

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ЯВЛЕНИЙ

УДК 544.723

АДСОРБЦИЯ АМИНОКИСЛОТ НА ПОВЕРХНОСТИ ДИОКСИДА ТИТАНА

© 2021 г. Н. Н. Власова^{а,*}, О. В. Маркитан^а

^а Национальная академия наук Украины, Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко, Киев, Украина

*e-mail: natalie.vlasova@gmail.com

Поступила в редакцию 24.01.2020 г.

После доработки 20.03.2020 г.

Принята к публикации 14.04.2020 г.

Адсорбция аспарагиновой и глутаминовой кислот из водных растворов на поверхности нанокристаллического диоксида титана представлена как образование комплексов двух типов: внешне-сферных электростатических и внутрисферных ковалентных. Константы устойчивости адсорбционных комплексов обоих типов рассчитаны на основании экспериментальных зависимостей адсорбции от рН и ионной силы растворов с использованием модели комплексообразования на поверхности Штерна.

Ключевые слова: адсорбция, диоксид титана, аминокислоты, теория комплексообразования на поверхности, внешнесферные и внутрисферные комплексы

DOI: 10.31857/S0044453721010325

Наноразмерные материалы находят все большее применение в различных отраслях науки, техники, медицины [1–3]. Благодаря набору уникальных свойств диоксид титана широко используется в биомедицине [4], что делает особенно необходимыми знания о его взаимодействиях с биообъектами [5–7]. Контакты между биомолекулами и твердыми телами сложны, поскольку они включают в себя образование разных по природе связей с участием многочисленных группировок биомолекул и функциональных групп поверхности твердого тела. Исследование взаимодействий поверхности оксидов с мономерными молекулами – аминокислотами, нуклеотидами, моносахаридами, из которых состоят соответствующие биополимеры, могут стать основой для установления механизма на молекулярном уровне. Кроме того, закрепление на поверхности наноксидных материалов таких молекул, как протеины, пептиды, аминокислоты, может привести к созданию новых биологически совместимых технологических материалов.

Первые термодинамические данные об адсорбции аминокислот на поверхности диоксида титана были получены для лизина [8]. Для изучения сродства аминокислот к поверхности TiO₂ чаще всего использовали спектроскопические методы [9–11]. Несмотря на то, что результаты таких исследований описывают взаимодействия между диоксидом титана и аминокислотами качественно, они позволили составить представление об адсорбции аминокислот. Например, ИК-исследования адсорбции глутаминовой и аспарагино-

вой аминокислот показали, что первая образует на поверхности оксида титана, по крайней мере, два отличающихся по структуре комплекса, в то время как аспарагиновая кислота адсорбируется в виде одного комплекса [10, 11]. В то же время в литературе практически отсутствуют количественные исследования адсорбции аминокислот из водных растворов в зависимости от изменяющихся параметров, таких как рН, ионная сила и т.п.

Цель настоящего исследования – определение адсорбционной способности диоксида титана по отношению к аминокислотам и получение количественных характеристик их взаимодействия на основе теории комплексообразования на поверхности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали нанокристаллический порошок диоксида титана (nanopowder, Aldrich) с удельной поверхностью 62 ± 5 м²/г (Nova 1200, Quantachrome), который, по данным рентгенофазового анализа, представляет собой анатаз с размером частиц 30 нм, что соответствует величине, заявленной производителем (<25 нм).

Аминокислоты (“ч.д.а.”, Reanal) и хлорид натрия (“ч.д.а.”, Merck) использовали без дополнительной очистки. Для установления необходимых значений рН растворов и суспензий применяли стандарт-титры HCl и NaOH (Titrisol, Merck). Все

