

та термообробками не може дати того ефекту, що його забезпечує синтез цеоліту безпосередньо з матричного матеріалу. Завдяки цьому зразки 2 та 3, одержані способом "in situ", краще витримують умови жорсткої термopарообробки за зразок 4, синтезований способом змішування.

Автори висловлюють подяку І. А. Манзі та О. М. Яковенку за допомогу у вивченні кислотності зразків, а також О. М. Таранусі та В. І. Назарку за плідну дискусію.

РЕЗЮМЕ. Изучено стабилизирующее влияние матрицы на водородную форму цеолита типа Y. Показано, что при одинаковых условиях декатионирования водородная форма на основе чистого цеолита по активности в модельной реакции крекинга кумола уступает форме HY на основе цеолита Y, синтезированного в каолиновой микросфере способом "in situ", т.е. непосредственно из матричного материала — каолина, когда цеолитная фаза не теряет генетическую связь с матричной. Сделан вывод, что способ "in situ" для получения цеолитсодержащих катализаторов предпочтительнее способа смешения, когда катализатор готовят через предварительную гомогенизацию чистого цеолита и матричного материала.

SUMMARY. The stabilizing influence of the matrix on the properties of H-form of the Y zeolite is investigated. It's shown that under similar conditions of decationization the hydrogen form on the base of the pure zeolite by its activity in the model reaction of the cumene cracking is greatly inferior to the HY form on the base of zeolite Y which is synthesized in the kaolin microsphere by the "in situ" method, i.e. immediately from the matrix material — kaolin, when the zeolitic and matrix phases don't lose the genetic link. One arrives at the conclusion of the advantages of the

obtainment of the zeolite-containing catalysts by the "in situ" method as compared with the "mixing" method when the catalyst is prepared through the preliminary homogenization of the pure zeolite and matrix material.

1. Бобонич Ф. М. // Химия, физика и технология поверхности. -1997. -Вып. 2. -С. 32—41.
2. Брек Д. Цеолитовые молекулярные сита / Перевод с англ. -М.: Мир, 1976.
3. Hayward C.-M., Winkler W. S. // Hydrocarbon Processes. -1990. -69, № 2. -С. 55—56.
4. Чукин П. Д., Сергиенко С. А., Маслова А. А. и др. // Тез. докл. 3 Всесоюз. конф. по применению цеолитов в катализе. -М., 1985. -С. 143—144.
5. Otterstedt J.-E., Yan-Ming Zhu, Sterte J. // Appl. Catal. -1988. -38, № 1. -P. 143—155.
6. Tomnesend R. P., Franklin K. R., O'Connor J. F. // Adsorp. Sci. and Technol. -1984. -1, № 4. -P. 269—283.
7. Паренго О. О., Фионов А. В., Лукина Е. В. и др. // Тез. докл. 4 Всесоюз. конф. по применению цеолитов в катализе. -М., 1989. -С. 23—25.
8. Шарифова Э. В., Аскерова А. И., Зейналова Ф. А. и др. // Журн. прикл. химии. -1986. -59, № 7. -С. 1574—1579.
9. Eastwood S. C., Plank C. J., Weisz P. W. // World Petroleum Congress. -PD, 1972. -14, № 2. -P. 245—254.
10. Яковс П. А. Карбонийонная активность цеолитов / Пер. с англ. -М.: Химия, 1983.
11. Крекинг нефтяных фракций на цеолитсодержащих катализаторах / Под ред. С. Н. Хаджиева. -М.: Химия, 1982.
12. Нефедов Б. К., Радченко Е. Д., Алшев Р. Р. Катализаторы процессов углубленной переработки нефти. -М.: Химия, 1992.
13. Pat. 4581341 USA. IC5 BOI J, 29/08 // F. L. Himpls. -Publ. 8,04.86.
14. Patrylak K. I., Bobonych F. M., Voloshyna Yu. G. et al. // Appl. Cat. -1998. -174, № 1-2. -P. 187—198.

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ

Надійшла 21.12.98

УДК 541.183:547.96

Т. И. Денисова, Г. Ф. Карпенко, Т. А. Халявка, Д. И. Швец

АДСОРБЦИЯ ТРИПСИНА НА СИЛИКО-ПОЛИМЕТИЛСИЛОКСАНЕ И ЕГО МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФОРМАХ

Исследована адсорбция—десорбция трипсина в водно-солевых растворах органокремнеземным сорбентом и его модифицированными Si (II) формами. Показано, что модифицирование не влияет на параметры пористой структуры сорбента. Определено, что наличие Si (II) в составе сорбента увеличивает адсорбцию и замедляет десорбцию трипсина в водно-солевых растворах.

