4). При увеличении содержания NaCl в системе мутность растет, фактор рассеивания уменьшается, и, соответственно, размер частиц увеличивается (рис. 5, кривые 3,4).

Для трехкомпонентных систем, содержащих казеин и БСА, разнонаправленное действие электролита и салициловой кислоты на коллоидно-химическое состояние раствора сохраняется. Добав-

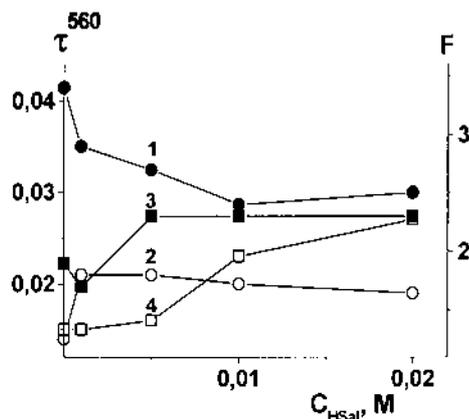


Рис. 4. Зависимость фактора рассеивания (1,3) и мутности (2,4) растворов в системе белок—ДДСН—NaCl от концентрации салициловой кислоты.  $C_{\text{ДДСН}} = 0.1$ ,  $C_{\text{NaCl}} = 0.7$  М,  $C_{\text{белка}} = 0$  (1,2), 2 мг/мл (3,4); pH 8,  $t = 5$  мин,  $\lambda = 560$  нм.

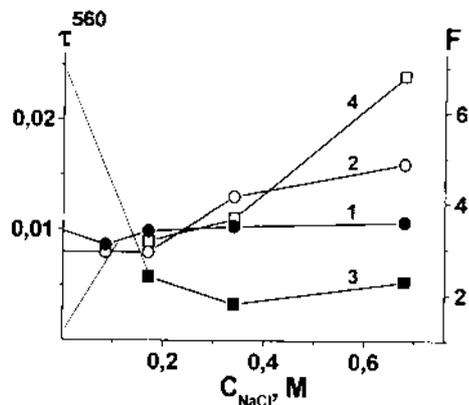


Рис. 5. Зависимость фактора рассеивания (1,3) и мутности (2,4) растворов в системе белок—ДДСН—НСал от концентрации хлорида натрия.  $C_{\text{ДДСН}} = 0.1$ ,  $C_{\text{НСал}} = 0.02$  М,  $C_{\text{белка}} = 0$  (1,2), 2 мг/мл (3,4); pH 8,  $t = 5$  мин,  $\lambda = 560$  нм.

ки гидротропа увеличивают значение фактора рассеивания, а добавки электролита — уменьшают.

При постоянной температуре раствора ( $T > T_{\Phi O}$ ) в концентрационных интервалах  $C_{\text{НСал}} = 0.001—0.02$  М и  $C_{\text{NaCl}} = 0.1—0.7$  М состояние трехкомпонентной системы во времени изменяется мало. Однако при  $C_{\text{НСал}} > 0.02$  М и  $C_{\text{NaCl}} > 0.7$  М в системе формируется жидкая мицеллярная фаза. Такая фаза эффективно извлекает белок из водных растворов и представляется наиболее перспективной для дальнейшего использования в целях концентрирования биологических субстратов.

На размер мицелл и числа агрегации ПАВ

значительно влияет температура — ее повышение способствует уменьшению ККМ и чисел агрегации [26]. С другой стороны, охлаждение растворов до температуры ниже  $T_{\Phi O}$  приводит к формированию макрофазы. Так, при снижении температуры в системе ДДСН—НСал—NaCl наблюдается увеличение мутности раствора и укрупнение частиц (рис. 6). При температуре меньше 23 °C в раство-