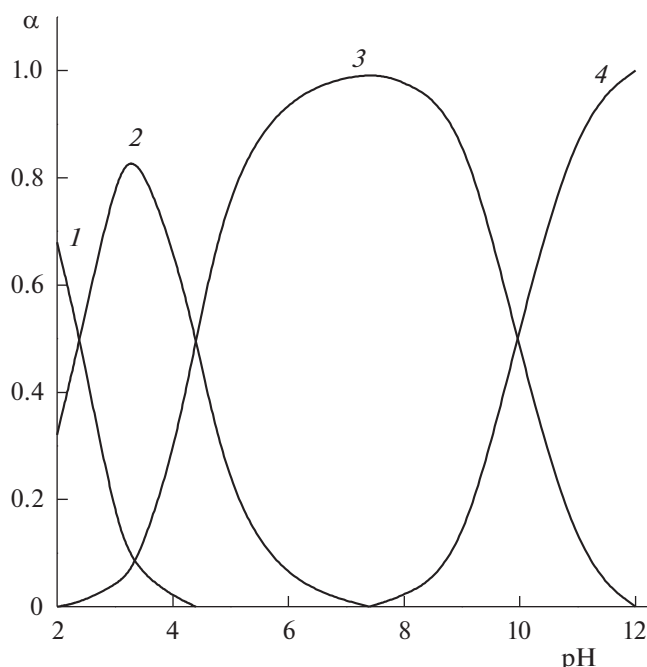


Рис. 1. Диаграмма распределения глутаминовой кислоты в растворе: катион H_3L^+ (1), цвиттер-ион H_2L^\pm (2), однозарядный анион HL^- (3) и двухзарядный анион L^{2-} (4), α – мольная доля.

растворы и суспензии готовили на бидистиллированной воде.

Для изучения адсорбции аминокислот были приготовлены серии суспензий, которые отличались значениями pH (интервал 2–9), концентрацией фонового электролита (0.01 или 0.1 М NaCl), содержали 5 г/л диоксида титана и 1 ммоль/л аминокислоты. Выдерживали суспензии в течение 2 ч, этого времени было достаточно для достижения адсорбционного равновесия, проверяли значение pH и отделяли твердую фазу центрифугированием (8000 об./мин, 20 мин). Из равновесных растворов отбирали три пробы по 5 мл, и в каждой проводили определение концентрации аминокислоты по интенсивности поглощения продукта реакции с нингидрином при 570 нм [12]. Предварительно для каждой аминокислоты были построены калибровочные графики. Величины адсорбции аминокислоты (мкмоль/г) определяли по разности исходной и равновесной концентрации.

Для интерпретации и количественной обработки экспериментальных данных по адсорбции аминокислот в зависимости от pH и ионной силы нами использованы базовая модель комплексообразования на поверхности Штерна [13] и программа GRFIT [14]. При моделировании адсорбционных кривых по программе GRFIT составлялась матрица компонентов, взаимодействие которых приводит к образованию всех частиц в

системе. К материальным компонентам относятся гидроксильные группы оксида титана, ионы фонового электролита, адсорбат (в исходной форме) и протоны. Кроме того, матрица компонентов дополняется электрическими составляющимися: $\text{exp}0$ и $\text{exp}1$, которые соответствуют величинам зарядов частиц в плоскости 0 и 1 [13]. В матрице представлены реакции протонирования и ионизации функциональных групп поверхности, их взаимодействия с ионами Na^+ и Cl^- , а также ионизации аминокислот. Константы равновесия реакций образования комплексов на поверхности, отмеченные звездочкой (*), подбираются при обработке экспериментальных данных с помощью программы GRFIT. В качестве исходного компонента аминокислоты может быть выбрана любая его форма, присутствующая в растворе. Выбор исходного компонента аминокислоты определяется диаграммой распределения. В изученном интервале pH исходным компонентом может быть цвиттер-ион или анион аминокислоты.

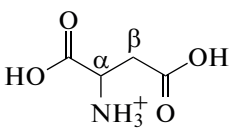
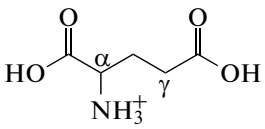
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Общим признаком, характерным для всех аминокислот, входящих в состав белков (исключение составляет пролин), является наличие свободной карбоксильной группы и незамещенной аминогруппы у α -углеродного атома. Они отличаются количеством и природой заместителей в боковой цепи. Большинство аминокислот содержит углеводородные заместители различной степени гидрофобности, среди них – аланин, лейцин, валин и другие, аминокислоты с ароматическими заместителями – фенилаланин, тирозин, и гетероциклическим заместителем – триптофан. К аминокислотам с положительно заряженными (при pH 7) боковыми заместителями относятся гистидин, лизин, орнитин, аргинин, в молекулах которых присутствуют основные группы – имидазольное кольцо, аминогруппы или гуанидиновая группировка. В состав молекул аспарагиновой и глутаминовой кислот входят дополнительные карбоксильные группы в β - и γ -положениях соответственно, вследствие чего их относят к кислым аминокислотам.