Повышенный интерес к адсорбции ферментов на различных сорбционных материалах, в том числе кремнеземсодержащих, связан не только с решением проблем по очистке и разделению белков, моделированию биомембранных систем, но и с актуальностью создания новых биоспецифических сорбентов, аппликационных материалов. Несмотря на многочисленные исследования по адсорбции ферментов на твердых носителях [1, 2] многие вопросы, связанные с получением количественных кинетических и равновесных характеристик в системе фермент—адсорбент остаются невыясненными или ди-

скуSSIONными. Это связано со сложностью изучаемых систем и разнообразием типов взаимодействия белковых макромолекул на границе раздела фаз, обусловленных как особенностями пористой структуры и химией поверхности адсорбента, наличием гидрофильных и гидрофобных групп, pH нулевого заряда поверхности, так и природой белковой молекулы, ее способностью к ассоциации в растворе, pH изоэлектрической точки белка, его стабильностью, возможностью конформационных изменений в растворе и в адсорбционном слое на поверхности твердого носителя и др.

© Т. И. Денисова, Г. Ф. Карпенко, Т. А. Халявка, Д. И. Швец, 2000

В качестве носителей при изучении адсорбции трипсина описаны сорбенты различной природы: углеродные и углеволокнистые материалы [3, 4], стекла [5], кремнеземы и их модифицированные формы [6—8], силикагель [8, 9]. Адсорбция трипсина на кремнийорганических адсорбентах до настоящего времени не изучалась. Имеющиеся сведения об адсорбционном поведении белков плазмы крови на гидрофобном полиметилсилоксане [10] и кинетике адсорбции сывороточного альбумина на силико-полиметилсилоксане [11] носят не систематический характер и не позволяют дать более полную оценку количественных закономерностей адсорбции белковых молекул на гидрофильно-гидрофобных кремнийорганических адсорбентах.

Данная работа посвящена изучению адсорбции-десорбции трипсина на силико-полиметилсилоксане состава 50 : 50 % (мас.) и его модифицированных медью (II) форм в водно-солевых растворах.

В качестве объектов исследования использовали силикополиметилсилоксан с соотношением гидрофильной и гидрофобной компоненты 50 : 50 % (мас.) (ОК-50) и его модифицированные медью (II) формы ОК-50 (Cu) с содержанием модифицирующего реагента 0.7 и 1.6 мг /г. Получение модифицирующих образцов органокремнеземного сорбента проводилось по методике, описанной нами ранее [12]. Адсорбатором служил протеолитический фермент трипсин фирмы "Спофа" (м.м. 24 кД, изоэлектрическая точка 10.1). Удельную поверхность исследуемых сорбентов определяли по тепловой десорбции аргона на газовом хроматографе "Цвет", сорбционный объем пор по бензолу и воде — по адсорбции паров этих веществ весовым методом, пористую структуру силико-полиметилсилоксана ОК-50 исследовали методом ртутной порометрии на порометре "Cultronic por saiser M-9300" (Франция). Определение рН нулевого заряда поверхности изучаемых сорбентов проводили по методике [13].

Адсорбцию—десорбцию фермента изучали в статических условиях в водно-солевых растворах (0.15 и 0.5 М растворах хлорида натрия, забуференных 0.06 М фосфатным буфером, рН 5, концентрация фермента составляла 0.5 мг/мл, соотношение твердой и жидкой фазы (Т:Ж) изменялось в пределах 1 : 25 — 1 : 500, объем раствора трипсина составлял 5 мл. Величину адсорбции и десорбции трипсина определяли по изменению его концентрации в растворе методом Лоури [14] и спектрофотометрическим методом при длине волны 280 нм [15]. Активность трипсина определяли по методу Кунитца в модификации М. П. Черникова [16].

Полученные структурно-сорбционные характеристики ОК-50 и его модифицированных форм приведены в табл. 1, из которой видно, что модифицирование органокремнезема медью (II) не приводит к существенным изменениям удельной поверхности и сорбционного объема пор по воде и бензолу. Однако наблюдающаяся некоторая тенден-

ция к увеличению рН суспензии и рН нулевого заряда поверхности адсорбента свидетельствует о влиянии модифицирования медью (II) не на пористую структуру, а на химию поверхности органо-кремнеземного сорбента.

