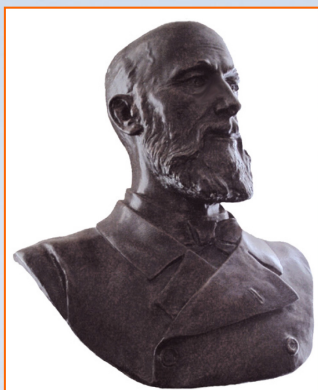
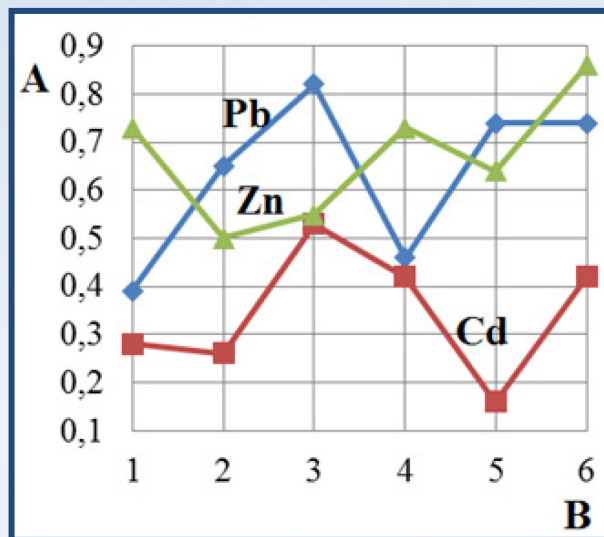


Бутлеровские сообщения

№3, том 53. 2018



ISSN 2074-0212



ISSN 2074-0948

International Edition in English:
Butlerov Communications



*Юридическим учредителем журнала “Бутлеровские сообщения” является
ООО “Инновационно-издательский дом “Бутлеровское наследие”*

Журнал является официальным печатным органом Научного фонда им. А.М. Бутлерова (НФБ), которому также делегировано право юридически представлять интересы журнала.

Организационно в журнале существует институт соучредительства, в рамках которого с соучредителем подписывается Договор или Соглашение о научно-техническом, инновационном и научном издательском сотрудничестве.

В 2018 году соучредителями журнала являются:

1. Бурятский государственный университет,
2. Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности,
3. Ивановский государственный университет,
4. Кемеровский государственный университет,
5. Общественная организация Республиканское химическое общество им. Д.И. Менделеева Татарстана,
6. Отделение “Физико-химическая биология и инновации” Российской академии естественных наук,
7. Пермская государственная фармацевтическая академия,
8. Пермский национальный исследовательский политехнический университет,
9. Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина,
10. Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
11. Самарский государственный технический университет,
12. Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королёва,
13. Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
14. Саратовский государственный университет,
15. Национальный исследовательский Томский государственный университет,
16. Национальный исследовательский Томский политехнический университет,
17. Тульский государственный университет,
18. Федеральное казенное предприятие “НИИ химических продуктов” (г. Казань),
19. Челябинский государственный университет,
20. Отдел информатизации Центра новых информационных технологий Казанского национального исследовательского технологического университета (осуществляет активное содействие функционированию и изданию журнала).

Главные редакторы: Миронов Владимир Фёдорович и Самуилов Яков Дмитриевич

Исполнительный редактор: Курдюков Александр Иванович

Адрес редакции:

Ул. Бондаренко, 33-44. г. Казань, 420066. Республика Татарстан. Россия.

Контактная информация:

Сот. тел.: 8 917 891 2622

Электронная почта: butlerov@mail.ru или journal.bc@gmail.ru

Интернет: <http://butlerov.com/>

Свободная цена.

Тираж – менее 1100 шт.

Тираж отпечатан 28 февраля 2018 г.