Аминокислоты в твердом состоянии и в водных растворах существуют в виде диполярных или цвиттер-ионов, т.е. карбоксильная группа ионизирована, а аминогруппа протонирована [15]. В полностью протонированной форме неполярной аминокислоты первым отщепляется протон карбоксильной группы, образуется цвиттер-ион, затем при $\text{pH} > 9$ отщепление протона NH_3^+ -группы приводит к образованию аниона.

Мы проверили способность нескольких аминокислот – глицина, гистидина, тирозина, трип-

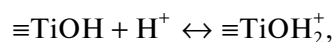
Таблица 1. Структурные формулы и константы ионизации аминокислот

Формула	Ионная сила	pK ₁	pK ₂	pK ₃
 аспарагиновая кислота	0.01 M	α-COОН 1.93	β-COОН 4.07	NH ₃ ⁺ 10.00
	0.1 M	1.93	3.95	9.76
 глутаминовая кислота	0.01 M	α-COОН 2.33	γ-COОН 4.40	NH ₃ ⁺ 9.95
	0.1 M	2.33	4.28	9.71

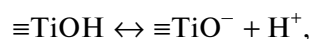
тофана, аспарагина, глутамин, аспарагиновой и глутаминовой кислот – сорбироваться на поверхности диоксида титана из водных растворов. Оказалось, что в заданных экспериментальных условиях заметной была адсорбция только двух последних аминокислот, которые содержат дополнительные карбоксильные группы. Последовательность отщепления протонов для этих кислых аминокислот определяется рядом: α-COОН, β- или γ-COОН, NH₃⁺ (табл. 1). В зависимости от pH аспарагиновая и глутаминовая кислоты существуют в растворах в нескольких формах: в кислой среде они присутствуют в виде катиона H₃L⁺, при повышении pH ионизируется α-карбоксильная группа и образуется цвиттер-ион H₂L[±], потом ионизируется дополнительная карбоксильная группа с образованием моноаниона HL⁻, вследствие отщепления протона от протонированной аминогруппы в растворе появляется дианион L²⁻. На рис. 1 представлена диаграмма распределения различных форм глутаминовой кислоты, для аспарагиновой кислоты диаграмма выглядит примерно так же.

Взаимодействие аминокислот с диоксидом титана в водных растворах электролита, в соответствии с положениями теории комплексообразования на поверхности [16], было интерпретировано как образование адсорбционных комплексов. Теория комплексообразования на поверхности находит количественное выражение в нескольких моделях, которые отличаются представлениями о строении двойного электрического слоя. Согласно базовой модели Штерна, функциональные группы оксида на поверхности раздела фаз в зависимости от pH присутствуют в виде нейтральных (≡TiOH), протонированных (≡TiOH₂⁺) и ионизированных (≡TiO⁻) частиц, которые частично связаны с ионами фонового электролита с образованием внешнесферных комплексов – ионных пар (≡TiOH₂⁺Cl⁻ и ≡TiO⁻Na⁺). В кислой среде гидрок-

сильные группы в основном протонированы, при pH выше точки нулевого заряда (pH_{pzc} 6.5) преобладают ионизированные группы [17]. Поверхность подразделяется на две плоскости, одна из которых обозначается символом 0, в ней непосредственно происходит адсорбция потенциалопределяющих ионов и сильно сорбирующихся веществ. Во второй плоскости, обозначенной символом 1, располагаются противоions фонового электролита и слабосорбирующиеся вещества. Частицы, расположенные в этих плоскостях, определяют величину и знак заряда поверхности. Константы равновесия реакций протонирования и ионизации гидроксильных групп, а также их взаимодействия с ионами электролита были определены нами ранее по данным потенциометрического титрования суспензий диоксида титана [17]:



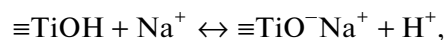
$$\lg K_{S1}^{\text{int}} = 5.20 \pm 0.05;$$



$$\lg K_{S2}^{\text{int}} = -7.80 \pm 0.05;$$



$$\lg K_{\text{Cl}^-}^{\text{int}} = 6.20 \pm 0.05;$$



$$\lg K_{\text{Na}^+}^{\text{int}} = -6.80 \pm 0.05.$$

На рис. 2 представлены результаты изучения адсорбции аспарагиновой и глутаминовой кислот в зависимости от pH и ионной силы. Величины адсорбции глутаминовой кислоты больше, чем аспарагиновой. На адсорбционных кривых наблюдаются максимумы, положения которых по шкале pH соответствуют константам ионизации карбоксильных групп в боковом заместителе аминокислоты. При увеличении ионной силы растворов величины адсорбции несколько увели-

