

ТЕМПЕРАТУРНО-ПРОГРАМОВАНА ДЕСОРБЦІЙНА МАС-СПЕКТРОМЕТРІЯ БИЧАЧОГО СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ В КОНДЕНСОВАНОМУ СТАНІ І АДСОРБОВАНОГО НА ПОВЕРХНІ ВИСОКОДИСПЕРСНИХ ОКСИДІВ

**Н.Ю. Клименко, Н.П. Галаган, Б.Г. Місчанчук,
В.І. Зарко, В.О.Покровський**

*Інститут хімії поверхні імені О.О.Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова 17, 03164, м. Київ-164, e-mail: nklymenko@ukr.net*

Методом температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії (ТПД МС) було досліджено властивості бичачого сироваткового альбуміну (БСА) як в конденсованому стані, так і адсорбованого на поверхні високодисперсних змішаних оксидів. В результаті термолізу білка розклад амінокислотних залишків відбувався в декілька стадій. Максимуми залежності швидкості розкладу амінокислотних залишків від температури співпадали з максимумами виділення води із досліджених зразків. Найбільш інтенсивні максимуми виділення сірководню спостерігалися при температурі 200 °С для конденсованого БСА і для БСА, адсорбованого на поверхні титанокремнезему (ТК20) при рН 4,8. Цей максимум був відсутній при адсорбції БСА на поверхні алюмокремнезему (АК1) при значеннях рН 2,5 та 7,0. Крім того, для всіх зразків, що вміщували оксид алюмінію був наявний інтенсивний максимум виділення води при 100 °С.

Вступ

Сучасна біотехнологія широко використовує наноматеріали (НМ), складовою частиною яких є полімери синтетичного або природного походження [1]. Тому при створенні НМ застосовують різні адсорбційні методи, найчастіше хемосорбцію або фізичну адсорбцію, в залежності від подальшого застосування кінцевого продукту [2, 3]. Високодисперсним кремнеземам (ВДК) як перспективним носіям в цих процесах зараз приділяється значна увага, оскільки вони мають високорозвинену поверхню з певною кількістю гідроксильних груп, здатних до заміщення різними лігандами та хімічними сполуками, в тому числі і біомолекулами [4, 5], включаючи і білки. Вивчення процесів, що пов'язані з їх адсорбцією на межі поділу фаз рідина-тверде тіло, зумовлені пошуком матриць-носіїв для створення іммобілізованих ферментів, біосенсорів, розробкою нових ефективних сорбентів для застосування в сорбційній терапії, лікарських засобів пролонгованої дії, компонентів клітинних середовищ, здатних цілеспрямовано впливати на життєздатність клітин [6 – 8].

Дослідження взаємодії ВДК з білками висвітлено в багатьох публікаціях [5, 7, 9 – 13]. Встановлено [14], що характерною властивістю поверхні ВДК є його висока адсорбційна ємність по відношенню до білків, в тому числі і до бичачого сироваткового альбуміну (БСА). Наявність на поверхні ВДК силанольних груп у концентрації 1,5 – 4,6 ОН-груп на nm^2 [15, 16, 17] сприяє багатоточковій адсорбції білкових молекул [15]. Для ВДК величини граничної адсорбції різних білків складають 300 – 600 мг/г, що значно перевищує їх максимальну адсорбцію іншими сорбентами [5].

Адсорбційна взаємодія білків (БСА, сироватковий альбумін людини, яєчний альбумін, желатин) зі змішаними високодисперсними оксидами ($\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ та $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$)

була вивчена в залежності від кількості оксиду металу на поверхні в порівнянні з адсорбцією на ВДК [12]. Для всіх адсорбатів була встановлена залежність параметрів адсорбції від рН. Показано, що для титанокремнеземів максимальні значення адсорбції зростають зі зниженням концентрації в їх складі кремнезему, тоді як для алюмокремнеземів такий ефект не відмічений. Однак в роботі [12] даних по мас-спектрометричному аналізу поверхневого шару НМ на основі ВДК, $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$, $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ та БСА не представлено.

Метою цього дослідження було порівняльне вивчення процесу адсорбції БСА в залежності від рН на поверхні ВДК, титано- (вміст TiO_2 20 мас. %) та алюмокремнезему (вміст Al_2O_3 1 мас. %), та знаходження кореляцій між адсорбцією БСА на поверхні досліджуваних оксидів, та даними мас-спектрометричного експерименту з використанням температурно-програмованої десорбції.

Експериментальна частина

Об'єктами дослідження були: білок бичачий сироватковий альбумін фірми Fluka (БСА; США; $M_r \sim 67000$, фракція V), високодисперсний кремнезем марки А-300 (ВДК; Калуш, Івано-Франківська обл.; $S_{\text{пит}}=285 \text{ м}^2/\text{г}$), титанокремнезем (ТК20, вміст TiO_2 20 %, $S_{\text{пит}}=84 \text{ м}^2/\text{г}$), алюмокремнезем (АК1, вміст Al_2O_3 1 %, $S_{\text{пит}}=203 \text{ м}^2/\text{г}$). ТК20 та АК1 отримані в лабораторних умовах. Високодисперсні оксиди попередньо прожарювали при температурі 400 °С протягом 2 год (ВДК) та при 450 °С протягом 1 год (титано- та алюмокремнезем).

Адсорбцію БСА на поверхні ВДК, ТК20 та АК1 проводили в статичних умовах при 20 – 23 °С [18]. Вихідні концентрації водного розчину альбуміну становили 0,2 – 2 мг/мл при рН 2,5 та 7,0 та 1 – 14 мг/мл при рН = 4,8. Співвідношення адсорбент:розчин становило 100мг:10мл. Для досягнення адсорбційної рівноваги розчин витримували 2 год при постійному перемішуванні. Тверду фазу відокремлювали центрифугуванням протягом 10 хв при швидкості 4000 об/хв та висушували 4 доби в термостаті ТС-80М-2 при температурі 37 °С, для використання в подальших дослідженнях.

Величину адсорбції БСА на поверхні кремнеземів розраховували по різниці вихідної та рівноважної концентрації білка, яку визначали за допомогою мікробіуретового методу [19] з використанням фотоелектроколориметра КФК-2.