Влияние концентрации дисперсной фазы и кислотности среды на коллоидные свойства водных растворов яичного альбумина и сывороточного альбумина человека

© Павлова⁺ Екатерина Юрьевна, Дмитриева* Ирина Борисовна,
Кергенцев Антон Андреевич, Дроздов Максим Андреевич,
Егорова Ангелина Ростиславовна, Руденко Анна Эдуардовна
и Илларионова Анастасия Викторовна

Кафедра физической и коллоидной химии. Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, ул. Профессора Попова, 14. г. Санкт-Петербург, 197376. Россия.
Тел.: (812) 499-39-00 (4140). E-mail: rodionova_e_y@mail.ru, irina@dmitriyev.ru

*Ведущий направление; ⁺Поддерживающий переписку

Ключевые слова: яичный альбумин, сывороточный альбумин человека, реология, поверхностное натяжение, вязкость, мутность, фотометрия.

Аннотация

Альбумин является одним из самых важных белков в организме человека, поскольку выполняет функции связывания и переноса различных веществ, в том числе и лекарственных, в крови человека. Помимо сывороточного альбумина, встречающегося в сыворотке крови, сходной структурой обладают альбумины, содержащиеся в яичном белке. На функциях альбумина сказывается pH среды, его концентрация. Если растворяется кристаллический альбумин, то в зависимости от времени контакта фаз будет изменяться его конформация, образовываться или разрушаться межмолекулярные связи. В связи с этим в данной работе исследовалось влияние концентрации, pH и времени контакта фаз на поверхностное натяжение, вязкость и мутность водных растворов и яичного, и сывороточного альбумина. Определение поверхностного натяжения жидкости проводилось методом отрыва кольца. Реологические свойства растворов белков изучались методом капиллярной вискозиметрии. Процессы агрегации альбумина в водных растворах исследовались фотометрическим методом. Установлено, что в течение времени происходит постепенное структурирование растворов альбуминов. Показано, что структурирование белка и его поверхностные свойства возрастают во времени и зависят от pH самого раствора и значения pH изоэлектрической точки: вблизи изоэлектрической точки альбумина наблюдается значительное увеличение мутности растворов и уменьшение их вязкости, что обусловлено минимальной энергией электростатического отталкивания между боковыми цепями молекул и самими молекулами и образованием более плотных и компактных агрегатов большего размера, которые меньше сказываются на течении жидкости и значительно увеличивают светорассеяние. Также наблюдается нелинейное изменение мутности и вязкости в зависимости от концентрации белка, обусловленное процессами структурирования растворов. Выявлена значительная поверхностная активность альбумина, повышающаяся с увеличением концентрации протонов. Вероятно, это связано с тем, что в кислой среде больше неполярных группировок выходит на поверхность молекулы, чем в нейтральной или слабощелочной, поэтому молекулы альбумина при физиологических значениях pH будут обладать наименьшей поверхностной активностью.

Введение

Сывороточный альбумин является одним из самых важных белков в организме человека, поскольку выполняет транспортную функцию и его содержание в плазме крови гораздо больше, чем прочих белков (до 60%). Способность альбумина связывать лекарственные препараты за счет образования тех или иных связей определяется химическими свойствами аминокислот и их расположением внутри макромолекулы. Уменьшение концентрации альбумина может привести к накоплению в организме токсичных веществ, в том числе составляющих лекарственных препаратов и продуктов распада [1-2]. Помимо транспорта веществ альбумин обладает антиоксидант-

г. Казань. Республика Татарстан. Россия. _____ © Бутлеровские сообщения. 2018. Т.53. №3. _____ 43

ной активностью за счет связывания с металлами переменной валентности, свободными радикалами и образовании при окислении антиоксидантов [3]. Также значителен вклад альбумина в онкотическое давление по сравнению с другими белками крови. Помимо сывороточного альбумина не менее важным природным альбумином является яичный альбумин, имеющий схожую структуру с сывороточным. Главное отличие – в молекулярной массе (45 тыс. г/моль – яичный и 65 тыс. г/моль – сывороточный) и распределении серы в макромолекуле: у сывороточного альбумина большая часть серы образует дисульфидные мостики, а в яичном альбумине большая часть серы находится в метиониновых остатках. Макромолекула яичного альбумина содержит углеводный компонент с молекулярной массой 1200 и один или два атома фосфора [4-6].

