

CTA 中空纤维亲和色谱的制备及其吸附性能

李淑琴, 武皎洁, 周君婕, 魏永明*, 许振良, 杨虎

(化学工程联合国家重点实验室, 华东理工大学, 功能膜科学与工程研究中心, 上海 200237)

摘要: 为探究三醋酸纤维素(CTA)中空纤维亲和色谱的吸附性能,以 CTA 中空纤维膜为基膜,通过水解、1,4-丁二醇二缩水甘油醚(EGDE)交联活化、接枝 1,6-己二胺(HMDA)作为间隔臂对膜表面进行改性,然后以亚氨基二乙酸(IDA)为配基,螯合 Cu^{2+} 制备了改性 CTA 中空纤维亲和色谱. 对于 γ -球蛋白的静态吸附研究表明:当吸附液 γ -球蛋白质量浓度为 1 mg/mL、离子浓度为 0.2 mol/L 和 pH=8 时,有最大静态吸附容量 2.4 mg/cm³. 且其吸附过程符合 Langmuir 等温吸附模型. 对于 γ -球蛋白的动态吸附研究表明:在实验研究的范围内,不同流速下的穿透曲线都呈现出类似“S”型,流速并不影响 CTA 中空纤维亲和色谱上 γ -球蛋白的结合能力; γ -球蛋白的动态吸附容量随其初始浓度的增加而增加.

关键词: 表面改性; CTA 中空纤维亲和色谱; 静态吸附; 动态吸附

中图分类号: TQ028.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-8924(2024)02-0097-10

doi: 10.16159/j.cnki.issn1007-8924.2024.02.012

1975 年 Porath^[1]首次提出固定金属亲和色谱(IMAC),其利用蛋白质与金属离子之间的亲和性,在不同类型的基质上螯合 IDA/次氨基三乙酸(NTA)-Cu/Ni/Zn/Co 柱^[2-7]等,用于蛋白质^[8-11]的亲吸附. 膜色谱与常用填充床色谱相比,降低了操作压力,避免了颗粒内扩散,仅保留对流扩散^[12-16],大大减小了进料流速对穿透曲线的影响^[17].

平板膜作为 IMAC 的固定相存在的主要问题有:孔径分布较宽,孔道结构复杂容易导致料液流动不均;以及孔道小容易导致孔道堵塞^[18-19]. 虽然多层平板膜叠加成的膜堆形式^[20]能减小膜孔径分布的影响,但随之而来的问题是压降增加,孔道的贯通性变差,更容易被堵塞.

使用中空纤维膜的内腔作为亲和色谱的微通道,一方面保证了孔道尺寸的均一性从而提高了料

液流动的均匀性,另一方面可以有效提高孔道的贯通性从而克服堵塞问题. 常见中空纤维膜的内径为 200~500 μm ,为保证吸附容量,需要采用更小内径的中空纤维膜. 因此,笔者以内径 50 μm 左右的 CTA 中空纤维膜作为亲和色谱的微通道,对通过膜表面改性、螯合 Cu^{2+} 制备的 CTA 中空纤维亲和色谱进行研究.

1 实验部分

1.1 实验试剂及仪器

实验试剂:氢氧化钠,甲醇,1,4-丁二醇二缩水甘油醚(EGDE),二甲基亚砜(DMSO),1,6-己二胺(HMDA),亚氨基二乙酸(IDA),碳酸钠,五水硫酸铜,氯化钠,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司; γ -球蛋白,组氨酸,均为优级纯,百盈利创生

收稿日期: 2023-08-28; 修改稿收到日期: 2024-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(21978082,22278132,22078092)

第一作者简介: 李淑琴(1997-),女,湖北仙桃市人,硕士生,研究方向为分离膜的制备及应用研究. * 通讯作者, E-mail: ymwei@ecust.edu.cn

引用本文: 李淑琴,武皎洁,周君婕,等. CTA 中空纤维亲和色谱的制备及其吸附性能[J]. 膜科学与技术,2024,44(2):97-106.

Citation: Li S Q, Wu J J, Zhou J J, et al. Preparation and adsorption properties of CTA hollow fiber affinity chromatography[J]. Membrane Science and Technology(Chinese), 2024, 44(2): 97-106.

