

МОДЕЛИ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПИСАНИЯ АДсорбЦИОННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ БИОМОЛЕКУЛ С ВЫСОКОДИСПЕРСНЫМ КРЕМНЕЗЕМОМ

Н.Н. Власова, Л.П. Головкова, О.В. Маркитан, О.В. Севериновская,
Н.Г. Стукалина, **А.А. Чуйко**

*Институт химии поверхности НАН Украины, 03164 Киев-164,
ул. генерала Наумова, 17 vlabars@i.com.ua*

В статье рассмотрены модели комплексообразования на поверхности как альтернатива эмпирическим подходам количественного описания адсорбции низкомолекулярных биомолекул. Использование модели комплексообразования показано на примере адсорбции из водных растворов билирубина, желчных кислот, аминокислот и биогенных аминов на поверхности высокодисперсного кремнезема. Показано, что органические соединения адсорбируются на поверхности высокодисперсного кремнезема, в основном, с образованием внешнесферных комплексов в результате взаимодействия с силанольными группами.

Surface complexation model which explains adsorption in terms of chemical reactions between surface functional groups and dissolved chemical compounds, is reported as an alternative for empirical approach to describing adsorption of biomolecules at oxide/water interface. The use of surface complexation model is demonstrated for adsorption of bilirubin, bile acids, amino acids, and biogenic amines from aqueous solution at high disperse silica surface. It is shown that these organic molecules are adsorbed due to formation of outer-sphere complexes as a result of interaction between silanol groups of silica surface and functional groups of biomolecules.

Введение

Эффективность высокодисперсного кремнезема (ВДК) как лекарственного средства при ряде заболеваний обусловлена его высокой сорбционной способностью по отношению к белкам и многим низкомолекулярным биологически активным веществам [1]. Знание механизмов и закономерностей адсорбционного взаимодействия биомолекул с поверхностью становится особенно важным при использовании кремнезема в качестве энтеросорбента, так как при этом необходимо учитывать связывание и выведение не только токсичных веществ, но и жизненно важных для организма компонентов.

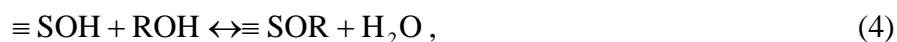
Общая теория адсорбции на поверхности раздела фаз была создана Ленгмюром. Уравнение Ленгмюра является комбинацией закона действующих масс для реакции адсорбции и уравнения баланса для элементов поверхности, на которых происходит фиксация компонентов. Во многих случаях теория Ленгмюра позволяет получить адекватное описание экспериментальных данных, и является основой для исследования сорбционных явлений. Наряду с уравнениями изотермы адсорбции, в экспериментальной практике часто применяются такие эмпирические величины как коэффициенты

распределения, условные константы связывания. Все эти эмпирические параметры существенно зависят от химического состава водной среды, а эмпирические подходы к описанию адсорбционных равновесий зачастую не удовлетворяют ученых. Как альтернатива эмпирическим методам анализа адсорбционных данных в 70-е годы прошлого века была разработана *теория комплексообразования на поверхности*, которая описывает адсорбцию в терминах химических реакций между функциональными группами поверхности и растворенными химическими веществами, и может быть, таким образом, объединена с моделями, учитывающими равновесия в водных растворах. Основные положения теории комплексообразования на поверхности состоят в следующем [2, 3]:

1. Поверхность оксидных минералов покрыта амфотерными функциональными группами, которые взаимодействуют с протонами (реакции протонирования и диссоциации)



и растворенными веществами – катионами и анионами, образуя комплексы



т. е. реакции на поверхности аналогичны реакциям комплексообразования в гомогенных растворах.

2. Равновесия комплексообразования и ионизации на поверхности могут быть описаны законом действующих масс с учетом влияния двойного электрического слоя.
3. Появление поверхностного заряда и поверхностного потенциала является результатом химических реакций функциональных групп поверхности. Специфические химические взаимодействия функциональных групп определяют свойства двойного электрического слоя. Электрическое поле и электростатические эффекты являются вторичными факторами, которые появляются вследствие реакций координации на поверхности.
4. Кажущиеся константы равновесия, определяемые по закону действующих масс, являются эмпирическими параметрами, которые связаны с термодинамическими константами через коэффициенты активности поверхностных частиц.

Был предложен целый ряд моделей поверхностного комплексообразования, каждая из которых предполагает особенное строение поверхности раздела фаз, что приводит к различным типам поверхностных реакций и факторов электростатической коррекции к закону действующих масс.

Модель двойного электрического слоя постоянной емкости (Constant Capacitance Model, CCM) основана на первой численной модели двойного электрического слоя (ДЭС), которая была предложена Гельмгольцем. В рамках этой модели противоположные, компенсирующие поверхностный заряд, располагаются в виде сплошного слоя на некотором удалении от поверхности, поэтому связь между зарядом и потенциалом поверхности можно определить по аналогии с плоским конденсатором. В уравнении связи заряд–потенциал при этом участвует эмпирическая величина – удельная электрическая емкость ДЭС. Первые примеры развития этой модели могут быть найдены в работах Шиндлера и Камбера [4], Холя и Штумма [5], позже она была обобщена Спозито [6], Шиндлером и Штуммом [7]. Модель постоянной емкости слоя представляет собой специальный случай модели диффузного слоя, которая может быть использована только для систем с высокой постоянной ионной силой. Таким образом, кажущиеся константы равновесия

реакций протонирования и диссоциации функциональных групп поверхности - K_+^{CCM} и K_-^{CCM} - справедливы только при этих ионных силах. Рассматривается только одна плоскость на поверхности раздела фаз: плоскость, в которой адсорбируются H^+ , OH^- и специфически сорбирующиеся растворенные вещества (рис. 1, а).