Альбумин может быть применён при создании искусственных коллоидных систем для изучения связывания новых лекарственных веществ, их транспортировки белками и т. п. В молекуле человеческого сывороточного альбумина содержится 120 катионных и 97 анионных групп. Не смотря на то, что количество анионных групп меньше, изоэлектрическая точка альбумина согласно различным источникам лежит в диапазоне от 4.3-4.8 pH [1, 7-10]. Комплексы альбумина с различными веществами будут диссоциировать при изменении pH, ионной силы или наличии в тканях какого-либо компонента, образующего более прочные связи с ингредиентами комплекса. Соответственно значения pH будут сказываться на заряде функциональных групп молекулы и ее конформации, способности связываться с другими веществами. В данной работе рассматривается влияние концентрации альбумина и pH на коллоидно-химические свойства водных растворов сывороточного и яичного альбумина.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовались водные растворы яичного альбумина с концентрацией 0.1; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0 г /100мл и сывороточного альбумина с концентрацией 1.0; 2.0; 3.0; 5.0; 10.0 г /100мл раствора [4]. Определение поверхностного натяжения жидкости проводилось методом отрыва кольца. Растворы сывороточного альбумина готовились из 10% растворов для инфузий производства Кросс Корпорейшен, республика Корея. Реологические свойства растворов белков изучались методом капиллярной вискозиметрии. Процессы агрегации альбумина в водных растворах исследовались фотометрическим методом.

Результаты и их обсуждение

Предварительно оценивалось влияние времени контакта фаз на мутность, вязкость и поверхностное натяжение водных растворов альбумина при значениях pH, близких к нейтральным. Согласно рис. 1 кривая зависимости мутности (S) от концентрации для свежеприготовленных растворов (1) идет значительно ниже, чем для раствора, который выдерживался в течение недели (2). Подобное возрастание мутности наблюдается для сывороточного (рис. 1) и для яичного (рис. 2) альбуминов. Это изменение обусловлено медленно протекающими процессами структурирования растворов белков, возрастающее с ростом концентрации альбумина. При данных процессах растворы остаются седиментационно-устойчивыми.

Результаты фотометрических исследований хорошо согласуются с реологическими данными. Вязкость растворов яичного альбумина возрастает как с ростом концентрации белка, так и во времени (рис. 3.) вследствие процессов структурирования.

В альбумине наряду с гидрофильными аминокислотными группами содержатся и короткие гидрофобные группы, которые способны адсорбировать и переносить небольшие по размеру неполярные соединения. За счет этих неполярных группировок и аминокислот альбумин обладает поверхностной активностью. На рис. 4 представлены зависимости поверхностного натяжения водных растворов от концентрации яичного альбумина для различного времени контакта фаз. Из полученной зависимости следует, что альбумин имеет ярко выраженную поверхностную активность.

Если сопоставить с увеличением вязкости уменьшение поверхностного натяжения, то можно сказать о том, что молекулы белка «разворачиваются» гидрофобными концами к неполярной фазе – воздуху, что приводит также и к увеличению вязкости.

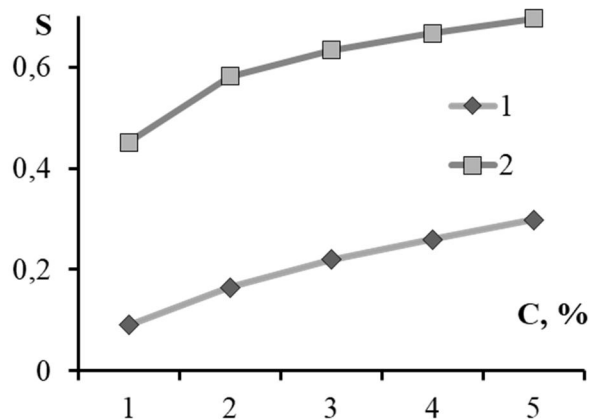


Рис. 1. Зависимость мутности от концентрации растворов сыровоточного альбумина при различных значениях pH и времени: 1 – через час после приготовления растворов; 2 – через неделю после приготовления растворов

