

## СВОЙСТВА НАНОБИОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ БЕЛКА, ВЫСОКОДИСПЕРСНЫХ КРЕМНЕЗЕМА И ТИТАНОКРЕМНЕЗЕМА

Н.П. Галаган, Н.Ю. Клименко, Е.А. Новикова

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины  
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, nataliyagalagan@gmail.com*

*На основе высокодисперсного кремнезема, титанокремнезема (содержание  $TiO_2=20\%$ ) и белка бычьего сывороточного альбумина были получены нанобиокомпозиты, обладающие разной степенью биоактивности по отношению к деконсервированным гаметам быка. При получении нанобиокомпозитов использован метод адсорбции белка из водной фазы при pH 4,8. Построены изотермы адсорбции и рассчитаны параметры адсорбционного процесса. ИК-спектроскопия была использована для оценки характера взаимодействий БСА с поверхностью наноксидов. Биоактивность оценивалась по параметрам движения клеток методом лазерно-доплеровской спектроскопии. Установлена ее зависимость от природы центров поверхности наноксидов и их концентрации. Отмечено, что нанобиокомпозиты обладали меньшей способностью к агрегации в среде с клетками по сравнению с исходными наноксидами.*

### Введение

Использование наноматериалов в биотехнологии ограничивается недостатком данных о проявлении их свойств в сложных биологических системах [1]. Исследования, выполненные в течение последних двадцати лет показали, что высокодисперсный кремнезем может оказывать стимулирующее влияние на ряд одноклеточных микроорганизмов, существенно ускоряя процессы их жизнедеятельности [2]. Этот эффект может быть использован в биотехнологии для повышения активности репродуктивных клеток в процессе их деконсервирования. Однако применяемые в настоящее время криосреды представляют собой сложные многокомпонентные растворы, в состав которых входят криопротекторы (глицерин, диметилсульфоксид и др.), низкомолекулярные органические вещества (сахара, кислоты, соли) и биополимерные молекулы, преимущественно белковой или полисахаридной природы. При включении в такие среды наноксидов (используемых главным образом в небольших концентрациях) на их поверхности могут адсорбироваться компоненты среды. Поскольку нанокремнеземы обладают высоким сродством к белковым молекулам [2, 3], можно ожидать значительную адсорбцию на них белковой компоненты и, как следствие, изменение состава среды и понижение биоактивности наночастиц. Поэтому особый интерес вызывает изучение биоактивности наноксидов при включении их в состав нанобиокомпозитов (НБК) состоящих из наночастиц оксидов или их агрегатов и белковых молекул. Последние могут выполнять как защитную функцию, предотвращая адсорбцию белковых молекул из криосреды, так и функцию коадсорбата, позволяющего транспортировать биоактивные вещества из среды к зоне контакта клетка – частица.

Целью работы был синтез белоксодержащих НБК, созданных на основе высокодисперсного кремнезема или титанокремнезема; изучение характера взаимодействий белка с оксидной поверхностью методом ИК-спектроскопии; сравнение биоактивности полученных НБК с исходными наноксидами и исследование их способности к агрегации в присутствии подвижных клеток.

## Экспериментальная часть

В экспериментах использовали высокодисперсный кремнезем (ВДК) А-300 ( $S_{уд}=285 \text{ м}^2/\text{г}$ ) (г. Калуш, Украина), титанокремнезем (ТК20, содержание  $\text{TiO}_2=20\%$ ,  $S_{уд}=84 \text{ м}^2/\text{г}$ ) и белок бычий сывороточный альбумин (БСА) (“Fluka”, USA; м.в. 67 кДа). ТК20 получен в лабораторных условиях и любезно предоставлен с.н.с. В.И. Зарко. ВДК предварительно подвергали термообработке в течение 2 ч при  $400 \text{ }^\circ\text{C}$ , а ТК20 – 1 ч при  $450 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Синтез НБК проводили методом адсорбции из водных растворов БСА при pH 4,8 (изоэлектрическая точка (ИЭТ) белка) в условиях постоянного перемешивания в течение 2 ч ( $t=20\text{-}25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) [4]. Соотношение адсорбат:адсорбент составляло 1:10, концентрация растворов белка – 1-14 мг/мл. Твердую фазу отделяли центрифугированием (10 мин при 4000 об/мин), после чего высушивали при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  и механически измельчали. В надосадочной жидкости концентрацию белка измеряли микробиуретовым методом с использованием фотоэлектроколориметра КФК-2 [5]. Величину адсорбции (А) БСА рассчитывали по разнице концентраций белка до и после контакта его растворов с частицами наноксидов по формуле:  $A=(C_{исх}-C_{равн})V/m$ , где  $C_{исх}$  и  $C_{равн}$  – соответственно исходная и равновесная концентрации, мг/мл;  $V$  – объем раствора, мл;  $m$  – масса сорбента, г [6]. Исходя из полученных данных, были построены изотермы адсорбции, по которым оценивалась эффективность адсорбционных взаимодействий белка с наноксидами. Десорбцию белка с поверхности НБК проводили в водный раствор на протяжении 4 ч при  $20 - 23 \text{ }^\circ\text{C}$ . Условия их обработки после десорбции аналогичны указанным выше; затем образцы использовались для ИК-спектральных измерений и определения биоактивности.