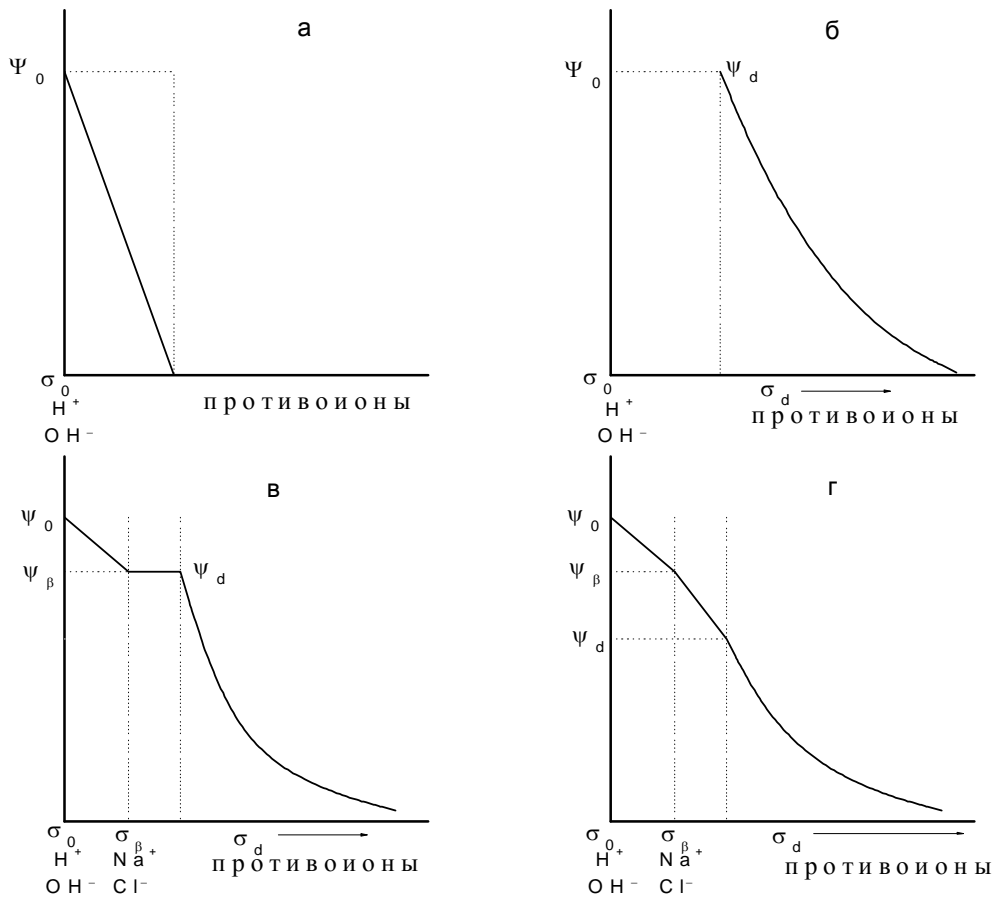


Рис. 1. Схематическое изображение моделей строения двойного электрического слоя на поверхности раздела фаз оксид-раствор электролита: CCM (а), DDLM (б), BSM (в) и TLM (г).

В результате протекания поверхностных реакций образуются только внутрисферные комплексы. Ионы электролитов, например, Na^+ , K^+ , Cl^- , NO_3^- , считаются инертными по отношению к поверхности.

Уравнение, связывающее заряд поверхности и потенциал, выражается следующим образом:

$$\sigma_0 = C^{CCM} \Psi_0, \quad (5)$$

где C^{CCM} – удельная электрическая емкость поверхности раздела фаз оксид-вода. Эта модель была широко использована при моделировании адсорбции ионов металлов и сильно связывающихся анионов на поверхности оксидов.

Модель диффузного двойного электрического слоя (Diffuse Double Layer Model, DDLM) основана на работах Гюи [8] и Чепмена [9]. Согласно этой модели ионы, компенсирующие заряд поверхности, расположены в виде диффузного слоя в соответствии с распределением Больцмана. Модель диффузного слоя была разработана в теории поверхностного комплексообразования в работах Штумма и Хуанга [10]. В соответствии с

этой моделью все адсорбирующиеся ионы рассматриваются как координационные комплексы, образующиеся в плоскости поверхности, за исключением противоионов, которые образуют диффузный слой (рис. 1, б). Эта модель объясняет эффект ионной силы на адсорбцию посредством выражения зависимости заряда диффузного слоя, σ_d , от ионной силы:

$$\sigma_d = -0.1174 \sqrt{I} \sinh \frac{ze\Psi}{2kT}. \quad (6)$$

Аналогично модели ССМ, эта модель описывает реакции на поверхности в терминах амфотерных гидроксильных групп, которые образуют ионизированные центры, при этом в результате реакций координации образуются только внутрисферные комплексы. Однако молекулярные положения этой модели несколько отличаются от модели ССМ. На поверхности раздела фаз существует две плоскости: (1) плоскость адсорбции протонов и гидроксильных групп и всех специфически адсорбирующихся частиц; (2) плоскость диффузного слоя, соответствующая ближайшему расстоянию, на которое приближены все противоионы.

Теория Гюи-Чепмена применяется для установления связи между зарядом и потенциалом поверхности в диффузном слое (уравнение (6)). Электрический потенциал в начале диффузного слоя равен потенциалу поверхности. Для подбора данных кислотно-основного титрования суспензий твердых оксидов в растворе электролитов состава 1:1 модель использует только два подбираемых (регулируемых) параметра, K_+^{DDL} и K_-^{DDL} , которые постоянны для переменной (но низкой) ионной силы.

Превосходный трактат по применению этой модели в усовершенствованном виде был написан Дзомбаком и Морелем [11], который обеспечил большую базу данных по адсорбции на ферригидрите и сравнил характеристики этой модели с другими моделями комплексообразования на поверхности.

Трехслойная модель двойного электрического слоя (Triple Layer Model, TLM). Поскольку модели ССМ и DDLM оперируют только с одной плоскостью адсорбции на межфазной поверхности, они не способны различить слабо и сильно адсорбирующиеся ионы. Штерн [12], признавая это ограничение, предложил первую трехплоскостную модель для двойного электрического слоя. Согласно этой модели, существуют две плоскости на поверхности раздела фаз: одна – для адсорбции потенциал-определяющих ионов и вторая – для адсорбции слабо связываемых противоионов (внутренний слой Гельмгольца, ИНР, также обозначаемый как β -слой). Удельной электрической емкостью между этим слоем и плоскостью ближайшего приближения противоионов (внешний слой Гельмгольца, ОНР) пренебрегают, т.е. потенциал β -слоя принимается равным потенциалу начала диффузного слоя. Эта модель получила название *основной модели Штерна (BSM)* (рис. 1, в), она часто и успешно применяется в настоящее время.

Количественное приложение трехслойной модели ДЭС для поверхности (гидр)оксидов получило развитие в работах Дэвиса и др. [13].

Множество литературных данных свидетельствует о том, что практически все ионы электролитов образуют с поверхностными гидроксильными группами комплексы. Весьма вероятно, что между этими слабо сорбируемыми ионами и поверхностью расположен, как минимум, один слой молекул воды, который отделяет эти ионы от атомов кислорода или металла на поверхности, т.е. они образуют ионные пары или внешнесферные комплексы. Таким образом, противоионы связываются в плоскости β , образуя ионные пары или внешнесферные комплексы в соответствии со следующими уравнениями:





При этом баланс зарядов выражается уравнением:

$$\sigma_0 + \sigma_\beta + \sigma_d = 0. \quad (9)$$

Это позволяет объяснить увеличение заряда поверхности в зависимости от ионной силы как следствие увеличения связывания противоионов. На границе раздела фаз существует три плоскости: (1) плоскость адсорбции потенциал-определяющих и сильно адсорбирующихся ионов, (2) плоскость β для слабо сорбирующихся частиц и (3) плоскость диффузного слоя, определяющая ближайшее расстояние для диссоциированного заряда. Для выражения связи между зарядом и потенциалом используется модель Штерна-Грехема для межфазной поверхности, состоящей из двух областей между 3 слоями. Теория Гюи-Чепмена применяется для описания диффузного слоя (рис. 1, з).

При количественной интерпретации данных кислотно-основного титрования в соответствии с этой моделью используется 5 регулируемых параметров: константы протонирования (K_+^{TLM}) и диссоциации (K_-^{TLM}), удельная электрическая емкость между плоскостями 0 и β , C^{TLM} , и константы равновесия образования ионных пар по уравнениям (7) и (8). Величина удельной электрической емкости между слоями β и ОНР обычно задается постоянной (0,2 Ф/м²), однако в принципе эта величина также может быть регулируема для достижения лучшего соответствия, особенно в случае моделирования данных по измерению электрокинетического потенциала.

Четырехслойная модель ДЭС (Four Layer Model). Боуден и др. [14] ввели четырехслойную модель, математически правильно она была сформулирована в работах Боссе [15]. Авторы обратили внимание на то, что катионы лучше экранируют заряд поверхности, чем анионы. В связи с этим они выделили два конденсированных слоя вблизи заряженной поверхности: слой катионов, расположенный ближе к поверхности, и слой анионов.

