

BSA 和 SDBS 在水溶液与空气界面的相互作用

毕只初

(中国科学院感光化学研究所, 北京 100101)

Neuman A W

(Laboratory of Applied Surface Thermodynamics, University of Toronto, Canada)

关键词: 液滴形状分析, 数字影像处理, 动态表面张力, 蛋白质, 相互作用

表面活性剂与蛋白质在界面处的相互作用在许多应用里都会遇到, 如去污、药品或生物制剂的制备和提纯、某些牙科手术等等^[1]. 这常常涉及到表面活性剂与蛋白质在界面的吸附, 蛋白质大分子在界面吸附层的取向和构象. 对于这两种物质在界面处可能发生的相互作用的性质, 是表面活性剂分子(离子), 由于范德华引力或静电的相互吸引, 仅仅吸附于蛋白质大分子的表面(界面)? 还是它们之间形成了某种化学键? 或者, 当表面活性剂的浓度超过该条件下的 CMC 后, 蛋白质只是被表面活性剂胶束加溶了? 当然, 表面活性剂与蛋白质的相互作用不会只发生在界面处, 当它们在溶液里相遇时就可能有相互作用. 研究这种相互作用可用荧光测量的方法^[2]. 由于界面的特殊性, 表面活性剂与蛋白质在界面的浓度往往大于在溶液里的, 所以它们更容易在界面处发生相互作用. 而研究这后一种相互作用, 轴对称的液滴形状分析(ADSA)就特别适用和有针对性, 因为它的设计就是用于研究界面性质, 特别是界面性质的动态变化的^[3].

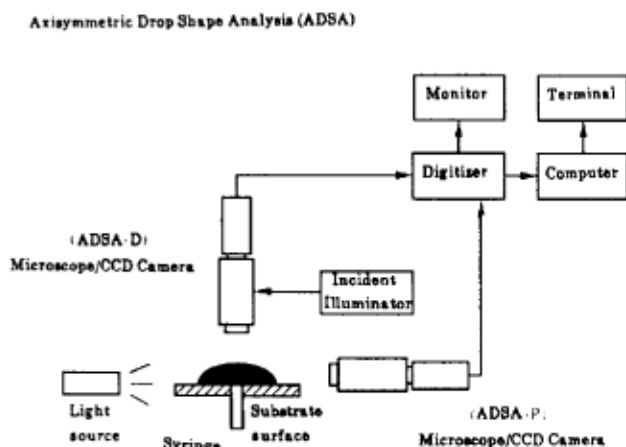


图 1 ADSA (ADSA-P 或 ADSA-D) 仪器设备示意

Fig.1 Schematic diagram of ADSA (ADSA-P or ADSA-D) setup

本研究选择 SDBS(十二烷基苯磺酸钠)和牛血清蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)作为研究对象. 由于溶液与空气的界面, 和溶液与疏水性固体形成的界面的性质相似^[4], 故可用 ADSA 方法研究 BSA 和 SDBS 在水溶液与空气界面处的相互作用.

1 实验部分

1.1 仪器介绍

Axisymmetric Drop Shape Analysis(ADSA), 即轴对称的液滴形状分析, 是基于拉普拉斯(Laplace)方程, 与计算机的数字影像分析和处理技术结合后设计的, 通过高曲率情况下的轴对称的液滴形状分析, 计算出表面(界面)张力和接触角, 加拿大多伦多大学的应用表面热力学实验室据此设计和制造出整套仪器. 全套仪器由光源、底盘和液体注射器、显微镜和自动摄影仪、数字影像分析和处理器、监视器, 以及计算机和终端控制等部分组成(图1). ADSA 主要分为两类: ADSA-P 和 ADSA-D, 前者适用于测量表面(界面)张力, 后者适用于测量接触角.

