

羧基功能化超顺磁性纳米粒子 吸附牛血清蛋白的特性

吴志超, 陈国, 苏鹏飞

(华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 以牛血清白蛋白(BSA)为目标蛋白,考察时间、BSA 质量浓度、pH 值、温度等条件对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响,并对吸附有 BSA 的磁性纳米粒子的解吸附情况进行研究.结果表明:在 25~45 ℃ 内,温度几乎不影响吸附过程;pH 值为 4.0~4.5 达最大吸附量,该吸附过程满足准一级动力学方程和 Freundlich 等温吸附模型; Na_2HPO_4 对其有较强的脱附作用,但粒子与 BSA 之间不是简单的物理相互作用,而是静电相互作用,导致其脱附水平依然较低,仅为 20.06%.

关键词: 羧基磁性纳米粒子;牛血清蛋白;吸附;蛋白固定化;动力学

中图分类号: O 647

文献标志码: A

磁性纳米材料具有较大的比表面积、较好的生物相容性、易分离、具靶向作用、低成本等优点,日益受到科学界的关注^[1-3].目前,磁性纳米粒子已逐步应用于污水处理、酶、细胞等生物催化剂的固定化、药物的定向运输、核磁成像等领域^[4-9].裸露的 Fe_3O_4 纳米粒子表面基团较少^[10],在固定化酶、细胞等物质时,只能通过简单的物理吸附,存在吸附量较低、吸附力弱的缺点,不能满足实际应用.对其表面进行修饰,通过表面基团改善粒子表面的带电荷疏水特性,能更好地满足固定化蛋白及酶等物质的需要^[10-11].表面包裹特殊功能的物质是较常见的磁性纳米粒子修饰方法^[8],许多学者对其进行了深入的研究^[12-16].然而,当前对表面含羧基的超顺磁性纳米粒子吸附牛血清白蛋白(BSA)的特性研究较少.本实验室通过化学共沉淀法制得 Fe_3O_4 粒子,再将其用油酸包裹、 KMnO_4 氧化,制得表面包裹有壬二酸的新型羧基磁性纳米粒子,粒径为 10 nm 左右,在水中具有很好的分散性能,表面分布有较多的羧基功能基团,在水中电离后表面带负电,可跟生物大分子,如蛋白质表面的带正电氨基发生静电相互作用^[17-18],进一步研究其吸附性能对它的应用显得尤为重要.BSA 作为一种重要的模式蛋白,在科学研究方面起到重要的作用^[19].研究羧基磁性纳米粒子吸附 BSA 的性能,对其作为蛋白药物靶向载体、固定化酶载体和固定化细胞的研究均具有重要的指导意义.本文对实验室最新制得的新型羧基功能化磁性纳米粒子吸附和解吸附牛血清白蛋白的特性进行研究.

1 实验部分

1.1 材料与仪器

1) 实验材料:羧基磁性纳米粒子(实验室自制,粒径为 (10 ± 1) nm,羧基为 (600 ± 50) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$,等电点 $\text{PI}=4.3$);氯化钠(NaCl)、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、磷酸氢二钾(K_2HPO_4)、磷酸(H_3PO_4)、工业酒精(质量分数为 95%,广东省汕头市西陇化工有限公司);考马斯亮蓝、牛血清蛋白(分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司).

收稿日期: 2014-09-23

通信作者: 陈国(1978-),男,副教授,博士,主要从事生化反应工程和生化分离工程的研究. E-mail: chenguo@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20906035);华侨大学青年教师科研提升资助计划项目(ZQN-PY109)

2) 实验仪器:KQ3200DB 型数控超声波清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司);MODEL828 型 pH 计(美国奥立龙有限公司);WFZ2800-D3B 型紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司);8400S 型傅里叶红外变换仪(日本岛津仪器公司);DTG-60H 型热重分析仪(日本岛津仪器公司).

1.2 实验方法

考察时间、BSA 初始质量浓度、pH 值、温度对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响.

