

## Tween-20 与牛血清白蛋白的相互作用\*

刘 静<sup>1,3</sup> 徐桂英<sup>1</sup> 刘 军<sup>1</sup> 于 丽<sup>1</sup> 张洪林<sup>2</sup> 于秀芳<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 山东大学胶体与界面化学教育部重点实验室, 济南 250100; <sup>2</sup> 曲阜师范大学化学系, 山东 曲阜 273165;

<sup>3</sup> 河北医科大学药学院, 石家庄 050017)

**摘要** 通过表面张力和等温滴定量热方法, 研究了非离子表面活性剂 Tween-20 与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用. 结果表明, BSA 与 Tween-20 的相互作用较弱, 当 Tween-20 浓度增大时, 能将吸附于表面上的 BSA 分子取代. BSA/Tween-20 混合体系的性质随温度的变化趋势与单一非离子型表面活性剂相似. BSA 浓度在  $3.7 \times 10^{-5} \sim 11.1 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内, Tween-20 的 cmc 不随 BSA 浓度的变化而变化. 当 Tween-20 的含量一定时, Tween-20 与 BSA 相互作用过程的热效应也与 BSA 的浓度无关. BSA/Tween-20 混合体系的热力学参数表明, BSA 的存在使 Tween-20 的 cmc 减小, 体系的熵变增大.

**关键词:** Tween-20, BSA, 表面张力, 等温量热滴定, 相互作用

**中图分类号:** O648, O642

蛋白质与表面活性剂混合体系在食品、化工、制药、化妆品和洗涤剂等领域具有广泛而重要的应用. 蛋白质与表面活性剂之间相互作用会显著影响产品的质量, 因而有关方面的研究长期以来一直是人们感兴趣的课题<sup>[1-4]</sup>. 有时蛋白质与表面活性剂可能在界面上发生竞争吸附<sup>[5-6]</sup>, 此时混合体系的界面组成不仅依赖于蛋白质和表面活性剂的表面活性和浓度, 而且与两者间的相互作用有关, 这将影响乳状液或泡沫体系的稳定性, 即界面上蛋白质与表面活性剂相互作用的研究对于探讨蛋白质在食品乳状液和泡沫中的功能具有重要意义<sup>[7]</sup>; 有时蛋白质与表面活性剂的缔合作用可能导致蛋白质结构的变化<sup>[8]</sup>. 因此, 表面活性剂与蛋白质相互作用的研究主要集中在两方面<sup>[9-11]</sup>: 一是探讨相互作用的影响因素及结合等温线的特性; 二是探讨蛋白质结构的变化与相互作用的机理<sup>[12-13]</sup>, 以及这些变化对蛋白质功能的影响<sup>[14-15]</sup>. 然而, 这些研究对体系中表面活性剂物理化学性能的变化关注较少, 而且大多数研究是针对离子型表面活性剂<sup>[10]</sup>. 最近, 人们对无毒非离子表面活性剂与蛋白质相互作用的研究开始重视, 因为非离子型表面活性剂与蛋白质混合体系的性质对食品、医药和生物体系具有重要的意义<sup>[16]</sup>.

作者曾通过研究生物相容性好的非离子表面

活性剂 Tween-20 对牛血清白蛋白(BSA)固有荧光的影响, 得到了 Tween-20 与 BSA 的结合数和结合常数<sup>[17]</sup>; 本文通过研究含和不含 BSA 时 Tween-20 水溶液的表面活性以及混合体系的热力学函数的变化规律, 探讨两者的相互作用.

### 1 实验部分

#### 1.1 试剂

BSA 为 Roche 公司产品, 未进一步提纯; Tween-20 为 Amresco 公司产品; 2-氨基-2-羟甲基-1,3-丙二醇(tris)、盐酸和氯化钠均为国产分析纯试剂. 研究体系均以  $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  tris-HCl 缓冲溶液(pH= 7.0, 内含  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 以维持体系的离子强度)为介质. 所有溶液均用新制备的三次重蒸水配制.

