

[通 讯]

外加盐作用形成的正负离子表面活性剂双水相*

陈 莉 肖进新 马季铭

(北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871)

摘要 癸基三乙基溴化铵-癸基磺酸钠 ($C_{10}NE-C_{10}SO_3$) 等摩尔混合均相体系 (即使在表面活性剂总浓度高达 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时仍然可形成稳定的均相溶液) 在外加盐 NaF 、 Na_2SO_4 和 Na_3PO_4 的作用下可自发分离成两个水相 (双水相)。研究了该类双水相体系的形成、相行为及其对牛血清蛋白 (BSA) 的分配, 并与普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系进行了比较。结果表明, 该类双水相体系克服了普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系的一些不足, 具有一些独特的优点。该类双水相体系的相行为可以通过外加盐进行调控, 通过外加盐的种类来调控和优化 BSA 的分配行为。

关键词: 正负离子表面活性剂混合体系, 双水相体系 (ATPS), 蛋白质分配

中图分类号: O648

正负离子表面活性剂混合体系在一定的浓度和混合比例范围内会自发分离形成两个互不相溶、平衡共存的水相, 称为双水相^[1-2]。将该类双水相体系用于生物活性物质的萃取有其独特的优点^[1-3]。有关该类双水相体系已开展了许多研究工作^[1-7]。

我们曾经报导过^[8] $C_{10}NE-C_{10}SO_3$ 等摩尔混合体系可以形成稳定的均相溶液。本文的研究表明, 在一定的外加盐的作用下该等摩尔混合体系可以形成双水相 (非等摩尔混合体系也可以形成双水相)。该类双水相体系用作分配体系克服了普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系的一些不足, 具有一些独特的优点。研究了在不同价态的外加盐 NaF 、 Na_2SO_4 和 Na_3PO_4 的作用下形成的正负离子表面活性剂混合双水相体系, 考察了该类双水相体系的相行为及其对牛血清蛋白的分配, 并与普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系进行了比较。

1 实验部分

1.1 试剂

癸基三乙基溴化铵 ($C_{10}H_{21}N(C_2H_5)_3Br$, 简写为 $C_{10}NE$), 用溴代癸烷和三乙胺反应制备, 产物用丙酮-乙醚混合溶剂多次重结晶。癸基磺酸钠 ($C_{10}H_{21}SO_3Na$, 简写为 $C_{10}SO_3$), 分析纯, 日本东京化成工业株式会社。这两种表面活性剂的表面张力曲

线均无最低点, 表明没有高表面活性的杂质存在。

NaF 、 Na_2SO_4 和 Na_3PO_4 为分析纯, 北京化工厂。水为二次蒸馏水。牛血清蛋白 (BSA), 北京利科生化科贸有限公司。

1.2 两相中 BSA 浓度和分配系数的测定

用紫外-可见分光光度计 (Shimadzu UV-250) 测定 BSA 在 280 nm 处的吸收, 确定其浓度。计算分配系数 K ($K = c_t / c_b$, c_t 和 c_b 分别是 BSA 在双水相的上相和下相中的浓度)。

2 结果与讨论

2.1 双水相的形成

$C_{10}NE-C_{10}SO_3$ 等摩尔混合体系即使在表面活性剂总浓度 c_T 高达 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时仍然可形成稳定的均相溶液^[8]。 NaF 、 Na_2SO_4 或 Na_3PO_4 的加入, 会导致该混合体系发生相分离, 形成双水相。但在一定的表面活性剂总浓度范围内, 而且外加盐浓度达到一定值时, $C_{10}NE-C_{10}SO_3$ 等摩尔混合体系才会形成双水相。表 1 列出了形成该双水相所需的表面活性剂总浓度 c_T 和外加盐浓度。当 c_T 为 $0.01 \sim 0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (外加盐为 Na_3PO_4 时, c_T 为 $0.01 \sim 0.09 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 并且 NaF 、 Na_2SO_4 或 Na_3PO_4 的浓度分别达到 0.45 、 0.22 和 $0.14 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 混合体系就会形成双水相。双水相的分相速度很快, 约 $10 \sim$

表 1 形成双水相所需的表面活性剂浓度 c_T 和外加盐浓度 c_{salt}

Table 1 Concentration region of surfactant and added salt for forming ATPS. $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

Added salt	$c_T / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$c_{\text{salt}} / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
NaF	0.01 ~ 0.08	≥ 0.45
Na_2SO_4	0.01 ~ 0.08	≥ 0.22
Na_3PO_4	0.01 ~ 0.09	≥ 0.14

30 min 左右混合体系就开始分成两相。

值得注意的是,这三种外加盐具有相同的阳离子,而阴离子的电荷数分别为 1、2 和 3。若用相当于元电荷所带电量的电解质,即 NaF、 $1/2(\text{Na}_2\text{SO}_4)$ 和 $1/3(\text{Na}_3\text{PO}_4)$ 作为基本单元,则这三种外加盐体系形成双水相时所需的盐浓度分别为 0.45、0.44 和 $0.42\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,这三个值很接近。以下用 NaF、 $1/2(\text{Na}_2\text{SO}_4)$ 和 $1/3(\text{Na}_3\text{PO}_4)$ 作为基本单元,外加盐的浓度 c_{salt} 就表示为基本单元的浓度。