1.2.1 时间 取 1.5 mL 磁流体($40\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)加入 1.5 mL 的 NaCl 溶液($90\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)中,在超声波清洗仪振荡(40 kHz , 120 W)的条件下,加入 3 mL BSA 溶液($2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).在温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,转速为 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下进行吸附实验,分别于 2,4,8,16,24,32,40 h 取样,检测其 BSA 的吸附量.

1.2.2 BSA 初始质量浓度 取 6 组 1.5 mL 磁流体($40\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)加入 1.5 mL 的 NaCl 溶液($90\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)中,在超声波清洗仪振荡(40 kHz , 120 W)的条件下,加入 3 mL 质量浓度分别为 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 BSA 溶液,在温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,转速为 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下,作用 4 h,取样检测其 BSA 的吸附量.

1.2.3 pH 值 配制 6 组 1.5 mL 磁流体($40\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),依次加入 pH 值分别为 3.0,3.6,4.2,4.8,5.4,6.0 的 1.5 mL 醋酸盐缓冲液($0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$),超声波清洗仪振荡(40 kHz , 120 W)的条件下各加入 3 mL BSA 溶液($4\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),在温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,转速为 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下,作用 4 h,检测其 BSA 的吸附量.

1.2.4 温度 取 1.5 mL 磁流体($40\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和 1.5 mL 醋酸盐缓冲液(pH 值为 4.2,浓度为 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)混合,超声分散后加入 3 mL BSA 溶液($4\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),在温度分别为 0,25,30,37,45 $^{\circ}\text{C}$,转速为 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下,作用 4 h,取 1 mL 反应液磁分离,检测其 BSA 的吸附量.

1.3 解吸附的方法

取磁流体($40\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)与醋酸盐缓冲液(pH 值为 4.2, $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)各 5 mL 混合,超声分散后,加入 10 mL BSA 溶液($4\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),在温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$,转速为 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下振荡 4 h,测上清液中 BSA 的质量浓度,计算 BSA 的吸附量.向离心管中加入 2 mL NaCl 溶液($1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$),振荡 2 min,静置 10 min 后,磁分离,测上清液中 BSA 的质量浓度.分别使用 $0.2,0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钠溶液代替 2 mL 浓度为 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl,重复以上实验.

1.4 分析方法

1.4.1 BSA 质量浓度的测量方法 用去离子水准确配制 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 BSA 溶液,分别稀释至 20,40,60,80,100,120 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,各取 1 mL 不同质量浓度的 BSA 溶液,加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,漩涡振荡器振荡 20 s,静置 5 min 后,在波长 595 nm 处,用 722 型可见光分光光度计测其吸光度值,拟合 BSA 标准曲线.用考马斯亮蓝法检测 BSA 的溶液质量浓度.

1.4.2 粒子的红外分析方法 采用 KBr 压片法对磁性纳米粒子进行红外分析,取一定量干燥的 KBr 晶体,在玛瑙研钵中研磨成很细的粉末,再加入少量干燥过的样品,继续研磨均匀,然后压片,用 Shimadzu 8400S 型傅里叶红外变换仪扫描.

1.4.3 粒子的热重分析方法 分别准确称取 1 mg 干燥过的,吸附有 BSA 的羧基功能化 Fe_3O_4 磁性纳米粒子与羧基磁性纳米粒子样品, N_2 氛围下,以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的加热速度,加热至 $1\text{ }000\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2 结果与讨论

2.1 磁性纳米粒子吸附 BSA 的分析

2.1.1 红外分析 为了验证羧基磁性纳米粒子能与 BSA 之间发生相互作用,分别对 BSA(a)、羧基磁性纳米粒子(b)、吸附 BSA 的羧基磁性纳米粒子(c)进行红外光谱分析,结果如图 1 所示.由图 1 可知:b,c 红外波谱图在 579 cm^{-1} 均有明显的吸收峰,此为 Fe_3O_4 的特征峰. $3\text{ }480\text{ cm}^{-1}$ 的强宽峰是 -OH 的伸缩振动峰, $1\text{ }624\text{ cm}^{-1}$ 是 C=O 的吸收峰,这些峰在 b 和 c 上均出现,表明 b,c 均有羧基功能化的 Fe_3O_4 核.在 a,c 中,在 $1\text{ }412,1\text{ }126,893\text{ cm}^{-1}$ 附近固定有相似峰,表明 BSA 已被吸附到羧基磁性纳米粒子表面.