#### 1.2 实验方法

**表面张力测定:** 采用 Wilhelmy Plate 法在 Processor Tensiometer K12 程序界面张力仪(Krüss 公司; 测量精度为  $0.01 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ )上测定不同溶液的表面张力. 为使溶液表面吸附达到平衡, 每次均将待测溶液放置于测量皿中, 在指定的温度下恒温静置 24 h 后进行测定. 同一条件下的表面张力平行测定 3 次, 取其平均值.

**热效应的测定:** 分别配制含有  $0.37 \times 10^{-5}$ 、 $7.4 \times$

$10^{-5}$  和  $11.1 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  BSA 的  $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tween-20 溶液作为待测液. 用蠕动泵吸取 0.5 mL 待测液于一安瓿内, 另取 1.5 mL tris-HCl 缓冲溶液或含有不同浓度 BSA 的缓冲溶液加入到 4.0 mL 的安瓿内作为参比, 采用 LKB-2277 生物活性检测仪(瑞典 LKB 公司)测定热效应. 在  $(37.00 \pm 0.02) \text{ }^\circ\text{C}$  下恒温至热功率-时间曲线为一直线(此线作为量热的基线)时, 用蠕动泵以  $0.042 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的速率向 Tween-20/BSA 待测溶液中连续滴入不含或含有一定浓度 BSA 的 tris-HCl 缓冲溶液, 记录热功率-时间曲线. 搅拌速率为  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ .

## 2 结果和讨论

### 2.1 BSA/Tween-20 混合体系的表面性质

图 1 所示为 BSA 与 Tween-20 体系的表面张力等温线. 可以看出, BSA 虽具有一定的表面活性, 但在实验浓度范围内溶液的表面张力变化不大, 且无明显的转折点, 说明 BSA 在 tris-HCl 缓冲溶液中不能自身形成胶束. 不含 BSA 时, Tween-20 溶液的表面张力随其浓度的增加迅速减小, 浓度达到  $1.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 表面张力不再下降, 即 Tween-20 在缓冲溶液中的临界胶束浓度(cmc)为  $1.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . BSA 的加入使 Tween-20 溶液的表面张力等温线发生明显的变化: Tween-20 浓度较小时, 体系的表面张力较单纯的 Tween-20 溶液的表面张力降低, 说明 BSA 分子不仅吸附在 Tween-20 分子未占据的表面上, 使水表面的极性下降, 而且 BSA 分子的存在使 Tween-20 分子的疏水性增强, 因而表现出混合体系的表面张力远低于两单一组分之值; 随着 Tween-20 浓度的增大, 混合溶液的表面张力稍

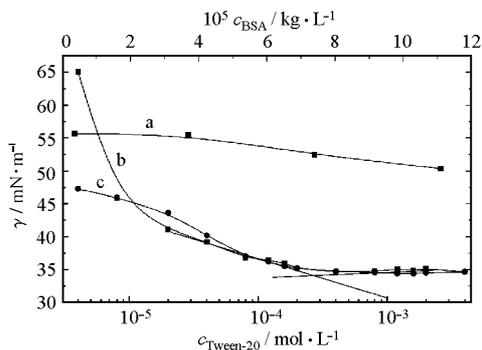


图 1 Tween-20 及 BSA/Tween-20 混合溶液的表面张力等温线(25 °C)

Fig.1 The surface tension isotherm of Tween-20 and Tween/BSA solution(25 °C)

a) BSA; b) Tween-20; c)  $3.7 \times 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  BSA+Tween-20

高于单纯 Tween-20 溶液的表面张力, 可能是少量 BSA 分子的存在影响了 Tween-20 分子在表面上的吸附所致; 当 Tween-20 浓度大于  $9 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 混合溶液的表面张力基本与 Tween-20 溶液的相同. BSA/Tween-20 混合溶液的表面张力等温线中没有明显的双拐点出现, 说明体相中两者之间没有形成表面活性剂/大分子复合物. 根据 Tween-20 浓度增大到一定值时表面层的 BSA 分子逐渐被 Tween-20 分子取代, 溶液表面性质主要依赖于 Tween-20 的吸附现象, 可以推论: BSA 与 Tween-20 在表面层的相互作用也较弱. 这与 Dickinsion<sup>[18]</sup>关于非离子型表面活性剂与蛋白质在溶液界面上存在竞争吸附的观点相一致.

