Мас-спектрометричне дослідження термолізу аміноцукрів, адсорбованих на поверхні модифікованих білком пірогенних оксидів

Н. Ю. Клименко, Н. П. Галаган, Б. Г. Місчанчук, В. О. Покровський

Інститут хімії поверхні імені О.О. Чуйка Національної академії наук України вул. Генерала Наумова 17, 03164, Київ-164, Україна; e-mail: nklymenko@ukr.net

Надійшла: 6 липня 2010 р. / Затверджена до друку: 20 вересня 2010 р.

Метод температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії (ТПД МС) був використаний для дослідження термолізу N-ацетил-D-глюкозаміну та D-галактозаміну, адсорбованих на поверхні пірогенного високодисперсного кремнезему, титано- та алюмокремнезему, попередньо модифікованих білком бичачим сироватковим альбуміном (БСА) при різних значеннях pH (2,5; 4,8 та 7,0). При термолізі обох адсорбованих аміноцукрів спостерігається виділення води в три стадії. Розклад зразків оксид/БСА/вуглевод супроводжується виділенням сірководню, інтенсивність якого узгоджується з адсорбцією білка на досліджених оксидах.

KLYMENKO N.Y., GALAGAN N.P., MISCHANCHUK B.G., POKROVSKIY V.O. MASS SPECTROMETRIC STUDIES ON THERMOLYSIS OF AMINOSUGARS ADSORBED BY THE SURFACE OF FUMED SILICAS MODIFIED BY PROTEIN — Temperature-programmed desorption mass spectrometry was used for studies on thermolysis of N-acetyl-D-glucosamine and D-galactosamine adsorbed by the surface of fumed ultrafine silica, silica-titania and silica-alumina, preliminary modified by protein bovine serum albumin (BSA) at various pH values (2,5; 4,8 and 7,0). In course of thermolysis of both adsorbed aminosugars water evolution in three stages was observed. Decomposition of samples oxide/BSA/carbohydrate was accompanied by hydrogen sulphide evolution which intensity correlated with protein adsorption on oxides under investigation.

Ключові слова: високодисперсний кремнезем, альбумін, вуглеводи, адсорбція, мас-спектрометрія
Keywords: ultrafine silica, albumin, carbohydrates, adsorption, mass spectrometry

ВСТУП

Низька летючість та легка окислюваність вуглеводів призводить до необхідності застосування для мас-спектрометричних вимірювань їх модифікованих, а саме метильованих або ацильованих форм [1-4]. Раніше було доведено [5-7], що метод температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії (ТПД МС) дозволяє одержати інформацію щодо розкладу деяких вуглеводів без попереднього їх модифікування. Цей метод виявився особливо ефективним в хімії поверхні, оскільки дозволяє охарактеризувати структурні особливості поверхневого шару речовини, яка закріплена на неорганічному носії. Було встановлено, що в адсорбованому стані стабільність молекул вуглеводів при термолізі змінюється в порівнянні з конденсованим станом. Це відображається в зміщенні температур, при яких відбувається термічний розклад і в різниці набору піків в мас-спектрах [5].

Завдяки застосуванню ТПД МС було досліджено термоліз багатьох біомолекул, іммобілізованих на поверхні високодисперсного кремнезему, який широко використовується як адсорбент при створенні нанобіокомпозитів, перспективних для біотехнології та медицини [8, 9]. Серед них моно- (глюкоза, галактоза, фруктоза) та олігоцукри (сахароза, лактоза, рафіноза), а також деякі аміновмісні вуглеводи (N-ацетилглюкозамін, галактозамін, N-ацетилнейрамінова кислота) [5-12]. Був досліджений також термоліз моноцукрів (фруктози та глюкози) після їх сумісної адсорбції з білком бичачим сироватковим альбуміном (БСА) [11, 12]. Це дозволило, по-перше, визнати можливість застосування методу ТПД МС для характеристики структурних особливостей білкового покриття на наночастках кремнезему, а по-друге, виявити маси фрагментів, які можна вважати тестовими в таких випадках [8, 10].

Відомо, що нанокомпозити, які складаються із високодисперсного кремнезему, моно-, олігo- або аміноцукрів, здатні оптимізувати кріосередовища в біотехнології довгострокового зберігання деяких клітин [13]. Однак дослідження поверхні нанобіокомпозитів на основі кремнеземів різного складу і з різною площею поверхні, білка та аміноцукрів досі не проводились. Це спонукає до вивчення структурних перетворень зазначених біомолекул на поверхні високодисперсних оксидів різними методами, в тому числі і за допомогою ТПД МС,

 © Н. Ю. Клименко, Н. П. Галаган, Б. Г. Місчанчук, В. О. Покровський

для подальшого визначення факторів, які сприяють підвищенню біологічної активності таких нанобіокомпозитів. Метою нашої роботи було вивчення особливостей адсорбції та термолізу N-ацетил-D-глюкозаміну та D-галактозаміну на поверхні високодисперсного кремнезему та змішаних нанодисперсних оксидів на його основі, як вихідних, так і модифікованих білком БСА, в порівнянні з термолізом в твердій фазі.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Матеріали і методика дослідження

Об'єктами дослідження були: високодисперсний кремнезем марки А-300 (ВДК, Калушський дослідно-експериментальний завод, Україна; $S_{пит}$ = 285 м^2/г), титанокремнезем (ТК20, вміст TiO_2 20%; $S_{пит}$ = 84 м^2/г) та алюмокремнезем (АК1, вміст Al_2O_3 1%; $S_{пит}$ = 203 м^2/г) того ж походження; білок бичачий сироватковий альбумін (БСА, Mr~67000, фірма Sigma, фракція V); аміноцукри: N-ацетил-D-глюкозамін (GlcNAc, ≥ 99%, фірми Fluka, Mr = 221,21) та D-галактозамін (D-GalN), який отримували з розчину відповідного гідрохлориду (98%, фірми Aldrich, Mr = 179,2) при нейтралізації однією краплею 4н NaOH в присутності однієї краплі фенолфталеїну. Структурні формули вказаних аміноцукрів наведено на рис. 1.