ИК-спектры наноксидов и НБК снимали на спектрометре Thermo Nicolet Nexus FTIR в области  $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$  с применением приставки диффузного отражения “SMART Collector”. Образцы смешивали с предварительно просушенным KBr (Riedel-de Haen, Франция, ч.д.а.) в соотношении 1:19 с использованием программного обеспечения фирмы “Omnic”. Степень покрытия поверхности наноксидов белком ( $\theta$ , %) определяли из соотношения оптической плотности полосы поглощения  $3750 \text{ см}^{-1}$ , характерной для силанольных групп, до ( $D_1$ ) и после адсорбции ( $D_2$ ) белка по формуле:  $\theta=1-D_1/D_2$  [7].

Биологическую активность НБК определяли методом лазерно-доплеровской спектроскопии на программно-аппаратном комплексе “Spectrolas Instruments. Model LDS MQE” (Украина) по параметрам движения репродуктивных деконсервированных клеток быка [8]. Соответствующая программа позволяет в процессе эксперимента фиксировать параметры движения клеток в присутствии любых веществ, в том числе и НБК [8]. В результате строилась корреляционная зависимость, что давало возможность оценить биологическую активность наноксидов или НБК по параметрам движения клеток (количество подвижных клеток ( $\beta$ , %), частота их вращения ( $\omega$ , Гц), скорость ( $v$ , мкм/с) и энергия ( $E$ , усл.ед.)) в зависимости от их концентрации в среде с клетками. Параметр “энергия движения” ( $E$ ) клетки в вязкой среде пропорционален мощности ее движения ( $N$ ), которая рассчитывается по формуле  $N=\gamma \cdot v^2$ , где  $v$  – скорость движения клетки;  $\gamma$  – коэффициент, связанный с формой, размерами клеток и свойствами среды [8].

Гранулы замороженной при температуре жидкого азота в лактозо-глицериново-желточной (ЛГЖ) криосреде бычьей спермы предоставлены Национальным банком генофонда животных (Институт разведения и генетики животных Национальной академии аграрных наук Украины). Условия деконсервации: 1 гранула размораживалась в 1 мл 2,9%-ного цитрата натрия при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  20 мин. Наноксиды или НБК добавлялись в виде суспензии в 2,9%-ном цитрате к размороженной сперме в соотношении 3:1. Их конечная концентрация в пробах составляла 0,002 – 0,15%. После инкубации смеси

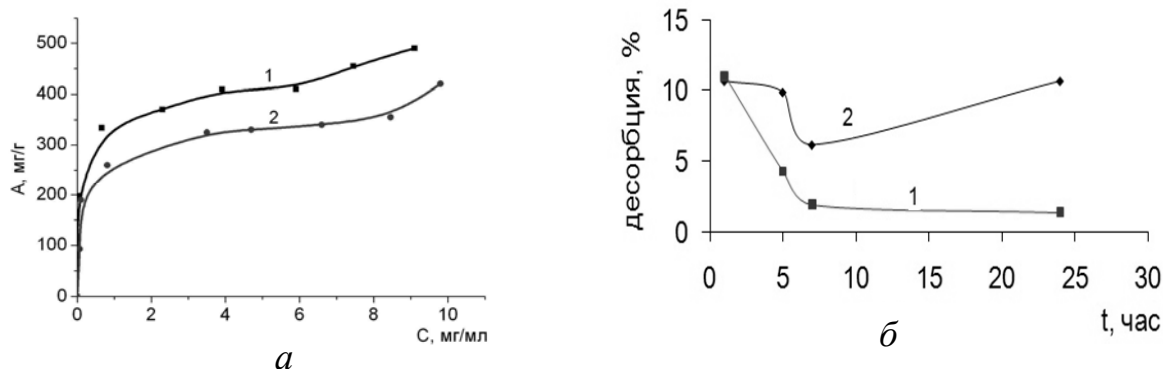
(37 °С, 1 ч) проводили измерения перечисленных выше параметров движения клеток под воздействием лазера с длиной волны 632,8 нм в кювете V=1 мл в течение 3 мин.

При оценке действия наноматериалов на клетки учитывали уменьшение их двигательной активности со временем в сравнении с контролем, принятым за 100% (в отсутствие наночастиц), вводя соответствующий коэффициент потери активности. Биоактивность оценивали по отношению суммарных показателей в пробе и контроле за все время измерений.

Агрегацию наночастиц в суспензии клеток изучали методом фазово-контрастной микроскопии в комплексе с компьютерной регистрацией изображения при увеличении  $\times 900$ . Исследование проводилось одновременно с экспериментами по определению двигательной активности клеток методом лазерно-доплеровской спектроскопии, что дало возможность изучения одних и тех же биопроб двумя разными методами.