图 2 为 37 °C 时 BSA 浓度对 Tween-20 溶液表面张力等温线的影响. 可以看出, 在实验的 BSA 浓度范围内, 混合体系的表面张力也没出现双拐点现象, 说明此温度下也无 Tween-20/BSA 复合物形成; 在 Tween-20 浓度较低时, BSA 的加入使溶液的表面张力明显降低, 这是由于浓度较低时 Tween-20 分子在溶液界面上尚未达到饱和和吸附, 加入的 BSA 分子也具有一定的表面活性, 进一步降低了溶液的表面张力; 混合体系与 Tween-20 溶液的最低表面张力几乎相等, 这说明 BSA 与 Tween-20 分子在溶液界面上存在着竞争吸附, Tween-20 分子的吸附能力较强, 当 Tween-20 的浓度较大时, 混合体系的表面层主要由 Tween-20 分子组成.

表面活性剂降低溶液表面张力的作用与其表面吸附量有关. 单位表面上的吸附量可通过 Gibbs 吸附公式求得<sup>[19-20]</sup>. 由于 Tween-20/BSA 体系达饱和和吸

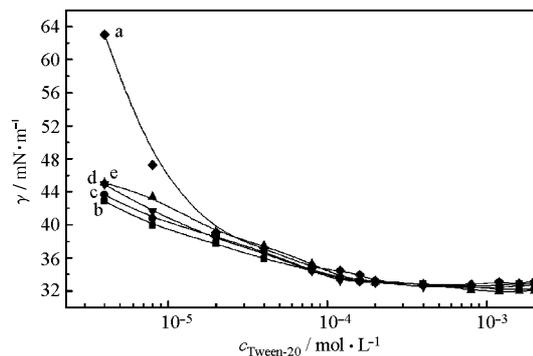


图 2 BSA 浓度对 Tween-20 水溶液表面张力的影响  
Fig.2 Effect of BSA concentration on the surface tension of Tween-20 solution

BSA concentration( $\text{kg} \cdot \text{L}^{-1}$ ): a) 0; b)  $3.7 \times 10^{-6}$ ; c)  $3.7 \times 10^{-5}$ ; d)  $7.4 \times 10^{-5}$ ; e)  $11.1 \times 10^{-5}$ . temperature: 37 °C

表 1 Tween-20 溶液的表面参数

$\pi_{cmc} / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$	$10^6 \Gamma_{\max}^{\text{tot}} / \text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$	$A_{\min}^{\text{tot}} / \text{nm}^2$	$d\pi / d\ln c$
38.38	0.33	5.05	0.83

附时表面均为 Tween-20 所覆盖,因此,当达到饱和和吸附时无论是否含 BSA,体系的表面参数均相同(表1).

不同温度下  $3.7 \times 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  BSA 与 Tween-20 混合溶液的表面张力曲线示于图 3 中.由图可见,温度对于 BSA/Tween-20 体系的影响与温度对于单一非离子型表面活性剂体系的影响是一致的:温度升高,cmc 呈现减小趋势,溶液的表面张力降低.这是由于非离子型表面活性剂溶于水是靠其分子与水分子形成氢键所致,温度升高,表面活性剂分子与水分子之间的氢键被破坏,非离子表面活性剂的疏水性增强,溶解度降低,有利于分子的聚集,因而观察到 cmc 减小,表面张力降低.

## 2.2 BSA/Tween-20 体系的热力学性质

### 2.2.1 BSA/Tween-20 相互作用的热效应

图 4 示出了不同浓度的 BSA 与 Tween-20 混合体系的等温量热滴定曲线.由于开始时,待测液的  $c_{\text{Tween-20}} > \text{cmc}$ ,加入 BSA 溶液后,首先发生 Tween-20 胶束的溶解过程.因此,滴定过程的热效应( $Q_{\text{total}}$ )包括两部分:Tween-20 胶束的溶解热( $Q_{\text{Tween}}$ )和 Tween-20 与 BSA 相互作用过程的热效应( $Q_{\text{BSA-Tween-20}}$ ),即  $Q_{\text{total}} = Q_{\text{Tween}} + Q_{\text{BSA-Tween-20}}$ .根据混合过程的总热效应可以求得不同 BSA 浓度下的 Tween-20 与 BSA 相互作用过