Адсорбцію БСА на поверхні ВДК, ТК20, АК1 при pH 2,5; 4,8 та 7,0 проводили згідно [14]. Аміноцукри адсорбували на поверхні як вихідних, так і модифікованих БСА зразків пірогенних оксидів. Вихідна концентрація аміноцукрів складала 0,2-1,6 мг/мл. Співвідношення адсорбент : розчин становило 1:10. Час адсорбції ─ дві години при постійному перемішуванні. Тверду фазу відокремлювали центрифугуванням протягом 10 хв при швидкості 4000 об/хв (радіус центрифуги 11 см, відносне відцентрове прискорення 2000 g), далі висушували при 37 ºС та механічно подрібнювали. Для проведення десорбції аміноцукрів з поверхні адсорбентів до наважки твердої фази з відомою концентрацією аміноцукру додавали дистильовану воду при співвідношенні 1 мл:10 мг, залишали на 2 години при постійному перемішуванні. Тверду фазу відокремлювали та висушували при тих же умовах, що і при адсорбції. Отримані зразки використовували для мас-спектрометричних досліджень.

Концентрацію аміноцукру в надосадовому розчині визначали спектрофотометрично за допомогою модифікованого методу Ельсона-Моргана [15] з використанням спектрофотометра Lambda-35 (Perkin Elmer, USA).

Термічний розклад аміноцукрів у вільному та адсорбованому стані досліджували методом температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії (ТПД МС) [8] на приладі МХ 7304 А (Суми, Україна). Діапазон мас 1-400 Да; розподільна здатність 1 М на висоті 10%; чутливість 10^{-8} г; швидкість підвищення температури 10 ºС/хв; верхня межа температури 800 ºС.

Рис. 1. Структурні формули N-ацетил-D-глюкозаміну (а) та D-галактозаміну (б).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. Адсорбційні експерименти

Раніше [16] при дослідженні адсорбції БСА на поверхні ВДК, ТК20 та АК1 було встановлено, що молекули альбуміну при адсорбції по-різному розташовуються на поверхні адсорбенту. Так, для ВДК та ТК20 при pH = 4,8 глобули БСА мають вертикальне розташування, для ВДК та АК1 (pH 2,5 та 7,0) ─ горизонтальне, а для ТК20 (pH 2,5; 7,0) і АК1 (pH = 4,8) ─ мозаїчне, тобто як вертикальне, так і горизонтальне.

В пропонованій роботі здійснено адсорбцію GlcNAc та D-GalN з водного середовища на ВДК, ТК20 та АК1, а також на поверхні ВДК/БСА, ТК20/БСА та АК1/БСА при pH розчину БСА 2,5; 4,8 та 7,0. Шляхом лінеаризації ізотерм згідно [18] обчислені величини граничної адсорбції Γ_∞, що надані в таблицях 1 та 2. При взаємодії GlcNAc з поверхнею зразків ВДК, ТК20 та АК1 найбільше значення його адсорбції спостерігається для ВДК (37,6 мг/г). У випадку ТК20 та АК1 величина адсорбції GlcNAc становила 14,82 та 7,3 мг/г відповідно, тобто майже в 2,5 та 5 разів менше порівняно з ВДК.

Таблиця 1. Значення величини адсорбції N-ацетил-D-глюкозаміну на поверхні досліджених адсорбентів

Адсорбент	pH	Γ_∞			R*
		мг/г	мг/м^2	ммоль/г	
ВДК	—	37,6	0,13	0,17	0,9730
ВДК/БСА	2,5	39,8	0,17	0,18	0,9617
	4,8	5,53	0,047	0,025	0,9561
	7,0	24,33	0,11	0,11	0,9880
ТК20	—	14,82	0,18	0,067	0,9829
ТК20/БСА	2,5	48,67	0,94	0,22	0,9544
	4,8	22,12	0,5	0,1	0,9783
	7,0	19,91	0,43	0,09	0,9546
АК1	—	7,3	0,036	0,033	0,9664
АК1/БСА	2,5	12,39	0,18	0,056	0,9508
	4,8	4,87	0,092	0,022	0,9986
	7,0	27,65	0,38	0,125	0,9523

* де R – коефіцієнт лінійної кореляції [17]

Таблиця 2. Значення величини адсорбції D-галактозаміну

Адсорбент	pH	Γ_∞			R*
		мг/г	мг/м^2	ммоль/г	
ВДК	—	59,73	0,21	0,333	0,9938
ВДК/БСА	2,5	24,3	0,1	0,136	0,9627
	4,8	15,4	0,13	0,086	0,9656
	7,0	37,3	0,17	0,208	0,9882
ТК20	—	10,54	0,13	0,059	0,9659
ТК20/БСА	2,5	25,4	0,49	0,142	0,9682
	4,8	26,7	0,61	0,149	0,9675
	7,0	38,9	0,85	0,217	0,9932
АК1	—	49,78	0,25	0,278	0,9893
АК1/БСА	2,5	19,8	0,29	0,11	0,9832
	4,8	36,57	0,69	0,204	0,9979
	7,0	16,29	0,22	0,091	0,9842