2.1.2 热重分析 进一步研究羧基磁性纳米粒子表面吸附 BSA 的情况, 分别对羧基磁性纳米粒子(a)、BSA-磁性纳米粒子(b)进行热重分析, 结果如图 2 所示. 由图 2 可知: 吸附 BSA 之后的磁性纳米粒子有明显的 4 个峰. 其中: 0~200 ℃失去质量的峰主要是由粒子表层水和分子内的结合水的失去引起的; 200~300 ℃失去的质量主要是由物理吸附的 BSA 引起的; 300~490 ℃失去的质量是共价结合的 BSA 的受热分解造成的; 500~750 ℃失去的质量是由内层的壬二酸的分解引起的; 800 ℃之后粒子质量略有增加, 是由于热重分析使用的 N₂ 的纯度不太高, 仍含有少量 O₂, 高温下将 Fe₃O₄ 进一步氧化成 Fe₂O₃ 而引起的.

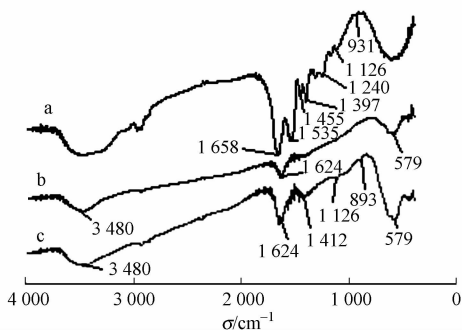


图 1 几种物质红外光谱

Fig. 1 FT-IR spectra of several kinds of materials

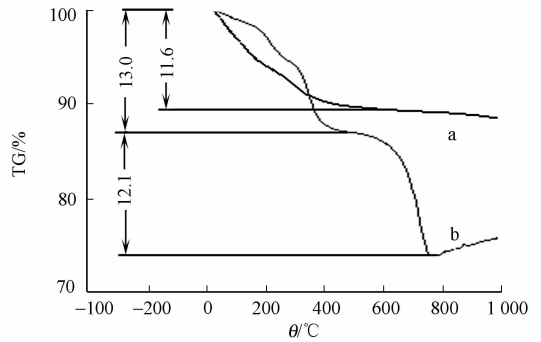


图 2 磁性纳米粒子的 TG 曲线

Fig. 2 TG curves of carboxyl-functionalized and immobilized BSA magnetic nanoparticles

通过比较发现: 羧基功能化磁性纳米粒子总计失去的质量为 11.6%, 而固定 BSA 的磁性纳米粒子其壬二酸失去的质量为 12.1%, 这与羧基磁性纳米粒子上的壬二酸含量基本吻合. 磁性纳米粒子吸附蛋白的量约为其总质量的 13%, 这与下文测定的 BSA 的吸附量基本上相符.

2.2 不同条件对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响

2.2.1 时间 时间(t)对磁性纳米粒子吸附 BSA 过程的影响, 如图 3 所示. 由图 3 可知: 在前 10 min, BSA 吸附量(Q)迅速增加, 10 min 后基本达到平衡, 之后在 $40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 磁性纳米粒子上上下波动, 表明磁性纳米粒子吸附 BSA 是个快速的过程. 这是因为 BSA 表面分布有大量的 Lys, Arg, His 等碱性氨基酸残基, 侧链上的氨基与磁性纳米粒子表面的羧基产生静电相互作用. 由于磁性纳米粒子粒径小, 表面无小孔存在, 可迅速完成界面吸附. 因此, 达到吸附平衡时间较短. 该吸附过程满足 Lagergren 一级吸附动力学方程. 经拟合得吸附动力学方程, 即 $Q = -41.045 \cdot \exp(-t/1.414) + 40.84$. 式中: Q 为吸附容量, $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; t 为吸附时间, s.

