

# 明胶 - 银的胶态行为研究\*

申德君

张朝平\*\*

(贵阳高等师范专科学校生化系, 贵阳 550008) (贵州大学理工学院化学系, 贵阳 550025)

**摘要:** 分别用 UV/VIS、IR 光谱、TEM 和电导、电泳等方法研究了明胶蛋白同银离子间的相互作用。研究了介质的 pH、温度等条件对明胶同银(I)离子作用的影响;明胶-银凝胶体系在 233 和 422 nm 有最大吸收;银氨配离子在碱性条件下还原为银粒而被明胶吸附形成超细银凝胶。胶团本身带正电荷,胶粒粒径在 30 nm 左右,双电层的电动电位为 0.014 ~ 0.016 V。

**关键词:** 明胶; 银; UV/VIS; TEM; 电导; 电泳; 电动电位

**中图分类号:** O648.17 **文献标识码:** A

## 1 引言

明胶是从动物的皮或骨中提取的蛋白质,没有固定的分子量,一般为  $1.5 \sim 25 \times 10^4$  Da。它不仅含有大量的氨基酸和肽链,还含有其它微量物质。明胶广泛用于食品、医药及照相过程。据报道,明胶对 AgCl 溶胶的光谱有增感作用<sup>[1]</sup>,对  $Ag_4^{2+}$  有稳定功能<sup>[2]</sup>,一些微量的金属离子,诸如  $Ca^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$  等均能与明胶中的蛋白组分发生键合作用<sup>[1,3]</sup>。研究认为,卤化银成像过程中的许多问题属于微观和介观相的研究范畴<sup>[1]</sup>,卤化银的敏化中心、潜影斑、敏化染料的聚集体和显影中心等均属介观相。在多肽、蛋白质和氨基酸的表面增强拉曼光谱(SERS)中,银凝胶起着十分重要的作用<sup>[4]</sup>。金属银对蛋白质、DNA 的染色过程实际上也是一个蛋白-Ag 凝胶的形成与还原过程<sup>[5]</sup>。因此研究明胶蛋白同银的胶态行为对研究照相过程、银对蛋白质的染色机理及银团簇的生长、聚集和稳定作用均有重要意义。

我们分别用 UV/VIS、IR 光谱、TEM、SEM 和电导、电泳等方法研究了明胶蛋白同银(I)离子间的相互作用;考察了体系的 pH 值、温度、反应时间及各种物料对明胶-银凝胶的影响。证明明胶同银(I)离子的反应要在 pH = 10 ~ 12、温度高于 60℃ 下进行;温度不同,反应时间差异甚大;明胶同银(I)离子的反应是一个自动催化还原过程,且在任何条件下均是一个凝胶体系,于 232.8 和 422.1 nm 有强的吸收峰。随温度升高,吸收峰向长波方向移动,但高到 60℃ 以后,吸收峰渐向短波偏移。说明明胶同银(I)离子在低于 60℃ 时形成一种较为复杂的多核配合物,而高于 60℃,则将是配合物中的 Ag(I)离子被还原为银粒而形成超细银凝胶。TEM 测量表明,胶粒粒径大约为 30 nm;电动电位为 0.014 ~ 0.016 V,说明形成了双电层。

## 2 实验部分

### 2.1 主要试剂与仪器

\* 贵州省科学基金[98(3078)]资助课题。

\*\* 通讯联系人, Email: zhchaop@263.net

收稿日期: 2000-05-11; 修回日期: 2000-12-25。

$\text{AgNO}_3$  (基准物质), 配成 0.100 mol/L 溶液后, 再配成 0.010 mol/L 的  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$  液备用; 明胶 (C. P., 上海化学试剂公司,  $\text{pH} = 5.5 \sim 7.0$ , 系骨质酸性明胶) 0.5 g 配成 0.5% 的甘油-水溶液 (溶液  $\text{pH} = 6.3$ ); 三羟甲基氨基甲烷 (tris. A. R.) 1.0% 的水溶液, 在酸度计上测定准确  $\text{pH}$  值, 并用  $\text{HNO}_3$  和  $\text{NaOH}$  来调节所需  $\text{pH}$  值; 进口分装的十二烷基硫酸钠 (SDS) 配成 2% 溶液备用; 甲醛 (A. R.) 0.5% 水溶液。其余试剂均为 A. R 级, 实验用水为二次蒸馏水。