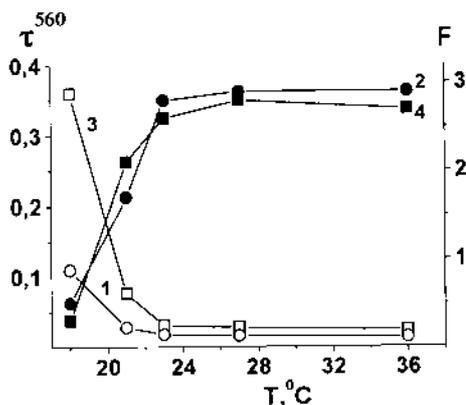


Рис. 6. Зависимость фактора мутности (1,3) и рассеивания (2,4) в системах ДДСН—НСал—NaCl (1,2) и белок—ДДСН—НСал—NaCl (3,4) от температуры растворов.  $C_{\text{ДДСН}}=0.1$ ,  $C_{\text{НСал}}=0.02$ ,  $C_{\text{NaCl}}=0.7$  М;  $C_{\text{белка}}=0$  (1,2), 2 мг/мл (3,4); pH 3,  $\lambda=560$  нм.

ре образуется видимый осадок. Идентичность хода приведенных на рис. 6 температурных зависимостей для мицеллярных систем ДДСН в присутствии и в отсутствие овальбумина подтверждает то, что формирование осадка обусловлено фазовым расслоением раствора, а не выпадением денатурированного белка. Это позволяет предположить, что мицеллярно-экстракционное концентрирование белков гидротроп-модифицированными фазами ДДСН происходит по механизму сольубилизации молекулы белка с дальнейшим фазообразованием при охлаждении раствора. При этом высаливающее действие компонентов системы ДДСН—НСал—NaCl исключено.

Полученные результаты позволяют провести рациональный выбор типа системы, использование которой для концентрирования белков из природных объектов позволяет достичь оптимальных параметров фазообразования и извлечения. Так, оптимальной является система ДДСН—салициловая кислота—хлорид натрия при концентрациях  $C_{\text{ДДСН}}=0.05$  М,  $C_{\text{НСал}}=0.02$  М и  $C_{\text{NaCl}}=0.7$  М.

Таким образом, в работе исследовано влия-

ние кислотности, концентраций додецилсульфата натрия, салициловой кислоты и хлорида натрия на коллоидно-химическое состояние растворов овальбумина, казеина и бычьего сывороточного альбумина. Обнаружено, что в присутствии небольших добавок додецилсульфата натрия в водном растворе альбумина формируются коллоидные частицы, а избыток ДДСН переводит систему в псевдомолекулярную степень дисперсности. При  $\text{pH} \approx \text{pH}_{IE}$  в растворах белков образуются частицы коллоидной степени дисперсности. Установлено, что присутствие хлорида натрия способствует увеличению размеров и числа белковых коллоидных частиц. Небольшие концентрации салициловой кислоты усиливают коллоидообразование в растворе, а большие — наоборот, переводят систему в псевдомолекулярное состояние. Вследствие противоположно направленного и взаимно компенсирующего влияния электролита и гидротропа в трехкомпонентной системе ДДСН—НСал—NaCl при температурах выше  $T_{\Phi O}$  образуются коллоидные частицы. Показано, что охлаждение растворов ДДСН—НСал—NaCl приводит к увеличению мутности и укрупнению частиц в системе. На основе полученных в работе данных высказано предположение о механизме мицеллярно-экстракционного концентрирования белков гидротроп-модифицированными фазами додецилсульфата натрия.

**РЕЗЮМЕ.** Досліджено вплив модифікуючих добавок електроліту та гідротропу на взаємодію додецилсульфату натрію з білками. Встановлено характер зміни дисперсності розчинів овальбуміну, казеїну та бичачого сировоточного альбуміну в присутності додецилсульфату натрію, салицилової кислоти та хлориду натрію при варіюванні концентраційних і температурних умов. Показано різнонаправлений вплив салицилової кислоти та хлориду натрію на розміри утворюваних у мицеллярних розчинах агрегатів. Висловлено припущення про механізм мицеллярно-екстракційного концентрування білків гідротроп-модифікованими фазами на основі додецилсульфату натрію.

**SUMMARY.** The influence of the electrolyte and hydrotrope additives on the interaction of the sodium dodecylsulfate with proteins was investigated. The character of the changes of the ovalbumin, casein and bovine serum albumin solutions dispersion in the presence of various concentrations of the sodium dodecylsulfate, salicylic acid and sodium chloride was estimated. The differently directed influences of the salicylic acid and sodium chloride on the particle size in micellar solutions were shown.

