

リゾチームがシリカに吸着することによる電荷不均一性が 凝集挙動に与える影響とその理論解析

The Effect of Charge Heterogeneities on Aggregation Behavior of Silica Particles Adsorbed with Lysozymes and its Theoretical Analysis

○ 黄 逸*, 山口 敦史*, 小林 幹佳**

○ Yi Huang*, Atsushi Yamaguchi*, Motoyoshi Kobayashi**

1. 研究の背景

コロイドシリカ粒子は食品、薬品工業でよく使用されている。また、二酸化ケイ素粒子は環境中に広く分布している。産業並びに環境中のシリカ懸濁液中にはタンパク質をはじめとする有機物が共存しており、シリカ粒子に吸着するケースが多々ある。吸着したタンパク質はシリカ粒子の荷電状況を変化させ、粒子の分散凝集に影響を与える。懸濁液の性質は凝集現象の影響を強く受ける。従って、種々の溶液条件において、シリカとタンパク質の混合系における吸着と凝集挙動を理解することが重要となる。

本研究では、モデルタンパク質としてリゾチームを使用し、シリカ粒子の電気泳動移動度と凝集速度定数に与えるリゾチームの影響を調べた。さらに、DLVO 理論モデル、拡散層電位の分布を考慮したモデル (1-peak model)、表面荷電の不均一性を考慮したモデル (2-peak model) を用い、凝集速度定数の解析を試みた。

2. 試料と方法

2. 1 試料

本研究では日本触媒製シリカ粒子 (シーホースター KE-P30) を用いた。シリカの粒径は 302 ± 20 nm である。タンパク質として鶏卵白由来のリゾチーム (Sigma Aldrich, L6876-10G) を用いた。リゾチームは正に帯電する長球状のタンパク質であり、大きさは $3 \times 3 \times 4.5$ nm である。分子量は 14.3 kDa である。

2. 2 方法

シリカの帯電並びに凝集挙動を電気泳動法と吸光度変化法により評価した。電気泳動実験においては、シリカ濃度を 0.1 g/L、リゾチームとシリカの濃度比を 0-0.024 に変化させた。塩濃度を KCl により 1、10 mM に変化させ、HCl または KOH を用いて、pH を 5 または 7 になるように調製した。調製した直後、懸濁液中のシリカ粒子の電気泳動移動度を Zetasizer NANO-ZS (Malvern) を用いて測定した。得られた電気泳動移動度から、スモルコフスキーの式または緩和効果を含む大島の式を用いて、表面近傍の電位であるゼータ電位を求めた。

吸光度変化実験においては、上記と同様の方法で懸濁液を調製した。調製した直後、HITACHI U-1800 型分光光度計により、凝集に伴う吸光度の時間変化を測定した。吸光度の時間変化から凝集速度定数を計算した。得られた速度定数と DLVO 理論によるモデル、1-peak model、2-peak

*筑波大学大学院 生命環境科学研究科 University of Tsukuba, **筑波大学 生命環境系 University of Tsukuba
キーワード: コロイド・粘土, 土壌の物理化学的性質

model の結果と比較することで、凝集機構を考察した。

3. 結果と考察

凝集速度定数 k とゼータ電位の関係を Fig. 1 に示す。横軸はゼータ電位であり、縦軸は凝集速度定数である。○は実験値を表しており、——は 2-peak model、……は 1-peak model、- - は DLVO 理論モデルの結果である。グラフより、リゾチームの吸着に伴うゼータ電位の変化により、凝集速度にピークが現れること、ピークから離れると速度定数が減少していく傾向が認められる。(A) では、ゼータ電位が負のとき、2-peak model による計算結果は実験結果に一番近い。しかし、等電点以上では、2-peak model による計算値が実験値よりも遥かに高い。その要因として、リゾチームの添加量が等電点を超えると、多くのリゾチームがシリカの表面に吸着してリゾチームの層ができ、結果として、不均一性による引力が弱くなってしまふと考えられる。もう一つ考えられる原因は、吸着による立体安定性効果である。シリカの表面がリゾチームの存在により粗くなり、シリカの凝集を阻害すると考えられる。

(B) の等電点以下では、1-peak model のほうが実験値に近い。pH 7 になると、等電点付近でのリゾチームの吸着量が増加し、粒子表面でリゾチームの層が形成される。この正に帯電する層は不均一性の効果を弱くする。従って 1-peak model のほうが実験に合う。このとき、ゼータ電位の分布は凝集過程に影響すると考えられるが、不均一性の効果はほぼ存在しない。

(C) と (D) では、凝集速度定数の最大値と等電点が一致しないことが認められる。この実験で確認された現象は 2-peak model でしか表現できない。しかし、2-peak model による予測は実験値と定量的には一致しない。これはゼータ電位の見積もりの誤差、あるいは不均一性の効果を過剰に評価していることによるものだと考えられる。

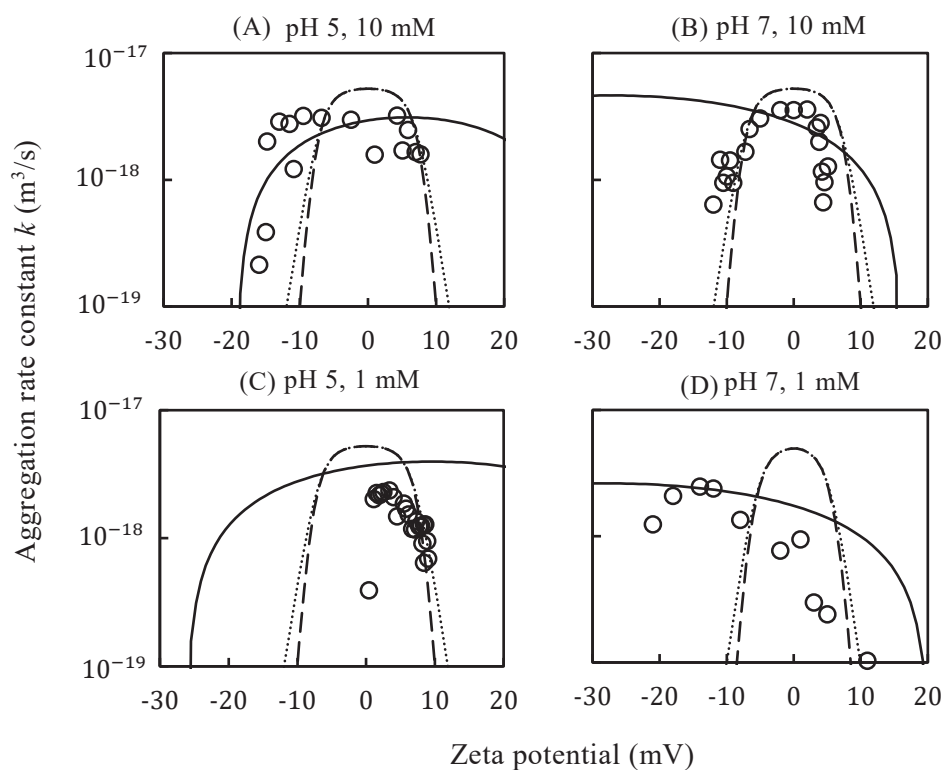


Fig. 1 Aggregation rate constant k of experiment (○), 2-peak model (——), 1-peak model (……) and DLVO theory (- -). The KCl concentration and pH are: (A) 10 mM, pH 5; (B) 10 mM, pH 7; (C) 1 mM, pH 5; (D) 1 mM, pH 7. DLVO theory cannot describe the aggregation correctly.