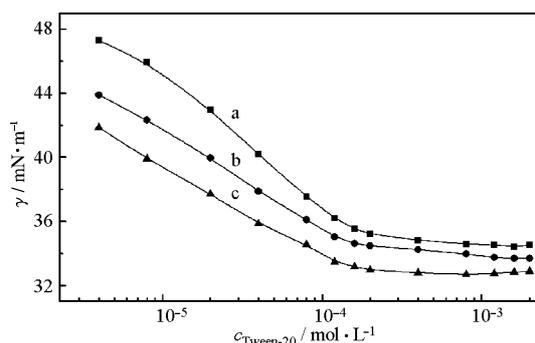


图 3 温度对  $3.7 \times 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  BSA/Tween-20 混合溶液表面张力的影响

Fig.3 Effect of temperature on the surface tension of  $3.7 \times 10^{-6} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  BSA/Tween-20 mixed solution

a) 25 °C; b) 30 °C; c) 37 °C

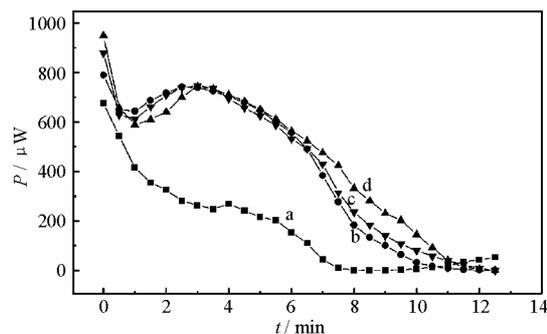


图 4 含有不同浓度 BSA 时 Tween-20 溶液的等温量热滴定曲线

Fig.4 Isotherm titration curves of Tween-20 solution with different BSA concentrations

BSA concentration( $\text{kg} \cdot \text{L}^{-1}$ ): a) 0; b)  $3.7 \times 10^{-5}$ ; c)  $7.4 \times 10^{-5}$ ; d)  $11.1 \times 10^{-5}$

程的热效应.

图 4 结果表明,BSA 浓度从  $3.7 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  增至  $11.1 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$ , Tween-20/BSA 混合过程的热效应无明显变化,但含 BSA 的体系,  $Q_{\text{total}}$  值明显高于不含 BSA 的值.表 2 列出了 Tween-20 与不同浓度的 BSA 混合体系的热效应.从表 2 及图 4 可以看出,混合体系的热效应较高,但与 BSA 的含量无关,而与 Tween-20 的浓度密切相关.这一结果可能与 Tween-20/水分子以及 BSA/水分子之间的氢键作用有关.由表面张力实验可知,在 Tween-20/BSA 混合体系中, Tween-20 浓度较大时, Tween-20 与 BSA 分子在表面上发生竞争吸附.而 Tween-20 分子要置换表面层的 BSA 分子,必须首先吸收一定的热量,克服与水分子之间所形成的氢键.量热实验进一步证实了 Tween-20 分子与 BSA 分子之间竞争吸附的存在.

### 2.2.2 胶束化过程的热力学函数

由量热实验可知, Tween-20 在混合体系中形成胶束的平均焓变为  $37.30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 而由表面张

表 2 不同 BSA 浓度下 Tween-20/BSA 混合体系的热效应

Table 2 The heat effect of Tween-20/BSA mixtures at different BSA concentrations

$10^5 c_{\text{BSA}} / \text{kg} \cdot \text{L}^{-1}$	$Q_{\text{total}} / \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$Q_{\text{BSA-Tween-20}} / \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$
0	13.48	—
3.7	48.51	35.03
7.4	52.52	39.04
11.1	51.30	37.82

表 3 BSA/Tween-20 体系胶束化过程的热力学参数 (37 °C)

Table 3 The thermodynamic parameters of BSA/ Tween-20 mixture in the micellization at 37 °C