The mechanism of the micellar extraction of the proteins by hydrotrope-modified phases of sodium dodecylsulfate was proposed.

1. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. -М: Высш. шк., 2000.
2. Yang T.H., Yet M.G. // J. Bioscience and Bioengineering. -2001. -**92**, № 3. -P. 214—220.
3. Saitoh T., Tani H., Kamidate T., Watanabe H. // Trends Anal. Chem. -1995. -**14**, № 5. -P. 213—217.
4. Liu S., Tobias R, McClure S. et al. // Clin. Biochem. -1997. -**30**, № 6. -P. 455—463.
5. Штыков С.Н. // Журн. аналит. химии. -2000. -**55**, № 7. -С. 679—686.
6. Kulichenko S.A., Doroschuk V.O., Lelyushok S.O. // Talanta. -2003. -**59**, № 4. -P. 767—773.
7. Garrido M., Di Nesio M.S., Lista A.G. et al. // Anal. Chim. Acta. -2004. -**502**, № 2. -P. 173—177.
8. Штыков С.Н. // Журн. аналит. химии. -2002. -**57**, № 10. -С. 1018—1028.
9. Tagashira S., Murakami Y., Yano M. et al. // Bull. Chem. Soc. Jpn. -1998. -**71**. -P. 2137—2140.
10. Goryacheva I.Y., Shtykov S.N., Loginov A.S. et al. // Anal. Bioanal. Chem. -2005. -**382**. -P. 1413—1418.
11. Sicilia D., Rubio S., Perez-Bendito D. et al. // Anal. Chim. Acta. -1999. -**392**. -P. 29—38.
12. Саввин С.Б., Чернова Р.К., Штыков С.Н. Поверхностно-активные вещества. -М.: Наука, 1991.
13. Куличенко С.А., Дорожук В.А., Старова В.С. // Журн. прикл. химии. -2008. -**81**, № 8. -С. 1263—1268.
14. Raghavan S.R., Edlund H., Kaler E.W. // Langmuir. -2002. -**18**. -P. 1056—1064.
15. Doroschuk V.O., Lelyushok S.O., Rakhilchuk O.O., Kulichenko S.A. // J. Colloid Interface Sci. -2006. -**299**, № 1. -P. 403—409.
16. Кукушкина А.Н., Деркач С.Р., Ужинов Б.М. и др. // Изв. КГТУ. -2008. -№ 13. -С. 59—62.
17. Ямпольская Г.П., Задьмова Н.М., Тарасевич Б.Н., Еленский А.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. -2004. -**45**, № 6. -С. 371—375.
18. Кудряшова Е.В., Гладилин А.К., Левашов А.В. // Успехи биологической химии. -2002. -**42**. -С. 257—294.
19. Mackie A., Wilde P. // Adv. in colloid and interface science. -2005. -**117**, № 1—3. -P. 3—13.
20. Tofani L., Feis A., Snoko R. E. et al. // Biophys. J. -2004. -**87**, № 2. -P. 1186—1195.
21. Chodankar S., Aswal V.K., Hassan P.A., Wagh A.G. // Physica B: Condensed matter. -2007. -**398**, № 1. -P. 112—117.
22. Schweitzer B., Zanette D., Itri R. // J. colloid and interface science. -2007. -**277**, № 2. -P. 285—291.
23. Еремин А.Н., Карасева Е.И. // Биоорганическая химия. -1991. -**17**, № 5. -С. 610—617.
24. Наджафова О.Ю. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з курсу "Біоаналітика" для студентів хімічного факультету кафедри аналітичної хімії. -Київ: ВПЦ "Київський університет", 2006.
25. Кленин В.И., Щеполев С.Ю., Лаврушин В.И. Характеристические функции светорассеяния дисперсных систем. -Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1977.
26. Плетнев М.Ю. Косметико-гигиенические моющие средства. -М: Химия, 1990.

Киевский национальный университет  
им. Тараса Шевченко

Поступила 15.06.2009