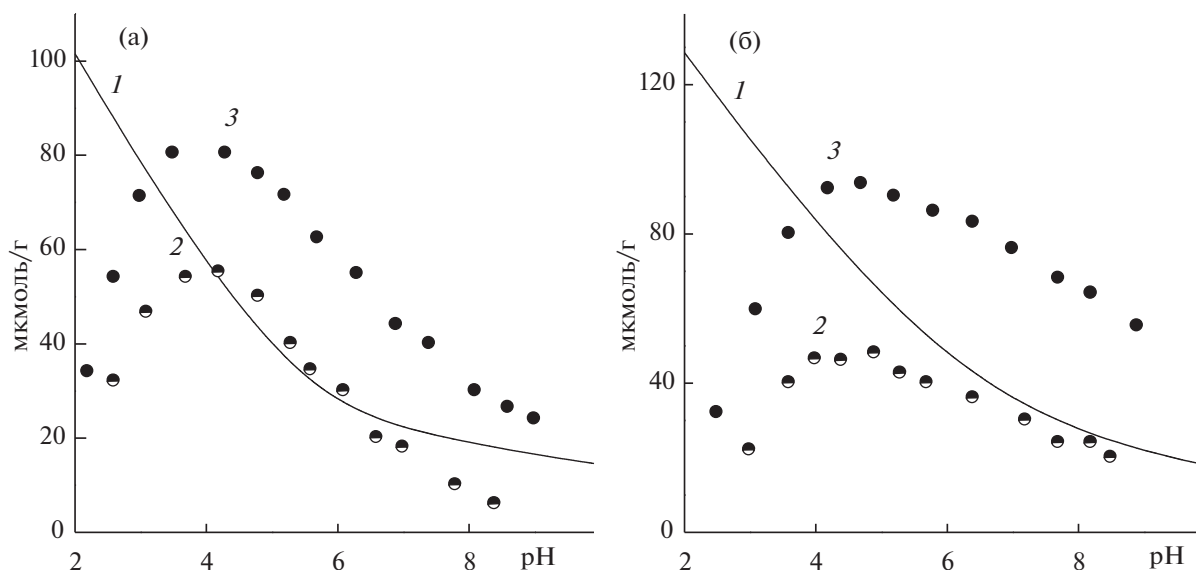
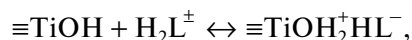


Рис. 2. Концентрации протонированных групп $\equiv\text{TiOH}_2^+$ (1) и адсорбированных аспарагиновой (2) и глутаминовой кислот (3) на поверхности диоксида титана при ионной силе 0.01 М (а) и 0.1 М NaCl (б): $C_{\text{TiO}_2} = 5$ г/л, $C_{\text{Аа}} = 1$ ммоль/л.

чиваются. На этом же рисунке приведены концентрации протонированных групп диоксида титана при тех же значениях pH и ионной силы. Для аспарагиновой кислоты наблюдается полное соответствие концентраций протонированных групп и адсорбированной кислоты. В случае глутаминовой кислоты концентрации адсорбированного вещества несколько выше. Такое сопоставление позволяет предположить, что образование адсорбционных комплексов обусловлено электростатическими взаимодействиями протонированных групп поверхности и анионных форм аминокислоты. Возможно, такие взаимодействия реализуются только при наличии дополнительной карбоксильной группы. Во-первых, адсорбция аспарагиновой и глутаминовой кислот увеличивается по мере ионизации дополнительной карбоксильной группы. Во-вторых, нейтральные аминокислоты, а также аспарагин и глутамин — производные аспарагиновой и глутаминовой кислот, в которых карбоксильная группа замещена на амидную, не сорбируются в аналогичных условиях на поверхности диоксида титана. В молекуле обычной аминокислоты карбоксильная и аминогруппа прикреплены к одному и тому же атому углерода, что делает их притяжение и отталкивание протонированными функциональными группами диоксида титана равновероятными.