Кроме выбора строения двойного электрического слоя, в разработке модели адсорбции ионов возникает вопрос о стехиометрии поверхностных реакций. Дело в том, что из экспериментальных данных известно только, что ионы или молекулы переходят из раствора на поверхность. Однако, как и с какими группами они взаимодействуют, какие связи образуются, и в каком виде присутствуют на поверхности – об этом можно только догадываться. Самой распространенной моделью стехиометрии реакций на поверхности оксидов является 2-рК_a модель [16]. В рамках этой модели на поверхности оксидов имеются амфотерные группы, которые могут присоединять или отщеплять протоны. Менее распространена 1-рК_a модель поверхности [17], согласно которой на незаряженной поверхности имеется одинаковое число групп с дробным зарядом (например, $-1/2$ и $+1/2$), а все вариации заряда поверхности при изменении рН связываются с изменением соотношения между этими группами. Математическое решение такой модели проще, чем 2-рК_a модели, поэтому она довольно часто используется, хотя положения ее выглядят неправдоподобными.

1-рК_a модель была отвергнута самими авторами, которые позже создали новую модель с названием MUSIC (Multisite Complexation) [18], основываясь на структурных характеристиках поверхности оксидов. Положения этой модели состоят в том, что поверхностные группы не являются амфотерными, на поверхности представлено несколько типов функциональных групп, которые отличаются по степени координирования атомом металла. Протонирование и диссоциация этих групп приводят к образованию различных реакционных центров поверхности.

Все три стехиометрические модели могут применяться при поддержке моделей ДЭС постоянной емкости слоя, диффузного слоя или трехслойной модели.

Как правило, выбор между сложной моделью, которая работает лучше, и простой моделью, которая работает хуже, не всегда однозначен. Чем большим числом параметров оперирует модель, тем меньше степень понимания явления, и тем меньше устойчивость математического анализа (т.е. однозначность оптимизации модельных параметров – констант равновесия, величин удельной электрической емкости, и др.).

Большие успехи в применении моделей комплексообразования на поверхности были достигнуты при соединении положений теории с компьютерными программами. Все программы, созданные для расчетов адсорбционных равновесий, используют одинаковую процедуру подбора величин характерных для каждой модели регулируемых параметров, так, чтобы рассчитанные адсорбционные кривые как можно более точно соответствовали экспериментальным данным. Конечно, что при этом возникает и становится первостепенно важной проблема выбора уравнений реакций, которые моделируют процессы адсорбции. В лучшем случае подтверждение протекание тех или иных реакций и образование адсорбционных комплексов выбранного типа можно получить методами спектроскопии поверхности.

Одной из наиболее часто используемых программ является программа FITEQL [19], которая позволяет проводить расчеты с использованием различных моделей комплексообразования на поверхности: CCM, DDLM, BSM, TLM, а также CD MUSIC. В нашей работе мы использовали программу GRFIT [20]. В эту программу также встроены различные модели комплексообразования на поверхности. Она очень удобна тем, что подбор регулируемых параметров сопровождается графическим построением адсорбционной кривой, по которой сразу можно судить, насколько удачен выбор уравнений реакций и начальных величин регулируемых параметров. Важным этапом работы является выбор компонентов раствора, твердого тела и заряда на различных плоскостях поверхности раздела фаз. Следующий шаг состоит в создании матрицы, в которой частицы, присутствующие в растворе и на поверхности, задаются как образующиеся путем комбинации компонентов. Необходимо также отметить, что для работы программы требуется знание таких характеристик твердого тела как удельная поверхность и концентрация функциональных групп или плотность активных центров (site density). Исследования показали, что возможности моделей комплексообразования на поверхности по подбору адсорбционных данных, относительно мало чувствительны к величине плотности активных центров [3].

Конечно же, абсолютные величины констант связывания, которые описывают адсорбцию, зависят от выбора величины плотности активных центров. Однако при условии избытка центров связывания по сравнению с концентрацией адсорбата, т. е. при адсорбции из разбавленных растворов, экспериментальные данные удовлетворительно подбираются при изменении концентрации функциональных групп даже на 2 порядка. Кроме того, величина концентрации функциональных групп может быть задана, как регулируемый параметр, и подбираться на основании данных, например, кислотно-основного титрования суспензии оксида.

Нами при изучении адсорбции некоторых биомолекул на поверхности высокодисперсного кремнезема были использованы различные модели комплексообразования. Однако любое исследование адсорбционных взаимодействий необходимо начинать с изучения кислотно-основных свойств оксида в водном растворе электролита.

Результаты и их обсуждение

Кислотно-основные свойства высокодисперсного кремнезема. Нами было проведено рН-потенциометрическое титрование суспензий кремнезема в водных растворах хлорида натрия с различными концентрациями.

Результаты потенциометрического титрования суспензии кремнезема были использованы для расчета заряда поверхности σ_0 по следующему уравнению:

$$\sigma_0 = (F/SC_S)(V_A A - V_B B + (V_0 + V_A + V_B)([\text{OH}^-] - [\text{H}^+])), \quad (10)$$

где F – постоянная Фарадея, (Кл/моль), S – удельная площадь поверхности, ($\text{м}^2/\text{г}$) и C_S – концентрация кремнезема, ($\text{г}/\text{л}$), V_A и V_B – объемы добавленных кислоты и щелочи (л) с концентрациями A и B (моль/л), соответственно, V_0 – начальный объем взятой для титрования суспензии.

В соответствии с моделью поверхностного комплексообразования заряд поверхности кремнезема появляется за счет диссоциации силанольных групп. Реакция протонирования кремнезема обычно не учитывается, так как, если она и имеет место, то только при низких значениях рН. В литературе практически отсутствуют данные, количественно описывающие реакцию протонирования кремнезема. Дело в том, что возможное только при низких значениях рН протонирование трудно заметить методом потенциометрического титрования, поскольку концентрация протонов в таких растворах значительно больше тех концентраций водородных ионов, которые были бы связаны с протонированием активных центров поверхности кремнезема.

Диссоциация силанольных групп определяется уравнением:



соответствующая константа равновесия описывается законом действующих масс:

$$K_S^{\text{int}} = \frac{[\text{SiO}^-][\text{H}^+]}{[\text{SiOH}]} \exp(-F\Psi_0/RT), \quad (12)$$

где Ψ_0 – потенциал поверхности в плоскости адсорбции протонов (плоскость 0), F – постоянная Фарадея, R – универсальная газовая постоянная и T – температура.

Для объяснения влияния ионной силы на заряд поверхности была использована модель ДЭС по Штерну (BSM). Согласно этой модели, на поверхности кремнезема образуются внешнесферные комплексы между силанольными группами и ионами натрия:



Эта реакция характеризуется константой равновесия

$$K_{\text{Na}}^{\text{int}} = \frac{[\text{SiO}^- - \text{Na}^+][\text{H}^+]}{[\text{SiOH}][\text{Na}^+]} \exp\{F(\Psi_\beta - \Psi_0)/RT\}, \quad (14)$$

где Ψ_β – потенциал плоскости β (внутренний слой Гельмгольца), который принимается равным потенциалу плоскости начала диффузного слоя Ψ_d .

Плотность поверхностного заряда определяется уравнением

$$\sigma_0 = (F/SC_S)([\text{SiO}^-] + [\text{SiO}^- \text{Na}^+]). \quad (15)$$

Эта величина может быть рассчитана по программе GRFIT путем подбора констант диссоциации силанольных групп и равновесия реакции комплексообразования с ионами натрия таким образом, чтобы теоретическая кривая зависимости заряда поверхности от концентрации водородных ионов как можно лучше совпадала с экспериментальной кривой титрования.