2.2 相体积比的变化

表面活性剂总浓度 c_T 或外加盐浓度 c_{salt} 的变化,都会使双水相体系的相体积比 V_t/V_b (V_t 、 V_b 分别为上相和下相的相体积)发生变化(图 1)。当 c_{salt} 固定时,随着 c_T 的逐渐增大,双水相的上相逐渐增多,下相逐渐减少,即 V_t/V_b 随着 c_T 的增大而逐渐增大。当 c_T 增大到一定值(外加盐为 NaF、 Na_2SO_4 和 Na_3PO_4 时, c_T 分别为 0.08、0.08 和 $0.09\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时,下相消失,体系再次成为均相溶液。当 c_T 固定时,随着 c_{salt} 的逐渐增大,双水相的上相逐渐减少,下相逐渐增多,即 V_t/V_b 随 c_{salt} 的增大而逐渐减小。但当上相体积减小到一定程度时, V_t/V_b 随 c_{salt} 的变化就趋于平缓。

2.3 BSA 的分配

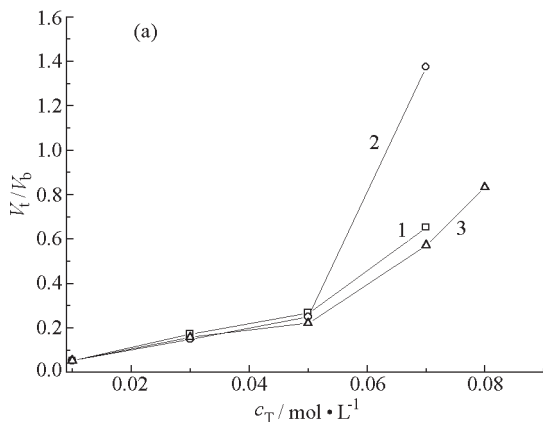


图 1 $\text{C}_{10}\text{NE}-\text{C}_{10}\text{SO}_3$ 等摩尔混合双水相体系的相体积比 V_t/V_b 的变化

Fig. 1 Variation of phase volume ratio in the ATPS of $\text{C}_{10}\text{NE}-\text{C}_{10}\text{SO}_3$ equimolar mixtures

(a) $V_t/V_b \sim c_T$ ($c_{\text{salt}} = 0.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), (b) $V_t/V_b \sim c_{\text{salt}}$ ($c_T = 0.07\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

1) NaF, 2) $1/2(\text{Na}_2\text{SO}_4)$, 3) $1/3(\text{Na}_3\text{PO}_4)$. $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

表 2 BSA 在 $\text{C}_{10}\text{NE}-\text{C}_{10}\text{SO}_3$ 等摩尔混合双水相体系中的分配系数 K

Table 2 Partition coefficient of BSA in the ATPS of $\text{C}_{10}\text{NE}-\text{C}_{10}\text{SO}_3$ equimolar mixtures

Added salt	K
NaF	0.79
$1/2(\text{Na}_2\text{SO}_4)$	0.99
$1/3(\text{Na}_3\text{PO}_4)$	20.8

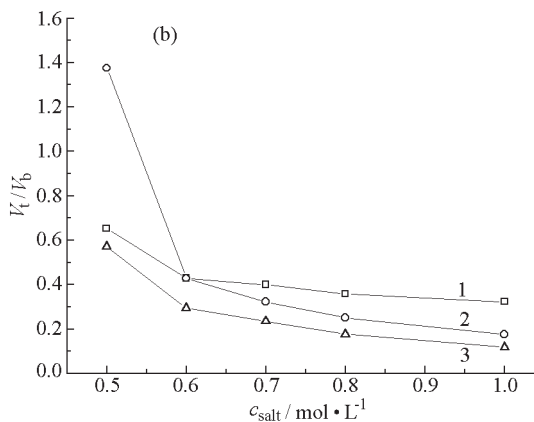
$T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $c_T = 0.07\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $c_{\text{salt}} = 0.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,

$[\text{BSA}] = 1.0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

分别用加入 NaF、 Na_2SO_4 或 Na_3PO_4 后得到的 $\text{C}_{10}\text{NE}-\text{C}_{10}\text{SO}_3$ 等摩尔混合双水相体系进行 BSA 的分配,并计算了相应的分配系数 K (表 2)。结果表明,在这三种外加盐导致形成的双水相体系中,BSA 的分配系数是不同的。外加盐为 NaF 时,下相中的 BSA 浓度略大于上相;外加盐为 Na_2SO_4 时,上相和下相中 BSA 的浓度基本相同;外加盐为 Na_3PO_4 时,BSA 基本上都被分配在上相。也就是说外加盐的种类会影响分配系数,因此在进行生物活性物质的分配时,可以通过选取适当的外加盐来调控分配系数,达到最佳的分配效果。关于外加盐的种类对于分配系数的影响机制,目前尚不清楚,有待进一步的研究。