### Результаты и обсуждение

Изотермы адсорбции, снятые при значениях pH в области ИЭТ (pH 4,8) (рис. 1а), свидетельствуют о значительной адсорбции БСА как на ВДК А-300, так и на ТК20. Обе изотермы имеют форму ленгмюровских кривых [9]. Несмотря на то, что изотерма адсорбции БСА на поверхности ВДК А-300 расположена выше, чем для ТК20, благодаря различию в величине удельной поверхности материалов предельная адсорбция ( $A_{\infty}$ ) белка на ТК20, выраженная в мг/м<sup>2</sup>, оказалась в 2,8 раза выше, чем на ВДК (табл. 1). Это может быть связано как с наличием в титанокремнеземе брэнстедовских кислотных центров Si-O(H)-Ti, способных к специфическим взаимодействиям с аминокруппами белка [10], так и с особенностями морфологии порового пространства в агрегатах ТК20.



**Рис. 1.** Изотермы адсорбции БСА на поверхности наноксидов при pH=4,8 (а) и кинетические кривые его десорбции (б): 1 – ВДК А-300, 2 – ТК20.

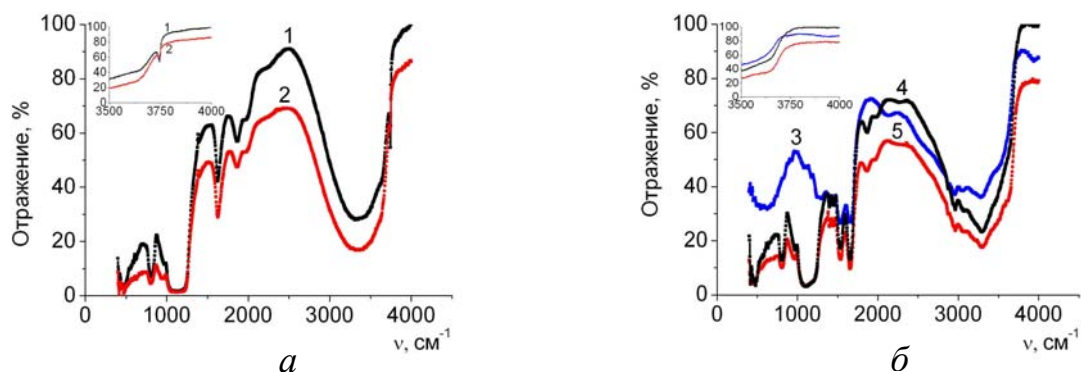
**Таблица 1.** Параметры адсорбции-десорбции БСА на ВДК А-300 и ТК20 при pH 4,8

Образец	$A_{\infty}$			% десорбции
	мг/г	мг/м <sup>2</sup>	моль/г	
ВДК А-300	410	1,44	$60,29 \cdot 10^{-7}$	10,0
ТК20	340	4,05	$50 \cdot 10^{-7}$	4,26

Сравнение данных десорбции белка с поверхности оксидов подтверждает предположение о том, что наличие TiO<sub>2</sub> в смешанном оксиде может способствовать уменьшению десорбции БСА с поверхности. Вероятно, это обусловлено присутствием большего количества центров прочного связывания альбумина с поверхностью, которое происходит путем образования водородносвязанных комплексов с брэнстедовскими кислотными центрами (рис. 1б, табл. 1).

В ИК-спектрах ВДК А-300 и ТК20 (таблетки с KBr, рис. 2а) наблюдаются полосы валентных ОН-колебаний в области  $3750\text{ см}^{-1}$ , которые принадлежат изолированным (свободным) ОН-группам [11]. Однако в ТК20 эта полоса значительно менее интенсивна.

БСА является белком  $\alpha$ -спирального типа [12]. В нем изменение конформации полипептидной цепи приводит к смещению ИК-полос поглощения Амид I, Амид II и Амид III, находящихся в области  $1650\text{ см}^{-1}$ ,  $1550\text{ см}^{-1}$  и  $1200 - 1300\text{ см}^{-1}$  соответственно [12]. Полоса Амид I принадлежит валентным С=О-колебаниям пептидной группы белка, С–N-связям, а также характеризует колебания, в которых изменяется длина связи С=О. Полоса Амид II определяется взаимодействием валентного колебания С–N с деформационными N–H-колебаниями. Полосы Амид II и Амид III обусловлены колебаниями, при которых связь N–H поворачивается в плоскости пептидной группы [12, 13]. Для неадсорбированного состояния БСА характерно также наличие полосы N–H-колебаний в области  $3000 - 3300\text{ см}^{-1}$ , что соответствует полосам Амид А ( $3300\text{ см}^{-1}$ ) и Амид В ( $3060 - 3100\text{ см}^{-1}$ ).