Сопоставление формы адсорбционной кривой с диаграммой распределения показывает, что адсорбция возрастает по мере увеличения в растворе содержания цвиттер-ионной формы аминокислоты. Было предположено, что аминокислота

в виде цвиттер-иона взаимодействует с функциональными группами поверхности оксида титана. Наилучшее воспроизведение адсорбционной кривой, рассчитанной по программе GRFIT, реализуется в предположении протекания на поверхности следующей реакции:



которая характеризуется константой равновесия:

$$K_S = \frac{[\equiv\text{TiOH}_2^+\text{HL}^-]}{[\equiv\text{TiOH}][\text{H}_2\text{L}^\pm]} \exp(F(\Psi_0 - \Psi_1)/RT),$$

где Ψ_0 и Ψ_1 — потенциалы в плоскости 0 и 1, F — число Фарадея, R — универсальная газовая постоянная, T — температура, К.

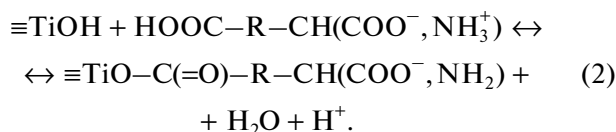
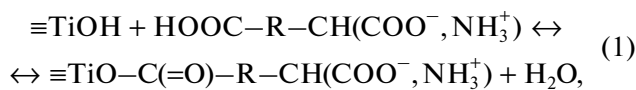
Образующийся адсорбционный комплекс является внешнесферным, анион аминокислоты связан с протонированными группами оксида титана электростатически. В табл. 2 приведены рассчитанные константы равновесия этой реакции. Константу равновесия реакции можно пересчитать в константу комплексообразования или устойчивости поверхностного комплекса, если учесть константы протонирования гидроксильных групп $\equiv\text{TiOH}$ и ионизации аминокислоты. Сравнение полученных констант показывает, что глутаминовая кислота образует более устойчивый адсорбционный комплекс, хотя она отличается всего лишь одним звеном CH_2 .

В литературе адсорбция аминокислот на поверхности оксида титана [9–11, 18, 19] в основном трактуется как образование комплексов с ковалентной связью, хотя спектроскопические дан-

Таблица 2. Константы равновесия реакций комплексообразования аминокислот на поверхности диоксида титана ($\lg K \pm 0.05$)

Реакции на поверхности	Аспарагиновая		Глутаминовая	
	0.01 М	0.1 М	0.01 М	0.1 М
$\equiv\text{TiOH} + \text{H}_2\text{L}^\pm \leftrightarrow \equiv\text{TiOH}_2^+\text{HL}^-$	4.68	4.85	5.30	5.44
$\equiv\text{TiOH}_2^+ + \text{HL}^- \leftrightarrow \equiv\text{TiOH}_2^+\text{HL}^-$	3.55	3.60	4.50	4.52
$\equiv\text{TiOH} + \text{H}_2\text{L}^\pm \leftrightarrow \equiv\text{TiOHL}^\pm + \text{H}_2\text{O}$	1.62	1.68	1.85	1.90
$\equiv\text{TiOH} + \equiv\text{TiOL}^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-1.62	-1.48	-0.93	-0.80
$\equiv\text{TiOH} + \text{HL}^- \leftrightarrow \equiv\text{TiOL}^- + \text{H}_2\text{O}$	2.45	2.47	3.47	3.48

ные, которые приводят для обоснования такого предположения, не кажутся однозначными. На возможность образования комплексов с ковалентными связями указывает бóльшая концентрация адсорбированной глутаминовой кислоты по сравнению с концентрацией протонированных групп $\equiv\text{TiOH}_2^+$ (рис. 2). Если предположить образование внутрисферных аминокислотных комплексов на поверхности оксида титана, то для моделирования адсорбционных кривых необходимо учесть протекание следующих реакций:



В табл. 2 эти уравнения реакций представлены в упрощенном виде, цвиттер-ионная форма аминокислоты $\text{HOOC-R-CH}(\text{COO}^-, \text{NH}_3^+)$ обозначена как H_2L^\pm .

В таком предположении были обработаны все экспериментальные данные по адсорбции аминокислот в зависимости от pH и ионной силы. Учет этих двух реакций приводит к наилучшему соответствию рассчитанных и экспериментальных адсорбционных кривых. Константы равновесия реакций представлены в табл. 2.

Константу равновесия реакции (1), которая не сопровождается выделением протонов, можно рассматривать как константу устойчивости соответствующего комплекса на поверхности. Реакция (2) протекает с выделением протона, поэтому для пересчета ее константы равновесия в константу комплексообразования мы обработали экспериментальные данные по программе GRFIT, используя в качестве исходного компонента анионную форму аминокислоты.