UV-265 型紫外分光光度计 (日本岛津); 722 光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂); ORION 818 型酸度计 (USA); JEM-2000FXII 型高分辨率透射电镜 (日本理光); DDS-12 数字电导率仪 (浙江萧山仪器标准件厂); DY-W1 型电泳仪 (湖南兴化无线电元件五厂); Perkin-Elmer FT-IR1730 红外光度计 (USA); CS501 型超级恒温器 (重庆试验设备厂)。

## 2.2 一般操作

在 25 mL 容量瓶中, 依次加入 0.5 mL 0.5% 明胶溶液, 1 mL 0.01 mol/L  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$  液, 0.5 mL 1% tris 缓冲液, 0.5 mL 0.5% 甲醛溶液, 0.5 mL 2% SDS 溶液。震荡均匀后, 置于  $(60 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  恒温水浴中反应 2 h。取出后, 即刻加入 2 mL 2 mol/L HAC 溶液终止反应, 并使最后体积为 25 mL。取出 1 mL 稀至 10 mL, 用以测定 UV/Vis 光谱, 其余样品用以测定电导和电泳。同时吸取数滴凝胶于载片上, 在真空干燥箱中干燥后, 用以测定 SEM; 将凝胶密封数天后, 待其沉降, 聚集, 于  $14 \times 10^3$  r/min 的超速离心机上分离出沉淀, 丙酮和水多次洗涤, 干燥后, 测其 IR 光谱 (KBr 压片)。

## 3 结果和讨论

### 3.1 UV/Vis 光谱

图 1 为明胶-银凝胶体系的 UV/Vis 光谱。从图上看, 明胶本身于 221.2 和 270.1 nm 有吸收峰, 前者是由于明胶蛋白质分子中的氨基酸残基和氢键的吸收; 后者来源于芳香族的残基<sup>[6]</sup>。但在明胶-银凝胶体系中, 吸收峰分别位于 232.8 和 422.1 nm, 与单一明胶体系相比, 吸收峰明显红移, 且 422 nm 的带显然是由于明胶中某些蛋白质分子与  $\text{Ag}(I)$  离子发生键合作用而形成多核配合物, 再被甲醛还原为超细银粒的聚合物所致。当我们把反应温度和  $\text{pH}$  等条件固定, 改变反应时间, 测其 UV/VIS 光谱 (图 2), 发现随反应时间增加, 凝胶体系的吸收峰增强, 且逐渐向长波方向移动。30 min 前, 体系几无明显的吸收峰, 40 min 时, 出现一个宽带, 只在到了 50 min 后, 吸收峰基本稳定在 422 nm; 再增加反应时间, 吸收峰又逐渐向短波方向移动, 最后稳定在 408 nm 左右。到了 70~90 min, 吸收峰已近重合。说明明胶-银可能已聚集成  $\text{Ag}_n$  簇, 明胶则吸附于其上。从现象上看也确是如此。体系的颜色从浅黄-深黄-橙黄-橙红-棕红色转变。说明此凝胶体系随反应时间的增加, 逐渐由蛋白银配合物到

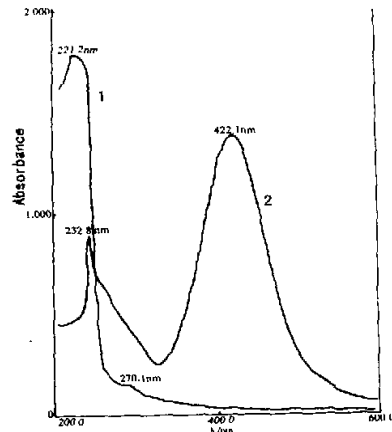
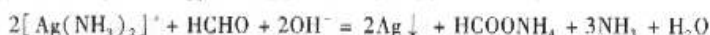


图 1 明胶-银的 UV/Vis 光谱  
1. 明胶溶液 (水参比); 2. 明胶-银 (明胶溶液参比)  
Fig. 1 The UV/Vis spectra of Gelatin-Silver  
1. Gelatin solution (reference:  $\text{H}_2\text{O}$ )  
2. Gelatin-Silver (reference Gelatin solution)  
Temperature:  $(60 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ .

还原为单质银,再聚集而成  $Ag_n$  簇。整个过程可表示为:



因此,当  $Ag^+$  被还原为  $Ag^0$  而聚集之后,明胶被吸附于  $Ag$  凝胶上面而形成多孔疏松的复合型  $Ag_n$  簇。TEM 照片表明,该  $Ag_n$  簇的直径约为 30 nm(图 3)。

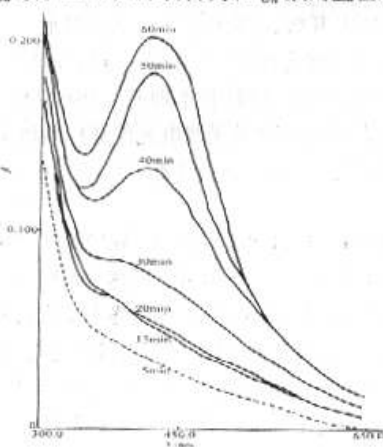


图2 明胶-银在不同反应时间(min)条件下的UV/Vis光谱

Fig.2 The UV/Vis spectra of Gelatin-Silver in difference reactive time (min)



图3 明胶银质点的TEM图像

Fig.3 The TEM image Gelatin-Silver particle

### 3.2 明胶-银的自动催化还原过程

研究了明胶-银在 SDS 和甲醛作用下的生色机理和还原过程。SDS 可减少明胶与银反应时银凝胶的聚沉,同时阻止明胶中蛋白质分子的折叠结构发生变性作用<sup>[7]</sup>。在给定条件下,用乙酸来终止反应,得到一系列色阶,绘制时间-吸光度图(图 4 a、b、c、d),这些曲线充分显示了它们的“S”形本质是一种自动催化过程<sup>[8]</sup>。为了将不同反应温度时的反应性进行比较,用连续测量  $A_{422}$  吸光度的方法,分析反应的原始状态。以  $\log A_{422}$  对时间(min)作图,得到一系列直线(图 4 a'、b'、c'、d')。直线的斜率取决于反应温度。对同一浓度的明胶和银,反应温度愈高,直线斜率愈大,说明反应速率愈大。不同 pH 条件下的 UV/VIS 光谱测量表明,最适反应的 pH 为 10~12(图 6. 3)。当 pH 低于 10 时,最大吸收范围在 230~270 nm;当 pH 高于 10,光谱的

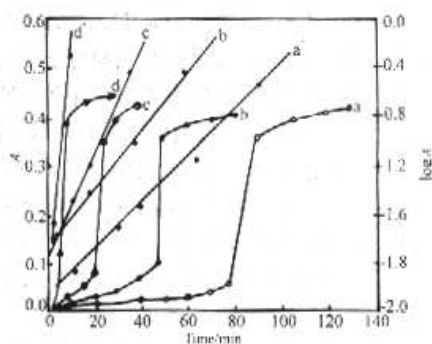


图4 用连续测量 422 nm 吸光观测明胶-银的反应(曲线 a、b、c、d)和分析反应的原始相(曲线 a'、b'、c'、d')

a, a': 50°C; b, b': 60°C; c, c': 70°C; d, d': 80°C;  
Fig.4 Overall time courses of the gelatin-silver reaction Absorbances at 422nm relative to maximal are plotted against (a, b, c, d) and initial phase analysis of the reaction (a', b', c', d').

特性与溶液中 Ag 粒的大小相匹配,最大吸收峰在 410 ~ 424 nm。这些结果可认为是形成了依赖于 pH 的多核金属配合物,这与研究 Ag-EDTA 配合物体系 (pH = 10.1,  $\lambda_{max}$  = 405 nm; pH = 5.7,  $\lambda_{max}$  = 375 nm)<sup>[9]</sup> 以及用 NaBH<sub>4</sub> 还原 AgNO<sub>3</sub> 而生成单一胶态 Ag 微粒 (pH = 9.3,  $\lambda_{max}$  = 400 nm)<sup>[10]</sup> 和 Ag(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub><sup>+</sup> ( $\lambda_{max}$  = 320 nm) 有差异,但和氨基酸以及明胶同 AgNO<sub>3</sub> 的反应体系极为相似<sup>[2]</sup>。说明在所研究的体系中,最后聚集的微粒大多为 Ag<sub>4</sub><sup>2+</sup> 团簇,而且这种带正电荷(为电泳所证实)的团簇不是孤立的,它的表面与明胶中的蛋白质分子已发生一定键合作用。IR 光谱也可以说明。