2.2.2 BSA 初始质量浓度 BSA 质量浓度(ρ)对磁性纳米粒子吸附 BSA 过程的影响, 如图 4 所示. 由图 4 可知: 随着 BSA 初始质量浓度的增加, 吸附量(Q)迅速增加. 磁性纳米粒子表面的羧基可视为活性吸附位点, BSA 在溶液中的质量浓度和磁性纳米粒子表面的质量浓度差是推动 BSA 纳米粒子表面运动的动力. 在 BSA 初始质量浓度较低时, 若溶液与磁性纳米粒子表面的 BSA 质量质量浓度达到平衡,

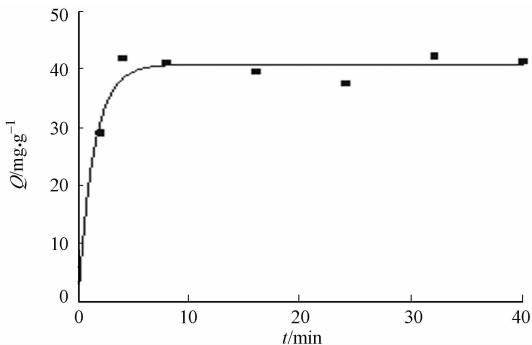


图 3 时间对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响

Fig. 3 Magnetic nanoparticles adsorption of BSA effected by time

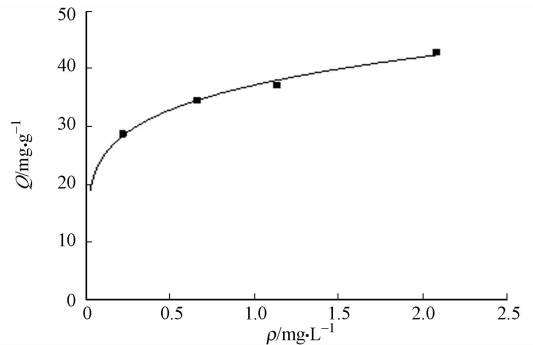


图 4 BSA 浓度对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响

Fig. 4 Magnetic nanoparticles adsorption of BSA effected by BSA concentration

无论表面是否还剩余羧基位点,吸附都将停止.随着 BSA 质量浓度的增加,磁性纳米粒子表面羧基位点都与 BSA 作用,当 BSA 质量浓度达到一定值时,即使继续增大溶液中 BSA 质量浓度,吸附量也不再增大.该等温吸附过程可由 Freundlich 吸附方程描述,即 $Q=kc^{1/n}$. 式中: Q 为吸附容量, $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; k 为常数,与吸附相互作用、吸附量有关; c 为蛋白质质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; $1/n$ 为常数,反应吸附作用的强度.

经拟合可得 $Q=36.846c^{0.178}$. $1/n$ 的数值一般为 $0\sim1$,其数值大小表示质量浓度对吸附量影响的强弱. $1/n$ 越小,吸附性能越好.当 $1/n$ 为 $0.1\sim0.5$ 时,易于吸附.实验拟合得到的 $1/n$ 数值为 0.178 ,说明磁性纳米粒子对 BSA 的吸附能力很强.