* де R – коефіцієнт лінійної кореляції [17]

Зменшення значень адсорбції для ТК20 та АК1 пояснюється наявністю на їх поверхні відповідно кислих титано- та алюмосилоксанових містків. При попередньому модифікуванні зразків БСА адсорбція GlcNAc збільшується в усіх випадках, крім ВДК/БСА (pH 4,8 та 7,0) та АК1/БСА (pH = 4,8). Максимальна адсорбція GlcNAc (табл. 1) спостерігається на поверхні ТК20/БСА (pH 2,5 і 4,8) та на поверхні АК1/БСА pH = 7,0, а мінімальна – на поверхні ТК20/БСА pH = 7,0 та АК1/БСА (pH 2,5 та 4,8). Наявність молекули білка на поверхні адсорбенту збільшує величину адсорбції GlcNAc на поверхні ТК20/БСА при всіх pH розчину БСА та на АК1/БСА (pH 2,5; 7,0). Для ВДК/БСА та АК1/БСА при pH = 4,8 адсорбція GlcNAc зменшується майже в 6,7 та 1,5 разів відповідно, що зумовлено великою адсорбцією БСА (410 та 175 мг/г) та його розташуванням на поверхні високодисперсного носія (вертикальне та мозаїчне).

Десорбція GlcNAc з поверхні всіх зразків ВДК не перевищує 27%, ТК20 та АК1 – 19%, що свідчить про високий ступінь зв'язування вуглеводу з поверхнею та про наявність різної кількості OH-груп [14] на поверхні досліджуваних зразків.

У випадку D-GalN найбільше значення адсорбції спостерігається для ВДК та АК1, що майже в 5 раз перевищує адсорбцію для ТК20/D-GalN (табл. 2). Це вказує на те, що наявність кислих алюмосилоксанових містків сприяє більшій адсорбції D-GalN на поверхні АК1 порівняно з титаносилоксановими містками поверхні ТК20. Щодо модифікованих білком зразків, то найбільша адсорбція D-GalN спостерігається для ТК20/БСА (pH 2,5 та 7,0) та АК1/БСА (pH 4,8), а найменша – для ВДК/БСА (pH 4,8) та АК1/БСА (pH 2,5 і 7,0). Величина адсорбції D-GalN на поверхні ВДК/БСА та АК1/БСА при всіх досліджуваних значеннях pH дещо зменшується, що пов'язано з наявністю незначної кількості активних центрів, вільних від білка. У випадку ТК20/БСА адсорбція D-GalN збільшується, як і для GlcNAc. Більша адсорбція D-GalN порівняно з GlcNAc пояснюється відсутністю у першого CO- та CH_3-груп, які згідно [19] перешкоджають ,,прилипанню" молекули

аміноцукру до поверхні адсорбенту, що в свою чергу призводить до більш сильного утримання молекули D-галактозаміну на поверхні високодисперсного носія.

Сказане підтверджується величинами десорбції D-галактозаміну з поверхні всіх зразків: для ВДК вона не перевищує 17%, ТК20 та АК1 – не перевищує 11 та 19% відповідно.

Таким чином, максимальна адсорбція обох вуглеводів спостерігається на поверхні вихідного ВДК та ТК20/БСА (pH 2,5). Наявність молекул білка на поверхні адсорбенту зменшує величину адсорбції GlcNAc на ВДК/БСА (pH 4,8 та 7,0) та АК1/БСА (pH 4,8). При цьому у випадку D-GalN значення адсорбції зменшується для всіх зразків, крім ТК20/БСА. Це ймовірно зумовлено наявністю максимальної кількості кислих титаносилоксанових містків, що впливають на процес адсорбції аміноцукру, збільшуючи її. Слід зазначити, що наявність БСА в складі адсорбенту збільшує адсорбцію як GlcNAc, так і D-GalN на поверхні всіх зразків ТК20/БСА. Співставляючи результати по адсорбції альбуміну на поверхні пірогенних кремнеземів та адсорбції вуглеводів на поверхні модифікованих білком зразків встановлено, що максимальне значення адсорбції D-GalN на поверхні кремнезем/БСА спостерігається у випадку мозаїчного розташування глобул БСА для ТК20/БСА (pH 2,5; 7,0) та АК1/БСА (pH=4,8). Що стосується GlcNAc, то подібної залежності не відмічено. Тобто адсорбція D-GalN на поверхні кремнезем/БСА залежить від розташування молекул БСА на відміну від GlcNAc. Це може свідчити про різні шляхи адсорбції GlcNAc та D-GalN.