Т а б л и ц а 1

Структурно-сорбционные характеристики органокремнеземного сорбента и его модифицированных медью (II) форм

Сорбент	Cu (II), мг/г	Удельная поверхность, м ² /г	Сорбционный объем пор, см ³ /г		рН суспензии	рН нулевого заряда поверхности
			Вода	Бензол		
ОК-50	—	560	0.20	1.1	6.0	5.5
ОК-50 (Cu)	0.7	550	0.20	1.1	7.5	5.6
ОК-50 (Cu)	1.6	545	0.22	1.1	8.0	5.8

Результаты, полученные методом ртутной порометрии, показали, что объем пор органокремнеземного ОК-50 составляет 0.69, объем макропор — 0.33 см³/г; удельная поверхность пор — 535, макропор — 3.6 м²/г и свидетельствует о том, что пористая структура органокремнеземного сорбента состоит в основном из микро- и мезопор, с преобладанием последних, что видно из рис. 1.

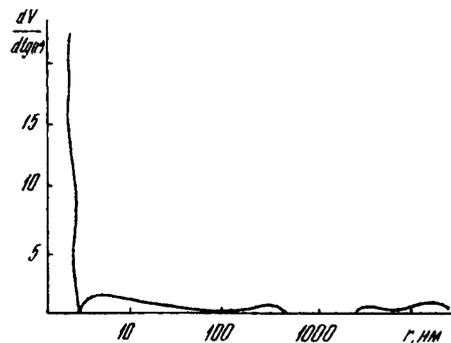


Рис. 1. Дифференциальная кривая распределения пор по эффективным радиусам для ОК-50.

Учитывая дискуссионный характер данных о времени достижения адсорбционного равновесия при адсорбции белковых молекул на кремнеземсодержащих носителях (от 1 до 48 ч) [2, 17], изучение кинетики адсорбции трипсина на органокремнеземных сорбентах проводили при рН нулевого заряда сорбентов и при различном соотношении твердой и жидкой фазы. Как показали полученные данные (рис. 2), при соотношении Т : Ж более 1 : 100 адсорбционное равновесие достигалось за 10 — 30 мин, что подтверждает проведенные ранее нами исследования по кинетике адсорбции альбумина на силико-полиметилсилоксане состава 70 : 30 % (мас.) [11] и может свидетельствовать о том, что скорость

адсорбции трипсина на кремнийорганических адсорбентах в условиях данного эксперимента лимитируется диффузионной кинетикой. Это косвенно подтверждает и тот факт, что дальнейшее уменьшение Т : Ж от 1 : 250 до 1 : 500 приводит к увеличению времени достижения адсорбционного равновесия до 60 мин, при этом форма начального участка кинетических кривых становится более выпуклой, что свидетельствует о возможных конформационных изменениях белковой молекулы в адсорбционном слое [2]. Невысокая сорбционная активность трипсина на ОК-50 и его модифицированных медью (II) формах при больших соотношениях твердой и жидкой фазы может быть объяснена влиянием стерических факторов, обусловленных наличием гидрофобной компоненты в составе сорбента, препятствующей доступу белковой молекулы к поверхностным гидроксильным группам, а также возможностью фермента агрегироваться [5] в изучаемых условиях.

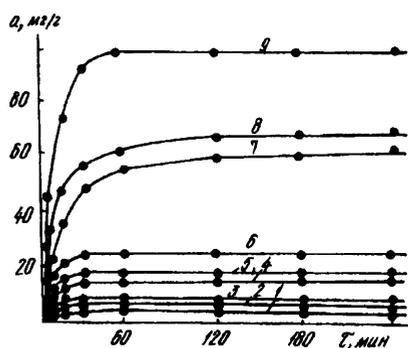


Рис. 2. Кинетические кривые адсорбции трипсина на ОК-50 и его модифицированных медью (II) формах в 0.15 М растворе хлорида натрия: 1, 4, 7 — ОК-50; 2, 5, 8 — ОК-50 (Cu) 0.7 мг; 3, 6, 9 — ОК-50 (Cu) 1.6 мг/г; соотношение твердой и жидкой фаз 1 : 25, 1 : 100, 1 : 500. Исходная концентрация фермента — 0.5 мг/г, pH 5, $t = 22^\circ\text{C}$.