### 3.3 明胶-银的 IR 光谱和凝胶体系的电导

对比明胶和 Ag 凝胶微粒的 IR 光谱(图 5)不难看出,除了 OH<sup>-</sup> 的吸收峰(3436 cm<sup>-1</sup>)一致外, -CH<sub>2</sub>、-CH<sub>3</sub>(2920、2851 cm<sup>-1</sup>) 的峰已发生位移。明胶中 1639 cm<sup>-1</sup> (酰胺 I 带) 在 Ag 凝胶中已移至 1631 cm<sup>-1</sup>, 同时保留了一  $\delta_{CH}$   $\delta_{CH_2}$  (1402 cm<sup>-1</sup>) 的峰。明胶中的其余吸收带, 在 Ag 凝胶中几乎不存在, 这表明, 明胶除吸附在银微粒的表面外, 还有相当的分子与 Ag<sup>+</sup> 发生了键合, 从而使明胶中可被激发的基团为 Ag 粒占据, 故吸收带几乎被淹没。电泳测试表明, 该胶团向负极移动, 说明胶团带正电荷。其组成似应为 Ag<sub>n</sub><sup>(n-2)+</sup>。我们同时测定了不同条件下凝胶的电导  $\delta$ , 明显的看出, 与吸光度随各种条件的改变而变化的趋势基本一致(图 6)。但电导  $\delta$  仅为几个 ms/cm, 表明胶团所带电荷不大。而且各种条件的改变对  $\delta$  的影响差别较大。其中对体系  $\delta$  影响最大的是 pH 和 tris 的浓度(图 6.3'7'), 两者对吸光度 A 和电导  $\delta$  的影响几乎成喇叭形。甲醛和 [Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 的加入浓度对 A 有较大影响, 但对  $\delta$  的影响确不大(图 6.5 5', 6 6')。这些结果表明, 明胶与银确是在形成复杂的配合物, 然后还原为明胶-金属银凝胶。每种物质的加入量均有一最适范围, 其中以明胶的最适范围最小(图 6.4 4'); [Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 和 HCHO 的范围最大。这不难解释, 因为明胶中有大量的氨基酸和肽链, 其配位位置较多, 可与大量的 Ag(I) 离子配位, 相应的就要耗掉较多的还原剂 HCHO(明胶中的泛醌自由基也可将 Ag<sup>+</sup> 还原<sup>[12]</sup>)。

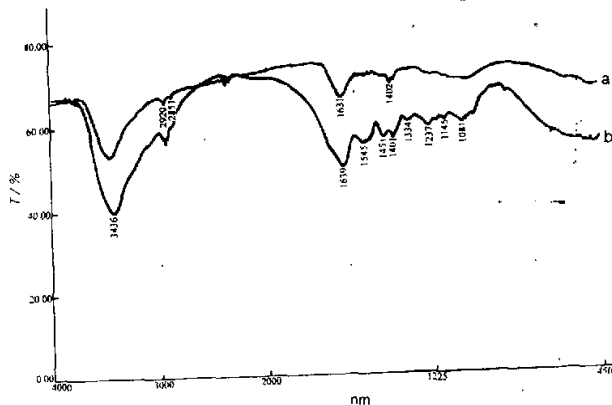


图 5 明胶和明胶-银凝胶的 IR 光谱(a. 明胶; b. 明胶-银)

Fig. 5 IR spectrum of the Gelatin and Gelatin-Silver Gel particle

a. Gelatin; b. Gelatin-Silver.