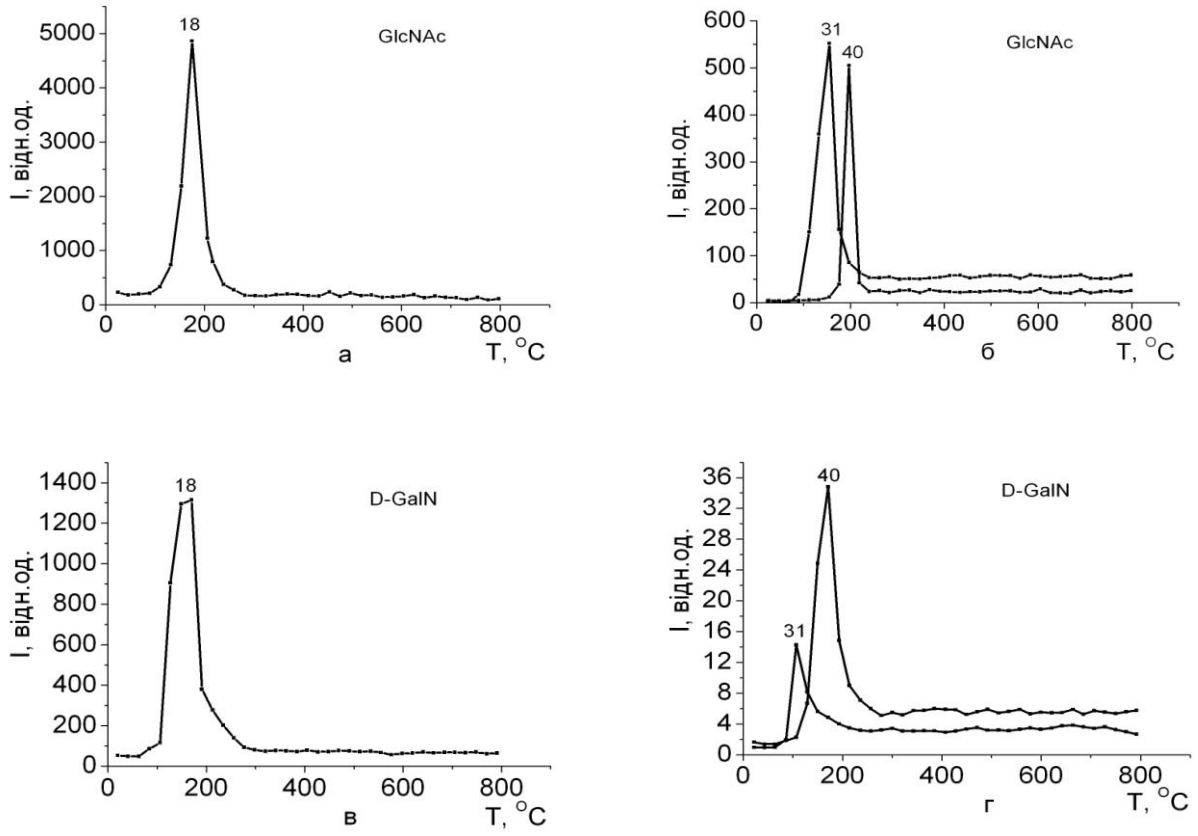

Рис. 2. Температурні залежності компонент мас-спектрів при термолізі N-ацетил-D-глюкозаміну (а, б) та D-галактозаміну (в, г) для масових чисел 18 а.о.м. (H_2O); 31 та 40 а.о.м. (CH_2OH^+, $CH_2=C=CH_2^+$, відповідно).

2. Мас-спектрометричні експерименти.

Після завершення адсорбційних експериментів нами було проведено мас-спектрометричне дослідження термолізу аміноцукрів в конденсованому стані та адсорбованих на поверхні всіх зразків, наведених та охарактеризованих в таблицях 1, 2.

Аналіз наведених на рис. 2 термограм дозволяє зробити висновок, що розклад конденсованих GlcNAc та D-GalN починається при одній і тій же температурі і відбувається за подібними механізмами. Привертає до себе увагу ряд особливостей процесу, а саме: по-перше, той факт, що вода є основним продуктом термолізу, багаторазово перевищуючи сумарний

внесок всіх інших продуктів розкладу. При цьому процес починається і завершується у вузькому температурному діапазоні (від 100 до 200 ºС).

По-друге, вуглецевмісні продукти термічної деструкції досліджених вуглеводів в конденсованій фазі, для характеристики яких обрано іони-фрагменти CH_2OH^+ та $CH_2=C=CH_2^+$, виділяються в тому ж самому температурному діапазоні. Таким чином, не виключено існування гідратної оболонки, яка руйнується в процесі твердофазного термолізу. Всі процеси розкладу завершуються до 200 ºС.

При вищих температурах спостерігається відносно невелика кількість іонів з відповідними масами, що пояснюється дифузією нелетких продуктів термолізу через систему напуску в напрямку іонного джерела мас-спектрометра. Загалом процеси подібного роду є типовими для термічного розкладу конденсованих вуглеводів.

Адсорбція білка на поверхні досліджених оксидів суттєво ускладнює процес дегідратації нанокомпозитів. При розкладі нанокомпозитів з N-ацетил-D-глюкозаміном, наприклад, спостерігається три стадії виділення води: біля 100 ºС (фізично адсорбована вода); біля 150 ºС та біля 200-270 ºС **(**вода, що утворюється в результаті дегідратації аміноцукру та білка відповідно). При цьому кількість виділення води залежить від кількості адсорбованого БСА. Крім того, той факт, що інтенсивність другого піку є найбільшою порівняно з іншими, може бути пояснений адсорбцією GlcNAc в гідратній оболонці, що узгоджується з літературними даними [7, 20].

Загалом, з експериментальних даних витікає, що дегідратація одержаних нанокомпозитів являє собою складний і багатопараметричний процес, який потребує подальших досліджень. На рис. 3 наведено дані про термічну деструкцію нанокомпозиту, утвореного шляхом адсорбції GlcNAc на ВДК.