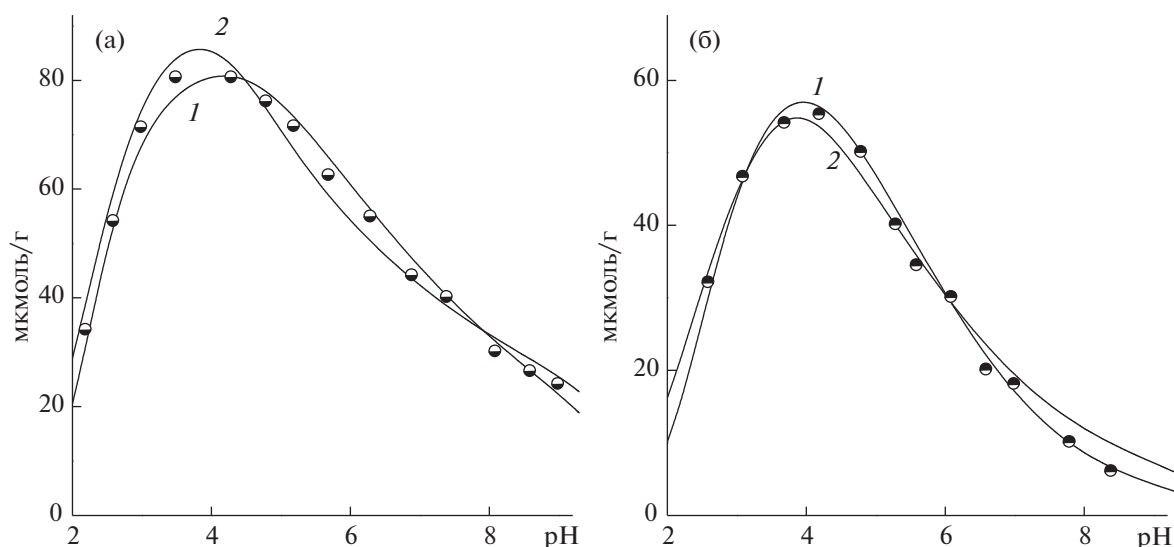


Рис. 3. Рассчитанные в предположении образования внешнесферных (1) и внутрисферных (2) комплексов адсорбционные кривые глутаминовой (а) и аспарагиновой кислот (б) (0.01 М NaCl). Символами обозначены экспериментальные величины адсорбции.

Таблица 3. Матрица частиц, образующихся в системе TiO_2 (5 г/л)–Glu (1 ммоль/л)–NaCl (0.01 M)

	Частица	Компоненты							
		TiOH	exp0	exp1	Na ⁺	Cl ⁻	Glu	H ⁺	lgK
1	TiOH	1	0	0	0	0	0	0	0
2	TiOH ₂ ⁺	1	1	0	0	0	0	1	5.2
3	TiO ⁻	1	-1	0	0	0	0	-1	-7.8
4	TiOH ₂ ⁺ Cl ⁻	1	1	-1	0	1	0	1	6.2
5	TiO ⁻ Na ⁺	1	-1	1	1	0	0	-1	-6.8
6	Na ⁺	0	0	0	1	0	0	0	0
7	Cl ⁻	0	0	0	0	1	0	0	0
8	H ⁺	0	0	0	0	0	0	1	0
9	OH ⁻	0	0	0	0	0	0	-1	-13.92

Исходный компонент – цвиттер-ион H_2L^\pm

		TiOH	exp0	exp1	Na ⁺	Cl ⁻	H_2L^\pm	H ⁺	lgK
10	H_2L^\pm	0	0	0	0	0	1	0	0
11	H_3L^+	0	0	0	0	0	1	1	2.33
12	HL^-	0	0	0	0	0	1	-1	-4.40
13	L^{2-}	0	0	0	0	0	1	-2	-14.35
14	TiOHL^\pm	1	0	0	0	0	1	0	1.85*
15	TiOL^-	1	0	-1	0	0	1	-1	-0.93*

Исходный компонент – анион HL^-

		TiOH	exp0	exp1	Na ⁺	Cl ⁻	HL^-	H ⁺	lgK
10	HL^-	0	0	0	0	0	1	0	0
11	H_2L^\pm	0	0	0	0	0	1	1	4.40
12	H_3L^+	0	0	0	0	0	1	2	6.73
13	L^{2-}	0	0	0	0	0	1	-1	-9.95
13	TiOHL^\pm	1	0	0	0	0	1	1	6.25*
14	TiOL^-	1	0	-1	0	0	1	0	3.47*

В табл. 3 представлены два варианта матриц частиц, образующихся в растворе и на поверхности при адсорбции аминокислоты, которые отличаются исходным компонентом аминокислоты. Первые девять частиц одинаковы для обоих исходных компонентов. Частицы, содержащие аминокислоту (10–13), которые находятся в равновесии в водном растворе, и образующиеся на поверхности (14, 15), отличаются стехиометрией по протонам и величинами констант равновесия соответствующих реакций.