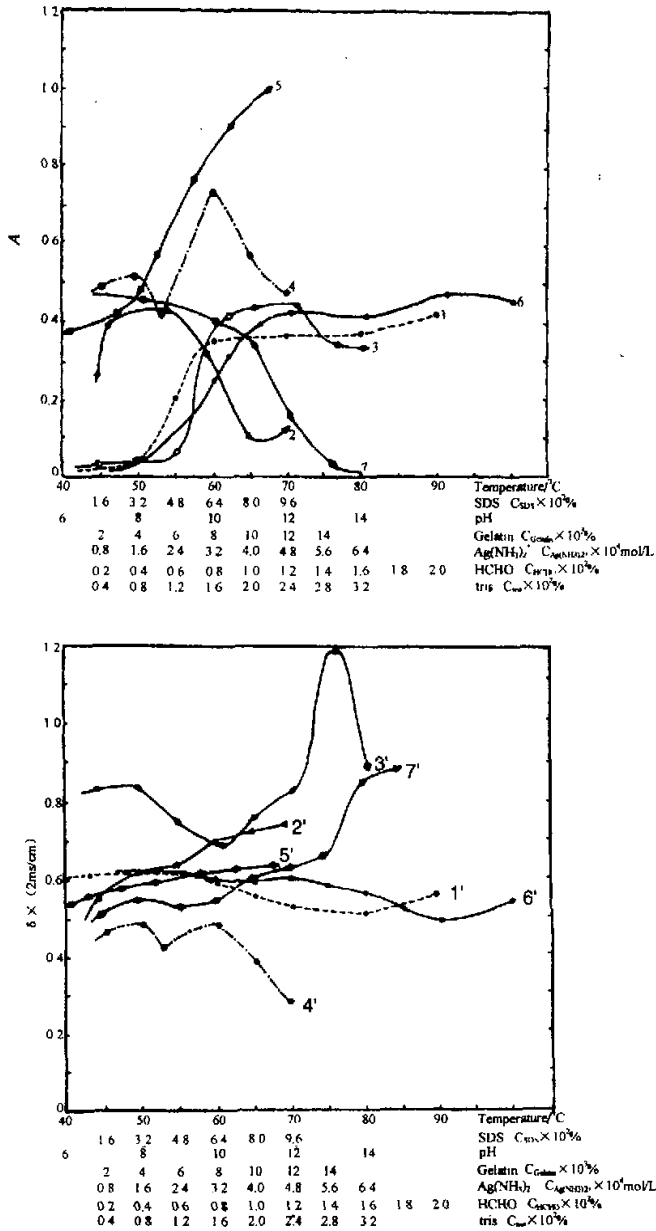


图6 明胶-银凝胶在不同组分、不同条件和不同浓度下的吸光度和电导  
 1. Temp. ~ A, 1'. Temp. ~  $\delta$ ; 2. SDS ~ A, 2'. SDS ~  $\delta$ ; 3. pH ~ A, 3'. pH ~  $\delta$ ;  
 4. Gelatin ~ A, 4'. Gelatin ~  $\delta$ ; 5.  $[Ag(NH_3)_2]^+$  ~ A, 5'.  $[Ag(NH_3)_2]^+$  ~  $\delta$ ;  
 6. HCHO ~ A, 6'. HCHO ~  $\delta$ ; 7. tris. ~ A, 7'. tris. ~  $\delta$

Fig. 6 The absorptions and conductances of Gelatin - Silver Gel under multicomponent concentration

3.4 双电层和 $\zeta$ 电位

用电泳法进一步测定了凝胶体系的电动电位( $\zeta$ ),用下述公式计算 $\zeta$ 值<sup>[13]</sup>:

$$\zeta = 4\pi\eta/D \cdot ul/E \cdot 9 \times 10^4 \text{ V} \quad (4)$$

式中,  $D$  为分散介质的介电常数(81);  $\eta$  为分散介质的黏度( $\eta_{20} = 0.010$  poise);  $E$  是加于电泳测定管两端的电压;  $u$  是在  $t$  (sec) 内电泳测定管中胶体溶液界面在电场作用下移动距离(mm)之比;  $l$  是两电极间距离(mm)。结果列于表1。

表1 明胶-银凝胶体系的电动电位(60°C)  
Table 1 The electrokinetic potential of Gelatin-Silver colloid system (60°C)