**Рис. 2.** ИК-спектры исходных оксидов (а) и нанобиокмозитов, полученных на их основе путем адсорбции БСА (б): 1 – ВДК А-300, 2 – ТК20, 3 – БСА, 4 – А-300/БСА, 5 – ТК20/БСА.

В результате адсорбции белка на поверхности исследуемых оксидов полоса поглощения  $3750\text{ см}^{-1}$  исчезает (рис. 2б). Это свидетельствует о непосредственном участии изолированных ОН-групп кремнезема в образовании водородной связи с молекулами альбумина [14]. Кроме того, адсорбция БСА приводит к появлению широкой полосы поглощения при  $3300\text{ см}^{-1}$  (рис. 2б) и появлению полосы валентных С=О- и N–H-колебаний в областях поглощения полос Амид I и Амид II. В соответствии с [11] это можно интерпретировать как образование прочных водородных связей между силанольными группами поверхности кремнезема и карбоксильными или аминогруппами адсорбированного белка.

В ИК-спектрах образцов НБК наблюдается лишь небольшое смещение полосы Амид I в высокочастотную область (от  $1650\text{ см}^{-1}$  до  $1655\text{ см}^{-1}$ ), что характерно для  $\alpha$ -спиральной (свернутой) структуры белка [13]. Вероятно, при контакте БСА с поверхностью нанооксидов не происходит заметных изменений конформации его молекул, то есть нарушения глобулярной структуры.

По изменению интенсивности полос поглощения свободных силанольных групп до и после адсорбции белка была рассчитана степень покрытия их поверхности белковыми молекулами (табл. 2). Оказалось, что для смешанного оксида величина  $\theta$  на 11% выше, чем для ВДК, что, вероятно, определяется наличием большего числа центров прочного связывания и согласуется с большей величиной предельной адсорбции (табл. 1).

**Таблица 2.** Степень покрытия поверхности наноксидов белком

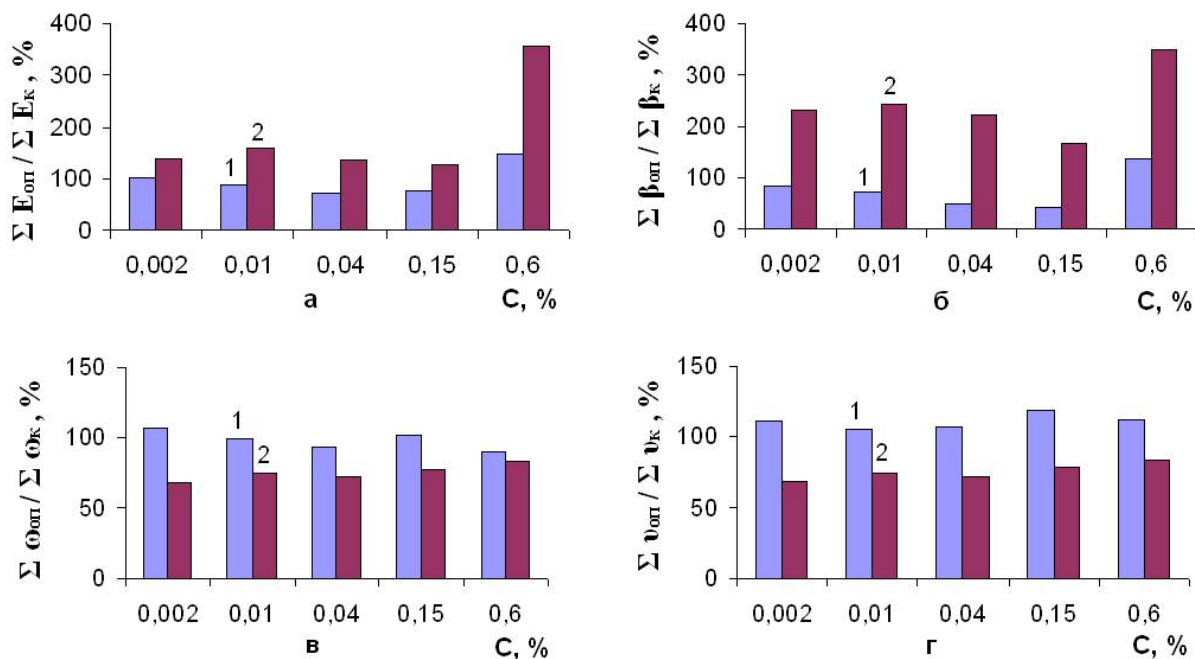
Образец	$\theta$ , %
ВДК А-300	86
ТК20	97

Следует отметить, что адсорбция белковых молекул наноксидами, находящимися в виде достаточно больших агрегатов и агломератов (микронного или субмикронного размеров), осуществляется в местах наибольшего адсорбционного потенциала, расположенных преимущественно в поровом пространстве, сформированном первичными и вторичными частицами наноксида. Поскольку в пирогенных кремнеземах отсутствуют (или их мало) химические связи между отдельными частицами, в процессе адсорбции возможно также изменение морфологии агломератов, которое определяется стремлением системы адсорбент – адсорбат к минимуму свободной энергии. Тогда следует ожидать, что при установлении адсорбционного равновесия (достижении предельной величины адсорбции БСА) большая часть белковых молекул сосредоточивается внутри агломератов наноксидов, а на их поверхности остается некоторое количество участков, свободных от белка (адсорбционный потенциал поверхности меньше, чем в объеме агломератов). При этом даже в случае высокой адсорбции белка обеспечивается возможность непосредственного контакта поверхности оксида с клетками.