Для представленных на рис. 2 данных наилучшее совпадение достигалось при $\log K_S^{\text{int}} = -7.54 \pm 0.05$ и $\log K_{\text{Na}}^{\text{int}} = -7.03 \pm 0.05$ для обеих кривых титрования при различных ионных силах. Полученные значения констант хорошо согласуются с имеющимися в

литературе данными расчетов с использованием трехслойной модели [13, 21]. Варьируемым (или регулируемым) параметром при этом является также величина удельной электрической емкости ДЭС, которая была подобрана равной $1,2 \text{ Ф/м}^2$. Концентрация функциональных групп составляла $0,5 \text{ ммоль/г}$.

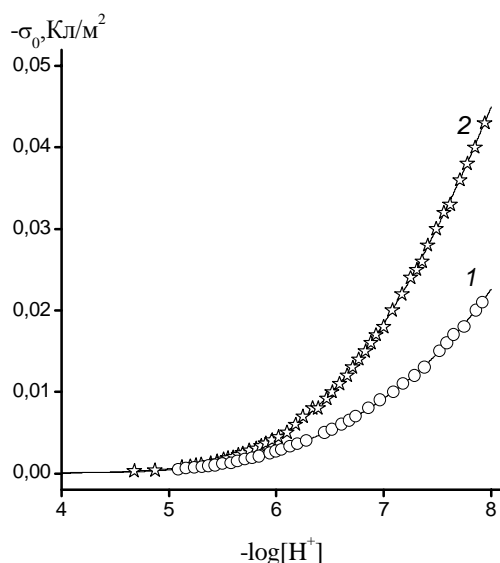
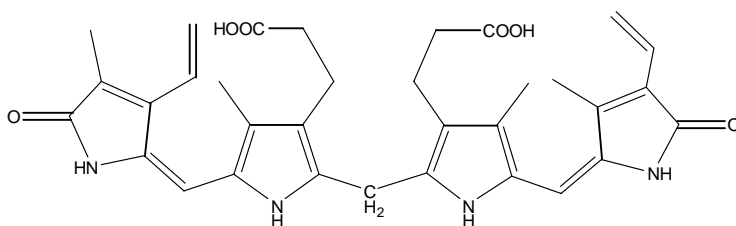


Рис. 2. Зависимости заряда поверхности от рН при концентрации NaCl $0,01(1)$ и $0,1 \text{ М}(2)$. Символы – экспериментально полученные при потенциометрическом титровании значения; сплошные линии – теоретически рассчитанные кривые.

Рассчитанные значения констант были в дальнейшем использованы для количественного описания адсорбции некоторых биомолекул на поверхности высокодисперсного кремнезема.

Адсорбция билирубина и желчных кислот. Применение высокодисперсного кремнезема при лечении заболеваний печени дает положительный лечебный эффект [1], в основе которого может лежать адсорбция билирубина и желчных кислот. Билирубин – желчный пигмент, катаболический продукт распада гема в печени. В избыточных количествах проявляет нейротоксическое действие и является составной частью желчных камней.



Билирубин

Желчные кислоты в организме синтезируются из холестерина, таким образом, их баланс необходим для предотвращения таких заболеваний, как атеросклероз.

+	Желчная кислота	R	R ₁
	Холевая	ОН	ОН
	Дезоксихолевая	ОН	Н
	Гликохолевая	NHCH ₂ COOH	ОН
	Таурохолевая	NHCH ₂ CH ₂ SO ₃ H	ОН

Нами была изучена адсорбция билирубина и желчных кислот из водных растворов на поверхности ВДК в зависимости от рН и ионной силы раствора. И билирубин, и желчные кислоты представляют собой плохо растворимые в воде (особенно в кислой и нейтральной среде) соединения, сочетающие в своем составе гидрофобные и гидрофильные группы. При повышении рН происходит диссоциация их кислотных групп, в результате которой они становятся более растворимыми в воде. Зависимости адсорбции от рН для этих соединений имеют примерно одинаковый вид: величины адсорбции уменьшаются при повышении рН (рис. 3 и 5).

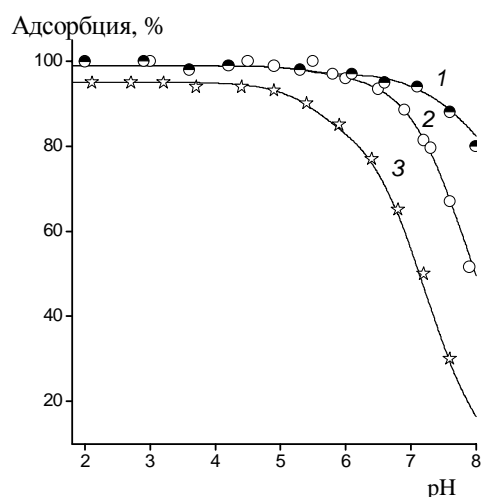
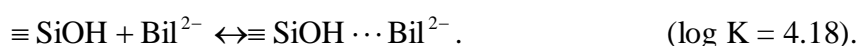
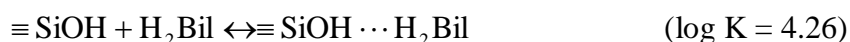


Рис. 3. Зависимости адсорбции билирубина от рН при различных концентрациях кремнезема (1,2 – 10; 3 – 2 г/л) и хлорида натрия (1 – 0,1; 2,3 – 0,02 М); билирубин – 1 мкмоль/л во всех суспензиях.

Адсорбционные взаимодействия между молекулами билирубина и силанольными группами поверхности были рассмотрены нами как реакции комплексообразования на поверхности. Возможные реакции были выбраны на основе сопоставления состава раствора билирубина и состояния силанольных групп кремнезема в зависимости от рН. Диаграммы распределения кислотно-основных форм билирубина, рассчитанные с использованием констант диссоциации $pK_{a1} = 5,4$ и $pK_{a2} = 6,0$ [22], представлены на рис. 4. На этом же рисунке показаны относительные концентрации нейтральных и ионизированных силанольных групп поверхности кремнезема, рассчитанные по данным потенциометрического титрования. Можно предположить, что все три формы билирубина (молекулярная, моноанион и дианион) сорбируются на поверхности кремнезема. Уменьшение адсорбции при $pH > 6$ объясняется взаимным отталкиванием между дианионом билирубина и ионизированными силанольными группами. Наилучшее совпадение представленных на рис. 3 экспериментальных данных с теоретически рассчитанными по программе GRFIT (модель Штерна, BSM) адсорбционными кривыми достигается при учете следующих реакций образования внешнесферных комплексов билирубина с силанольными группами:



Как видно, способность к связыванию силанольными группами поверхности для молекулярной формы и дианиона билирубина практически одинакова.

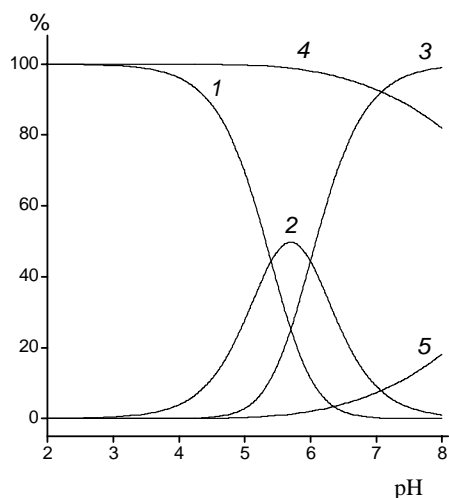
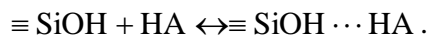


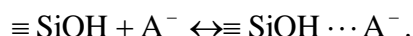
Рис. 4. Диаграммы распределения молекулярной формы (1), моноаниона (2) и дианиона (3) билирубина в растворе, а также SiOH (4) и SiO⁻ (5) на поверхности кремнезема в зависимости от pH.