物科技(北京)有限公司。

实验仪器:电子天平,YP1002,上海精科天美科学仪器有限公司;HH-2 型数显恒温水浴锅,HDG-9624A 型电热鼓风干燥箱,均为上海一恒科学仪器有限公司;蠕动泵,BT100,保定融柏恒流泵制造有限公司;紫外可见分光光度计,UV-1800,岛津仪器(苏州)有限公司。

1.2 CTA 平板膜与中空纤维膜的制备

CTA 平板膜与中空纤维膜的制备过程参考相关文献^[21-22]。CTA 平板膜的膜厚为 200 μm 左右,平均孔径为 0.089 μm ;CTA 中空纤维膜的内径为 50 μm ,外径为 110 μm 。

1.3 CTA 平板膜的表面改性

为了方便膜材料表面改性过程的表征,以 CTA 平板膜进行表面改性。

水解:称取 0.8 g 氢氧化钠于 200 mL 容量瓶中,配制成 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液,然后加入质量浓度 10 g/L 的甲醇。将 CTA 平板膜剪成 1 cm \times 1 cm 大小的尺寸,放入水解液中,调节温度为 30 $^{\circ}\text{C}$,0.5 h 后取出,并用大量去离子水冲洗,保存留用。

交联活化:将水解之后的膜放在浓度为 4 mol/L 的 NaOH 溶液中,先在室温下预溶胀处理 10 min,然后用移液管加入 6.5 mL 的 DMSO、8 mL 的 EGDE;在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 2 h,取出反应后的膜并用大量的去离子水冲洗干净。

接枝间隔臂:配制 1 mol/L 的 HMDA 水溶液,将 pH 值调节至 12,然后将活化后的膜放入其中并于 45 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 12 h,取出反应后的膜并用大量的去离子水冲洗干净。

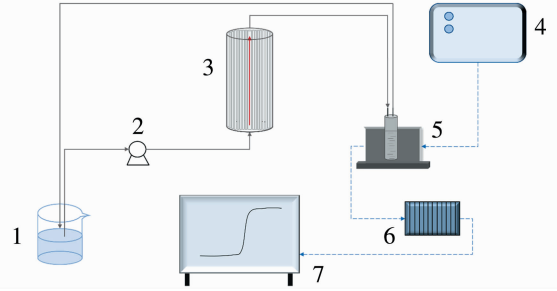
1.4 表面改性 CTA 膜的表征

分别使用扫描电子显微镜(SEM)表征改性后膜的断面形貌,X 射线光电子能谱(XPS)用于分析改性后膜表面的元素,傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)用于分析改性后膜表面的官能团。

1.5 CTA 中空纤维亲和色谱的吸附性能

测试用组件内的中空纤维膜外侧全部用环氧树脂封装,确保料液仅在膜组件内中空纤维膜的内腔做轴向流动,并与如图 1 所示的装置连接,操作压力为 0.1 MPa,然后按照 1.3 的步骤进行改性,改性后的 CTA 膜使用环氧氯丙烷进行活化,活化后用 500 mL 去离子水冲洗干净,用于螯合配体的偶联;接着配制 1 mol/L 的 IDA 溶液,用 1 mol/L 的

Na_2CO_3 进行溶解,并调节 pH=9,在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 12 h,结束后用大量的去离子水冲洗;配制 0.1 mol/L、pH=7 的 Cu^{2+} 溶液,在流速为 1 mL/min、室温的条件下螯合 Cu^{2+} 直至饱和,然后用大量的去离子水冲洗,直至冲洗下来的溶液中 Cu^{2+} 的吸光度小于 0.005,最后用于 γ -球蛋白的吸附研究,其中具体涉及到的反应如图 2 所示。



1. 料液;2. 蠕动泵;3. 中空纤维亲和色谱;4. 紫外分光光度计光源;5. 比色皿;6. 模数转换器;7. 计算机
图 1 CTA 中空纤维亲和色谱的运行装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the operating device for CTA hollow fiber affinity chromatography

1.6 γ -球蛋白静态吸附容量和动态吸附容量的计算

γ -球蛋白静态吸附容量的计算如式(1)所示^[23]:

$$Q_{\text{SBC}} = \frac{(C_0 - C)V}{V_m} \quad (1)$$

式中: Q_{SBC} (mg/cm³)表示 γ -球蛋白的静态吸附容量; C_0 (mg/mL)表示 γ -球蛋白溶液的初始质量浓度; C (mg/mL)表示 γ -球蛋白溶液吸附后的质量浓度; V (mL)表示用于吸附的 γ -球蛋白溶液的体积; V_m (cm³)表示中空纤维亲和色谱的体积。