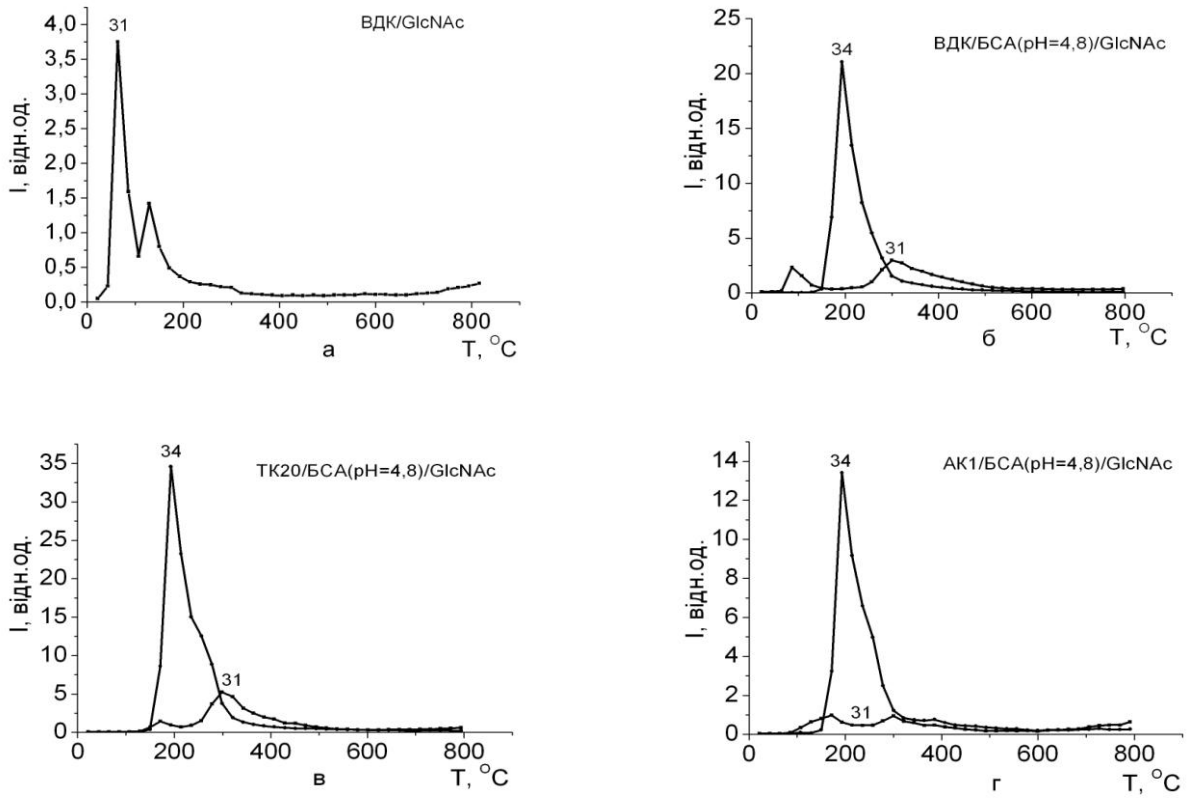

Рис. 3. Термічна деструкція GlcNAc, адсорбованого на поверхні ВДК і на поверхні пірогенних оксидів, модифікованих БСА (pH 4,8). Термограми наведені на рисунку: а) ВДК – 31 а.о.м., б) ВДК/БСА, в) ТК20/БСА, г) АК1/БСА – 31 та 34 а.о.м.

Із температурної залежності компоненти мас-спектра 31 а.о.м. на немодифікованому ВДК (рис. 3а) випливає, що в адсорбованому стані на поверхні кремнезему термоліз GlcNAc відбувається в дві стадії, причому перша з них починається і завершується при нижчій температурі, ніж це спостерігається для твердофазного термолізу, як це витікає з рис. 2.

Для порівняння на термограмах наведена компонента мас-спектра 34 а.о.м., яка інтерпретується як H_2S^+, відповідає виділенню сірководню і обумовлена деструкцією альбуміну, а саме його сірковмісних амінокислот. Раніше було встановлено [14], що цей пік може бути тестовим для білкового шару. Цей факт був підтверджений також в роботі [21], де було визначено наявність того ж самого піку при

 © Н. Ю. Клименко, Н. П. Галаган, Б. Г. Місчанчук, В. О. Покровський

закріпленні білка на іншому носії, а саме вуглецевому матеріалі.

Щодо результатів вивчення термолізу GlcNAc на поверхні оксидів, модифікованих БСА при одному значенні pH 4,8, то термограми наведені на рис. 3 б-г показують суттєву зміну механізму термічного розкладу внаслідок адсорбції білка на поверхні досліджених пірогенних оксидів. Перша стадія термолізу суттєво знижує свій внесок і спостерігається тільки при адсорбції на ВДК. Друга стадія термолізу для всіх оксидів зміщується у високотемпературну область, засвідчуючи тим самим радикальні розбіжності в проходженні термічних перетворень GlcNAc на поверхні досліджених пірогенних оксидів. Ці розбіжності мають своїм результатом зниження інтенсивності продуктів термічної десорбції та зміни діапазонів температур, в яких ця десорбція відбувається.

Ще виразнішим цей вплив попередньої адсорбції білка на поверхні пірогенних оксидів виглядає при дослідженні адсорбції і десорбції D-GalN при тих же самих умовах, як це було зроблено для GlcNAc (рис. 3).