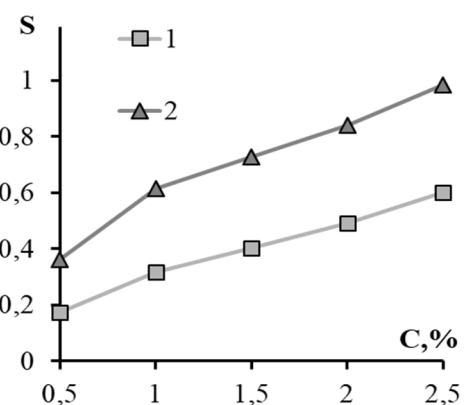


Рис. 2. Зависимость мутности от концентрации растворов яичного альбумина при различных значениях pH и времени: 1 – через час после приготовления растворов; 2 – через неделю после приготовления растворов

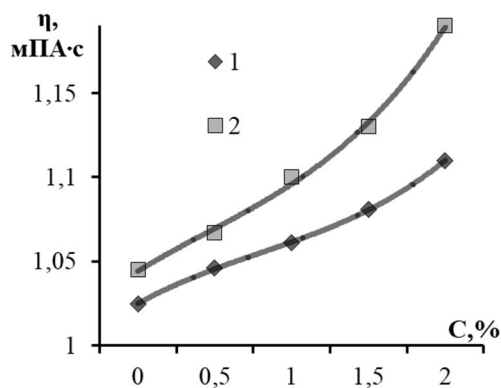


Рис. 3. Зависимость мутности от концентрации растворов сыровоточного альбумина при различных значениях pH и времени: 1 – через час после приготовления растворов; 2 – через неделю после приготовления растворов

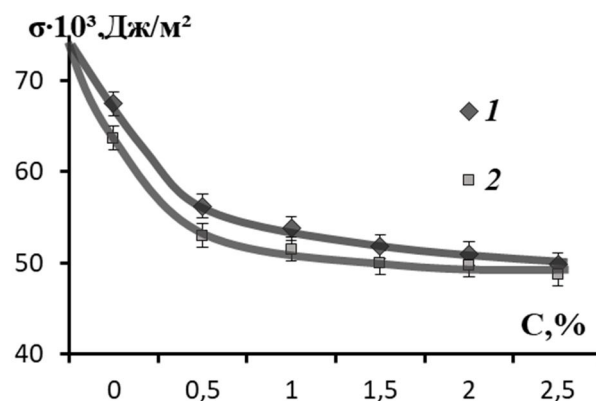


Рис. 4. Зависимость поверхностного натяжения растворов яичного альбумина от концентрации: 1 – через час после приготовления; 2 – через неделю

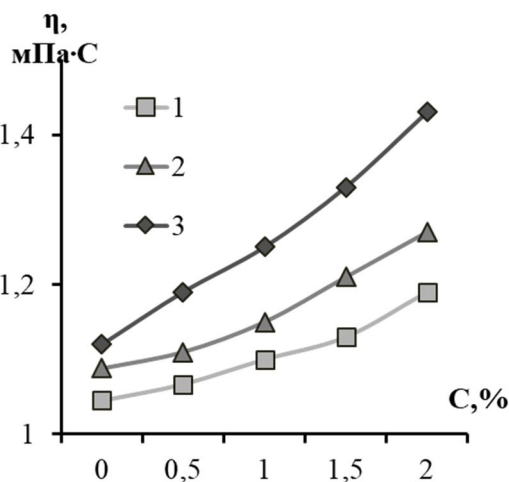


Рис. 5. Зависимость вязкости от концентрации растворов яичного альбумина при различных значениях pH: 1 – pH = 5.2; 2 – pH = 3.8; 3 – pH = 7.0

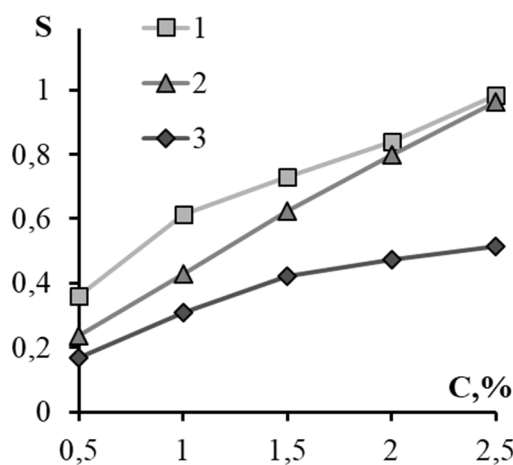


Рис. 6. Зависимость мутности от концентрации растворов яичного альбумина при различных значениях pH: 1 – pH = 5.2; 2 – pH = 3.8; 3 – pH = 7.0