Изотермы адсорбции трипсина на изучаемых сорбентах носят прямолинейный характер и по классификации Джайлса относятся к Ленгмюровскому типу L_1 (рис. 3). Их вид и отсутствие плато на изотермах адсорбции говорят о том, что адсорбат имеет большее сродство к сорбенту, чем к растворителю; чем больше фермента адсорбируется на силико-полиметилсилоксановом адсорбенте и его модифицированных формах, тем больше поверхностных активных центров образуется; при адсорбции происходит плоскостная ориентация молекул трипсина на поверхности сорбентов. Влияние концентрации модифицирующего реагента проявляется в увеличении адсорбции трипсина на органокремнеземном сорбенте в водно-солевом растворе с увеличением количества меди (II) в составе сорбционного материала (см. рис. 2, 3) тем больше, чем меньше соотношение твердой и жидкой фаз. Это связано, по-видимому, с дополнительным вкладом в суммар-

ную адсорбцию за счет возможного образования координационной связи между медью (II) на поверхности сорбента и аминокруппами фермента.

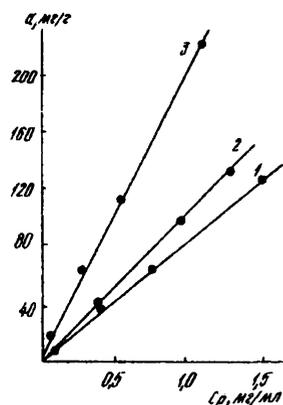


Рис. 3. Изотермы адсорбции трипсина в забуференном 0.15 М растворе хлорида натрия на силико-полиметилсилоксановых адсорбентах: 1 — ОК-50; 2 — ОК-50 (Cu) 0.7 мг/г; 3 — ОК-50 (Cu) 1.6 мг/г. Соотношение твердой и жидкой фаз — 1 : 250; pH 5, время контакта — 4 ч, $t = 22^\circ\text{C}$.

Изучение десорбции трипсина, иммобилизованного на исходном сорбенте и его модифицированном медью (II) образце в физиологическом растворе показало, что она является более медленным процессом, чем адсорбция. Так, за 2 ч десорбируется только 70 % фермента с исходного и 45 % — с его модифицированного образца. Таким образом, наличие меди (II) замедляет десорбцию трипсина, что можно объяснить, наряду с другими взаимодействиями в изучаемой системе адсорбент—фермент (ионные и ван-дерваальсовские взаимодействия, образование водородных связей) и координационным взаимодействием меди (II) с азотсодержащими группами фермента. Это подтверждают данные по десорбции трипсина на органокремнеземных сорбентах в различных средах (табл. 2). Влияние природы растворителя проявляется в увеличении

Таблица 2

Десорбция (в %) трипсина, иммобилизованного на органокремнеземных адсорбентах, в различных средах (соотношение твердой и жидкой фаз 1 : 250, pH 5; время контакта 60 мин; температура 22°C ; содержание Cu (II) в модифицированном адсорбенте 1.6 мг/г)

Среда	Белок		Протеолитическая активность	
	ОК-50	ОК-50 (Cu)	ОК-50	ОК-50 (Cu)
Водная	9	16	0	0
0.15 М хлорид натрия	25	23	9.7	5.7
0.50 М хлорид натрия	37	28	15	6.8

количества десорбирующего трипсина и его протеолитической активности в ряду водный раствор < 0.15 М хлорид натрия < 0.5 М хлорид натрия. Показано также снижение активности фермента по сравнению с нативным, что может быть связано со структурными изменениями белка после адсорбции [17] и является важным условием возможного практического использования исследуемых сорбционных материалов для связывания эндо- и экзотоксинов в качестве энтеросорбентов и аппликационных средств.

РЕЗЮМЕ. Досліджено адсорбцію-десорбцію трипсину у водно-сольових розчинах органокремнеземним сорбентом та його модифікованими Cu (II) формами. Показано, що модифікування не впливає на параметри пористої структури сорбенту. Виявлено, що наявність міді (II) у складі сорбенту збільшує адсорбцію та уповільнює десорбцію трипсину у водно-сольових розчинах.

SUMMARY. Adsorption—desorption of ferment tripsin in aqua-salt solutions by organosilica sorbent and its Cu (II) modified forms were examined. It was showed, that modification in studied conditions don't change porous structure parameters of silicopolymethylsiloxan sorbent. It was noticed, that Cu (II) present in composition of sorbent increase adsorption and decelerate tripsin desorption in aqua-salt solutions.