Для проведення десорбції БСА з поверхні кремнеземів до наважки твердої фази з відомою концентрацією сорбованого білка додавали дистильовану воду з певним значенням рН у співвідношенні 10мг:1мл та залишали на 2 год при постійному перемішуванні. Тверду фазу відокремлювали та висушували при тих же умовах, що і при адсорбції. Отримані зразки використовували для мас-спектрометричних досліджень, що проводились на приладі МХ-7304А (Україна, Суми). Специфічні деталі та особливості методу ТПД МС розглянуті в роботах [20 – 22].

Таким чином, для отримання вірної оцінки кількості білка в адсорбованому стані при мас-спектрометричних дослідженнях слід враховувати процент десорбції БСА з поверхні оксидів. Одержані результати щодо адсорбції та десорбції БСА на досліджених адсорбентах зведені в таблицях 1, 2.

Результати та їх обговорення

Максимальна адсорбція БСА на поверхні ВДК, ТК20 та АК1 (табл. 1) спостерігається при рН=4,8, близькому до ізоелектричної точки (ІЕТ) альбуміну [9] та характеризується ізотермами ленгмюрівського типу (рис. 1, б) [23]. В ізоелектричній точці молекула білка являє собою цвигтер-іон, тобто сумарний заряд молекули дорівнює нулю [24].

Як видно з табл. 1 та рис. 1, б, при значенні рН=4,8 гранична адсорбція найвища для ВДК і найменша для алюмокремнезему.

Таблиця 1. Значення адсорбції БСА на досліджених адсорбентах

Зразок	Величина граничної адсорбції БСА на поверхні зразка					
	рН=2,5		рН=4,8		рН=7,0	
	мг/г	мг/м ²	мг/г	мг/м ²	мг/г	мг/м ²
ВДК	48	0,17	410	1,44	41	0,14
ТК20	64	0,76	340	4,05	78	0,93
АК1	24	0,12	175	0,86	24	0,12

При зменшенні рН до 2,5 або збільшенні рН до 7,0 (рис. 1, а, в) найбільші значення граничної адсорбції характерні для титанокремнезему. Відмічено, що для алюмокремнезему при збільшенні концентрації БСА до 0,36 мг/мл при рН=2,5 та 0,62 мг/мл при рН=7,0 спостерігається суттєве зменшення значень адсорбції.

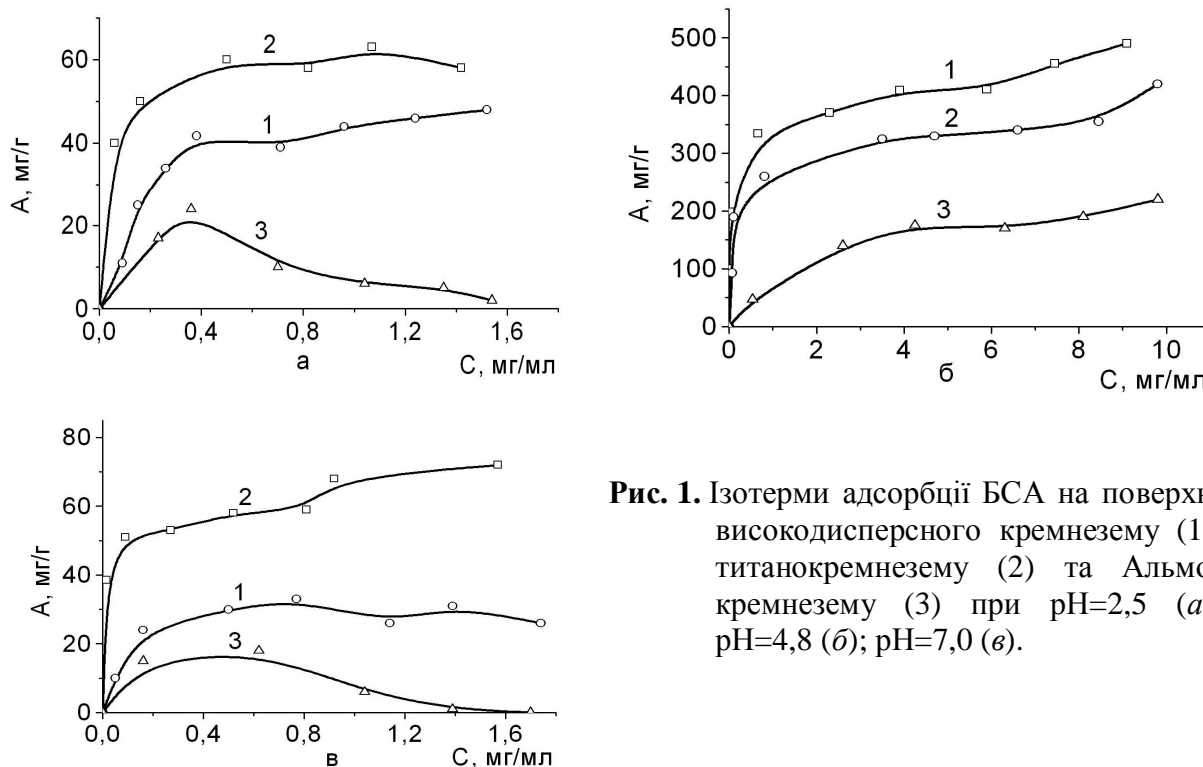


Рис. 1. Ізотерми адсорбції БСА на поверхні вискодисперсного кремнезему (1), титанокремнезему (2) та Альмокремнезему (3) при рН=2,5 (а); рН=4,8 (б); рН=7,0 (в).

При рН 2,5 та 7,0 (рис. 1, а, в) величина адсорбції зменшується порівняно з рН=4,8, що узгоджується з літературними даними [5]. Автори пояснюють, що в першому випадку білкова молекула та поверхня адсорбента при значеннях рН<ІЕТ заряджені позитивно і процесу адсорбції перешкоджає іон-дипольна взаємодія з поверхневими силанольними групами [12, 25, 26]. Це стосується не тільки ВДК, а і титано- та алюмокремнезему [12, 27], оскільки ІЕТ (ВДК)=2,2; ІЕТ (TiO₂)=6; ІЕТ (Al₂O₃)=9,8. В другому випадку (при рН=7,0) білок та поверхня негативно заряджені, що призводить до відштовхування однойменних зарядів. Зменшення величини адсорбції може бути викликане латеральним відштовхуванням однойменно заряджених молекул білка в адсорбційному шарі [5]. На адсорбцію білка також впливає йонна сила розчину: зі зменшенням йонної сили величина адсорбції білків зменшується.