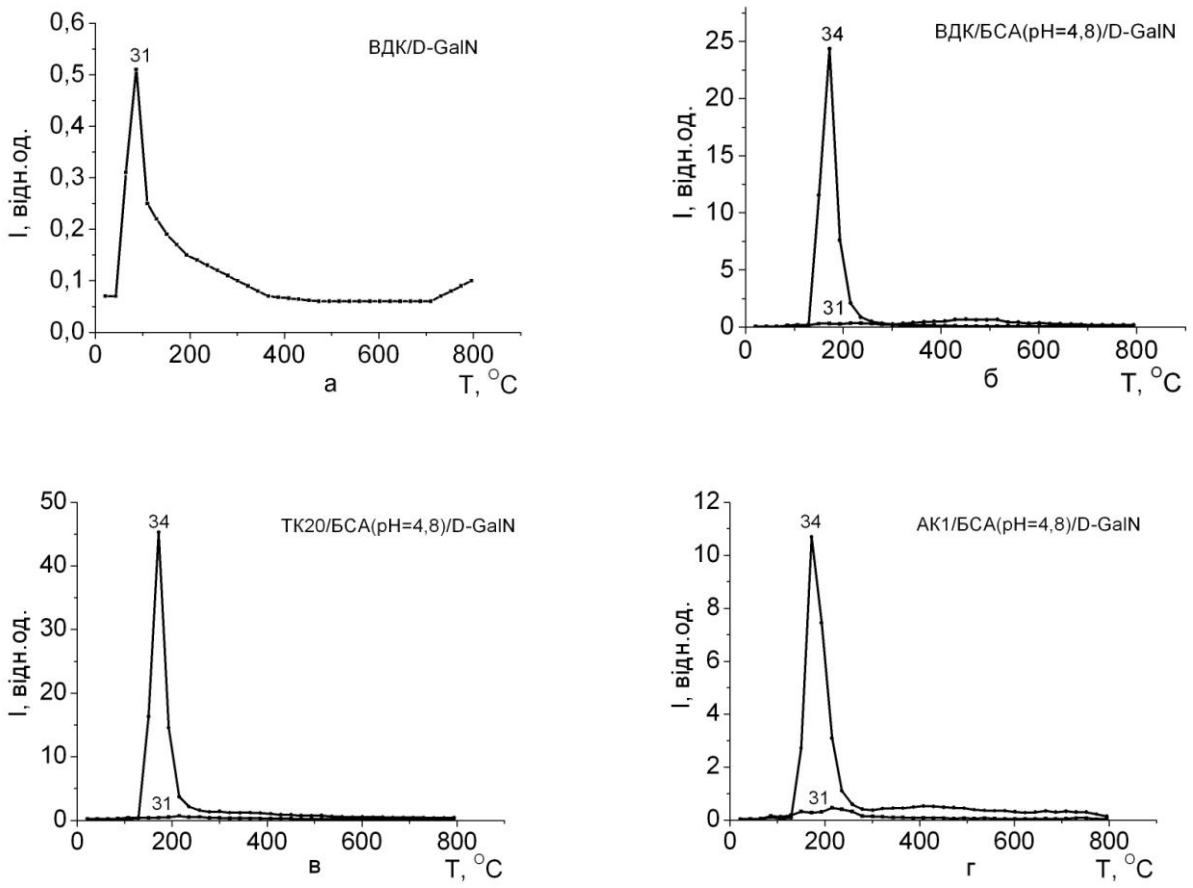

Рис. 4. Термічна деструкція D-галактозаміну, адсорбованого на поверхні ВДК та на поверхні пірогенних оксидів, модифікованих БСА (pH 4,8). Термограми, наведені на рисунку: а) ВДК – 31 а.о.м., б) ВДК/БСА, в) ТК20/БСА, г) АК1/БСА – 31 та 34 а.о.м.

Із даних, наведених на рис. 4 виходить, що в цьому випадку перша і єдина стадія термолізу D-GalN на поверхні різних оксидів, зафіксована по наявності компоненти 31 а.о.м. при тих же самих умовах, як це було зроблено для GlcNAc, мала місце тільки для адсорбції вуглеводу на ВДК і співпала з нею по температурі (100 ºС). Для жодного іншого оксиду суттєвої наявності 31 а.о.м. не було спостережено. Оскільки факт наявності вуглеводів в адсорбованому стані підтверджений надійними адсорбційними даними, слід вважати, що термічний розклад D-GalN в адсорбованому стані в присутності БСА відбувався таким альтернативним шляхом, який виключає утворення 31 а.о.м. На рис. 5 наведені дані, які ілюструють температурні залежності компонент мас-спектра 31 та 34 а.о.м., при адсорбції на ВДК при різних значеннях pH.

Як вже було відмічено раніше, при обговоренні рис. 3а, адсорбція вуглеводу на не модифікованому ВДК обумовлює його розклад в дві стадії з максимумами 100 та 150 ºС. Із рис. 5 б, 5г видно, що розклад N-ацетил-D-глюкозаміну на поверхні ВДК, модифікованій БСА; також відбувається в дві аналогічні стадії. Обидві завершуються до того, як починається розклад БСА в поверхневому шарі, але співвідношення їх інтенсивності змінюється на користь стадії, що

відбувається при вищій тепературі 150 ºС. Таким чином, у випадках рис. 5б і 5г (pH 2,5; pH 7,0) присутність БСА на поверхні оксидів суттєво впливає на термоліз молекули вуглеводу, втім не порушуючи загальної послідовності стадій розкладу, а тільки змінюючи співвідношення їх інтенсивностей.

Зовсім інша ситуація спостерігається при адсорбції вуглеводів на поверхні ВДК при pH 4,8. У цьому випадку інтенсивність низькотемпературного максимуму різко зменшується по відношенню до 34 а.о.м. (розклад БСА), а високотемпературний максимум (теж мало інтенсивний) зміщується до 300 ºС. Така поведінка вказує на те, що у цьому випадку адсорбований БСА спричиняє вирішальний вплив на механізм розкладу вуглеводу при pH 4,8. Встановлення деталей цього механізму потребує додаткових досліджень.