Сравнение данных, представленных в табл. 2, показывает, что устойчивость комплексов глутаминовой кислоты несколько выше, чем комплексов аспарагиновой кислоты. Комплексы, образованные цвиттер-ионами, характеризуются меньшей устойчивостью, чем комплексы с анионной формой аминокислоты.

Рассчитанные в предположении образования внешне- и внутрисферных комплексов аминокислот адсорбционные кривые представлены на рис. 3. Для обеих аминокислот при разных ионных силах наблюдается достаточно хорошее соответствие экспериментальных и рассчитанных адсорбционных кривых.

Таким образом, установлено, что адсорбция аминокислот на поверхности диоксида титана может быть представлена и количественно охарактеризована как образование внешне- и внутрисферных комплексов, которые формируются за счет электростатических и ковалентных взаимодействий. Исследование адсорбции индивидуальных аминокислот из водных растворов показало, что наличие дополнительных протолитически активных групп увеличивает вероятность закрепления аминокислот на поверхности оксида

титана. Аминокислоты в белках соединены между собой пептидными связями с участием α -аминных и карбоксильных групп. Связывание и взаимодействие белков с поверхностью оксидных материалов обуславливают, по-видимому, именно дополнительные функциональные группы кислот или основной природы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Moyano D.F., Rotello V.M.* // *Langmuir*. 2011. V. 27. P. 10276.
2. *Lee J., Mahendra S., Alvarez P.J.J.* // *ACS Nano*. 2010. V. 4. P. 3580.
3. *Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C.* // *FASEB J*. 2005. V. 19. P. 311.
4. *Ai J., Biazar E., Jafapour M. et al.* // *Int. J. Nanomed.* 2011. V. 6. P. 1117.
5. *Stark W.J.* // *Angew. Chem Int. Ed.* 2011. V. 50. P. 1242.
6. *Shemetov A.A., Nabiev I., Sukhanova A.* // *ACS Nano*. 2012. V. 6. P. 4585.
7. *Gagner J.E., Shrivastava S., Qian X. et al.* // *J. Phys. Chem. Lett.* 2012. V. 3. P. 3149.
8. *Okazaki S., Aoki T., Tani K.* // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1981. V. 54. P. 1595.
9. *Mudunkotuwa I.A., Grassian V.H.* // *Langmuir*. 2014. V. 30. P. 8751.
10. *Roddick-Lanzilotta A.D., McQuillan A.J.* // *J. Colloid Interface Sci.* 2000. V. 227. P. 48.
11. *Giacomelli C.E., Avena M.J., De Pauli C.P.* // *Langmuir*. 1995. V. 11. P. 3489.
12. *McCaldin D.J.* // *Chem. Rev.* 1960. V. 60. P. 39.
13. *Westall J.C., Hohl H.* // *Adv. Colloid Interface Sci.* 1980. V. 12. P. 265.
14. *Ludwig Chr.* GRFIT, a Program for Solving Speciation Problems, Evaluation of Equilibrium Constants, Concentrations, and Other Physical Parameters. Internal Report of University of Bern, 1992.
15. *Ленинджер А.* Биохимия М.: Мир, 1976. 957 с.
16. *Davis J.A., Kent D.B.* // *Rev. Mineralog.* 1990. V. 23. P. 177.
17. *Vlasova N.N., Markitan O.V., Golovkova L.P.* // *Colloid J.* 2015. V. 77. № 4. P. 425.
<https://doi.org/10.1134/S1061933X15040213>
18. *Jonsson C.M., Jonsson C.L., Sverjensky D.A. et al.* // *Langmuir*. 2009. V. 25. P. 12127.
19. *Parikh S.J., Kubicki J.D., Jonsson C.M. et al.* // *Langmuir*. 2011. V. 27. P. 1778.