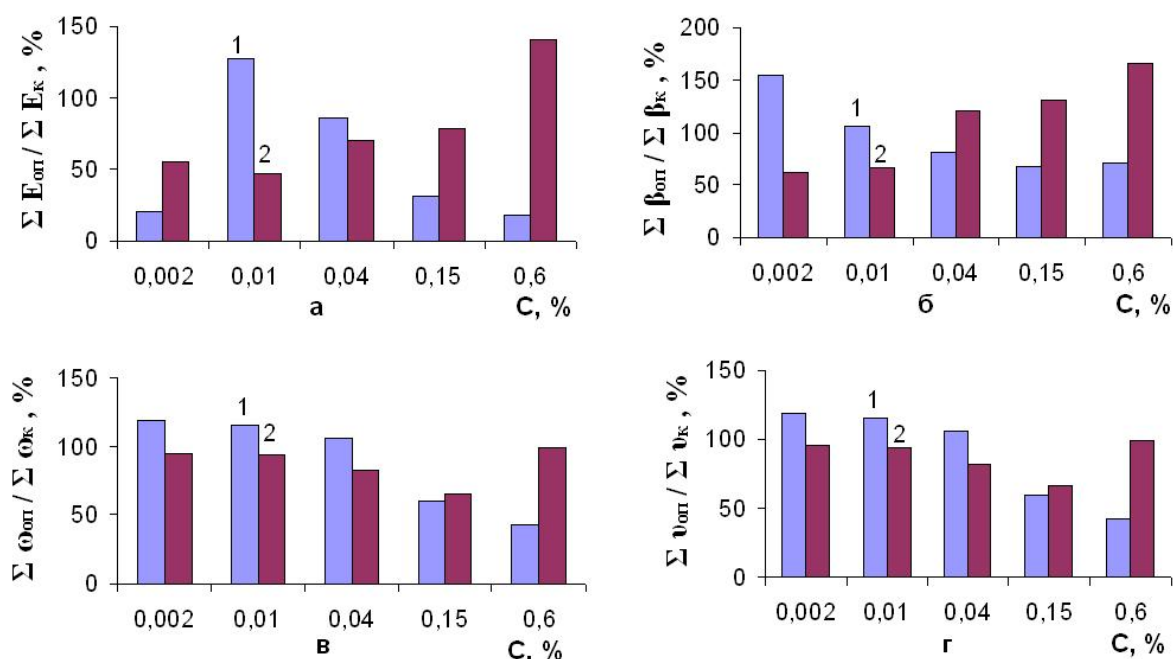
На рис. 3 приведены результаты измерения параметров движения деконсервированных гамет в зависимости от концентрации наноксидов, добавляемых к клеточной суспензии. Параметры нормированы относительно величин, полученных в отсутствие оксидов, принимаемых за 100%. Как видно из данных рис. 3, энергия движения (рис. 3а) и количество подвижных клеток в присутствии ТК20 (рис. 3б) существенно возрастает, а частота и скорость движения клеток (рис. 3в,г) – уменьшается. Для обоих образцов рост их концентрации в криосреде обуславливает некоторое уменьшение энергии движения и количества подвижных клеток (рис. 3а,б) при  $C < 0,6\%$ , а при  $C = 0,6\%$  фиксируется максимальный эффект стимуляции параметров движения клеток наночастицами.

Преадабсорбция на поверхности наноксидов БСА существенно изменяет параметры движения клеток. Так, для НБК А-300/БСА максимальная величина подвижности клеток увеличилась в 1,6 – 1,8 раза по сравнению с исходным ВДК А-300 (рис. 4б), а для НБК ТК20/БСА – уменьшается почти в 1,8 раза. При этом клетки становятся более чувствительными к изменению концентрации твердых частиц в криосреде.

Энергия движения клеток, которая служит основным параметром жизнеспособности гамет, наибольшая в присутствии ТК20. После адсорбции альбумина на поверхности кремнезёмов наблюдается повышение энергии движения клеток для НБК А-300/БСА (почти в 1,5 раза при 0,01%). В то же время для ТК20/БСА, наоборот, отмечено падение активности клеток почти в 3,5 раза при той же концентрации. То есть происходит смещение максимальной активности в область больших концентраций. Для ТК20 эта тенденция не наблюдалась. Таким образом, энергия движения клеток увеличивается в ряду ТК20/БСА < А-300 < А-300/БСА < ТК20. Во всех случаях, за исключением ТК20/БСА, при увеличении концентрации НБК наблюдается уменьшение энергии движения клеток.