1.2 试剂和实验条件

BSA 系 Sigma 产品, 不含游离脂肪酸和球状物, 含量大于 99%, 平均分子量 67,000; SDBS 系 Aldrich 产品, 分子量 348.48; 用二次蒸馏水先配制混合磷酸盐缓冲液, 在实验进行温度 37 °C 时的 pH=6.84; 然后以该缓冲液配制 BSA 和 SDBS 的水溶液, 设计如下实验条件:

(1) BSA ($c = 0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$); (2) SDBS ($c < \text{cmc}$); (3) SDBS ($c > \text{cmc}$); (4) BSA ($c = 0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) + SDBS ($c < \text{cmc}$); (5) BSA ($c = 0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) + SDBS ($c > \text{cmc}$). 从表面张力测量得出该实验条件下 SDBS 的临界胶束浓度 (cmc) 为 $0.00013 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对 $c < \text{cmc}$ 的实验, 所用浓度为 $0.000011 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.004 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$); 此时 BSA 与 SDBS 的重量比为 5:1. 对 $c > \text{cmc}$, 所用浓度为 $0.00029 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$); 此时 BSA 与 SDBS 的重量比为 1:5.

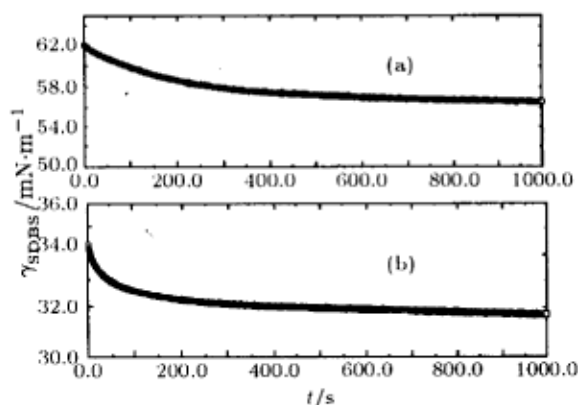


图 2 SDBS 水溶液表面张力随时间的变化
Fig.2 Surface tension of SDBS aqueous solution (γ_{SDBS}) vs time
Drop surface area fixed at 0.300 cm^2 ; a) $c < \text{cmc}$; b) $c > \text{cmc}$

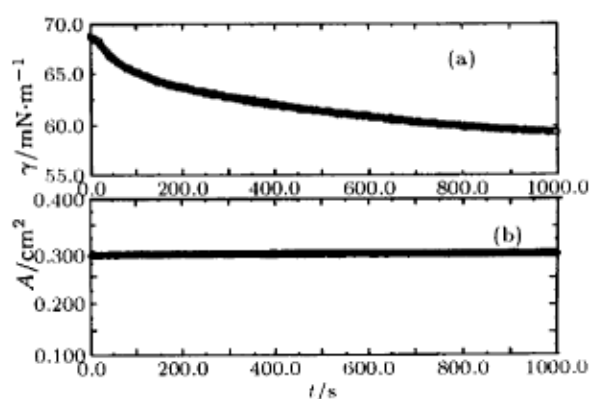


图 3 BSA($0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 水溶液表面张力和表面积随时间的变化
Fig.3 Surface tension (a) and surface area (b) of BSA ($0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) aqueous solution vs time
Drop surface area fixed at 0.300 cm^2

1.3 实验方法

对每个实验条件, 用 ADSA-P 对所配溶液进行表面张力测定. 该装置由计算机控制进行操作

和运算, 选择并通过驱动系统和微量注射器固定液滴的表面积 (0.300 cm^2), 测定起始表面张力, 然后测量表面张力随时间的变化. 从表面张力随时间的变化以及表面张力的变化来研究 BSA 与 SDBS 的相互作用.

2 结果与讨论

2.1 SDBS ($c < \text{cmc}$)

如图 2 所示, 固定液滴的大小不变 (液滴的表面积在 0.300 cm^2 左右), 其表面张力不断降低. 大致可分为三个阶段: 第一个阶段从零到 100 s 左右, 表面张力下降较快, 从 $62.3 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ 下降到 $59.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, 下降速率为每 100 s $2.5 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$; 第二个阶段从 100 到 600 s 表面张力下降较慢, 从 $59.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ 下降到 $56.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, 下降速率为每 100 s $0.60 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$; 第三阶段为 600 s 以后, 表面张力基本保持不变. 由于液滴受重力影响, 其表面积随时间的增加略有增大; 但这种变化较小, 在液滴表面张力随时间的动态变化影响很小.