Рассмотрим влияние pH на вязкость, мутность и поверхностное натяжение водных растворов альбуминов (рис. 5-7). Для оценки влияния pH на физико-химические свойства растворов белков необходимо учитывать положение изоэлектрической точки белка ($pH_{ИЭТ}$) (аналогично [11-14]). Для яичного и сывороточного альбумина человека $pH_{ИЭТ} = 4.7 \pm 0.2$ [8]. Молекула белка в изоэлектрическом состоянии сворачивается и имеет наименьший эффективный объем. При значениях pH, близких к изоэлектрической точке (для яичного альбумина – рис. 5, кривая 1) вязкость растворов будут наименьшими, поскольку вблизи изоэлектрической точки молекулы белка образуют наиболее «компактные» структуры. Для всех кривых (ряды 1-3) наблюдается отклонение от линейной зависимости вязкости от концентрации, обусловленное процессами структурирования растворов, что согласуется с фотометрическими результатами (рис. 6). Для сывороточного альбумина кривые зависимости вязкости от концентрации отклоняются от линейной зависимости (линейная область описывается уравнением Эйнштейна и соответствует ньютоновским жидкостям) в области концентраций выше 1.5 г/100 мл являются неньютоновскими жидкостями.

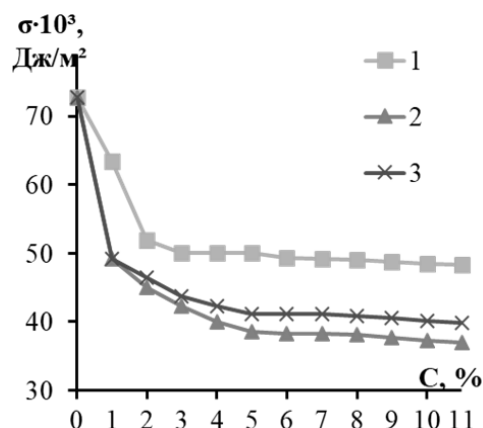


Рис. 7. Зависимость поверхностного натяжения растворов сывороточного альбумина от концентрации при различных pH: 1 – pH = 6.7; 2 – pH = 3.8; 3 – pH = 4.7

На рис. 7 приведены изотермы поверхностного натяжения для водных растворов сывороточного альбумина. Можно было бы ожидать, что характер влияния pH с удалением от изоэлектрического состояния белка на поверхностное натяжение должен быть одинаковым независимо от знака заряда приобретаемого белком как для вязкости (рис. 5), так и мутности (рис. 6). Из рис. 7 видно, что при удалении от изоэлектрической точки в кислую область (при pH = 3.8) кривая 2 идет несколько ниже, а в щелочную – (при pH = 5.2) кривая 1 идет выше, чем кривая 3 (при $pH_{ИЭТ} = 4.7$). Вероятно, при кислых значениях pH, молекула альбумина за счет сил кулоновского отталкивания приобретает более «развернутую» форму, в которой больше неполярных участков выходит на поверхность молекулы. Для сывороточного и яичного альбумина получены аналогичные зависимости поверхностного натяжения от концентрации при различных значениях pH. В области отрицательного заряда поверхностное натяжение растворов выше, чем в изоэлектрическом состоянии, а положительного – ниже. Возможно, это связано с более высокой гидратацией белка в слабощелочной среде и большим размером молекулы, что приводит к уменьшению адсорбции белка на границе раствор-воздух и, следовательно, к более высокому поверхностному натяжению.

Заключение

Процессы структурирования в растворе альбумина усиливаются при увеличении времени контакта фаз и с ростом концентрации. Вблизи изоэлектрической точки альбумина наблюдается значительное увеличение мутности растворов и уменьшение их вязкости. Наблюдается несоответствие растворов закону светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера и нелинейность зависимости вязкости от концентрации белка. Также выявлена значительная поверхностная активность альбумина, повышающаяся с увеличением концентрации протонов.

