

А. Г. ПАСЫНСКИЙ и Р. С. ЧЕРНЯК

## СОРБЦИЯ МОЛЕКУЛ НЕЭЛЕКТРОЛИТОВ БЕЛКАМИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 V 1950)

Сорбция веществ окружающей среды белками изучалась до сих пор, главным образом, в отношении неорганических или органических электролитов (кислоты, соли, красители, дубители, нуклеиновые кислоты, детергенты и др.), поглощение которых белками можно измерять уже при сравнительно низкой молярной концентрации. Гораздо слабее изучена сорбция из водных растворов белками молекул неэлектролитов — спиртов, мочевины, уретана, глицерина, сахара и др., которая достигает измеримых и эффективных значений лишь при высоких молярных концентрациях неэлектролита. Между тем эти растворы широко применяются во многих работах при исследовании денатурации белков, угнетения ферментов, гидратации коллоидов и др., а также имеют важное физиологическое значение; поэтому наличие количественных данных о сорбции белками молекул указанных веществ представляло, с нашей точки зрения, существенный интерес.

Основная трудность этих определений заключается в том, что при высоком молярном содержании неэлектролита в водном растворе необходимо одновременно учитывать адсорбцию молекул воды и растворенного вещества, т. е. рассматривать сорбцию из бинарной смеси, в которой оба компонента присутствуют в соизмеримых количествах. Для таких растворов изотерма „эффективной“ адсорбции обычно имеет вид, изображенный на рис. 1. Общая теория изотерм адсорбции этого рода из растворов и смесей паров была дана А. Жуховицким <sup>(1)</sup>, который показал, что кривые подобного вида могут быть с достаточно хорошим приближением описаны наличием в адсорбенте двух видов адсорбционных центров, на каждом из которых практически адсорбируются только молекулы одного из компонентов раствора. Аналогичный вопрос был рассмотрен в работе В. Виленского и В. Павловой <sup>(2)</sup>, в которой была изучена сорбция низших спиртов на зеине. Однако в обеих работах были даны лишь максимальные величины сорбции компонентов и расчеты не доведены до построения полных изотерм адсорбции каждого из компонентов. В настоящей работе мы произвели определение изотерм сорбции таких органических веществ, как мочевины, гуанидин и уретан, на различных глобулярных и волокнистых белках.

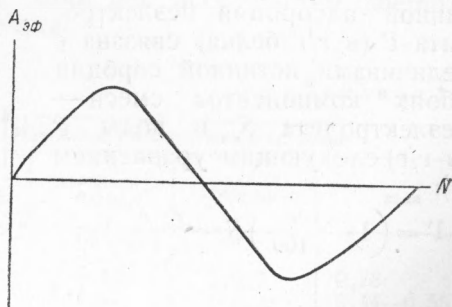


Рис. 1

Сорбция неэлектролитов белками изучалась по методу равновесного диализа. В мешочках из коллодия помещалось 0,3 г сухого чистого белка, растворенного в 5 мл соответствующего раствора неэлектролита. Мешочек погружался в 10 мл того же раствора неэлектролита, находящегося в ампуле такого сечения, что жидкость внутри и снаружи

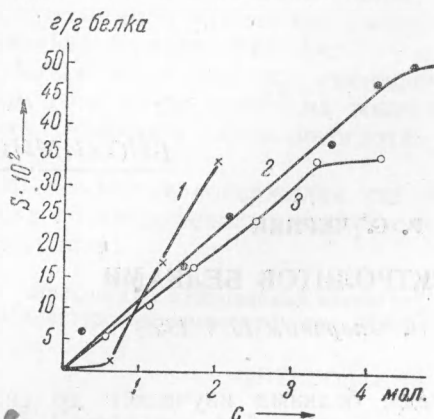


Рис. 2. 1 — адсорбция уретана на сывальбумине человека, 2 — адсорбция мочевины на желатине, 3 — адсорбция мочевины на сывальбумине человека

мешочка находилась на одинаковом уровне. Ампула закрывалась хорошо притертой пробкой или запаивалась и оставлялась на 3—4 суток при 3—4° до установления равновесия. Параллельно в тех же условиях ставилась контрольная проба (без белка). После установления равновесия внешняя жидкость в основной и контрольной ампулах анализировалась на содержание данного неэлектролита при помощи интерферометра Цейсса по соответствующим калибровочным кривым (с точностью до 0,01%). Глобулярные белки (сывальбумин человека, сывальбумин лошади,  $\gamma$ -глобулин человека) применялись в виде сухих чистых белков, полученных методом электрофоретического выделения и низкотемпературной сушки, фотожелатина — сухая, обеззоленная по Лебу; кератин волоса и шерсти — отмытые эфиром сухие волокна. Величина определяемой из интерферометрических данных „эффективной“ адсорбции неэлектролита  $\Gamma$  (в г/г белка) связана с величинами истинной сорбции обоих компонентов смеси — неэлектролита  $S$  и воды  $g$  (в г/г) следующим уравнением<sup>(2)</sup>:

$$\Gamma = \left(1 - \frac{c}{100}\right) S - \left(\frac{c}{100}\right) g, \quad (1)$$

где  $c$  — равновесная концентрация неэлектролита в растворе (в вес. %). Измерения на прямолинейной части рис. 1 (детали вычисления см. (2)) показали хорошее постоянство вычисляемых значений  $g$ ; это позволило нам предположить, что то же значение гидратации  $g$  сохраняется и в области более разбавленных растворов, т. е. в начальной части кривой рис. 1, и отсюда наблюдаемое в этой области изменение  $\Gamma(c)$  к изменению величины  $S$ . Подставляя в уравнение (1) для заданных  $c$  известные  $\Gamma$  и  $g$ , можно вычислить значения истинной сорбции неэлектролита  $S$  для различных  $c$ , т. е. получить изотерму сорбции неэлектролита на белке; аналогичным образом можно из правой части рис. 1 (если позволяет растворимость неэлектролита) найти изотерму сорбции воды на белке и, таким образом, осуществить разложение кривой  $\Gamma(c)$  на две изотермы сорбций.