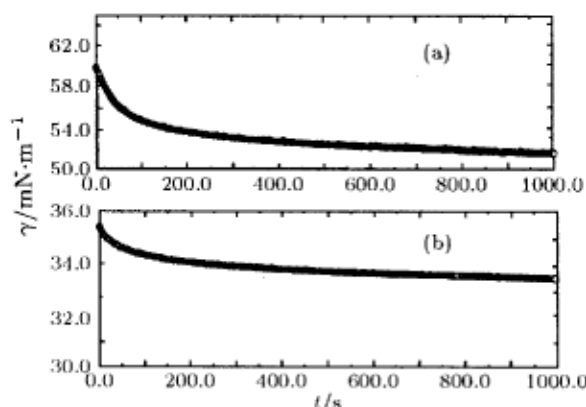


图 4 SDBA+BSA 水溶液表面张力随时间的变化

Fig.4 Surface tension of SDBA + BSA aqueous solution vs time

(a) SDBS ($c < \text{cmc}$) + BSA ($0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$);

(b) SDBS ($c > \text{cmc}$) + BSA ($0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Drop surface area fixed at 0.300 cm^2

2.2 SDBS ($c > \text{cmc}$)

与 $c < \text{cmc}$ 时相比 (图 2), 此时 SDBS 水溶液的表面张力大幅度降低, 起始值从 62.3 降低到 34.5 , 降低了 $27.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$; 另一个不同点是表面张力变化的范围变窄, 从 $c < \text{cmc}$ 时的 5.5 到 $c > \text{cmc}$ 时的 $2.1 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, 而表面张力达到平衡的时间也从 600 s 提前到 400 s . 从 Gibbs 表面过剩理论 (温度固定):

$$\Gamma = -\frac{c}{RT} \frac{d\gamma}{dc}$$

可见, 由于溶液的 γ 随 SDBS 浓度的增加而下降, 即 $d\gamma/dc$ 为负, 则溶质的表面过剩为正, 也就是表面层的溶质浓度大于溶液内部的. 即溶质在溶液的表面被正吸附.

表面张力随时间减少的原因是 Gibbs 表面过剩, SDBS 在溶液表面的浓度与在溶液内部的浓度不同所致. 由于 SDBS 是一种表面活性剂, 其分子由极性部分和非极性部分组成. 空气可视为非极性, 故 SDBS 分子 (离子) 在溶液表面比在溶液内形成更为有序的排列, 其极性部分插入溶液内部, 而非极性部分伸向空气. 这种排列在热力学上较稳定, 在溶液表面停留的时间较长. 另一方面, 由于分子的热运动, 不断地有溶液内部的 SDBS 分子扩散到溶液表面. 这样, 从溶液内部来到溶液表面的 SDBS 分子多, 从溶液表面回到溶液内部的 SDBS 分子少, SDBS 在表面层的浓度就要大于在溶液内部的, 也就是它在溶液表面有正的表面过剩, 且随时间不断增加, 使得溶液的表面张力不断降低, 到最后趋于平衡.

2.3 BSA (0.02 mg·mL⁻¹) 水溶液

由于 BSA 是一种生物表面活性剂大分子, 它在溶液表面有正的表面过剩, 且随时间不断增加, 使得溶液的表面张力随时间不断降低, 到最后趋于平衡. 但与 SDBS 小分子相比, BSA 的分子量将近是 SDBS 的 500 倍, 它在溶液表面的吸附往往伴随着构象 (conformation) 的改变, 达到平衡所需的时间较长, 表面张力的变化范围也较大 (图 3).