Институт сорбции и проблем эндоэкологии НАН Украины, Киев

Поступила 26.02.98

УДК 541.13

И. Н. Скрипун

КИНЕТИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ С ГИДРОКСИДОМ НАТРИЯ

Методами изотермической гравиметрии, дериватографии и рентгенофазового анализа при температурах от 400 до 600 °С изучена кинетика взаимодействия корунда с гидроксидом натрия. Установлено, что в системе NaOH—Al₂O₃ образуется промежуточное соединение — гидроксоалюминатный комплекс, конечным продуктом реакции является алюминат натрия NaAlO₂. Данные дериватографического эксперимента были проанализированы с использованием уравнения Гинстлинга—Бронштейна.

Взаимодействие оксида алюминия со щелочами изучено недостаточно, а имеющиеся данные носят противоречивый характер. В то же время такие сведения представляют интерес для синтеза щелочных алюминатов, процессов травления монокристаллов корунда, очистки точного литья от керамики.

Авторами работы [1] было установлено, что реакционная способность гидроксидов щелочных металлов по отношению к корунду возрастает в ряду LiOH—KOH—NaOH, температуры начала реакции в этом ряду уменьшаются, и составляют 320, 300 и 140 °С соответственно. В системе Al₂O₃—NaOH до плавления щелочи единственным продуктом

1. Камышний А. Л. // Журн. физ. химии. -1981. -55, № 3. -С. 562—580.
2. Чухрай Е. С. // Там же. -1982. -56, № 4. -С. 777—786.
3. Кацадзе М. А., Мирошниченко А. Г., Изотова О. Г. и др. // Эфферентная терапия. -1995. -1, № 2. -С. 56—60.
4. Масько А. А., Морозова А. А., Лыга Л. К. и др. // Прикл. биохимия и микробиол. -1992. -28, № 2. -С. 211—216.
5. Еленский А. В., Ямпольская Г. П., Измайлова В. Н. // Коллоид. журн. -1987. -55, № 3. -С. 562—580.
6. Хохлова Т. Д., Гаркавенко Л. Г., Никитин Ю. С. // Прикл. биохимия и микробиология. -1991. -27, № 5. -С. 720—723.
7. Кудрявцева Н. Е., Жигис Л. С., Зубов В. П. и др. // Химико-фармацевт. журн. -1995. -29, № 1. -С. 61—64.
8. Khamlich S., Muller D., Fukes R., Jozefovich S. // J. Chromatografia. -1990. -510. -P. 123—132.
9. Thelohan S., Jadond P., Wainer I. W. // Chromatografia. -1989. -28, № 11-12. -P. 551—555.
10. Волохонский И. А., Покрасен Н. М., Туров В. В. // Укр. хим. журн. -1992. -58, № 7. -С. 538—541.
11. Карамушка В. И., Денисова Т. И., Скляров А. Г. и др. // Журн. прикл. химии. -62, № 3. -С. 609—613.
12. Денисова Т. И., Прилпко Н. Л. // Там же. -1993. -66, № 11. -С. 2487—2491.
13. Нечаев Е. А., Смирнова Л. М. // Коллоид. журн. -1997. -39, № 1. -С. 2186—2189.
14. Lowry Q. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. I. // Biol. Chem. -1951. -193, № 1. -P. 265—275.
15. Веремеенко К. Н. Ферменты протеолиза и их ингибиторы в медицинской практике. -К.: Здоров'я, 1971.
16. Черников М. П. // Укр. биохим. журн. -1955. -№ 1. -С. 94—100.
17. Тарасевич Ю. С., Смирнова В. А., Монахов Л. И. // Коллоид. журн. -1978. -40, № 6. -С. 1214—1216.

реакции является метаалюминат Na₂O·Al₂O₃, а выше температуры ее плавления образуется алюминат 5Na₂O·Al₂O₃ [1]. Максимальная скорость реакции в этой системе наблюдается при превращении около 25% оксида алюминия в метаалюминат натрия. На кривой ДТА имеется один эндотермический эффект, соответствующий максимальной скорости процесса. Энергия активации реакции взаимодействия оксида алюминия с гидроксидом натрия составляет 81.9 кДж/моль [1].

По данным [2, 3] в системе Al₂O₃—NaOH химическое взаимодействие начинается при температуре 150±10 °С, на кривой ДТА фиксируется экзотермический эффект с максимумом при 200 °С,