Щодо адсорбції БСА на поверхні алюмокремнезему при рН 2,5 та 7,0 (рис. 1, а, в; криві 3), то початкові ділянки до 20 мг/г подібні до ізотерми Ленгмюра, а далі спостерігається зниження величини адсорбції в обох випадках. На думку Михайлової [28] така форма ізотерми зумовлена максимальною швидкістю коагуляції білка в розчині. Це

пояснюється тим, що при $pH=2,5$ частки кремнезему заряджені слабо і достатньо невеликих кількостей білка, щоб викликати коагуляцію суспензії. При $pH=7,0$ велика швидкість цього процесу може свідчити про те, що молекули БСА змінюють конформацію і адсорбуються в розгорнутому стані. При цьому розміри молекули збільшуються і це зменшує величину адсорбції.

Для поверхні ТК20 при відхиленні в обидва боки від pH 4,8 спостерігається найбільша адсорбція порівняно з алюмокремнеземом (табл. 1). Це пояснюється тим, що сорбційні властивості пірогенних оксидів по відношенню до білків визначають їх активні центри [27, 29]. Згідно [29 – 31] такими центрами адсорбції є кислі титано- та алюмосилоксанові містки, що утворюються на поверхні змішаних оксидів (SiO_2 та TiO_2 або SiO_2 та Al_2O_3 відповідно) [27].

Для ТК20 характерна наявність максимальної кількості кислих титаносилоксанових містків, а на поверхні АК1 міститься менша кількість Si-O(H)-Al містків [32]. За даними роботи [33] зі збільшенням частки Al_2O_3 в алюмокремнеземі спорідненість до білка зростає. В нашому випадку вміст оксиду алюмінію в алюмокремнеземі складає лише 1 %, тому можна зробити припущення, що для АК1 характерна мала спорідненість до білка. Відомо [5], що кількість адсорбованого білка залежить від природи поверхні адсорбента. Згідно літературних даних [30, 31, 34] для ТК20 характерні включення окремої фази кристалічного оксиду титану, що має дві форми: рутил (ядро оксиду) та анатаз (оболонка оксиду). Причому поверхневі властивості часток TiO_2 в титанокремнеземі визначаються в основному анатазом [32]. Що стосується АК1, то зменшення величини адсорбції БСА на його поверхні (рис. 1, а, в; криві 3) можна також пояснити наявністю аморфної фази оксиду алюмінію в алюмокремнеземі [27, 32] на відміну від титанокремнезему. Крім того для алюмокремнезему характерним є те, що при малих концентраціях Al_2O_3 (до 3 %) практично весь алюміній знаходиться на поверхні змішаного оксиду [29]. Під час адсорбції спостерігається утворення агрегатів, оскільки АК1 має підвищену здатність порівняно з ВДК до їх утворення [35], що може призвести до зменшення величини адсорбції.

Згідно [36] форма ізотерми адсорбції залежить і від можливих орієнтацій адсорбованих молекул розчиненої речовини на поверхні, що в свою чергу впливає на кількість адсорбованої речовини.

За даними [37] на величину адсорбції може впливати центрифугування, що може призвести до деструкції водневих зв'язків. Якщо в результаті адсорбції в адсорбційному шарі утворюються слабкі міжмолекулярні зв'язки, то під час центрифугування можливе їх розірвання, що може зменшити кількість адсорбованого білка. Слід зазначити, що на величину адсорбції крім природи поверхні адсорбенту, його активних центрів та центрифугування впливає також і кількість ОН-груп: чим більше ОН-груп, тим більше значення адсорбції [38]. У літературних джерелах [16, 17] вказано, що для поверхні аморфного кремнезему характерна наявність 4,6 ОН-груп/нм². Концентрація гідроксильних груп на поверхні фаз TiO_2 та SiO_2 титанокремнезему приблизно однакова [32], хоча початкова концентрація ОН-груп вища на поверхні TiO_2 (близько 8 – 10 ОН-груп/нм²) [3]. Для АК1 в літературі таких даних не знайдено, однак відмічається, що для алюмокремнезему (АК23, вміст Al_2O_3 23 %) кількість ОН-груп більше в 2,4 рази, ніж для ВДК [16, 17]. Тому можна припустити, що для АК1 вміст гідроксильних груп буде дещо меншим, що також впливає на величину адсорбції. Таким чином, вище сказане підтверджує отримані експериментальні дані по адсорбції на поверхні високодисперсних оксидів.

Як показано нижче, напівкількісні оцінки інтенсивності компонент розкладу нанокомпозитів при мас-спектрометричному аналізі дозволяють одержувати корисну інформацію стосовно ефективності адсорбції та десорбції БСА на різних носіях (рис. 2) та адсорбованому на поверхні високодисперсних оксидів станах (рис. 3 – 5). На даних

рисунках представлено вихідну концентрацію ($C_{\text{вих}}$) білку відповідних точок, вибраних для ТПД МС-досліджень з ізотерм адсорбції БСА.

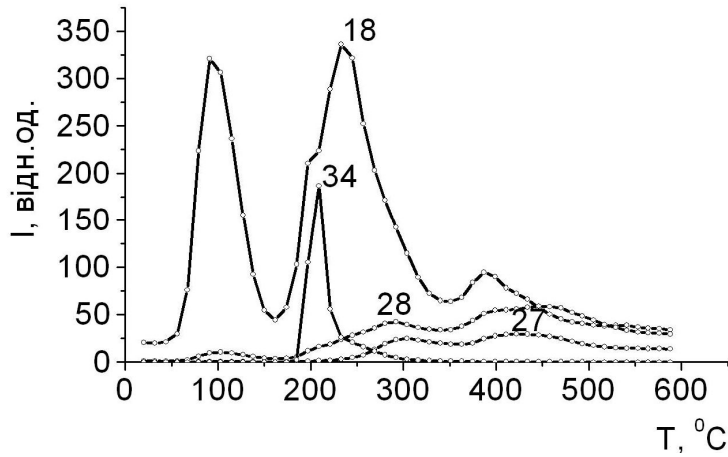


Рис. 2. Термограми розкладу зразка БСА для компонент 18 (H_2O^+), 27 (C_2H_3^+ або HCN^+), 28 (CO^+), 34 (H_2S^+) а.о.м.