γ -球蛋白动态吸附容量的计算如式(2)所示^[24]:

$$Q_{\text{DBC}} = \frac{\int_{V_0}^{V_{10\%}} (C_0 - C) dV}{V_m} \quad (2)$$

式中: Q_{DBC} (mg/cm³)表示 γ -球蛋白的动态吸附容量; V_0 (mL)表示死体积(即色谱柱内的流动体积); $V_{10\%}$ (mL)表示穿透体积(即出口处 γ -球蛋白溶液的浓度为初始浓度的 10%时对应的体积)。

当改变吸附条件时,需要对亲和色谱进行洗脱和再生。配制 pH=4.5 的 20 mmol/L 的磷酸盐缓冲液、0.5 mol/L 的 NaCl 溶液和 20 mmol/L 的组氨酸(His)混合液作为 γ -球蛋白的洗脱液,洗涤速

率为 1 mL/min,当中空纤维亲和色谱出口处 γ -球蛋白溶液的吸光度值小于 0.005 时,停止洗脱,然后

分别用 0.1 mol/L 的 HCl 和 0.1 mol/L 的 NaOH 依次流经亲和色谱,进行亲和色谱的再生。

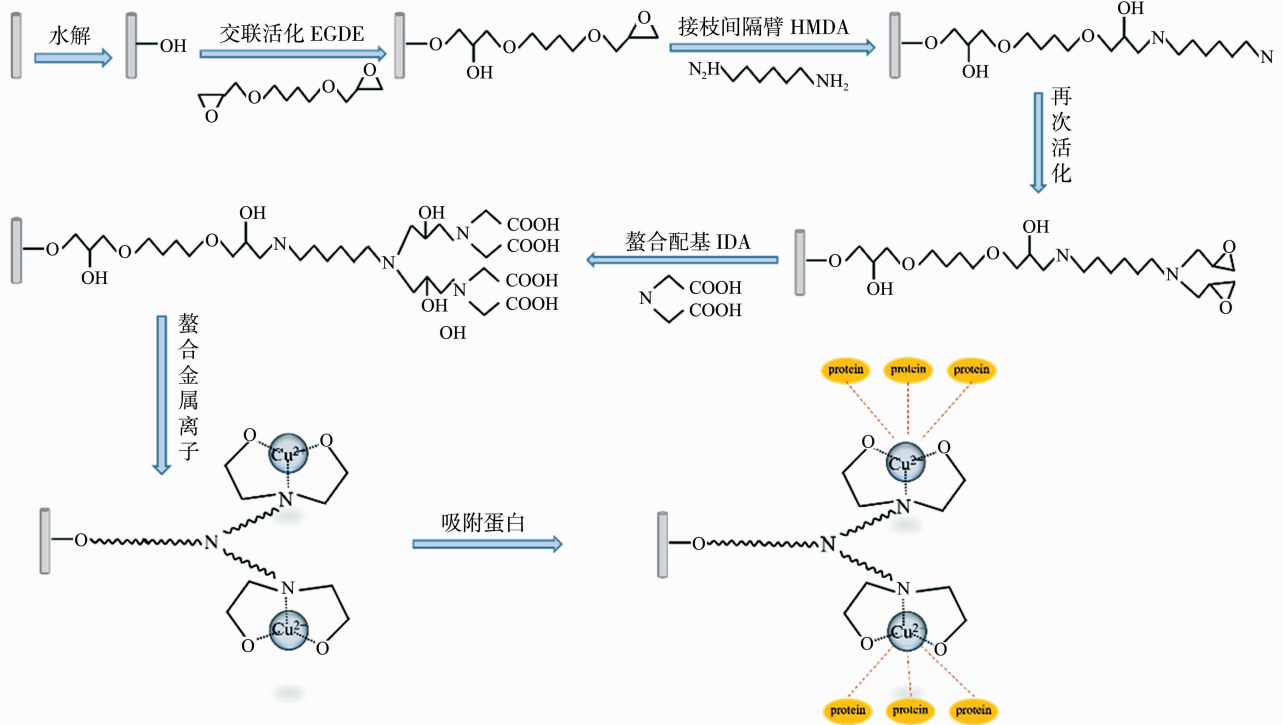


图 2 CTA 中空纤维亲和色谱的制备及其吸附蛋白过程

Fig. 2 Preparation of CTA hollow fiber affinity chromatography and adsorption of proteins