2.2.3 pH 值 pH 值是影响磁性纳米粒子吸附 BSA 过程的一个重要的因素,它不仅在很大程度上决定了磁性纳米粒子的分散稳定性,也决定了吸附体系中吸附质与吸附剂的表面电荷分布,进而对吸附过程造成巨大的影响. pH 值对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响,如图 5 所示.由图 5 可知:随着 pH 值的增加,BSA 吸附量(Q)先增大后减小,呈钟形变化,且吸附量变化明显.因为在缓冲液的吸附体系中,磁性纳米粒子和 BSA 带电情况由 pH 值决定. BSA 的等电点约为 4.9 ,当 pH 值低于 4.9 时,BSA 带正电.磁性纳米粒子等电点约为 $4.3^{[17]}$,当 pH 值高于 4.3 时,BSA 带负电.由此可以推断,其吸附量最大时的 pH 值为 $4.3\sim4.9$.由图 5 还可知:当 pH 值大于 4.9 时,BSA 的吸附量迅速减少,这是由于 pH 值大于 4.9 时,羧基磁性纳米粒子与 BSA 带同种电荷相互排斥;在 pH 值低于 4.0 时,BSA 的吸附量迅速减小,这是由于 pH 值低于 4.0 时,粒子与 BSA 均带正电,且 pH 值越小,带电量越大,斥力也越大.

2.2.4 温度 当温度(θ)分别为 $25,30,37,45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,磁性纳米粒子吸附 BSA 的情况,如图 6 所示.由图 6 可知:温度为 $25\sim45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,其对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响不大.这是由于羧基磁性纳米粒子吸附 BSA 不是简单的物理吸附,而是通过静电吸附.这种吸附力较大,完全可以忽略分子热运动对吸附过程的影响.但是,在实际应用中温度可能会对 BSA 的活性造成影响.因此,在吸附的过程中,应尽量选择较低的温度^[20].与此同时,此温度为大多数酶类的最佳催化的温度区间,说明本粒子适合作为大多数酶类的固定化载体.

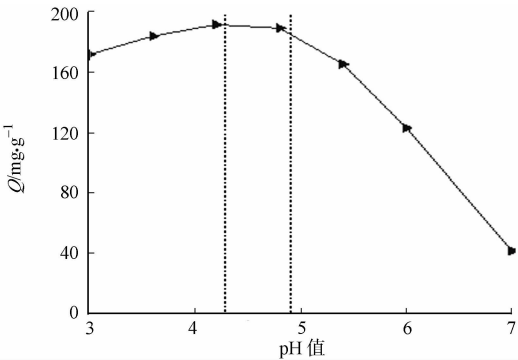


图 5 pH 值对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响
Fig. 5 Magnetic nanoparticles adsorption of BSA effected by pH value

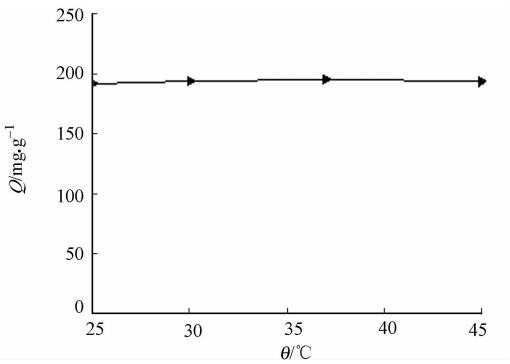


图 6 温度对磁性纳米粒子吸附 BSA 的影响
Fig. 6 Magnetic nanoparticles adsorption of BSA effected by temperature

2.3 解吸附的研究

在不同解吸液中,BSA 的磁性纳米粒子解吸 $1\sim3$ 次的情况,如表 1 所示.解析率(η)定义为解析下来的蛋白占吸附蛋白总量的百分率.由表 1 可知:NaCl 溶液对 BSA 的解吸附能力比较弱,而 Na_2HPO_4 对 BSA 的洗脱效果较明显,这是因为 BSA 被洗脱下来的主要作用力是洗脱溶液的离子强度.离子强度会压缩带电颗粒表面的双电层,降低粒子表面的 Zeta 电位,从而降低粒子之间的静电相互作用,使 BSA 和磁性纳米粒子发生分离.而溶液的离子强度的大小除了跟溶液的浓度有关外,还跟溶质电离后形成的离子的价态有关.相同浓度下,NaCl 溶液的离子强度远远小于 Na_2HPO_4 溶液的离子强度.同时, PO_4^{3-} 为负 3 价,大于 Cl^- 的负 1

表 1 不同盐对 BSA 解吸附
Tab. 1 Desorption of BSA by different salts

解吸液	$\eta/\%$		
	1 次	2 次	3 次
NaCl($0.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.12	0.47	0.68
Na_2HPO_4 ($0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	7.71	15.17	17.69
Na_2HPO_4 ($0.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	8.85	15.28	20.06

价.随着解吸附次数的增加,BSA的解析量明显增加.但是,随着解吸附次数的增加,其解析量增加的大小会逐渐降低^[18,21].这说明磁性纳米粒子与BSA的结合是比较牢固的,不易受外界影响,以后用于酶固定化的稳定性较为优良,有利于固定化酶的多次回收利用.