2.4 BSA (0.02 mg·mL⁻¹) + SDBS ($c < cmc$)

将 2.4 的结果与 2.1、2.3 进行对比如下 (图 4):

	SDBS($c < cmc$)	BSA (0.02 mg·mL ⁻¹)	SDBS ($c < cmc$)+ BSA (0.02 mg·mL ⁻¹)
起初张力 ($\gamma_0/\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	62.3	68.5	60.0
最终张力 ($\gamma_e/\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	56.6	59.5	51.6
第一阶段斜率	2.5	3.5	8.0
第二阶段斜率	0.60	0.71	0.56

SDBS 和 BSA 混合后的 γ_0 、 γ_e 都远小于单独 SDBS 或 BSA 的, 而表面张力随时间变化第一阶段斜率却远大于单独 SDBS 或 BSA 的. 这表示在混合溶液里 SDBS 和 BSA 并不是独立存在的, 随着 SDBS 阴离子在 BSA 大分子上的吸附, 形成了分子量更大、表面活性更强的复合物. 复合物的表面活性接近 SDBS, 但比 SDBS 更强; 其分子量比 BSA 稍大, 表现出与 BSA 大分子类似的特征: 溶液表面的吸附往往伴随着构象 (conformation) 的改变, 达到平衡所需的时间较长, 表面张力的变化范围也较大.

2.5 BSA (0.02 mg·mL⁻¹) + SDBS ($c > cmc$)

将 5 的结果与 2、3 进行对比如下 (图 4):

	SDBS($c > cmc$)	BSA (0.02 mg·mL ⁻¹)	SDBS ($c > cmc$)+ BSA (0.02 mg·mL ⁻¹)
起初张力 ($\gamma_0/\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	34.6	68.5	35.5
最终张力 ($\gamma_e/\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	32.2	59.5	33.4
第一阶段斜率	1.6	3.5	1.2
第二阶段斜率	0.17	0.71	0.20

SDBS 和 BSA 混合后的 γ_0 、 γ_e 都远小于单独 BSA 的, 而与单独 SDBS 的却非常接近. 表面张力随时间变化的斜率也是如此. 在这种情况下, 由于表面活性剂的浓度大于 cmc , 在溶液内部形成胶束, 胶束对 BSA 大分子进行加溶. 此时 BSA 很大一部分被加溶, 主要表现出的是饱和和吸附 SDBS 表面层的性质.

3 小结

ADSA 方法和设备能很好地测量表 (界) 面张力随时间的动态变化; 在 SDBS 的浓度小于 cmc 时, 其表面活性剂阴离子与 BSA 大分子的相互作用比较强烈, 表现出比 SDBS 或 BSA 单独存在时更强的表面活性, 与 BSA 一样有吸附构象的变化; 在 SDBS 的浓度大于 cmc 时, 其表面活性剂阴离子在溶液里形成的胶束能加溶 BSA 大分子, 然后表现出几乎是单独 SDBS 胶束溶液的特征.

参 考 文 献

- 1 Simonsson T, Arnebrant T, Petersson L. *Biofouling*, 1991, 3:251
- 2 Bi Zhichu(毕只初). *Youtian Huaxue*(油田化学), 1988, 5(3): 222
- 3 Neumann A W, Spelt J K. *Applied Surface Thermodynamics*, Marcel Dekker, Inc., 1996, Chapter 10
- 4 Courthaudon J L, Dickinson E, Dalgleish D G. *J. Colloid Interface Sci.*, 1991, 145:390
- 5 Chen P, Policova Z, Susnar S S, et al. *Colloids Surface A: Physiochem. Eng. Aspects*, 1996, 114:99

Interaction between BSA and SDBS at Water-air Interface by ADSA Method

Bi Zhichu

(*Institute of photographic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101*)

Neumann A W

(*Laboratory of Applied Surface Thermodynamics, University of Toronto, Canada*)

Abstract The interaction between BSA (Bovine Serum Albumin) and SDBS (Sodium Dodecyl Benzene sulfonate) at water - air interface of aqueous solution was investigated by ADSA (Axisymmetric Drop Shape Analysis) method. The surface tension responses to time were measured and compared. The results showed that (1) ADSA is a good method to study the dynamic change of surface tension to the time; (2) While SDBS concentration was less than its CMC, it could interact with BSA macro-molecule in the solution to form a complex which was more surface active than both BSA and SDBS, and its conformation change in the adsorption layer was similar with that of BSA alone; (3) While SDBS concentration was larger than its CMC, its micelle could solubilize the BSA macro-molecule and the surface tension and the conformation change in the adsorption layer was very similar with these of SDBS solution alone.

Keywords: Drop shape analysis, Digital image process, Dynamic surface tension, Protein, Interaction