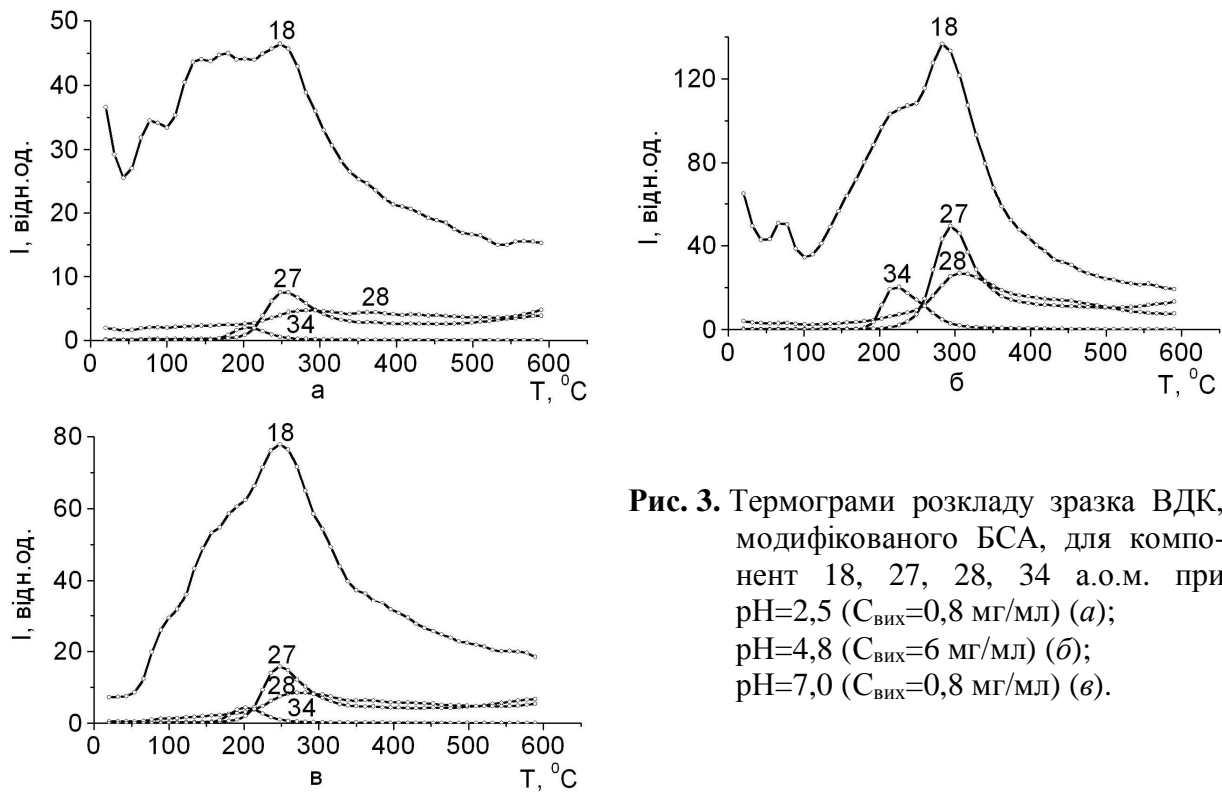


Рис. 3. Термограми розкладу зразка ВДК, модифікованого БСА, для компонент 18, 27, 28, 34 а.о.м. при рН=2,5 ($C_{\text{вих}}=0,8$ мг/мл) (а); рН=4,8 ($C_{\text{вих}}=6$ мг/мл) (б); рН=7,0 ($C_{\text{вих}}=0,8$ мг/мл) (в).

Особливості температурних залежностей мас-спектрів, спостережених при розкладі БСА в конденсованому стані наведені на рис. 2, що добре узгоджується з результатами аналогічних експериментів, проведених нами раніше та наведених в роботі [39]. Нижче наведені характерні особливості процесів, що відбуваються при термолізі БСА. Як було показано в роботі [39], розклад альбуміну в конденсованому стані починається біля 190°C . Причому в мас-спектрі спостерігається поява піку 34 а.о.м., яка інтерпретується як маса молекули сірководню, що утворюється внаслідок розкладу залишків сірковмісних амінокислот, які входять до складу білка (цистеїну та метіоніну). Виділення сірководню сягає максимуму при 210°C . При подальшому підвищенні температури інтенсивність іона H_2S^+ швидко спадає, так що весь процес укладається в

температурний інтервал 190 – 230 °С. Така особливість термолізу вказує на те, що в процесі деструкції залишків сірковмісних амінокислот, що супроводжується виділенням H_2S важливу роль може відігравати тиол-дисульфідний обмін [40]. Згідно вказаним даним для білків можливе утворення асоціатів одноіменних молекул, з якими може взаємодіяти сульфгідрильна група залишку цистеїну [41]. Цей факт зумовлює кооперативний характер розкладу глобули альбуміну в конденсованій фазі.