Возможно, моноанион не адсорбируется на поверхности кремнезема в силу того, что его относительная концентрация меньше концентраций молекулярной формы и дианиона билирубина. Кроме того, дианион билирубина стабилизируется за счет образования нескольких внутримолекулярных водородных связей с образованием «свернутой» структуры, которая реализуется только при условии диссоциации обеих карбоксильных групп [22].

Зависимости адсорбции желчных кислот (ЖК) от pH представлены на рис. 5, из которого видно, что величины адсорбции изученных нами кислот уменьшаются в ряду HDCA > HCA > HGCA > HTCA. В этом же ряду уменьшается гидрофобность желчных кислот, которая характеризуется коэффициентом распределения между *n*-октанолом и водой, log P_{o/w}, и увеличивается их кислотность. Наибольшая адсорбция наблюдается в кислой области, где желчные кислоты находятся преимущественно в молекулярной форме, а на поверхности кремнезема преобладают недиссоциированные силанольные группы. Наиболее вероятным представляется образование комплексов между силанольными группами поверхности и молекулами желчных кислот:



Однако для всех кислот адсорбция наблюдается и при pH, когда в растворе уже преобладают анионы соответствующих ЖК: для самой сильной таурохолевой кислоты при pH > 3, для самой слабой дезоксихолевой – при pH > 6. Логично было предположить образование комплексов анионов ЖК с недиссоциированными группами поверхности:



Действительно, наилучшее совпадение экспериментальных и рассчитанных зависимостей адсорбции ЖК от pH получено в предположении образования на поверхности кремнезема этих двух типов комплексов.

Закономерное понижение адсорбции с ростом pH можно объяснить появлением и накоплением на поверхности диссоциированных силанольных групп, а в растворе – анионов ЖК, причем для всех ЖК это понижение адсорбции наблюдается при одних и тех

же значениях pH. Это свидетельствует о том, что процесс уменьшения адсорбции определяется скорее свойствами поверхности кремнезема, а не желчных кислот. Константы равновесия реакций комплексообразования, рассчитанные по диффузной модели двойного электрического слоя (DDLМ), представлены в табл. 1.

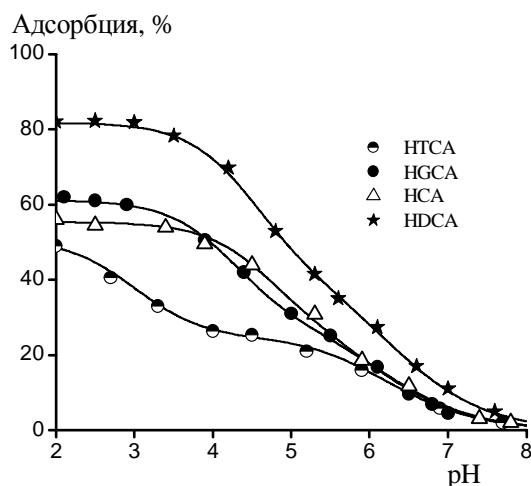


Рис. 5. Зависимость адсорбции желчных кислот на поверхности ВДК от pH ($C_{ЖК} = 0,1$ ммоль/л; $C_{SiO_2} = 5$ г/л): HTCA – таурохолевая; HGCA – гликохолевая; HCA – холевая и HDCA – дезоксихолевая кислоты.

Изменение устойчивости поверхностных комплексов, образованных молекулярными формами ЖК, соответствует ряду уменьшения гидрофобности кислот от дезоксихолевой до таурохолевой, в то время как устойчивость анионных комплексов всех ЖК примерно одинакова по величине.

Таблица 1. Константы равновесия реакций комплексообразования ЖК на поверхности высокодисперсного кремнезема

Реакция	log K±0,08			
	HDCA	HCA	HGCA	HTCA
$\equiv SiOH + HA \leftrightarrow \equiv SiOH \cdots HA$	3,05	2,81	2,71	2,63
$\equiv SiOH + A^- \leftrightarrow \equiv SiOH \cdots A^-$	2,13	2,16	2,20	2,15

Анализ диаграмм распределения поверхностных комплексов ЖК (рис. 6) в зависимости от pH показывает, что для дезоксихолевой кислоты, наиболее гидрофобной и слабой, основной вклад в адсорбцию дает комплекс молекулярной формы. Для таурохолевой кислоты, наименее гидрофобной и наиболее сильной, напротив, даже в кислой области преимущественно образуется поверхностный комплекс с анионом.

Адсорбция и билирубина, и желчных кислот определяется так называемым «гидрофобным выталкиванием» этих молекул из водного раствора, т.е. адсорбция оказывается энергетически выгоднее, чем их гидратация в объеме растворителя. Уменьшение диэлектрической проницаемости воды вблизи поверхности раздела фаз оксид – вода [23] способствует адсорбции гидрофобных молекул. Адсорбция обусловлена дисперсионными взаимодействиями, однако при этом возможно образование водородных

связей между функциональными группами адсорбатов и силанольными группами поверхности.

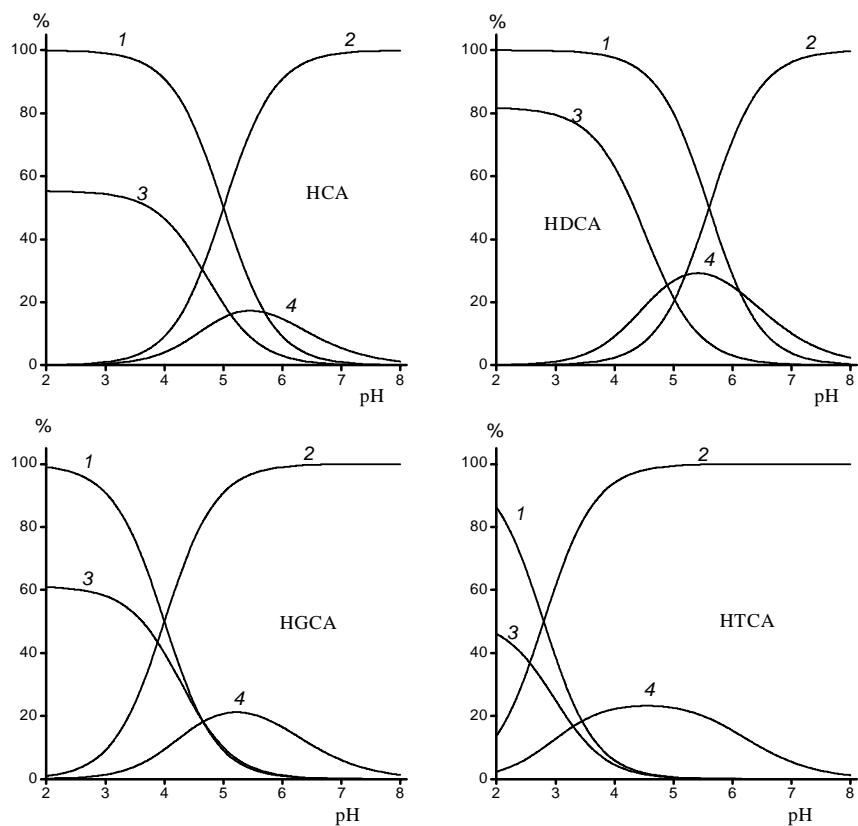


Рис. 6. Диаграммы распределения желчных кислот в растворе (1 – молекулярные формы ЖК, 2 – анионы ЖК) и их комплексов на поверхности кремнезема (3 – комплекс молекулярной формы ЖК, $\equiv\text{SiOH}\cdots\text{HA}$, 4 – комплекс аниона ЖК, $\equiv\text{SiOH}\cdots\text{A}^-$).