2.4 该类双水相分配体系的优点

普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系(如文献中报道最多的十二烷基三乙基溴化铵-十二烷基硫酸钠双水相体系)用于生物活性物质的分配时,虽然有其优点^[1-3],但是在实际操作时亦有一些不利之处。1)双水相的形成对于溶液的环境十分敏感。在实际操作时,当体系的混合比例稍微偏离预定值时,或加入分配物质后,双水相的相体积比就会发生很大的变化,甚至无法形成双水相。因此该



分配体系不利于实际应用中的放大。2) 对于等摩尔混合双水相体系, 通常双水相的上相体积很少, 改变温度和表面活性剂总浓度并不能使上相体积有明显的改变(表面活性剂总浓度很高时例外^[7])。因此在用于分配时, 相体积比不能随意调节。而且由于上相很少, 上相中分配物质浓度的测定就不易进行。3) 双水相的上相(表面活性剂富集相)加水稀释后, 往往会再次形成双水相或生成沉淀。因此在分配后上相中分配物质浓度的测定不易进行。

而外加盐导致形成的正负离子表面活性剂混合双水相体系, 能克服普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系的这些不利之处。该类双水相体系在用于双水相分配时具有以下一些优点: 1) 同一个混合体系可以同时提供电中性、正电性和负电性的分配环境。等摩尔混合体系和非等摩尔混合体系, 在一定的表面活性剂总浓度范围内, 当外加盐浓度达到一定值时, 均可形成双水相。因此在实际分配时, 可以通过调节表面活性剂的混合比例, 针对不同的分配物质选用合适的分配电性环境。2) 该类双水相体系能在较大的溶液组成范围内形成, 因此相对于普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系, 该类双水相体系对于溶液的条件(如表面活性剂的混合比例、温度、分配物质等)不太敏感, 利于双水相分配在实际应用中的放大。3) 通过调节表面活性剂总浓度和外加盐浓度, 可以在进行分配时方便地实现对相体积的调控。4) 双水相的上相和下相可以随意稀释, 稀释后仍然为均相溶液。这

使得分配后两相中分配物质浓度的测定易于实现。5) 分配系数和外加盐的种类有关, 可以针对不同的分配物质选择适当的外加盐以优化分配效率。

3 结 论

$C_{10}NE-C_{10}SO_3$ 等摩尔混合均相溶液在外加盐 NaF 、 Na_2SO_4 和 Na_3PO_4 的作用下可以形成双水相。该类双水相体系克服了普通的正负离子表面活性剂混合双水相体系的一些不足, 具有一些独特的优点。该类双水相体系的相行为及其对 BSA 的分配行为可以通过外加盐进行调控和优化。

References

- 1 Xiao, J. X.; Zhao, G. X. *Chinese J. Chem.*, **1994**, **12**(6): 555
- 2 Zhao, G. X.; Xiao, J. X. *J. Colloid and Interface Sci.*, **1996**, **177**(2): 513
- 3 Xiao, J. X.; Sivars, U.; Tjerneld, F. *J. Chromatography B*, **2000**, **743**(1-2): 327
- 4 Akama, E.; Tong, A. J.; Ito, M.; Tanaka, S. *Talanta*, **1999**, **48**(5): 1133
- 5 Tong, A. J.; Wu, Y.; Tan, S. D.; Li, L. D.; Akama, Y.; Tanaka, S. *Analytica Chimica Acta*, **1998**, **369**(1-2): 11
- 6 Yin, H. Q.; Huang, J. B.; Mao, M.; Fu, H. L. *Langmuir*, **2002**, **18**(24): 9198
- 7 Hu, S. L.; Jia, X. F.; Dai, L. R. *Acta Phys.-Chim. Sin.*, **2002**, **18**(10): 920 [胡尚林, 贾晓非, 戴乐蓉. 物理化学学报(*Wuli Huaxue Xuebao*), **2002**, **18**(10): 920]
- 8 Chen, L.; Xiao, J. X.; Ruan, K.; Ma, J. M. *Langmuir*, **2002**, **18**(20): 7250

Aqueous Two-phase System of Catanionic Surfactant Mixtures Formed by Adding Salts*

Chen Li Xiao Jin-Xin Ma Ji-Ming
(College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871)

Abstract The equimolar mixed system of decyltriethylammonium bromide and sodium decylsulfonate, which was homogeneous solution even with the total surfactant concentration increasing up to $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, formed aqueous two-phase system(ATPS) when salts, such as NaF , Na_2SO_4 or Na_3PO_4 , were added. The phase behavior and partitioning of BSA in this salt-induced ATPS were studied. Compared with the usual ATPS of catanionic surfactant mixtures, this salt-induced ATPS exhibited some special advantages, and overcame some shortcomings of the usual ATPS. It was shown that the phase behavior of this salt-induced ATPS could be adjusted by adding salts and the partition coefficient of BSA could be altered and optimized by salt species.

Keywords: Catanionic surfactant mixtures, Aqueous two-phase system(ATPS), Protein partitioning