2.4 磁性纳米粒子与BSA相互作用

BSA与羧基表面功能化的磁性纳米粒子之间主要是静电相互作用.BSA由607个氨基酸组成,其中,碱性氨基酸有赖氨酸、精氨酸、组氨酸,等电点较高,在中性条件下带较多正电荷.碱性氨基酸在BSA中的比例为17%,而酸性较强的谷氨酸与天冬氨酸所占的比例为16.3%.等电点在pH值为5~7附近的其他氨基酸所占比例为65.7%.同时,羧基超顺磁性纳米粒子的等电点约为4.3.在高于等电点的pH值条件下物质带负电,在低于等电点的pH值条件下,物质带正电.在中性条件下,碱性氨基酸带净正电荷,磁性纳米粒子带净负电荷,而其他氨基酸基本上也带负电,此时,只有3种碱性氨基酸与粒子发生静电相互作用,因此,吸附量较小.当pH值为4.2~4.9时,等电点为5~7附近的氨基酸也可与粒子发生相互作用,而大部分氨基酸等电点处于此处,因此,吸附量逐步增大.此外,pH值的变化导致BSA整体净电荷的变化对BSA与磁性纳米粒子的相互接近、BSA构象、BSA与颗粒结合时的取向,粒子的比表面积等也会对吸附过程产生影响.

3 结论

1)以BSA为目标蛋白,研究了新型羧基磁性纳米粒子对BSA的吸附情况,考察时间、BSA质量浓度、pH值、温度等条件对磁性纳米粒子吸附BSA的影响,并对吸附有BSA的磁性纳米粒子的解吸附情况进行了研究.

2)经红外和热重结果分析,磁性纳米粒子成功地将BSA吸附在其表面.磁性纳米粒子吸附BSA的最佳条件:BSA质量浓度为 $2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;磁流体质量浓度为 $10\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$;pH值为4.0~4.5;吸附量最高可达 $190\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右.

3)磁性纳米粒子吸附BSA后,可被 Na_2HPO_4 部分洗脱下来,但不能被NaCl洗脱下来,这进一步说明羧基功能化磁性纳米粒子与BSA的相互作用不是简单的物理吸附,而是包含有静电相互作用,这保证了此粒子固定化酶的稳定性,也保证了日后固定酶重复操作的稳定性,以及定向给药的药物缓释.

参考文献:

- [1] KODAMA R H. Magnetic nanoparticles[J]. J Magn Magn Mater,1999,200(1/2/3):359-372.
- [2] LAURENT S, FORGE D, PORT M, et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications[J]. Chemical Reviews,2008,108(6):2064-2110.
- [3] SUN Shou-heng, ZENG Hao, ROBINSON D B, et al. Monodisperse MFe_2O_4 ($\text{M}=\text{Fe}, \text{Co}, \text{Mn}$) nanoparticles[J]. J Am Chem Soc,2004,126(1):273-279.
- [4] BRIGGER I, DUBERNET C, COUVREUR P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis[J]. Advanced Drug Delivery Reviews,2002,54(5):631-651.
- [5] GUPTA A K, GUPTA M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications [J]. Biomaterials,2005,26(18):3995-4021.
- [6] LEE J H, HUH Y M, JUN Y, et al. Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging[J]. Nat Med,2007,13(1):95-99.
- [7] LEWIN M, CARLESSO N, TUNG C H, et al. Tat peptide-derivatized magnetic nanoparticles allow in vivo tracking and recovery of progenitor cells[J]. Nat Biotechnol,2000,18(4):410-414.
- [8] LIU Jing-fu, ZHAO Zhong-shan, JIANG Gui-bin. Coating Fe_3O_4 magnetic nanoparticles with humic acid for high efficient removal of heavy metals in water[J]. Environmental Science and Technology,2008,42(18):6949-6954.
- [9] PANKHURST Q A, CONNOLLY J, JONES S K, et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine[J]. J Phys D: Appl Phys,2003,36(13):R167-R181.
- [10] LU An-hui, SALABAS E L, SCHUTH F. Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application[J]. Angew Chem Int Ed Engl,2007,46(8):1222-1244.