System	$10^4 \text{ cmc}$ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$-\Delta G_m^\ominus$ $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta H_m^\ominus$ $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$T\Delta S_m^\ominus$ $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$
Tween-20	1.7	45.48	13.48	58.96
BSA / Tween-20	1.2	46.54	37.30	83.84

力实验可以得到,37 °C时 Tween-20 的 cmc 为  $1.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,基本不受 BSA 浓度的影响。

根据质量作用模型<sup>[21]</sup>,Tween-20 形成胶束时的标准自由能可由(1)式计算

$$\Delta G_m^\ominus = 2RT \ln(\text{cmc}) \quad (1)$$

同时由 Gibbs-Helmholtz 方程

$$\Delta G_m^\ominus = \Delta H_m^\ominus - T\Delta S_m^\ominus \quad (2)$$

可以求出该过程的熵变.表 3 列出了 Tween-20 和 BSA/Tween-20 体系胶束化过程的热力学参数.从表 3 中可以看出,胶束化过程中  $\Delta S_m^\ominus$  均为正值,而且  $T\Delta S_m^\ominus > \Delta H_m^\ominus$ ,表明该过程是熵驱动过程.加入 BSA 后体系的  $\Delta S_m^\ominus$  较不含 BSA 时明显增大,说明 BSA 的存在影响了 Tween-20 胶束的形成过程,使体系的熵变增大。

### 3 结论

在溶液表面上 BSA 与 Tween-20 之间存在竞争吸附. BSA/Tween-20 混合体系的表面张力曲线没有双拐点出现,说明无 BSA/Tween-20 复合物形成.混合体系的表面张力随着 Tween-20 在体系中所占比例的不同而改变,同时混合体系的最低表面张力与单纯 Tween-20 溶液的表面张力相同,表明饱和吸附层主要由 Tween-20 分子组成,也说明 BSA 与 Tween-20 的相互作用较弱,随着 Tween-20 浓度增大,能将吸附于表面上的 BSA 分子取代. BSA/Tween-20 混合体系的性质随温度的变化与单一非离子型表面活性剂相似,温度升高,cmc 减小,溶液的表面张力降低。

BSA 浓度在  $3.7 \times 10^{-5} \sim 11.1 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,当 Tween-20 含量一定时,Tween-20 与 BSA 相互作用过程的热效应与 BSA 的浓度无关且远远高于单纯的 Tween-20 溶液.这说明 Tween-20 置换表面层的 BSA 分子,必须首先吸收一定的热量,克服与水分子之间所形成的氢键. BSA 的存在导致 Tween-20

的 cmc 减小,熵变增大。

### References

- Goddard, E. D.; Ananthanpadmanabhan, K. P. Interactions of surfactants with polymers and proteins. New York: CRC Press Inc, 1993: 319
- Peter, W.; Alan, M.; Fiona, H.; Patrick, G.; Victor, M. *Adv. in Colloid and Interface Sci.*, **2004**, **108-109**: 63
- Michelle, L. S.; Robert, D. T. *Colloids and Surfaces B*, **2001**, **17**: 281
- Sudah, O. S.; Chen, G.; Chiew, Y. C. *Colloids and Surfaces B*, **1999**, **13**: 195
- Fainerman, V. B.; Lucassen-Reynders, E. H.; Miller, R. *Colloids and Surfaces A*, **1998**, **143**: 141
- Krägel, J.; Wüstneck, R.; Husband, F.; Wilde, P. J.; Makievski, A. V.; Grigoriev, D.O.; Li, J. *Colloids and Surfaces B*, **1999**, **12**: 399
- Cornec, M.; Wilde, P. J.; Gunning, P. R.; Husband, F. A.; Parker, M. L.; Clark, D. C. *J. Food Sci.*, **1998**, **63**: 39
- Chen, Z.; Liu, Q.L.; Wang, S.Y.; Xu, X.L.; Yu, H.M. *Spectrochimica Acta Part A*, **1999**, **55**: 1909
- Martinez-Landeira, P.; Ruso, J. M.; Prieto, G.; Sarmiento, F.; Jones, M. N. *Langmuir*, **2002**, **18**: 3300
- Gelamo, E. L.; Tabak, M. *Spectrochim. Acta A*, **2000**, **56**: 2255
- Luis, A. P.; Eric, D.; Rammile, E.; Alan, R. M.; Peter, J. W. *Adv. in Colloid and Interface Sci.*, **2004**, **107**: 27
- Gebicka, L. *Int. J. Biol. Macromol.*, **1999**, **24**: 69
- Chorev, M.; Gurrath, M.; Behar, V.; Mammi, S.; Tonello, A.; Peggion, E. *Biopolymers*, **1995**, **36**: 473
- Abuin, E.; Lissi, E.; Godoy, X. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, **1999**, **44**: 123
- He, B.; Zhang, Y.; Wang, H. R.; Zhong, H. M. *J. Protein Chem.*, **1995**, **14**: 349
- Miller, R.; Fainerman, V. B.; Makievski, A. V.; Krägel, J.; Wüstneck, R. *Colloids and Surfaces A*, **2000**, **161**: 151
- Liu, J.; Xu, G. Y.; Chen, Y. J.; Yu, L. *J. Fluorescence*, **2005**, in press
- Dickinson, E. *Colloids and Surfaces B*, **1999**, **15**: 161
- Soumen, G. *J. Colloid and Interface Sci.*, **2001**, **244**: 128
- Ghosh, S.; Moulik, S. P. *J. Colloid Interface Sci.*, **1998**, **208**: 357
- Xiao, J.X.; Zhao, Z.G. Application principles of surfactants. Beijing: Chemical Engineering Press, 2003: 122 [肖进新, 赵振国. 表面活性剂应用原理. 北京: 化工出版社, 2003: 122]