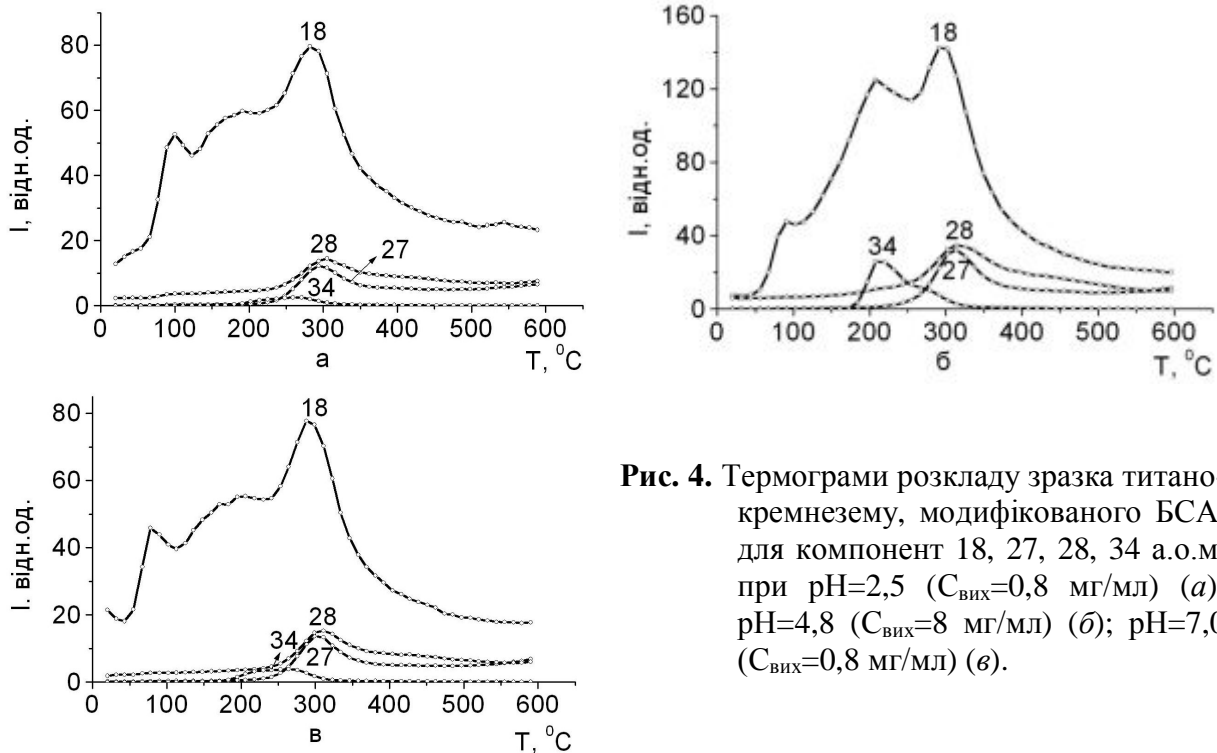


Рис. 4. Термограми розкладу зразка титано-кремнезему, модифікованого БСА, для компонент 18, 27, 28, 34 а.о.м. при рН=2,5 ($C_{\text{вих}}=0,8$ мг/мл) (а); рН=4,8 ($C_{\text{вих}}=8$ мг/мл) (б); рН=7,0 ($C_{\text{вих}}=0,8$ мг/мл) (в).

Нами відмічено три суттєві особливості термолізу досліджених зразків. По-перше, кооперативний ефект спостерігається тільки в конденсованій фазі. Адсорбція білку на поверхні високодисперсних носіїв призводить до розширення максимуму термічного виділення 34 а.о.м. від приблизно 30 °С до 60 °С і більше, тобто процес термічного розкладу втрачає свій кооперативний характер внаслідок взаємодії БСА з поверхнею високодисперсного носія. Це виглядає природнім, оскільки взаємодія з поверхнею різко знижує міжпротеїнові взаємодії в адсорбційному шарі.

По-друге, в усіх експериментах спостерігається максимум виділення води при температурі біля 100 °С. Він існує для всіх досліджених модифікованих альбуміном наноконкомпозитів, але є найінтенсивнішим для конденсованого БСА, а також для алюмо-кремнезему, незалежно від наявності БСА на його поверхні. Тобто, найбільш вірогідним є припущення про фізичну адсорбцію води на поверхні носія. Другий максимум дегідратації, що спостерігається біля 200 °С співпадає за локалізацією і кінетикою з виділенням сірководню, що дозволяє припустити про існування зв'язку між цими процесами.

По-третє, при термічній деструкції БСА, наявний ще один максимум дегідратації, зумовлений термічною деструкцією конденсованого і адсорбованого альбуміну. Положення цього максимуму в межах температури 250-300 °С корелює з температурними максимумами ліній 27 ($C_2H_3^+$ або HCN^+) та 28 (CO^+) а.о.м., наявність яких свідчить про другу стадію подальшого розкладу БСА. Для всіх зразків відношення інтенсивності максимумів виділення органічних фрагментів, охарактеризованих лініями 27 та 28 до максимумів виділення води складає приблизно п'яту частину.