[11] XU Hua-jian, Magnetic Nanoparticles: Functionalization and application in biotechnology, biomedicine and organic reaction[J]. Current Organic Chemistry, 2013, 17(10): 1013-1013.

[12] BREWER S H, GLOMM W R, JOHNSON M C, et al. Probing BSA binding to citrate-coated gold nanoparticles and surfaces[J]. Langmuir, 2005, 21(20): 9303-9307.

[13] WANG Yu-jun, WANG Xiang-hua, LUO Guang-sheng, et al. Adsorption of bovin serum albumin (BSA) onto the magnetic chitosan nanoparticles prepared by a microemulsion system[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(9): 3881-3884.

[14] RAVINDRAN A, SINGH A, RAICHUR A M, et al. Studies on interaction of colloidal Ag nanoparticles with bovine serum albumin (BSA)[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 76(1): 32-37.

[15] SWAIN S K, SARKAR D. Study of BSA protein adsorption/release on hydroxyapatite nanoparticles[J]. Applied Surface Science, 2013, 286(1): 99-103.

[16] WANG Zhou-lin, YUE Tian-li, YUAN Ya-hong, et al. Kinetics of adsorption of bovine serum albumin on magnetic carboxymethyl chitosan nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58: 57-65.

[17] SU Peng-fei, CHEN Guo, ZHAO Jun. Convenient preparation and characterization of surface carboxyl-functioned Fe₃O₄ magnetic nanoparticles[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2011, 32(7): 1472-1477.

[18] NORDE W, GIACOMELLI C E. BSA structural changes during homomolecular exchange between the adsorbed and the dissolved states[J]. Journal of Biotechnology, 2000, 79(3): 259-268.

[19] VOICESCU M, IONESCU S, ANGELESCU D G. Spectroscopic and coarse-grained simulation studies of the BSA and HSA protein adsorption on silver nanoparticles[J]. J Nanopart Res, 2012, 14(10): 1-13.

[20] BUJACZ A. Structures of bovine, equine and leporine serum albumin[J]. Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr, 2012, 68(10): 1278-1289.

[21] NADDAF A A, TSIBRANSKA I, BART H J. Kinetics of BSA release from poly (N-isopropylacrylamide) hydrogels[J]. Chem Eng Process, 2010, 49(6): 581-588.

Adsorption Properties of Bovine Serum Albumin on Carboxyl-Functioned Superparamagnetic Nanoparticle

WU Zhi-chao, CHEN Guo, SU Peng-fei

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Using bovine serum albumin (BSA) as the target protein, the effect of time, BSA concentration, pH, temperature on magnetic nanoparticles (MNP) of BSA was investigated, as well as the desorption of BSA from the MNP. The results showed that the temperature nearly had no effect on adsorption process when it was 25-45 °C. It reached the max adsorption amount when pH was 4. 0-4. 5, and the adsorption process fitted the quasi first order kinetic equation and Freundlich isotherm adsorption model. Na₂HPO₄ had a strong effect on the desorption process, but the desorption rate was still low of only 20. 06%. This is because it is not a simple physical interaction but the electrostatic interaction between the particle and BSA.

Keywords: carboxyl magnetic nanoparticles; bovine serum albumin; adsorption; protein immobilization; kinetics

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 刘源岗)