Адсорбция аминокислот и биогенных аминов. Известно, что высокодисперсный кремнезем хорошо сорбирует белки, структурными единицами которых являются аминокислоты. Поэтому возникает естественный вопрос о способности кремнезема адсорбировать аминокислоты. Однако в литературе практически отсутствуют сведения об адсорбции аминокислот на поверхности гидроксилированного кремнезема из водных растворов. Если принять во внимание важность, которую могут иметь сорбционные процессы выделения, разделения и очистки аминокислот для биотехнологии, фармации и медицины, то можно только предположить, что результаты попыток изучения таких процессов оказались отрицательными.

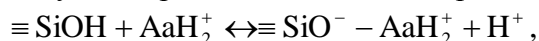
Аминокислоты в растворах в зависимости от pH существуют в виде катионов, цвиттер-ионов и анионов. Присутствующие на поверхности кремнезема слабые кислотные силанольные группы могут взаимодействовать с функциональными группами аминокислот в разной степени протонирования или диссоциации. В то же время аминокислоты в белках соединены между собой пептидными связями, образованными α -амино- и карбоксильными группами, т.е. эти группы аминокислот уже заняты и скорее всего недоступны для взаимодействия с силанольными группами поверхности кремнезема. Таким образом, если предположить, что электростатическое взаимодействие способствует адсорбции, то следует ожидать, что оно проявляется при адсорбции на кремнеземе аминокислот с дополнительными функциональными группами, в первую очередь,

основными. Из всех изученных нами аминокислот на поверхности высокодисперсного кремнезема из водных растворов адсорбировались только несколько основных аминокислот, боковые цепи которых при pH 7 имеют положительный заряд: лизин и орнитин, содержащие вторую аминогруппу в положении ε- и δ-алифатической цепи соответственно, и аргинин с положительно заряженной гуанидиновой группировкой. Даже гистидин, в молекуле которого присутствует слабоосновная имидазольная группа, не адсорбируется в заметных количествах на поверхности ВДК. Результаты изучения адсорбции аргинина и лизина представлены на рис. 7. Адсорбция орнитина примерно такая же по величине, как адсорбция лизина. Величины адсорбции гистидина не превышают 3-5%, что соизмеримо с ошибкой определения концентрации аминокислоты. Адсорбция всех аминокислот начинается при pH > 5 и повышается при увеличении pH и уменьшается при увеличении концентрации фонового электролита.

Для установления возможного состава адсорбционных комплексов рассмотрим кислотно-основные свойства исследуемых аминокислот и состояние силанольных групп на поверхности кремнезема. В составе молекул изученных аминокислот имеются три нтра присоединения или отщепления протонов: общие для большинства аминокислот α-амино - и карбоксильная группы и дополнительная основная группа. При повышении pH в первую очередь происходит диссоциация протона карбоксильной группы и образуется частица, которая несет один положительный заряд, так как один из двух положительных зарядов компенсируется отрицательным зарядом карбоксилат-аниона (AaH₂⁺).

При дальнейшем увеличении pH наблюдается диссоциация протонированной α-аминогруппы и, наконец, последним отщепляется протон аминогруппы, находящийся в боковом заместителе. В случае гистидина порядок диссоциации отличается: сначала отщепляется протон от атома азота имидазолиевого кольца, а затем протон от NH₃⁺-группы. На рис. 8 приведены диаграммы распределения различных протонированных форм исследуемых аминокислот в зависимости от pH, из которых видно, что при pH 3–9 в растворах лизина, орнитина и аргинина преобладают частицы, несущие положительный заряд. В растворе гистидина такая частица существует при pH 3–6, а при pH > 7 увеличивается концентрация нейтральных цвиттер-ионов.

Увеличение адсорбции аминокислот с ростом pH и уменьшение величин адсорбции при повышении ионной силы растворов позволяет предположить протекание на поверхности следующей реакции комплексообразования:



т. е. наиболее вероятным является образование комплекса между диссоциированными силанольными группами поверхности и катионными формами аминокислот за счет электростатического взаимодействия. Наилучшее соответствие экспериментальных и рассчитанных (BSM) адсорбционных кривых было получено в предположении образования комплексов такого состава. При этом катионы аминокислот располагаются в β-плоскости, т. е. образуют на поверхности внешнесферные комплексы. В табл. 2 приведены константы устойчивости поверхностных комплексов аминокислот.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что аргинин связывается с силанольными группами более прочно, чем лизин и орнитин. Этот факт хорошо согласуется с большей основностью гуанидиновой группы аргинина по сравнению с алифатическими аминогруппами лизина и орнитина. Результаты исследования позволяют объяснить, почему гистидин не адсорбируется на поверхности кремнезема в заметном количестве. Действительно, основность имидазольного атома азота ниже основности аминогрупп лизина и орнитина и существенно ниже основности гуанидиновой группы аргинина. Области pH, в которых существуют катион гистидина и диссоциированные

силанольные группы, практически не перекрываются (рис. 8). Большинство аминокислот присутствует в растворе при pH 3 – 8 в виде цвиттер-ионов, для которых притяжение положительно заряженной NH_3^+ -группы и отталкивание отрицательно заряженной COO^- -группы силанольными группами поверхности равновероятно, а в целом это приводит к тому, что такие аминокислоты как глицин, аланин, фенилаланин, триптофан, тирозин, серин, пролин (все были изучены нами) не сорбируются на поверхности высокодисперсного кремнезема. Таким образом, при адсорбции белков на поверхности кремнезема электростатическое взаимодействие, благоприятствующее адсорбции, возможно только за счет дополнительных основных групп некоторых аминокислот.

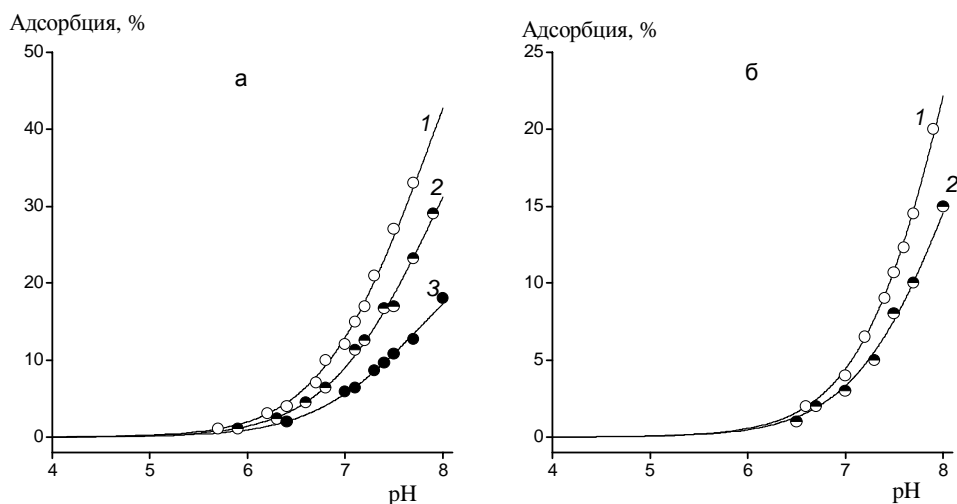


Рис. 7. Адсорбция аргинина (а) и лизина (б) на поверхности ВДК из воды (1), 0,01 (2) и 0,01 М растворов NaCl (3): $C_{\text{Аа}} = 1$ ммоль/л, $C_{\text{SiO}_2} = 10$ г/л. Символы – экспериментально полученные значения адсорбции, сплошные линии – теоретически рассчитанные кривые.