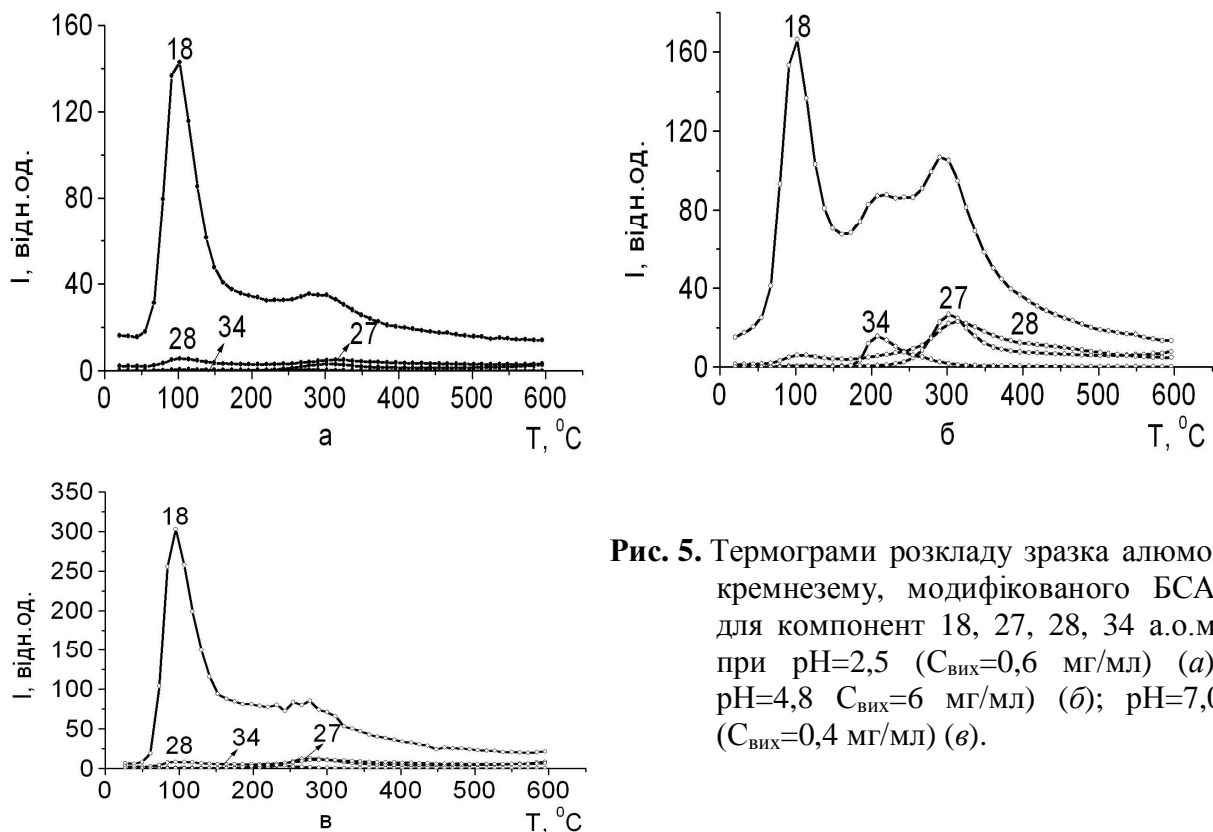


Рис. 5. Термограми розкладу зразка алюмокремнезему, модифікованого БСА, для компонент 18, 27, 28, 34 а.о.м. при рН=2,5 ($C_{\text{вих}}=0,6$ мг/мл) (а); рН=4,8 $C_{\text{вих}}=6$ мг/мл) (б); рН=7,0 ($C_{\text{вих}}=0,4$ мг/мл) (в).

У випадку конденсованого БСА спостережено четвертий максимум дегідратації при температурі 400 °С, який не будемо розглядати детально, оскільки його інтенсивність суттєво менша за попередні.

При викладенні особливостей методу ТПД МС [20 – 22] зазначено, що він не призначений для одержання кількісних даних щодо досліджуваних систем. Втім, аналізуючи мас-спектрометричну інформацію, наведену на рис. 2 – 5 в порівнянні з адсорбційними даними (рис. 1) можна побачити, що між ними існує ясно виражена кореляція.

На наш погляд причиною цього може бути застосована нами експериментальна процедура. По-перше, маса досліджуваного зразка була однаковою для всіх досліджуваних зразків (за винятком конденсованого БСА), а термограми в усіх випадках обиралися для однакових компонент мас-спектра. По-друге, процедура підготовки зразків включала контрольовану стадію десорбції, результати якої наведені вище в табл. 2, і тільки після її завершення зразки піддавалися мас-спектрометричному аналізу. Це давало можливість оцінити кількість адсорбату на поверхні сорбенту перед початком мас-спектрометричних вимірів.

Таблиця 2. Значення десорбції порівняно з величиною адсорбції

Зразок	Гранична адсорбція та процент десорбції БСА					
	рН=2,5		рН=4,8		рН=7,0	
	Гранична адсорбція, мг/г	Десорбція, %	Гранична адсорбція, мг/г	Десорбція, %	Гранична адсорбція, мг/г	Десорбція, %
ВДК	60	3,33	395	17,3	65	7,7
ТК20	71	1,41	370	24,81	74	23
АК1	19	15,8	105	62,86	29	6,9

І насамкінець, інтенсивність максимуму 34 а.о.м. (H_2S^+) виявилась надійним зондом для оцінки кількості БСА в адсорбованому стані, оскільки в цій області мас відсутні інші іони, що заважали б аналізу. Результати розрахунків на основі адсорбційних та мас-спектрометричних даних зведені в табл. 3. Відмічено, що інтенсивність піку виділення сірководню залежить від кількості адсорбованого білка на поверхні високодисперсних оксидів.

Таблиця 3. Залишкова кількість адсорбованого БСА після десорбції (мг/г) в порівнянні з максимальним значенням інтенсивності лінії 34 а.о.м. (H_2S^+) (відн. од.)

Зразок	Кількість адсорбованого БСА на поверхні після десорбції (мг/г) та інтенсивності лінії 34 а.о.м. (H_2S^+) (відн. од.)					
	рН=2,5		рН=4,8		рН=7,0	
	А, мг/г	І, відн. од.	А, мг/г	І, відн. од.	А, мг/г	І, відн. од.
ВДК	58	2,0	306	20,3	60	4,4
ТК20	70	2,5	297	26	57	3,9
АК1	16	0,6	39	16	27	4,3

Висновки

Вивчено адсорбцію БСА на поверхні змішаних оксидів (ВДК, ТК20 та АК1) та його термоліз в конденсованому стані. Максимальна адсорбція білка у всіх випадках спостерігається при рН=4,8 (ізоелектричній точці білка) та описується ізотермами Ленгмюрівського типу. При відхиленні від ізоелектричної точки БСА в обидва боки максимальна адсорбція характерна для титанокремнезему. Деталі термолізу підтверджують результати адсорбційних експериментів.

Спільним для термолізу альбуміну в конденсованому та адсорбованому станах є виділення сірководню, води (в декілька стадій) та органічних продуктів розкладу, зміна інтенсивності яких проілюстрована на прикладі іонів 27 та 28 а.о.м.

Найінтенсивніші піки виділення сірководню спостерігаються в результаті термолізу білка у вільному стані та адсорбованого на поверхні титанокремнезему при значенні рН=4,8. Найбільший максимум виділення води при низькій температурі (100 °С) спостерігався для алюмокремнезему, для якого також встановлено, що він має найменшу величину адсорбції альбуміну порівняно з дослідженими оксидами і при всіх застосованих значеннях рН.