**Рис. 3.** Зависимость параметров движения деконсервированных гамет быка (энергии (а), количества подвижных клеток (б), частоты (в), скорости (г)) от концентрации ВДК А-300 (1) и ТК20 (2).



**Рис. 4.** Зависимость параметров движения клеток (энергии (а), количества подвижных клеток (б), частоты (в), скорости (г)) от концентрации НБК: А-300/БСА (1), ТК20/БСА (2).

Наибольшее влияние на скорость и частоту вращения клеток в присутствии ВДК А-300 и НБК наблюдалось при их низких концентрациях (0,002%). Оно уменьшалось при концентрациях  $C=0,01 - 0,15\%$  (рис. 3, 4). Для ТК20 максимальные значения указанных параметров регистрировались при  $C=0,002 - 0,01\%$ . Его высокая

биоактивность по отношению к параметрам движения клеток, скорее всего, связана с большей доступностью поверхности для контакта с клетками.

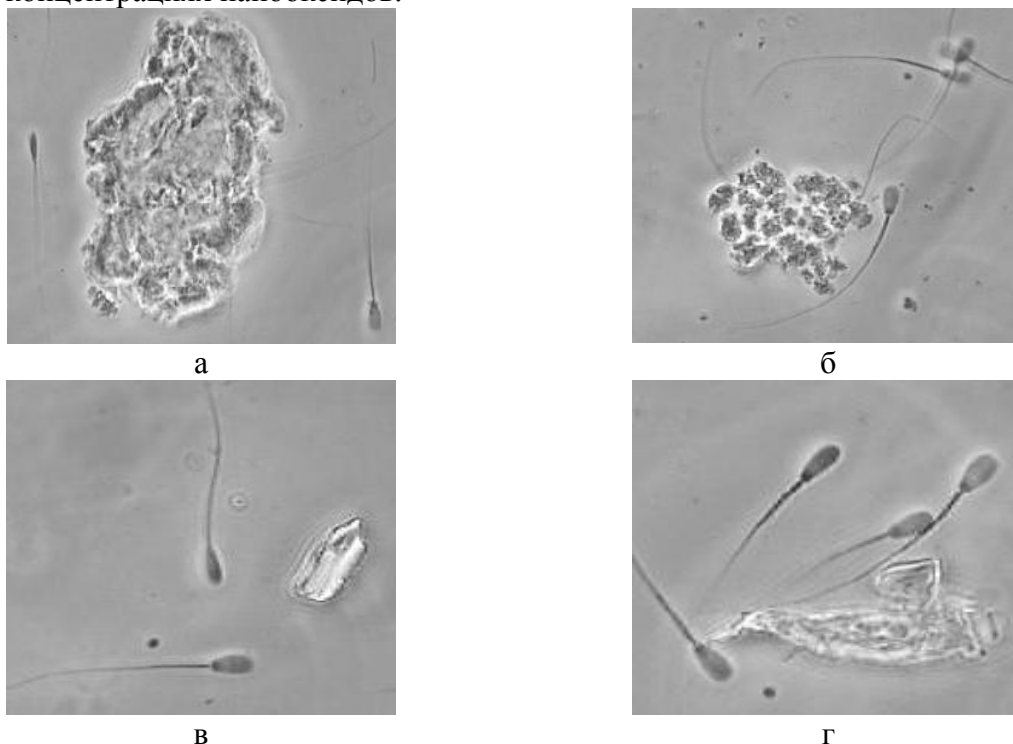
Многочисленными исследованиями показано, что биологическая активность наноксидов в зависимости от их концентрации в клеточной суспензии может быть как стимулирующей, так и ингибирующей, что часто проявляется в колоколообразной зависимости биоактивности от концентрации наночастиц. Оба типа воздействия наночастиц на клетки зависят от адсорбции на поверхности биополимерных молекул. Например, при контакте кремнезема с эритроцитами обычно происходит их гемолиз [2], который, вероятно, обусловлен связыванием мембранных белков, в том числе и гликопротеинов, с поверхностью наночастиц и последующим нарушением клеточного метаболизма, что влечет за собой разрушение клеточных мембран. Гемолиз резко уменьшается при экранировании поверхности адсорбированными молекулами белков или полимеров [2]. Изучение стимулирующего влияния нанокремнезема на репродуктивные клетки при варьировании размера частиц показало, что наибольший стимулирующий эффект достигается при малых размерах агрегатов кремнезема [15], то есть стимуляция происходит в процессе кратковременного контакта клетка – частица, при котором многоточечное связывание частиц с клетками маловероятно. Преадаптация белковых молекул на поверхности наночастиц может препятствовать многоточечным контактам, а, следовательно, отражаться на эффективности их стимулирующего влияния на клетки.