Таблица 2. Константы равновесия реакций комплексообразования аминокислот на поверхности кремнезема

Аминокислота	Ионная сила		
	0	0,01	0,1
	$\equiv \text{SiO}^- + \text{AaH}_2^+ \leftrightarrow \equiv \text{SiO}^- - \text{AaH}_2^+$ (logK±0.05)		
Аргинин	2,17	2,04	1,87
Лизин	1,60	1,55	
Орнитин	1,57	1,51	

Родственные аминокислотам и образующиеся в организме за счет их декарбоксилирования биогенные амины выполняют важные метаболические функции в работе нервной и сосудистой систем человека. Биогенные амины способны инициировать многочисленные фармакологические реакции, например, гистамин служит первичным медиатором быстрых симптомов аллергических реакций. Хотя такие амины, как гистамин, триптамин и тирамин, необходимы для выполнения многих жизненно важных функций, потребление с пищей их избыточных количеств имеет токсикологический эффект и рассматривается как причинный фактор пищевых отравлений. Было показано,

что высокодисперсный кремнезем при лечении пищевых отравлений и аллергии оказывает положительное действие, которое может быть обусловлено связыванием и выведением таких токсических веществ, какими являются биогенные амины в избыточных количествах. Кроме того, изучение адсорбции этого класса соединений интересно с точки зрения их структурной связи с аминокислотами.

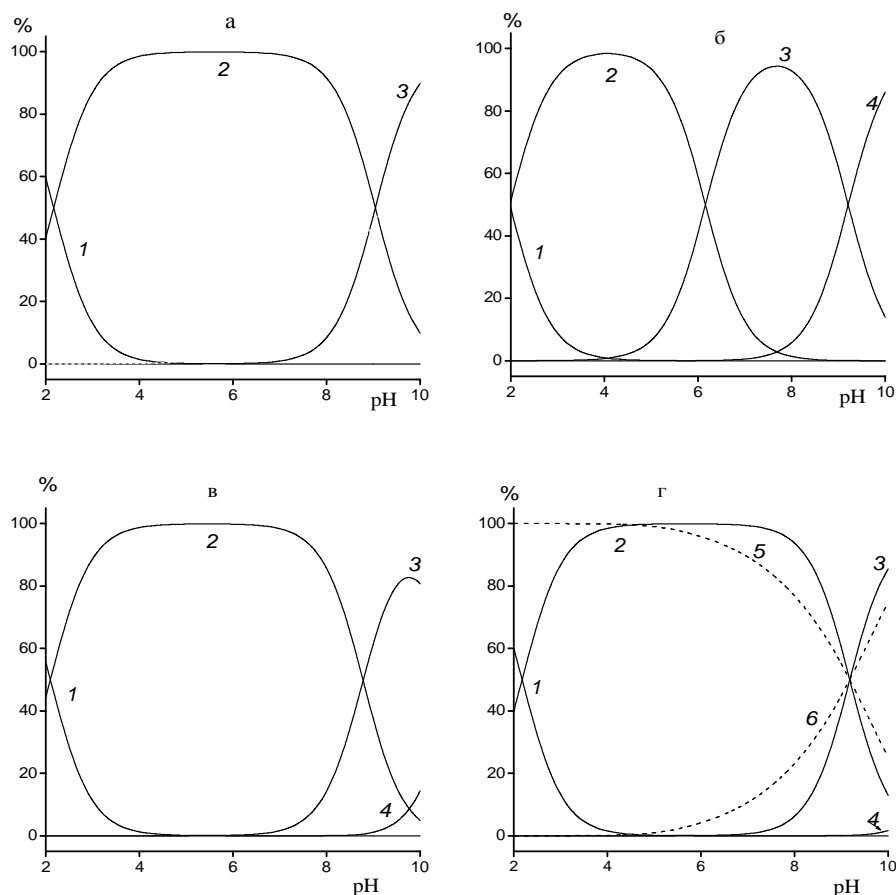


Рис. 8. Диаграммы распределения протонированной формы AaH_3^{2+} (1), катиона AaH_2^+ (2), цвиттер-иона AaH^\pm (3) и аниона Aa^- (4) в растворах аргинина (а), гистидина (б), орнитина (в) и лизина (г), а также групп SiOH (5) и SiO^- (6) на поверхности кремнезема.

Была изучена адсорбция гистамина (Hm), триптамина (Ттра) и тирамина (Тура) на поверхности ВДК из водных растворов в зависимости от pH и ионной силы (рис. 9). Эти амины являются производными гистидина, триптофана и тирозина, соответственно. Адсорбция всех аминов начинается при $\text{pH} > 5$ и повышается при увеличении pH. Наибольшая адсорбция наблюдается для гистамина, затем следует триптамин, а наименьшие значения адсорбции наблюдаются для тирамина. При увеличении ионной силы раствора значения адсорбции всех аминов понижаются.

Все амины в изученном интервале pH от 4 до 8 существуют в водных растворах в виде катионов: триптамин и тирамин — в виде протонированных по аминогруппе частиц, а гистамин в зависимости от pH сначала в виде двухзарядного катиона, протонированного по атому азота имидазола и аминогруппе, а затем в виде однозарядного, протонированного только по аминогруппе катиона. Появляющиеся на поверхности

кремнезема при $\text{pH} > 5$, диссоциированные силанольные группы взаимодействуют с катионами аминов:

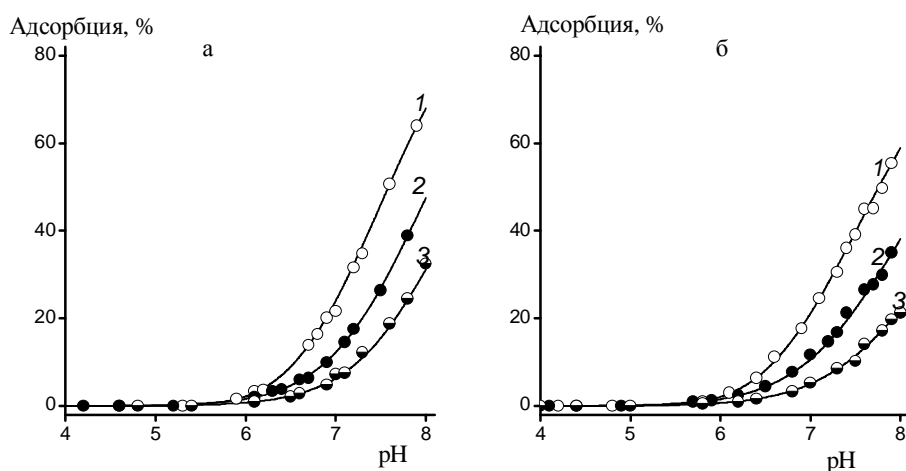
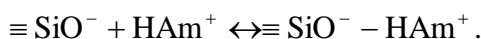


Рис. 9. Адсорбция гистамина (1), триптамина (2) и тирамина (3) на поверхности ВДК из 0,001 (а) и 0,01 М NaCl (б) в зависимости от pH. $C_{\text{Am}} = 0,5$ ммоль/л, $C_{\text{SiO}_2} = 10$ г/л. Символы – экспериментально полученные значения адсорбции, сплошные линии – теоретически рассчитанные кривые.