Підтверджено наявність кооперативного ефекту при термічному розкладі БСА, що характеризується виділенням сірководню і води та спостерігається тільки для конденсованої фази. Адсорбція білку на поверхні високодисперсних носіїв призводить до того, що процес термічного розкладу втрачає свій кооперативний характер внаслідок взаємодії БСА з поверхнею високодисперсного оксиду.

Встановлено взаємозв'язок між кількістю адсорбованого БСА на поверхні оксиду та інтенсивністю максимумів компонент мас-спектра, що відкриває перспективу аналітичного застосування ТПД МС при вивченні адсорбції білків.

Н.П. Галаган, Б.Г. Місчанчук, В.О. Покровський висловлюють подяку УНТЦ (проект № 3479) за підтримку адсорбційних та мас-спектрометричних досліджень.

Література

1. Нанобиотехнология и наномедицина / Н.В. Медведева, О.М. Ипатова, Ю.Д. Иванов, А.И. Дрожжин, А.И. Арчаков // Биомед. химия. – 2006. – Т. 52, Вып. 6. – С. 529 – 546.

2. Тертых В.А., Белякова Л.А. Химические реакции с участием поверхности кремнезема. – Киев: Наук. думка, 1991. – 261 с.
3. Химия привитых поверхностных соединений / Под. ред. Г.В. Лисичкина. – Москва: ФИЗМАТЛИТ, 2003. – 592 с.
4. Чуйко А.А. Химия поверхности SiO₂, природа и роль активных центров кремнезема в адсорбционных и хемосорбционных процессах: Автореф. дис. ... док. хим. наук: 02.00.04 / Институт физической химии им. Л.Писаржевского. – Киев, 1971. – 28 с.
5. Адсорбционное взаимодействие высокодисперсного кремнезема с биомолекулами / Чуйко А.А., Власова Н.Н., Давиденко Н.К., Погорелый В.К. // В кн. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. – Киев: Наук. думка, 2003. – С. 116 – 152.
6. Взаимодействие белков с поверхностью дисперсного кремнезема в водных суспензиях / О.А. Казакова, В.М. Гунько, Е.Ф. Воронин, С.С. Сильченко, А.А. Чуйко // Коллоид. журн. – 1998. – Т. 60, №5. – С. 613 – 617.
7. Тарасевич Ю.И., Монахова Л.И. Взаимодействие глобулярных белков с поверхностью кремнезема // Коллоид. журн. – 2002. – Т. 64, № 4. – С. 535 – 540.
8. The role of nature and structure of surface sites in the biological response to silica particles / Ivanna Fenoglio, Mara Ghiazza, Raffaella Ceschino, Federico Gillio, Gianmario Martra, Vice Fubini // Surface Chemistry in Biomedical and Environmental Science. / Ed. By J.P. Blitz and V. Gun'ko. – Springer, 2006. – V. 228. – P. 287 – 298.
9. Тарасевич Ю.И., Смирнова В.А., Монахова Л.И. Адсорбция альбумина на кремнеземе // Коллоид. журн. – 1978. – Т. 40, № 6. – С. 1214 – 1216.
10. Айлер Р. Химия кремнезема: растворимость, полимеризация, коллоидные и поверхностные свойства. – М.: Мир, 1982. – Т. 1, 2. – 1127 с.
11. Бутович И.А., Тертых В.А. Адсорбция белков на поверхности модифицированных кремнеземов // Теорет. и эксперим. химия. – 1987. – Т. 23, № 2. – С. 237 – 241.
12. Interaction of proteins and substituted aromatic drugs with highly disperse oxides in aqueous suspension / V.M. Gun'ko, N.N. Vlasova, L.P. Golovkova, N.G. Stukalina, I.I. Gerashchenko, V.I. Zarko, V.A. Tischenko, E.V. Goncharuk, A.A. Chuiko // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.– 2000.– V. 167.– P. 229 – 243.
13. Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic interfaces / V.M. Gun'ko, V.V. Turov, V.M. Bogatyrev, V.I. Zarko, R. Leboda, E.V. Goncharuk, A.A. Novza, A.V. Turov, A.A. Chuiko // Advances in Colloid and Interface Science. – 2005. – V. 118 – P. 125 – 172.
14. Геращенко И.И. Физико-химическое обоснование, разработка и изучение новых лекарственных средств на основе высокодисперсного кремнезема: дис. ... док. фарм. наук: 15.00.05 / Институт химии поверхности НАН Украины. – Киев, 1997. – 393 с.
15. Гунько В.М. Влияние природы и состояния поверхности высокодисперсных оксидов кремния, алюминия и титана на их сорбционные свойства // Теорет. и эксперим. химия. – 2000. – Т. 36, № 1. – С. 1 – 29.
16. Лобанов В.В., Горлов Ю.И., Чуйко А.А. Структура поверхностного слоя кремнезема, строение и свойства активных центров // Химия поверхности кремнезема, Т. 1, Ч. 1 / Под. ред. А.А. Чуйко. – Киев: ИПФ УкрИНТЭИ, 2001. – С. 148 – 186.
17. Temperature-programmed desorption of water from fumed silica, titania, silica/titania and silica/alumina / V.M. Gun'ko, V.I. Zarko, V.A. Chuikov, V.V. Dudnik, Yu.G. Ptushinskii, E.F. Voronin, E.M. Pakhlov, A.A. Chuiko // International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes. – 1998. – V. 172. – P. 161 – 179.
18. Айвазов Б.В. Практикум по химии поверхностных явлений и адсорбции. – М.: Высшая школа, 1973. – 208 с.

19. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: Высшая школа, 1980.– 215 с.
20. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed mass spectrometry of biomolecules in surface chemistry studies // *Rapid communications in mass spectrometry*. – 1995. – V. 9. – P. 588 – 591.
21. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed desorption mass spectrometry (TPD MS) of dispersed oxides // *Adsorption Science & Technology*.– 1997.– V. 14, № 5. – P. 301 – 317.
22. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed desorption mass spectrometry // *J. Thermal Analysis and Calorimetry*. – 2000. – V. 62. – P. 407 – 415.
23. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел. Пер. с англ. / Под ред. Г. Парфита, К. Рочестера. – М.: Мир, 1986. – 488 с.
24. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. – М.: Мир, 1985. – 456 с.
25. Distribution effect of the second phase in disperse silica/X oxides (X=Al₂O₃, TiO₂, GeO₂) on their surface properties / V.M. Gun'ko, V.I. Zarko, V.V. Turov, R. Leboda, E. Chibowski // *Langmuir*. – 1999. – V. 15. – P. 5694 – 5702.
26. Розподіл оксиду титану в нанокompозитах системи SiO₂-TiO₂ / П.П. Горбик, В.М. Гунько, В.І. Зарко, О.О. Міщук, О.А. Співак // *Доповіді НАН України*. – 2007. – № 1. – С. 143 – 148.
27. Роль поверхности в формировании свойств пирогенных нанокompозитов SiO₂-Al₂O₃, SiO₂-TiO₂ и Al₂O₃-SiO₂-TiO₂ / П.П. Горбик, В.М. Гунько, В.И. Зарко, О.А. Мищук, О.А. Спивак, Е.В. Гончарук, Л.С. Андрийко, И.И. Герашенко, А.А. Чуйко // *Химия, физика и технология поверхности*. – 2006. – Вып. 11-12. – С. 204 – 220.
28. Михайлова І.В. Стабільність суспензій високодисперсного кремнезему у присутності білків // *Хімія, фізика та технологія поверхні*. – 2003. – Вип. 9. – С. 99 – 106.
29. О распределении оксида алюминия в высокодисперсной оксидной системе Al₂O₃-SiO₂ / П.П. Горбик, В.М. Гунько, В.И. Зарко, О.А. Мищук, О.А. Спивак, А.А. Чуйко // *Доповіді НАН України*. – 2004, № 11. – С. 150 – 154.
30. Строение и свойства пирогенных титанокремнеземов / В.И. Зарко, Е.Ф. Воронин, Г.М. Козуб, Е.М. Пахлов, Р.В. Сушко // *Химия, физика и технология поверхности*. – 1993. – Вып. 1. – С. 79 – 84.
31. Пахлов Е.М., Зарко В.И., Воронин Е.Ф. Структура и природа активных центров поверхности пирогенного титанокремнезема // *Укр. хим. журн.* – 1993. – Т. 59, № 4. – С. 373 – 376.
32. Зарко В.И. Изучение кислотных центров поверхности высокодисперсных двухфазных оксидных систем оптической спектроскопией с применением индикаторов Гаммета // *Химия поверхности кремнезема*, Т. 1, Ч. 1 / Под. ред. А.А. Чуйко. – Киев: ИПФ УкрИНТЭИ, 2001. – С. 664 – 681.
33. Вербіловський Я.П., Штатько О.І. Вибірковість зв'язування білка та ліпідних компонентів сироватки крові кремнієвмісними сорбентами // *Буковинський медичний вісник*. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 39 – 41.
34. Кислотные центры поверхности пирогенного титанокремнезема / В.И. Зарко, Г.М. Козуб, Е.Г. Сивалов, В.А. Тищенко, А.А. Чуйко // *Укр. хим. журн.* – 1988. – Т. 54, № 11. – С. 1144 – 1147.
35. Морфология, природа активных центров поверхности и физико-химические свойства нанодисперсных пирогенных алюмокремнеземов / В.И. Зарко, Е.В. Гончарук, Л.С. Андрийко, В.М. Гунько // *Всеукр. конф. з міжнародною участю, присвячена 90-річчю Національної академії наук України „Хімія, фізика та технологія поверхні наноматеріалів”*. Автореф. доп. 28-30 травня 2008 р. м. Київ. – К., 2008. – С.24 – 25.
36. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. – М.: Мир, 1970. – 407с.

37. Successive interaction of pairs of soluble organics with nanosilica in aqueous media / V.M. Gun'ko, V.I. Zarko, E.F. Voronin, E.V. Goncharuk, L.S. Andriyko, N.V. Guzenko, L.V. Nosach, W. Janusz // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2006. – V. 300. – P. 20 – 32.
38. Тарасевич Ю.И., Монахова Л.И., Юрасова В.А. Взаимосвязь между гидрофильностью дисперсных оксидов и адсорбцией на них глобулярных белков // *Укр. хим. журн.* – 1984. – Т. 50, № 10. – С. 1032 – 1037.
39. Pokrovskiy V.A., Galagan N.P., Chuiko A.A. Interaction of cells with nanoparticles // In: *Surface Chemistry in biomedical and environmental studies* / Eds. J.P. Blitz, V. Gunko. NATO Science Series, Springer, 2006. – V. 228. – P. 277 – 287.
40. Погорелый В.К., Барвинченко В.Н., Туров В.В. Влияние сольватации на радиолиз водных растворов сывороточного альбумина человека в присутствии диметилсульфоксида // *Теорет. и эксперим. химия*. – 1990, Т. 26. – № 1. – С. 107 – 111.
41. Соркина Д.А., Залевская И.Н. Структурно-функциональные свойства белков. – К.: Высшая школа, 1989. – 216 с.

TEMPERATURE-PROGRAMMED DESORPTION MASS SPECTROMETRY OF BOVINE SERUM ALBUMIN IN CONDENSED STATE AND AS ADSORBED ON DISPERSE OXIDE SURFACES

**N.Y. Klymenko, N.P. Galagan, B.G. Mischanchuk,
V.I. Zarko, V.O. Pokrovskiy**

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
General Naumov Str. 17, 03164, Kyiv-164*

Properties of bovine serum albumin (BSA) were studied by temperature-programmed desorption mass spectrometry (TPD MS) both in condensed state and as adsorbed on the surface of mixed ultrafine oxides. As a result of thermolysis, decomposition of amino acid residues occurred in several stages. Maxima of temperature dependencies of decomposition rate of amino acid residues coincided with those of water evolution from the samples under investigation. The most intense maximum of hydrogen sulfide evolution was observed at 200 °C for condensed BSA and that adsorbed on the surface of titania/silica (TS20) at pH 4.8. This maximum was absent for adsorption of BSA on alumina/silica (AS1) at pH 2.5 and 7.0. Besides, maximum of water evolution was present at 100 °C for all alumina-containing samples.