Співставляючи встановлений ефект із даними таблиці 1, можна констатувати, що саме для цього значення pH було визначено мінімальну адсорбцію N-ацетил-D-глюкозаміну на поверхні ВДК в порівнянні з його адсорбцією при значеннях pH 2,5 та 7,0. Вірогідно, що причина високого значення адсорбції БСА полягає в тому, що, як це обговорювалося раніше в [14], значення pH 4,8 близьке до ізоелектричної точки БСА, і саме це обумовлює максимальну адсорбцію білка в цьому випадку. В результаті адсорбція вуглеводу зменшується, як це видно із табл. 1, і внаслідок цього протікання процесу термолізу суттєво змінюється. Таке припущення, підкріплене адсорбційними даними, також потребує додаткових досліджень і підтверджень.

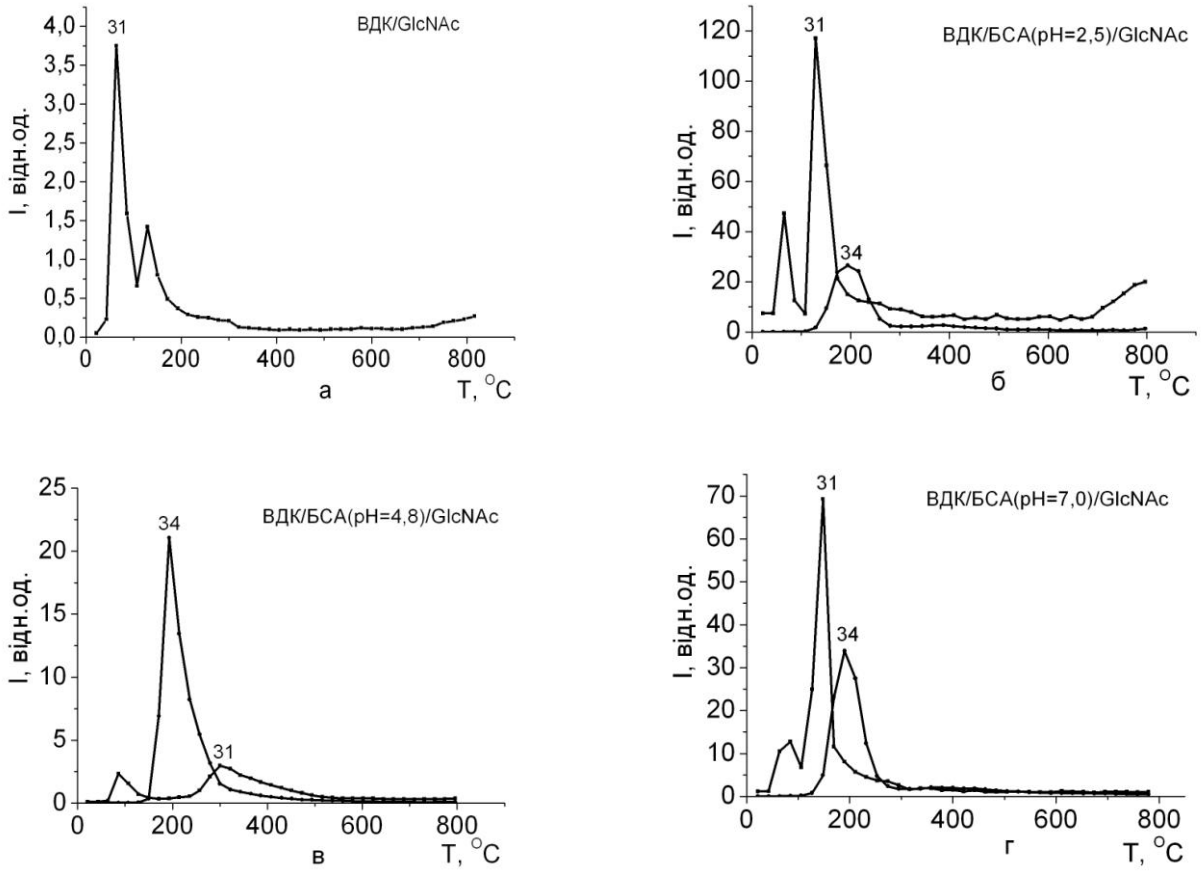

Рис. 5. Термічна деструкція N-ацетил-D-глюкозаміну, адсорбованого на поверхні ВДК а) – 31 а.о.м. та на поверхні пірогенних оксидів, модифікованих БСА (31 та 34 а.о.м.) при різних значеннях pH: б) – 2,5; в) – 4,8 та г) – 7,0.

ВИСНОВКИ

Таким чином, вивчено особливості адсорбції та одержано нанокомпозити N-ацетил-D-глюкозаміну та D-галактозаміну з вихідними та модифікованими білком БСА високодисперсними пірогенними оксидами ВДК, ТК20 та АК1 при різних значеннях pH, а саме 2,5; 4,8 та 7,0. Встановлено різницю в термолізі конденсованих та адсорбованих на поверхні адсорбентів аміноцукрів. Так, спільним для термічного розкладу N-ацетил-D-глюкозаміну та D-галактозаміну є однаковий набір піків у діапазоні від 18 до 100 а.о.м. Встановлено, що адсорбція обох аміноцукрів на поверхні високодисперсного носія, як вихідного, так і модифікованого призводить до зміщення