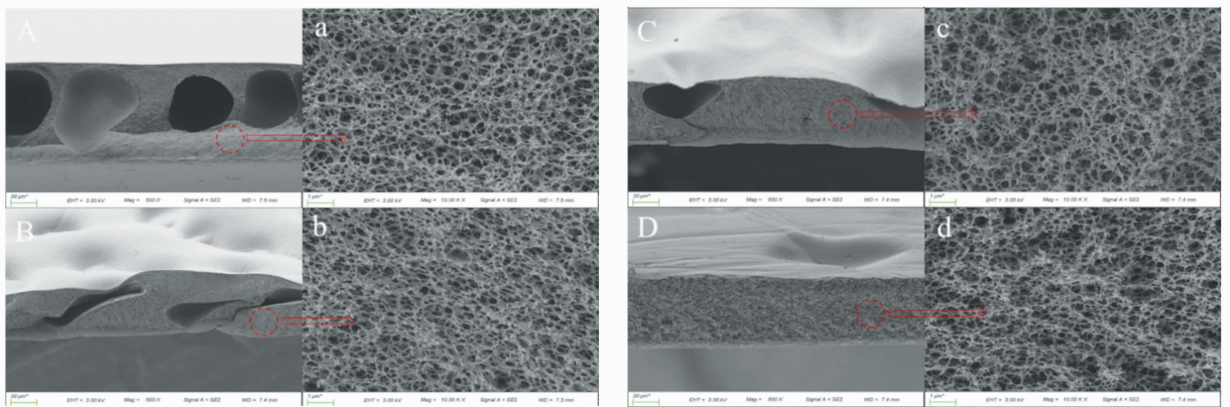
2 结果与讨论

2.1 改性 CTA 平板膜的表征分析

2.1.1 改性 CTA 平板膜的断面结构分析

图 3 中 A~D 为 CTA 基膜和依次经历水解、交联活化和接枝间隔臂之后的膜的断面结构形貌, a~d 为相对应断面结构放大图。由图 3 可以看到,

CTA 基膜的断面结构中有较大的孔洞,其余部分都是海绵状孔,且膜表面比较平整,依次经历水解、交联活化和接枝间隔臂后,部分的孔洞出现了不同程度的坍塌,同时也导致整个断面结构的厚度有轻微的减小;由图 3a~3d 看到,各个阶段膜的断面结构内部的海绵状孔无明显变化,说明改性主要是在膜表面进行。