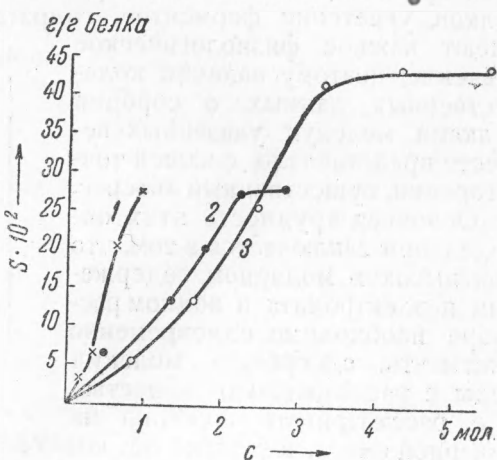


Рис. 3. Адсорбция на  $\gamma$ -глобулине человеческой сыворотки: 1 — гуанидин-нитрат, 2 — уретан, 3 — мочевина

Полученные нами данные для изотерм сорбции неэлектролитов различными белками показаны на рис. 2—4.

Из рис. 2—4 видно, что рассчитанные изотермы сорбции молекул неэлектролитов белками имеют характерный вид лэнгмюровских изотерм (для случая адсорбции из растворов теории Поляни и Лэнгмюра совпадают) с ясно выраженной зоной адсорбционного насыщения, позволяющей определить величины максимальной адсорбции (вторичной зоны капиллярной конденсации здесь, естественно, не наблюдается).

Полученные значения максимальной сорбции белками молекул воды и органических веществ представлены в табл. 1.

Приведенные в табл. 1 величины гидратации белков располагаются в ряд, соответствующий природе изученных белков; кератин волоса и шерсти 0,11—0,19, глобулины 0,5—0,65 и серумальбумин 0,78 г/г и, в целом, близки к известным в литературе значениям (например, для серумглобулина человека 0,6 г/г <sup>(3)</sup>, для желатин, по различным методам, 0,3—0,6 г/г <sup>(4)</sup> и др.).

Величина адсорбции мочевины на серумальбумине, приведенная в табл. 1 (0,36 г/г белка), близко совпадает со значением 0,32 г/г, полученным С. Бреслером (для одной концентрации мочевины 3,5 мол.) методом ультрацентрифугирования <sup>(5)</sup>; для других систем данные в литературе отсутствуют; кроме того, нами для всех систем впервые определены полные изотермы адсорбции.

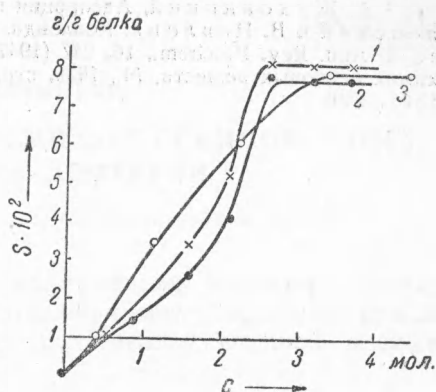


Рис. 4. 1 — кератин шерсти — мочевины, 2 — кератин волоса — мочевины, 3 — кератин волоса — уретан

Таблица 1

Белок	Максимальная адсорбция в г/г белка			
	мочевина	гуанидин-нитрат	уретан	вода
Серумальбумин человека . . . . .	0,36	0,13	>0,3	0,78
Серумглобулин человека . . . . .	0,43	>0,27	0,28	0,44—0,55
Серумглобулин лошади . . . . .	—	0,11	—	0,67
Желатина . . . . .	0,52	—	—	0,51
Кератин волоса . . . . .	0,08	—	0,08	0,11—0,18
Кератин шерсти . . . . .	0,08	—	—	0,19

При пересчете на молекулярные соотношения данные в табл. 1 показывают, что растворимые белки сорбируют, в среднем, 1 молекулу мочевины на 2 аминокислотных остатка, а других неэлектролитов — 1 молекулу на 3—4 аминокислотных остатка; в случае кератина волоса и шерсти адсорбция значительно меньше (1 мол. на 8—10 остатков).

Полученные значения по порядку величин близки к тем значениям, которые наблюдаются при гидратации белка, т. е. при сорбции молекул воды. Именно эти сорбированные количества молекул неэлектролитов в значительной мере определяют процессы денатурации белков.

В заключение следует указать на общее значение описанного метода расчета изотерм сорбции отдельных компонентов из бинарных смесей

на различных адсорбентах (например, углеводов и воды на белке или крахмале, спиртоэфирного растворителя на нитроцеллюлозе, смесей паров на угле и др.).

Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР

Поступило  
6 V 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> А. Жуховицкий, Адсорбция газов и паров, М., 1938, стр. 83—99. <sup>2</sup> В. Виленский и В. Павлова, Коллоидн. журн., **6**, 607 (1940). <sup>3</sup> E. Brand and J. Edsall, *Ann. Rev. Biochem.*, **16**, 247 (1947). <sup>4</sup> В. Паули и Э. Валько, Коллоидная химия белковых веществ, М., 1936, стр. 187—201. <sup>5</sup> С. Бреслер, Биохимия, **14**, 184 (1949).