Выводы

1. Процессы структурирования в водных растворах альбуминов усиливаются с ростом концентрации, времени их “жизни” и при удалении от рН изоэлектрической точки белка.
2. Поверхностное натяжение водных растворов альбуминов зависит не только от концентрации поверхностно-активных веществ, к которым относятся и белки, но и от рН растворов, влияющих на структуру молекул белков.

Литература

- [1] Пашина Е.В., Золотавина М.Л. Альбумин в оценке эндогенной интоксикации. *Наука и современность*. **2014**. Т.33. С.23-28.
- [2] Созарукова М.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии. *Вестник РГМУ*. **2016**. Т.1. С.61-67.
- [3] Альбумин человека. *Государственная фармакопея XIII*. **2015**. ФС.3.3.2.0006.15.
- [4] J.A. Huntington, P.E. Stein. Structure and properties of ovalbumin. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. **2001**. Vol.756(1-2). P.189-98.
- [5] Пшенкина Н.Н. Сывороточный альбумин: структура и транспортная функция (обзор литературы). *Medline.ru*. **2011**. Т.12. С.1067-1091.
- [6] Дмитриева И.Б., Кергенцев А.А., Чухно А.С. Определение констант диссоциации карбоксильных и аминок групп на альбумине методом потенциометрического титрования. *Бутлеровские сообщения*. **2015**. Т.41. №3. С.141-146. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/15-41-3-141; [I.B. Dmitrieva, A.A. Kergentsev, A.S. Chukhno. The determination of the dissociation constant for the carboxyl and amino groups on the albumin by potentiometric titration. *Butlerov Communications*. **2015**. Vol.41. No.3. P.141-146. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/15-41-3-141]
- [7] Кергенцев А.А., Дмитриева И.Б., Чухно А.С. Определение точки нулевого заряда молекул альбумина в водных дисперсиях при различных концентрациях хлорида калия. *Молодой ученый*. **2014**. №18. С.123-126.
- [8] Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Банкина А.Н., Бриллиантова Е.Ю. Изучение взаимодействия белков с биологически активными азотсодержащими гетероциклическими соединениями при различных значениях рН. *Бутлеровские сообщения*. **2013**. Т.34. №5. С.91-99. ROI: jbc-01/13-34-5-91; [A.S. Chukhno, I.B. Dmitrieva, A.N. Bankina, E.Yu. Brilliantova. Investigation of interaction of proteins with bioactive nitrogenated heterocyclic compounds at various pH. *Butlerov Communications*. **2015**. Vol.34. No.5. P.91-99. ROI: jbc-02/13-34-5-91]
- [9] Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Мартынов Д.В. Изоэлектрическая точка белков в водных растворах азолов. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Физика и химия*. **2011**. Т.2. С.124-133.
- [10] Родионова Е.Ю., Дмитриева И.Б., Чухно А.С. Электрокинетические свойства гемоглобина в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов. *Бутлеровские сообщения*. **2013**. Т.34. №6. С.135-140. ROI: jbc-01/13-34-6-135; [E.Y. Rodionova, I.B. Dmitrieva, A.S. Chukhno. Electro-kinetic properties of hemoglobin in aqueous solution of 1-, 2- and 3-charged ions. *Butlerov Communications*. **2013**. Vol.34. No.6. P.135-140. ROI: jbc-02/13-34-6-135]
- [11] Чухно А.С., Ананьева Е.П., Гурина С.В., Банкина А.Н., Бриллиантова Е.Ю., Дмитриева И.Б. Влияние солей одно- и двух- зарядных катионов металлов на сорбцию H⁺ и OH⁻ ионов на мицелии базидиомицетов. *Бутлеровские сообщения*. **2014**. Т.39. №10. С.68-75. ROI: jbc-01/14-39-10-68. [A.S. Chukhno, S.V. Gurina, E.P. Ananeva, A.N. Bankina, E.Y. Brilliantova, I.B. Dmitrieva. Investigation of the properties of colloidal mycelium of basidiomycetes with the aim of using it as a carrier of BAS. *Butlerov Communications*. **2014**. Vol.39. No.10. P.76-82. ROI: jbc-02/14-39-10-76]
- [12] Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Силаева Д.С., Сенина А.С., Кошевенко А.С., Назипова А.Р. Сорбция ионов H⁺ и OH⁻ на хлорофилле, влияние рН на устойчивость водных дисперсий хлорофилла. *Бутлеровские сообщения*. **2013**. Т.34. №5. С.124-130. ROI: jbc-01/13-34-5-124; [A.S. Chukhno, I.B. Dmitrieva, D.S. Silaeva, A.S. Senina, A.S. Koshevenko, A.R. Nazipova. Sorption of H⁺ and OH⁻ on chlorophyll, the effect of pH on the stability of aqueous dispersions of chlorophyll. *Butlerov Communications*. **2013**. Vol.34. No.5. P.124-130. ROI: jbc-02/13-34-5-124]
- [13] Родионова Е.Ю., Дмитриева И.Б., Чухно А.С. Электрокинетические свойства гемоглобина в водных растворах HCl и KCl. *Бутлеровские сообщения*. **2012**. Т.30. №6. С.103-107. ROI: jbc-01/12-30-6-103; [E.Y. Rodionova, I.B. Dmitrieva, A.S. Chukhno. Electrokinetic properties of hemoglobin in aqueous solutions of HCl and KCl. *Butlerov Communications*. **2012**. Vol.30. No.6. P.103-107. ROI: jbc-02/12-30-6-103]