A, a:CTA 基膜;B, b:水解后;C, c:交联活化后;D, d:接枝间隔臂后

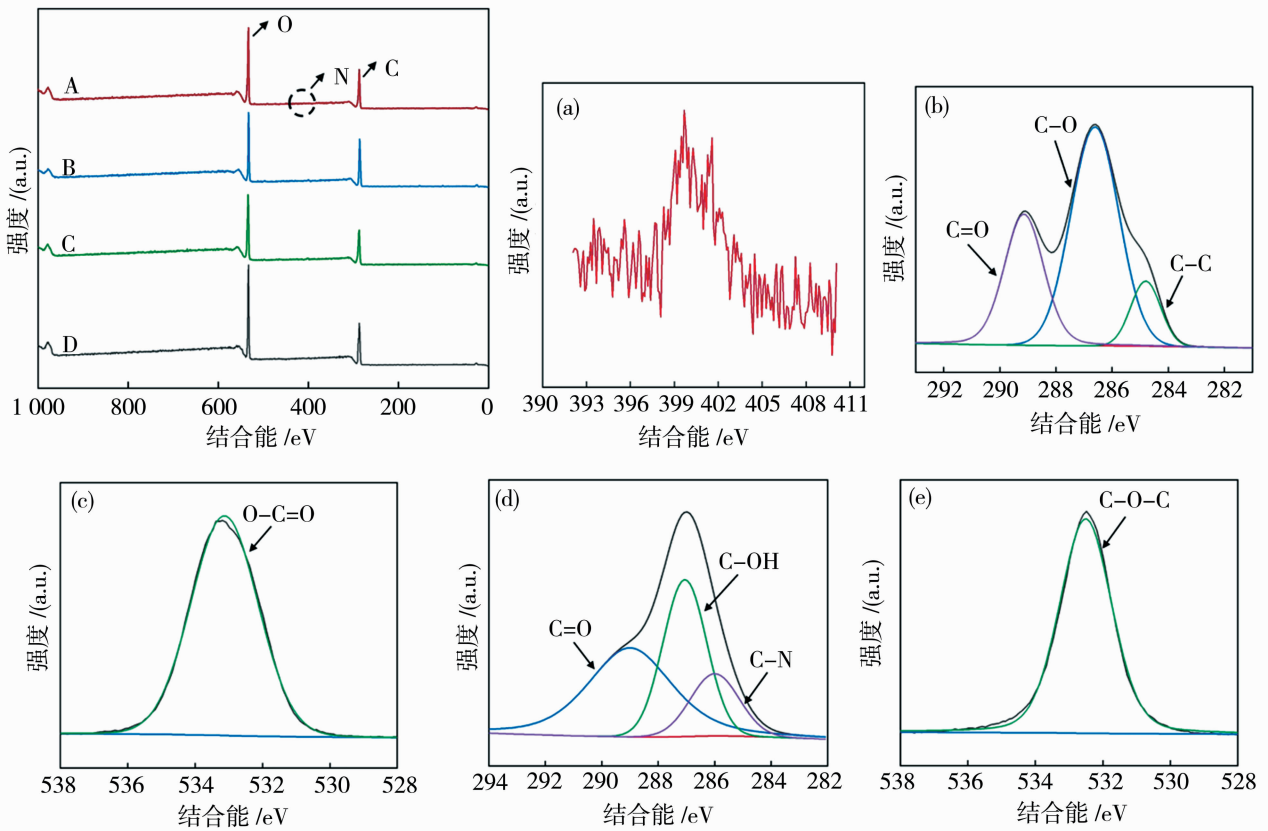
图 3 改性 CTA 膜的断面结构

Fig. 3 Cross-section structure of modified CTA membrane

2.1.2 改性 CTA 平板膜的 XPS 分析

图 4 为改性 CTA 膜的 X 射线光电子能谱图,膜表面各元素的含量如表 1 所示,其中 CTA、CTA-OH、CTA-EGDE 和 CTA-EGDE-HMDA 分别表示基膜、水解、交联活化和接枝间隔臂之后的膜.从表 1 可以看出,交联活化后的 CTA 膜中碳元素摩尔分数增加到 64.76%,氧元素摩尔分数下降到 35.24%,这是因为 EGDE 中含有较长的碳链结构,碳/氧比大于 CTA 基膜;此外,接枝间隔臂后的膜上出现了氮元素,摩尔分数为 1.44%,说明 HMDA 的接枝成功.为进一步说明交联活化和接枝间隔臂的成

功,对总谱图进行分峰拟合,图 4(b)和 4(c)分别为 CTA 基膜的 C 1s 和 O 1s 峰的拟合曲线,谱图中结合能为 284.8、286.5、289 和 533.2 eV 处的峰,分别对应 CTA 结构中的 C-C 和 C-H、C-O、C=O、O-C=O 键的峰.图 4(e)中结合能为 532.6 eV 处有 1 个 C-O-C 和 C-OH 的结合峰,说明 EGDE 分子链上的环氧基团已经成功引入 CTA 膜上.接枝 HMDA 的 CTA 膜的 C1s 谱图在结合能 286 eV 处出现了 C-N 键的峰[如图 4(d)];且在图 4A 中观察到 1 个新的 N 1s 峰,这都是由于膜表面接枝了含氮的物质,说明膜上成功接枝了 HMDA.



[A:接枝间隔臂后;B:交联活化后;C:水解后;D:CTA 基膜;(a):接枝间隔臂后膜的高分辨率 N 1s 谱图, (b):CTA 基膜的高分辨率 C 1s 谱图, (c):CTA 基膜的高分辨率 O 1s 谱图, (d):接枝间隔臂后膜的高分辨率 C 1s 谱图, (e):交联活化后膜的高分辨率 O 1s 谱图]

图 4 改性 CTA 膜的 XPS 谱图

Fig. 4 XPS spectrum of modified CTA membrane

2.1.3 改性 CTA 平板膜的 FTIR 分析

图 5 分别是 CTA 基膜、水解后、交联活化后、接枝 HMDA 后的 FTIR 光谱图.从图 5D 可以看到,在 1 034、1 214、1 367 和 1 737 cm^{-1} 处出现了 4 个比较尖锐的峰,分别是 C-O 的伸缩振动峰、C-C 骨架伸缩振动特征吸收峰、烷烃中 -CH 的弯曲振动