## Interaction between Tween-20 and BSA\*

LIU, Jing<sup>1,3</sup> XU, Gui-Ying<sup>1</sup> LIU, Jun<sup>1</sup> YU, Li<sup>1</sup> ZHANG, Hong-Lin<sup>2</sup> YU, Xiu-Fang<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Colloid and Interface Chemistry Ministry of Education, Shandong University, Jinan 250100; <sup>2</sup>Department of Chemistry, Qufu Normal University, Qufu 273165; <sup>3</sup>Pharmic Institute, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017)

**Abstract** The interaction between Tween-20 and BSA was studied by surface tension and isothermal titration microcalorimetry. The results show that there is a weak interaction between Tween-20 and BSA and the Tween-20 molecules can replace BSA molecules adsorbed on the surface. A competition adsorption between Tween-20 and BSA occurred at the surface of mixed solution. The tendency of change of the properties of the BSA/Tween-20 mixed system with temperature is similar to that of the single non-ionic surfactant. In the range of BSA concentration from  $3.7 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  to  $1.1 \times 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$ , the cmc of Tween-20 does not change with BSA concentrations. When the amount of Tween-20 is fixed, the thermal effects of the interaction between BSA and Tween-20 does not depend on the BSA concentration. The thermodynamic parameters of the mixed solutions in the presence or absence of BSA indicate that the cmc of Tween-20 decreases and the value of entropy change of the system increases in the presence of BSA in solution.

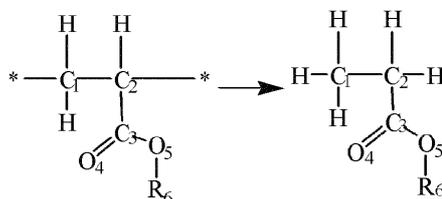
**Keywords:** Tween-20, BSA, Surface tension, Isotherm titration microcalorimetry, Interaction

Received: December 24, 2004; Revised: February 16, 2005. Correspondent: XU, Gui-Ying (E-mail: xuguiying@sdu.edu.cn). \*The Project Supported by NSF of Shandong Province (Q2003B01) and the China Postdoctoral Science Foundation

## 勘误(Correction)

1. 本刊 2005 年 21 卷第 6 期 596 页图 1 应该是,

The Fig.1, in **2005, 21(6)**: 596, should be as following:



2. 本刊 2005 年 21 卷第 6 期 597 页, 表 1 中的  $T_g=2 \text{ K}$  应该为  $T_g=236 \text{ K}$ .

The  $T_g=2 \text{ K}$  in Table 1, in **2005, 21(6)**: 597, should be  $T_g=236 \text{ K}$ .