Получены в настоящей работе особенности проявления биологической активности наноксидов и их нанобиокмозитов с БСА на гамету быка можно объяснить следующим образом. При включении в криосреду ВДК А-300 на его поверхности адсорбируются белковые молекулы из криосреды, а, возможно, и связанные с ними низкомолекулярные вещества, что экранирует поверхность частиц от контакта с клетками. При этом происходит пассивация поверхности наноматериала, которая, по-видимому, связана с малой вероятностью контакта с гаметами незащищенной белком поверхности наночастиц (рис. 3). Аналогичный процесс происходит и в случае использования наноксида ТК20. Однако ввиду присутствия на поверхности его частиц брэнстедовских кислотных центров диффузия белковых молекул во внутреннюю часть агрегатов происходит быстрее и ее активность по отношению к клеточной поверхности сохраняется в большей степени, чем для частиц ВДК А-300. Рост стимулирующего влияния при высокой концентрации наноксида ( $C=0,6\%$ , рис. 3) может быть связан с увеличением вероятности контакта клеток с частицами при существенном росте количества частиц.

При использовании нанобиокмозитов, агломераты которых насыщены белком в равновесных условиях, перестройка строения частиц в криосреде за счет формирования нового типа композита становится маловероятной, поскольку адсорбционный потенциал частиц по отношению к белкам из криосреды для частиц НБК значительно меньше, чем для исходных наноксидов. Как видно из данных рис. 4, активность НБК, созданного на основе кремнезема А-300, проявляется при значительно меньшей его концентрации в криосреде, а средняя величина биоактивности композитов становится существенно выше.

Таким образом, биоактивность исходных и модифицированных кремнеземов по отношению к количеству подвижных клеток увеличивается в ряду  $A-300 < A-300/БСА < ТК20/БСА < ТК20$ . Регистрируемое в некоторых случаях понижение активности гамет в присутствии наноксидов и НБК может быть связано с формированием агрегатов клетка – частица, в которых движение клеток затруднено многоцентровым связыванием с ними частиц твердой фазы.

Так, для клеточной суспензии, содержащей нанокремнезем А-300, характерна большая агрегированность частиц по сравнению с наноксидом ТК20 (рис. 5а,б), агрегаты которого более «рыхлые», что свидетельствует о меньшей силе межчастичных взаимодействий. Именно высокая агрегированность частиц способствует спонтанной иммобилизации на них значительной части гамет. Это может снижать параметры движения клеток при более высоких концентрациях наноматериалов, что и наблюдалось в экспериментах по лазерно-доплеровской спектроскопии. Процесс менее выражен при низких концентрациях наноксидов.



**Рис. 5.** Микрофотография агрегатов наноксидов и нанобиокмполитов ( $C=0,01\%$ ) на их основе с БСА в присутствии клеток: а – ВДК А-300; б – ТК20; в – А-300/БСА; г – ТК20/БСА.

Микрофотографии, приведенные на рис. 5в,г свидетельствуют о том, что наличие на поверхности наноксидов адсорбированного белка сопровождается уменьшением агрегации их наночастиц. Этот факт, скорее всего, обусловлен тем, что БСА является природным поверхностно-активным веществом, которое предотвращает формирование слишком больших агрегатов наночастиц. Полученные экспериментальные результаты хорошо согласуются с литературными данными [3].

### **Выводы**

Адсорбция БСА из водных растворов (выраженная в  $\text{мг}/\text{м}^2$ ) на поверхности титанокремнезема ТК20 при рН 4,8 существенно больше, чем на поверхности ВДК А-300. Установлено, что ТК20 в криосреде, содержащей белковые молекулы, обладает более высокой биоактивностью, чем ВДК А-300. Высказано предположение, что благодаря наличию на поверхности ТК20 брэнстедовских кислотных центров значительная часть поверхности его частиц остается доступной для контакта с клетками, а белковые молекулы из криосреды связываются преимущественно во внутренних полостях агрегатов и агломератов, поверхность которых обладает более высоким (по сравнению с внешней поверхностью частиц) адсорбционным потенциалом. Иммобилизация БСА в нанобиокмполитах, полученных путем равновесной адсорбции



белка на поверхности наноксидов, приводит к понижению биоактивности для ТК20 и росту ее для ВДК А-300, что может быть связано с таким изменением морфологии агрегатов в процессе адсорбции БСА, при котором в агрегатах А-300/БСА возрастает вклад свободной от белка поверхности. Наличие белка на поверхности исследуемых наноксидов способствует снижению агрегации наночастиц в криосо средах с клетками.