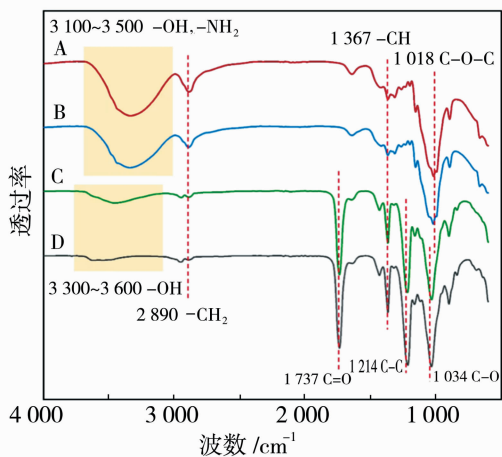
峰和 C=O 的伸缩振动峰.图 5C 中在 3 460 cm^{-1} 处出现 -OH 的伸缩振动峰,说明水解后膜表面的 -OH 开始暴露出来.根据图 5B 可发现,在 1 018 cm^{-1} 处出现了 C-O-C 伸缩振动特征吸收峰,且吸收峰变宽,说明 EGDE 与水解后膜上暴露的 -OH 发生了反应从而将 C-O-C 引入膜表面;此

外,在 $2\ 890\ \text{cm}^{-1}$ 处 $-\text{CH}_2$ 的伸缩振动峰逐渐增强,这是由于 EGDE 和 HMDA 中含有多个 $-\text{CH}_2$ 组成的链长;图 5A 在 $3\ 100\sim 3\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 处出现了 1 个宽且钝的吸收峰,一方面是由于 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}$ 的伸缩振动吸收峰的重合,另一方面是因为分子间的氢键作用。

表 1 不同阶段膜表面各元素含量

Table 1 Element content of membrane surface at different stages

膜编号	摩尔分数/%		
	C 1s	O 1s	N 1s
CTA	61.27	38.73	—
CTA-OH	58.85	41.15	—
CTA-EGDE	64.76	35.24	—
CTA-EGDE-HMDA	63.21	35.36	1.44



(A:接枝间隔臂后;B:交联活化后;C:水解后;D:CTA 基膜)

图 5 改性 CTA 膜的 FTIR 光谱图

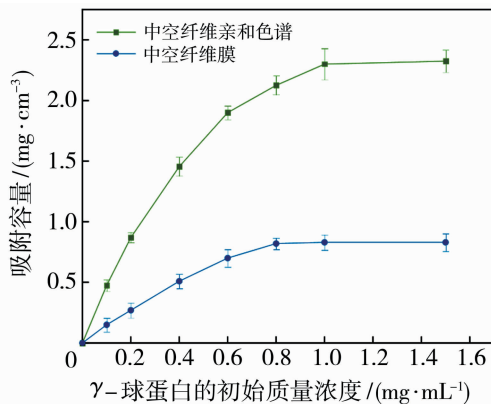
Fig. 5 FTIR spectrum of modified CTA membrane

2.2 CTA 中空纤维亲和色谱的吸附性能分析

2.2.1 γ -球蛋白初始浓度对 γ -球蛋白静态吸附的影响

图 6 显示了不同 γ -球蛋白初始浓度下 CTA 中空纤维膜以及中空纤维亲和色谱上 γ -球蛋白的吸附容量。可以看到, γ -球蛋白的吸附容量随着 γ -球蛋白初始浓度的增大而逐渐增加。对中空纤维亲和色谱而言,当 γ -球蛋白的初始质量浓度增加到 $1\ \text{mg/mL}$ 时,亲和色谱上 γ -球蛋白的吸附容量增加到 $2.3\ \text{mg/cm}^3$,此时吸附容量基本达到饱和;当 γ -球蛋白的初始质量浓度继续增加到 $1.5\ \text{mg/mL}$ 时, γ -球蛋白的吸附容量基本不再变化。相同浓度下 CTA 中空纤维膜上 γ -球蛋白的吸附容量明显低于中空纤维亲和色谱上 γ -球蛋白的吸附容量,这主要

是因为改性过程可以增加有效吸附位点,并且通过增加间隔臂可以有效降低 CTA 中空纤维膜的空间位阻效应,使得配基的整合量增加,从而提高吸附容量;此外, γ -球蛋白在 CTA 中空纤维膜上的吸附主要是靠分子间作用力(氢键和范德华力),而 γ -球蛋白在亲和色谱上的吸附主要是靠化学键,强的作用力有利于提高平衡吸附容量。



(缓冲液 pH=8,离子浓度为 0,流速为 $1\ \text{mL/min}$,温度为 $25\ ^\circ\text{C}$)

图 6 不同初始浓度下 γ -球蛋白的吸附容量

Fig. 6 Adsorption capacity of γ -globulin at different initial concentrations

2.2.2 自制亲和色谱吸附 γ -球蛋白的等温吸附模型

Langmuir 和 Freundlich 2 种模型最常用来解释亲和色谱对目标分子的吸附过程,其中 Langmuir 模型^[25]主要用于单层吸附且固体表面均匀的均相化学吸附过程,而 Freundlich 模型^[26]主要用于多层吸附且固体表面不均匀的非均相物理吸附过程。