The Reference Object Identifier – ROI-jbc-01/18-53-3-43

The Digital Object Identifier – <https://doi.org/10.37952/ROI-jbc-01/18-53-3-43>

Influence of the concentration of the dispersed phase and the acidity of the medium on the colloidal properties of aqueous solutions of egg albumin and human serum albumin

© Ekaterina Yu. Pavlova,⁺ Irina B. Dmitrieva,* Anton A. Kerzhentsev, Maxim A. Drozdov, Angelina R. Egorova, Anna E. Rudenko, and Anastasia V. Illarionova

Department of Physical and Colloid Chemistry. St.-Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy.

Professor Popov St., 14 Letter A. St. Petersburg, 197376.

Phone: +7 (812) 499-39-00. E-mail: rodionova_e_y@mail.ru, irina@dmitriyev.ru

*Supervising author; ⁺Corresponding author

Keywords: egg albumin, human serum albumin, rheology, surface tension, viscosity, turbidity, photometry.

Abstract

Albumin is one of the most important proteins in the human body, as it performs the functions of binding and transporting various substances, including medicinal substances, across human blood. Apart from serum albumin contained in blood serum albumin contained in egg white have a similar structure. The pH of the medium, its concentration affects the albumin functions. If crystalline albumin dissolves, its conformation is changing and intermolecular bonds are forming or breaking down depending on the phase contact time. In this connection, the effect of concentration, pH and time of phase contact on the surface tension, viscosity and turbidity of aqueous solutions of both egg and serum albumin has been explored in this investigation. The determination of the surface tension of the liquid has been carried out by the method of detachment of the ring. The rheological properties of protein solutions have been explored by the method of capillary viscometry. The processes of albumin aggregation in aqueous solutions have been investigated by the photometric method. It is established that during the time, gradual structuring of albumin's solutions takes place. It is established that during the time, gradual structuring of albumin's solutions takes place. It is shown that the protein structuring and its surface properties increase with time and depend on the pH of the solution itself and the pH of the isoelectric point: a significant increase in the turbidity of solutions and a reduction in their viscosity is observed near the isoelectric point of albumin, which is due to the minimal energy of electrostatic repulsion between the side chains of molecules and the molecules themselves and the formation of denser and compact aggregates of a larger size, which have less effect on the flow of liquid and significantly increase light scattering. Nonlinear change in turbidity and viscosity as a function of protein concentration caused by the processes of structuring solutions is observed also. A significant surface activity of albumin is found, which increases by increasing proton concentration. This is probably due to the fact that in an acidic environment more nonpolar groupings come on the surface of the molecule than in a neutral or slightly alkaline media, therefore albumin molecules at physiological pH values will have the lowest surface activity.