Образование таких комплексов представляется наиболее вероятным результатом электростатического взаимодействия. Константы равновесия этой реакции были рассчитаны с использованием модели комплексообразования Штерна (BSM). Наилучшее совпадение экспериментальных и рассчитанных адсорбционных кривых было получено в предположении, что образующиеся комплексы являются внешнесферными. Понижение величины адсорбции при увеличении ионной силы раствора объясняется конкуренцией между ионами натрия и катионами аминов. Рассчитанные константы комплексообразования представлены в табл. 3.

Таблица 3. Константы равновесия реакций комплексообразования биогенных аминов на поверхности высокодисперсного кремнезема

$\equiv \text{SiO}^- \text{HAm}^+ \leftrightarrow \equiv \text{SiO}^- - \text{HAm}^+$	
Биогенный амин	$\log K \pm 0,05$
Гистамин	2,50
Триптамин	2,04
Тирамин	1,76

Сравнение величин констант образования комплексов показывает, что наиболее устойчивый комплекс образуется при адсорбции гистамина, наименее устойчивый при адсорбции тирамина. Исследуемые амины могут быть охарактеризованы таким свойством как гидрофобность, которая определяется растворимостью вещества в воде и *n*-октанолу, и выражается коэффициентом распределения ($\log P_{o/w}$). По мере увеличения гидрофобности изученные нами амины располагаются в ряд $\text{Hm} < \text{Ttpa} < \text{Ttya}$, т. е. этот ряд противоположен ряду увеличения устойчивости комплексов. Следовательно, устойчивость комплексов определяется не гидрофобностью аминов, а какими-то другими

свойствами. Принято считать, что понижение диэлектрической проницаемости воды в поверхностном слое способствует адсорбции более гидрофобных веществ [23], однако этот случай реализуется, по нашему мнению, при адсорбции вещества непосредственно на поверхности, т. е. при образовании внутрисферных комплексов. При образовании внешнесферных комплексов, когда молекулы адсорбированного вещества располагаются на некотором расстоянии от поверхности (во внутренней плоскости Гельмгольца), гидрофобность молекулы перестает быть характеристикой, определяющей устойчивость образующихся комплексов. Можно предположить, что протонированные формы аминов, удерживаемые в адсорбционном слое электростатическими силами, могут образовывать с молекулами воды при-поверхностного слоя водородные связи. В таком случае молекулы гистамина имеют больше возможностей для образования водородных связей, чем молекулы триптамина и тирамина. Изменение структуры аминов по сравнению с аминокислотами, в результате реакции декарбоксилирования которых они синтезируются, приводит к их адсорбции на поверхности кремнезема в отличие от родственных им аминокислот.

Таким образом, приведенные нами примеры использования моделей комплексообразования для количественного описания адсорбции биомолекул показывают возможности моделирования реакций образования поверхностных комплексов, в состав которых входят функциональные группы кремнезема и химические соединения различной природы, удерживающиеся вместе за счет разного вида химических и физических взаимодействий.

Литература

1. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния /под ред. А.А. Чуйко. Киев: Наук. думка, 2003. – 415 с.
2. Hayes K.F. Equilibrium, spectroscopic, and kinetic studies of ion adsorption at the oxide/aqueous interface // Ph.D. thesis. - Stanford University, Stanford, CA, USA, 1987.
3. Davis J.A., Kent D.B. Surface Complexation Modeling in Aqueous Geochemistry // Rev. Mineralog. – 1990. – V. 23. – P.177-260.
4. Schindler P.W., Kamber H.R. Die aciditat von silanolgruppen // Helv. Chim. Acta. – 1968. – V. 51. – P.1781-1786.
5. Hohl H., Stumm W. Interaction of Pb^{2+} with hydrous $\alpha-Al_2O_3$ // J.Colloid Interface Sci. – 1976. – V. 55. – P.281-288.
6. Sposito G. The Surface Chemistry of Solids. -New York: Oxford University Press, 1984. – 423 p.
7. Schindler P.W., Stumm W. The surface chemistry of oxides, hydroxides, and oxide minerals // Aquatic Surface Chemistry / Ed. Stumm W. - New York: John Wiley, 1987. - P.83-110.
8. Gouy G. Sur la constitution de la charge electrique a la surface d'un electrolyte // J.Phys. – 1910. – V. 9. – P.457-468.
9. Chapman D.L. A contribution to the theory of electrocapillarity // Philos. Mag. – 1913. – V. 6, N 25. – P.475-481.
10. Huang C.P., Stumm W. Specific adsorption of cations on hydrous Al_2O_3 // J. Colloid Interface Sci. – 1973. – V. 22. – P.231-259.
11. Dzombak D.A., Morel F.M.M. Surface Complexation Modeling: Hydrous Ferric Oxide. - New York: J.Wiley, 1990. - 393 p.
12. Stern O. Zur theory der electrolytischen doppelschicht // Z.Electrochem. – 1924. – B. 30. – S.508-516.
13. Davis J.A., James R.O., Leckie J.O. Surface ionization and complexation at the oxide/water interface // J.Colloid Interface Sci. – 1978. – V. 63. – P.480-499.

14. Bowden J.M. Model for ion adsorption on mineral surfaces. University of west Australia. – 1973. - 340 p.
15. Bousse L., Meindl J.D. The importance of Ψ/pH characteristics in the theory of the oxide/electrolyte interface // *Geochemical Progress at Mineral Surfaces* / Eds. J.A. Davis and K.F. Hayes. - ACS Symp. Ser. 323. Washington, D.C.: Am. Chem. Soc, 1986. – P.79-98.
16. Parks G.A., de Bruyn P.L. The zero point of charge of oxides // *J. Phys. Chem.* – 1962. – V. 66. – P.967-973.
17. Bolt G. H., Van Riemsdijk W.H., Ion Adsorption in Inorganic Variable Charge Constituents // *Soil Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 1982. – V. B. – P.459-504.
18. Hiemstra T., Van Riemsdijk W.H., Bolt G.H. Multisite proton adsorption modeling at the solid/solution interface of (hydr)oxides: a new approach // *J. Colloid Interface Sci.* – 1989. – V. 133. – P.91-104.
19. Herbelin A.L., Westall J.C. FITEQL. A computer program for determination of chemical equilibrium constants from experimental data. Version 3.1. - Oregon State University, 1994. Rep.94-01.
20. Ludwig Chr. GRFIT.A program for solving speciation problem: evaluation of equilibrium constants, concentrations, and other physical parameters. - University of Bern, 1992.
21. Zachara J.M., Ainsworth C.C., Cowan C.E., Schmidt R.L. Sorption of aminonaphtalene and quinoline on amorphous silica // *Env. Sci. Technol.* – 1990. – V. 24, N 1. – P.118-126.
22. Kurtin W.E., Enz J., Dunsmoor C, Evans N., Lightner D.A. Acid dissociation constants of bilirubin and related carboxylic acid compounds in bile salt solutions // *Archives in Biochem. Biophys.* – 2000. – V. 381, N 1. – P.83-91.
23. Brown G.E., Ir., Henrich V.E., Casey W.H. *et al.* Metal oxide surfaces and their interaction with aqueous solutions and microbial organisms // *Chem. Rev.* - 1999. – V. 99, N 1. – P.77-174.