以 Scatchard plot^[27]对 Langmuir 吸附方程进行变形处理,就可以得到以 $q^*/c^* - q^*$ 为线性关系的线性关系式如式(3)所示:

$$\frac{q^*}{c^*} = \frac{q_m}{K_d} - \frac{q^*}{K_d} \quad (3)$$

式中: q^* 表示吸附平衡时 γ -球蛋白的吸附容量; c^* 表示吸附平衡时 γ -球蛋白溶液的浓度; q_m 表示 γ -球蛋白的最大吸附容量; K_d 表示平衡解离常数,代表吸附能力。

Freundlich 模型的吸附方程以 $\log q^* - \log c^*$ 线性拟合得到如式(4)的关系式^[28]:

$$\log q^* = \log K_F + \frac{1}{n} \log c^* \quad (4)$$

式中: q^* 表示吸附平衡时 γ -球蛋白的吸附容量; c^*

表示吸附平衡时 γ -球蛋白溶液的浓度; K_F 表示 Freundlich 吸附平衡常数, 代表吸附能力; $1/n$ 表示吸附强度.

Langmuir 吸附方程和 Freundlich 吸附方程的拟合结果如图 7 所示, 拟合的相关参数和实验值如表 2 所示. 由图 7 的拟合曲线和表 2 的吸附参

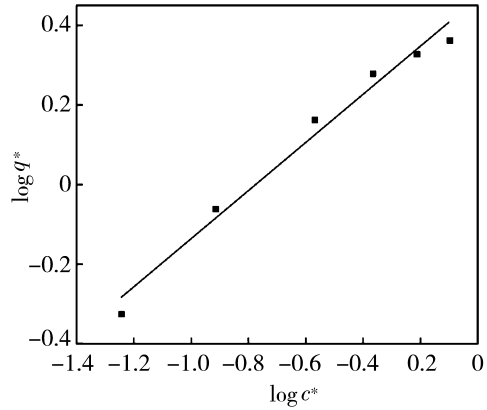
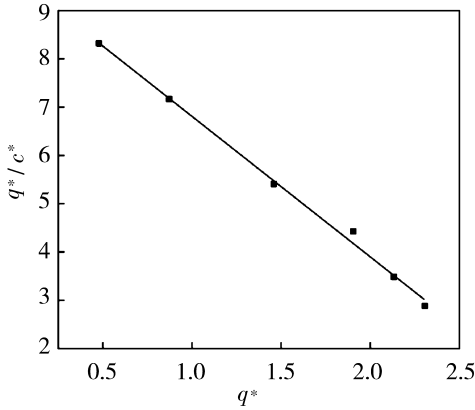


图 7 γ -球蛋白在 CTA 中空纤维亲和色谱上的吸附拟合曲线(左:Langmuir 模型;右:Freundlich 模型)

Fig. 7 Adsorption fitting curve of γ -globulin on CTA hollow fiber affinity chromatography (left; Langmuir model; right; Freundlich model)

表 2 CTA 中空纤维亲和色谱对 γ -球蛋白吸附的 Langmuir 和 Freundlich 模型吸附参数

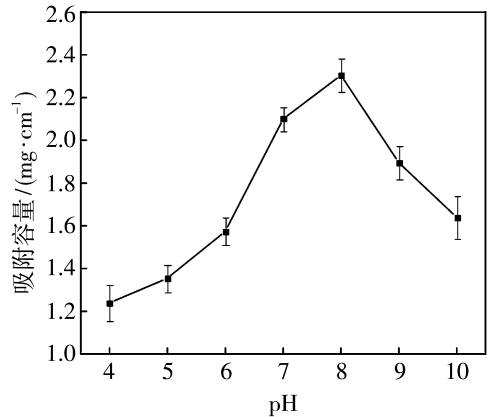
Table 2 Langmuir and Freundlich model adsorption parameters for γ -globulin adsorption by CTA hollow fiber affinity chromatography

Langmuir			Freundlich		
R^2	K_d	q_m	R^2	K_F	$1/n$
0.995	0.343	3.27	0.975	2.94	0.604

2.2.3 吸附液 pH 值对 γ -球蛋白静态吸附的影响
 在亲和色谱对蛋白质的吸附过程中, pH 值是一个重要因素, 影响着蛋白质在溶液中的状态, γ -球蛋白是一种两性电解质, 等电点(pI)为 6.9. 当吸附液 pH 值小于 6.9 时, γ -球蛋白在溶液中带正电; 当吸附液 pH 值大于 6.9 时, γ -球蛋白在溶液中带负电; 吸附液 pH 值等于 6.9 时, γ -球蛋白在溶液中为兼性离子^[27,29-30].