### Литература

1. Третьяков Ю.Д., Гудилин Е.А. Основные направления фундаментальных и ориентированных исследований в области наноматериалов // Успехи химии. – 2009. – Т. 78, № 9. – С. 867–887.
2. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. – Киев: Наук. думка, 2003. – 416 с.
3. Гунько В.М., Зарко В.И., Туров В.В., Гончарук Е.В., Ничипорук Ю.М., Андрийко Л.С., Турова А.А., Мищук О.А., Птушинский Ю.Г., Горбик П.П., Лебода Р., Скубишевска-Земба Р., Писис П., Блиц Дж.П. Закономерности поведения наноматериалов в разных средах, обусловленные строением поверхности и морфологией частиц // Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур. – 2007. – Т. 1. – С. 157–226.
4. Чуйко А.А., Власова Н.Н., Давиденко Н.К., Погорелый В.К. Адсорбционное взаимодействие высокодисперсного кремнезема с биомолекулами // Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. – Киев: Наук. думка, 2003. – С. 116–152.
5. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – Москва: Высш. шк., 1980. – 215 с.
6. Айвазов Б.В. Практикум по химии поверхностных явлений и адсорбции. – Москва: Высш. шк., 1973. – 208 с.
7. Пахлов Е.М. ИК-спектроскопия молекул, адсорбированных на поверхности высокодисперсного кремнезема // Химия, физика и технология поверхности. – 2006. – Вып. 11–12. – С. 271–283.
8. Галаган Н.П., Власенко В.В., Настасієнко Н.С., Чуйко О.О. Дослідження впливу высокодисперсного кремнезему, модифікованого поліолами на життєдіяльність репродуктивних клітин методом фотон-кореляційної спектроскопії // Вісн. Харк. ун-ту, № 665. – Біофіз. вісн. – 2005. – №1 (15). – С. 94–98.
9. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел / Под ред. Г. Парфита, К. Рочестера. – Москва: Мир, 1986. – 488 с.
10. Gun'ko V.M., Vlasova N.N., Golovkova L.P., Stukalina N.G., Gerashchenko I.I., Zarko V.I., Tischenko V.A., Goncharuk E.V., Chuiko A.A. Interaction of proteins and substituted aromatic drugs with highly disperse oxides in aqueous suspension // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2000. – V. 167. – P. 229–243.
11. Литтл Л. Инфракрасные спектры адсорбированных молекул. – Москва: Мир, 1969. – 514 с.
12. Соркина Д.А., Залевская И.Н. Структурно-функциональные свойства белков. – Киев: Выща шк., 1989. – 216 с.
13. Чиргадзе Ю.Н. Инфракрасные спектры и структура полипептидов и белков. – Москва: Наука, 1965. – 134 с.
14. Тарасевич Ю.И. Взаимодействие глобулярных белков с поверхностью кремнезёмов // Теорет. и эксперим. химия. – 2001. – Т. 37, № 2. – С. 95–99.

15. Галаган Н.П., Гунько В.М., Порхун Н.Г., Новикова Е.А., Туров В.В. Влияние дисперсности нанокремнеземов на их биоактивность по отношению к гаметам быка // Доп. НАН України. – 2012. – № 5. – С. 126-133.

## **ВЛАСТИВОСТІ НАНОБІОКОМПЗИТІВ НА ОСНОВІ БІЛКА, ВИСОКОДИСПЕРСНИХ КРЕМНЕЗЕМУ ТА ТИТАНОКРЕМНЕЗЕМУ**

**Н.П. Галаган, Н.Ю. Клименко, О.А. Новікова**

*Інститут хімії поверхні ім. О.О.Чуйка Національної академії наук України  
вул. Генерала Наумова 17, Київ, 03164, Україна*

*На основі високодисперсного кремнезему, титанокремнезему (вміст  $TiO_2=20\%$ ) та білка бичачого сироваткового альбуміну були одержані нанобіокомпозити, які мають різний ступінь біоактивності стосовно деконсервованих гамет быка. При одержанні нанобіокомпозитів використаний метод адсорбції білка з водної фази при рН 4,8. Побудовані ізотерми адсорбції та розраховані параметри адсорбційного процесу. ІЧ-спектроскопія була використана для оцінки характеру взаємодії БСА з поверхнею наноксидів. Біоактивність оцінювалась за параметрами руху клітин методом лазерно-доплерівської спектроскопії. Встановлена її залежність від природи центрів поверхні наноксидів та їх концентрації. Відмічено, що нанобіокомпозити мають меншу здатність до агрегації в середовищі з клітинами в порівнянні з вихідними наноксидами.*

## **PROPERTIES OF NANOBIOCOMPOSITES BASED ON PROTEIN, ULTRAFINE SILICA AND TITANIA/SILICA**

**N.P. Galagan, N.Yu. Klymenko, E.A. Novikova**

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine  
17 General Naumov Str., Kiev, 03164, Ukraine*

*Nanobiocomposites based on ultrafine silica, titania/silica (containing  $TiO_2=20\%$ ) and protein of bovine serum albumin were obtained, showing various range of bioactivity with respect to deconserved bovine gametes. Method of adsorption of protein from aqueous phase at pH 4,8 was used for obtained of nanobiocomposites. Isotherms of adsorption were obtained and parameters of the process were calculated. Bioactivity was estimated by parameters of cell motion using laser Doppler spectroscopy. Its dependence upon the nature of on nanooxide surface and their concentration were established. It was noted nanobiocomposites demonstrate lower ability of aggregation in cell-containing media in comparison with initial nanooxides.*