© Н. Ю. Клименко, Н. П. Галаган, Б. Г. Місчанчук, В. О. Покровський

початку термолізу в низькотемпературну область та до розширення температурного діапазону термолізу порівняно з конденсованим станом аміноцукру. При термолізі обох аміноцукрів в присутності білка БСА спостерігається три стадії виділення води, з максимумами біля 100 ºС, 150 ºС та 200-270 ºС. Підтверджено припущення про адсорбцію вуглеводів у гідратній оболонці. В усіх випадках попередньо модифікованих білком зразків при розкладі спостерігається утворення сірководню, що вказує на розклад білка в складі нанокомпозиту. При цьому адсорбція аміноцукру не змінює структуру БСА на поверхні кремнезему. Встановлено, що присутність молекули БСА на поверхні адсорбенту впливає не тільки на адсорбцію аміноцукру, але і на шлях термічного розкладу утвореного композиту, особливо вуглеводів, які входять до його складу. При цьому вище вказані особливості залежать від значення pH розчину білка, а відповідно і його просторового розташування на поверхні носія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кочетков Н.К., Бочков А.Ф., Дмитриев Б.А. Усов А.И., Чижов О.С., Шибаев В.Н. Химия углеводов. — М.: Химия, 1967. — 672 с.

2. Чижов О.С., Отт А.Я. Масс-спектрометрия углеводов // Успехи биологической химии. — 1978. — 19. — С. 151—183.

3. Каденцев В.И., Трушкина И.А., Чижов О.С., Каймаразов А.Г. Применение масс-спектрометрии с химической ионизацией для изучения структуры и реакционной способности углеводов // Биоорганическая химия. — 1988. — 14, № 10. — С. 1317—1351.

4. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. — 493 с.

5. Pokrovskiy V.A., Galagan N.P., Dembnovetskaya L.I. Mass spectrometry of cyanocobalamine, glucose and raffinose in the solid state and on a disperse oxide surface // Rapid Communications in Mass Spectrometry. — 1995. — 9. — P. 585—587.

6. Кулик Т.В., Галаган Н.П., Покровський В.А. Мас-спектрометричне дослідження термолізу цукрів // Фармацевтичний журнал. — 1997. — № 2. — С. 76—79.

7. Кулик Т.В., Паляниця Б.Б., Галаган Н.П. Молекулярна самоорганізація в системах нанорозмірні частинки — вуглеводи // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. — К.: Академперіодика. — 2003. — 1. — Вип. 2. — С. 681—690.

8. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed mass spectrometry of biomolecules in surface chemistry studies // Rapid Communications in Mass Spectrometry. — 1995. — 9. — P. 588—591.

9. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. — К.: Наукова думка, 2003. — 415 с.

10. Гриценко І.В., Місчанчук Б.Г., Галаган Н.П. Дослідження термічного розкладу альбуміну методом температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії // Хімія, фізика та технологія поверхні. — К.: Вид. дім ,,КМ Академія", 2004. — Вип. 10. — С. 187—191.

11. Pokrovskiy V.A., Galagan N.P., Chuiko A.A. Interaction of cells with nanoparticles // Surface chemistry in biomedical and environmental science / Eds. J.P. Blitz, V.M. Gun'ko. — NATO Science Series, Springer, 2006. — 228. — P. 277—287.

12. Галаган Н.П., Сиора И.В., Орел И.Л., Мисчанчук Б.Г., Покровский В.А. Особенности термических превращений и биологическая активность нанокомпозитов на основе высокодисперсного кремнезема, белка и некоторых углеводов // Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур. — К.: Наукова думка, 2007. — 1. — С. 286—299.

13. Vlasenko V.V., Galagan N.P., Kulik T.V., Pokrovskiy V.A. Studies on adsorption or carbohydrates on ultrafine silica surface by means of mass spectrometry and laser Doppler spectrometry // VII Polish-Ukrainian Symposium on theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological applications. — Lublin, Poland. — 2003.— P. 312—314.

14. Клименко Н.Ю., Галаган Н.П., Місчанчук Б.Г., Зарко В.І., Покровський В.О. Температурно-програмована десорбційна мас-спектрометрія бичачого сироваткового альбуміну в конденсованому стані і адсорбованого на поверхні високодисперсних оксидів // Химия, физика и технология поверхности. — К.: Наукова думка, 2008. — Вып. 14. — С. 456—466.

15. Варбанец Л.Д., Здоровенко Г.М., Книрель Ю.А. Методы исследования эндотоксинов. — К.: Наукова думка, 2006. — 239 с.

16. Клименко Н.Ю., Галаган Н.П. ІЧ-спектроскопічне-дослідження високодисперсних кремнемнезему, титано- та алюмокремнезему модифікованих білком // Украинский химический журнал. — 2010. — 76, № 6. — С. 89—93.

17. Іщенко О.В., Яцимирський В.К., Гайдай С.В. Статистичні методи. — К.: Вид-во ,,LAT&K", 2009. — С. 208—213.

18. Практикум по коллоидной химии и электронной микроскопии / Под ред. С.С. Воюцкого, Р.М. Панича. — М.: Химия, 1974. — 224 с.

19. Эльтекова Н.А., Эльтеков Ю.А. Адсорбция моно- и дисахаридов на поверхности аминированного кремнезема // Журнал физической химии. — 2006. — 80, № 4. — С. 695—699.

20. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел / Под ред. Г. Парфита, К. Рочестера. – М.: Мир, 1986. — 488 с.

21. Gadiou R., E.A. dos Santos, Vijayaraj M., Anselme K., Dentzer J., Soares G.A., Vix-Guterl C. Temperature-programmed desorption as a tool for quantification of protein adsorption capacity in micro- and nanoporous materials // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 2009. — 73. — P. 168—174.