Heat time/min	Electrophoresis time/s	Voltage $E$ /V	Electrode distance/mm	Boundary surface shift distance/mm	$U$ /(cm/sec) and $\zeta$ /V
15	4.3	120	53	10	$2.3 \times 10^{-4}$ 0.015
30	4.0	120	53	10	$2.5 \times 10^{-4}$ 0.016
45	4.0	120	53	10	$2.5 \times 10^{-4}$ 0.016
60	4.5	120	53	10	$2.2 \times 10^{-4}$ 0.014
60(no [Ag(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> )	66.0	200	53	4.5	$6.2 \times 10^{-6}$ $2.4 \times 10^{-4}$
60(add. half [Ag(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> )	7.0	120	53	10	$1.4 \times 10^{-5}$ 0.0093

在明胶体系中,当无[Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>加入时, $\zeta$ 仅0.24 mV,当[Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>加得不充分时, $\zeta$ 也较小,只有当[Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>加到最适量时, $\zeta$ 基本稳定在0.014~0.016 V。这说明Ag微粒与明胶间形成了双电层。

## 参 考 文 献

- [1] Liu Chunyan (刘春艳), Chen Xiyi (陈习意), Wang Yujie (王宇杰). *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 1997, **10**: 43
- [2] Zhao Xiang (赵翔), Cui Weidong (崔卫东), Peng Bixian (彭必先). *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 1999, **12**: 333
- [3] Huang Bixia (黄碧霞), Yin Yimei (尹屹梅), Xu Luo (徐络), et al. *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 1999, **12**: 339
- [4] Herne T M, Ahern A M, Garrell R L. *Anal. Chim. Acta*, 1991, **246**: 75; *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**: 846
- [5] Bassam B J, Anolles C C, Cressuoff P M. *Anal. Biochem.*, 1991, **196**: 80
- [6] White A, Handler P, Smith F L. *Principles of Biochemistry*. Academic press, London, Ed. 15, 1973, Chapter 7
- [7] Moriyama Y, Sado Y, Takeda K. *J. Colloid Interface Sci.*, 1993, **156**: 420
- [8] Kurosaki T, Tautsui K. *Biochem. Biophys. Res. Commu.*, 1984, **123**: 729
- [9] Subramanian S, Nedeljko J M, Patel R. *J. Colloid Interface Sci.*, 1992, **150**: 81
- [10] Kim K J, Chen V, Fane A G. *J. Colloid Interface Sci.*, 1993, **155**: 347
- [11] Zhang Zongtao (张宗涛), Zhao Bin (赵斌), Hu Liming (胡黎明), et al. *Acta Chimica Sinica* (化学学报), 1996, **54**: 379
- [12] Zhao Baolu (赵保路), Xin Wenjuan (忻文娟), Chen Yuting (陈雨亭), et al. *Chin. J. Biological Phys.*

(生物物理学报), 1994, 10: 170

- [13] Glasstone S. An Introduction to electrochemistry(电化学概论,下册), Jia Lide(贾立德), Li Dechun(李德春), Zhang Lianke(张联科), *et al.* . Ed. Science Press(科学出版社), Beijing(北京), 1959: 637

## Investigation of Colloid Character for Interaction Gelatin with Silver\*

Shen Dejun

(Department of Biochemistry, Guiyang Higher Normal Training School, Guiyang 550008)

Zhang Chaoping\*\*

(Department of Chemistry, College of Science and Technology, Guizhou University, Guiyang 550025)

**Abstract** The interaction for Gelatin with Silver(I) ion have been developed by UV/Vis, IR spectra, TEM and conductance. electrophoresis methods respectively. Where were also investigated that the effect of pH medium, temperature and multicomponent concentration on interaction gelatin - silver. It is an autocatalysis reduction process that reaction of gelatin - silver, and a colloid system on any condition. It has maximum absorbance at 233 and 422nm. It is formed a multinucleate complex under suitable condition first, then reduced to metallic Ag particle and collected to superfine colloidal gel, which is carried on positive charge, diameter of colloid particle about is 30nm and electrokinetic potential of double electrode layer is 0.014 ~ 0.016V.

**Key words** Gelatin, Silver, Colloid, Electrokinetic potential, UV/Vis, TEM

\* Project supported by the National Natural Science Foundation of Guizhou.

\*\* To whom correspondence should be addressed, Email address: zhchaop@263.net