吸附液 pH 值对 γ -球蛋白的吸附影响如图 8 所示, 可以看到随着 pH 值从 4 增加到 10, γ -球蛋白的吸附容量呈现先增加后减少的趋势, 在 pH=8 时有最大吸附容量 2.3 mg/cm³; 当吸附液处于酸性条件下时, γ -球蛋白的吸附容量随着酸性的增强而降低, 酸性越强溶液中 γ -球蛋白带的正电荷越多, 由于亲和色谱上整合的 Cu²⁺ 也是带正电荷的, 两者

数判断吸附过程更符合 Langmuir 模型, 根据 Langmuir 吸附模型的特点可知, γ -球蛋白在 CTA 中空纤维亲和色谱上的吸附为单层吸附, 这可能是因为目标分子较大, 无法通过 CTA 中空纤维膜表面的孔隙进入内部, 所以吸附主要发生在膜的表面.



(γ -球蛋白的质量浓度为 1 mg/mL, 离子浓度为 0, 流速为 1 mL/min, 温度为 25 °C)

图 8 不同 pH 值下 CTA 中空纤维亲和色谱对 γ -球蛋白的吸附

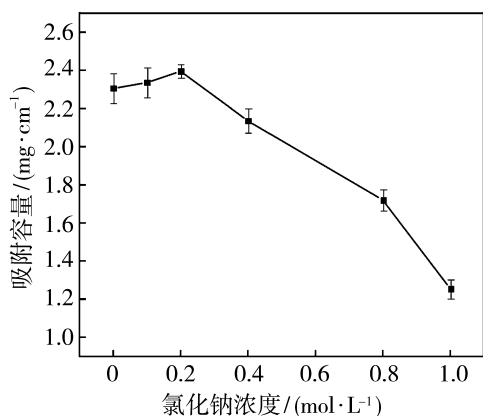
Fig. 8 Adsorption of γ -globulin by

CTA hollow fiber affinity chromatography at different pH 之间由于静电排斥作用增强从而使吸附容量下降. 当吸附液 pH 值大于 γ -球蛋白的等电点时, γ -球蛋白带的正电荷减少, 负电荷增加, 除了 Cu²⁺ 与 γ -球蛋白之间的配位作用外, 带正电荷的 Cu²⁺ 与带负电荷的 γ -球蛋白也会因为静电作用相互吸引, 随着 pH 值的进一步增加, 吸附容量开始下降. 这一现

象可能是由于在碱性环境下,膜表面上部分带负电荷的位点与带负电荷的 γ -球蛋白产生了静电排斥作用;同时 γ -球蛋白在较高的 pH 值下,溶解度会降低;此外分子间氢键和范德华力也可能会影响 γ -球蛋白的吸附。

2.2.4 吸附液离子浓度对 γ -球蛋白静态吸附的影响

当改变 γ -球蛋白溶液的离子强度,即 NaCl 浓度时,CTA 中空纤维亲和色谱上 γ -球蛋白的吸附容量也受到了影响。如图 9 所示,随着 NaCl 浓度的增加, γ -球蛋白的吸附容量呈现出先小幅度增加后下降的趋势。当 NaCl 浓度增加到 0.2 mol/L 时, γ -球蛋白的吸附容量由 2.3 mg/cm³ 增加到 2.4 mg/cm³,这是因为 NaCl 是强电解质,随着离子强度的增加,吸附液中可自由流动的阴阳离子增加,溶液导电性增强,从而使 γ -球蛋白与亲和色谱之间的静电作用增加,这是配位作用与静电作用协同作用的结果。随着离子强度的继续增加, γ -球蛋白的吸附容量开始降低,一方面这是因为 NaCl 浓度增加时,吸附液中的离子强度增加,降低了 γ -球蛋白向亲和色谱表面结合位点的移动速率;另一方面,NaCl 浓度增加会导致吸附液中存在大量的阴离子,可能会与 γ -球蛋白共同竞争亲和色谱上的阳离子位点。如果 NaCl 浓度过高,还容易使 γ -球蛋白变性,从而造成吸附容量下降。



(γ -球蛋白的质量浓度为 1 mg/mL, pH=8, 流速为 1 mL/min, 温度为 25 °C)

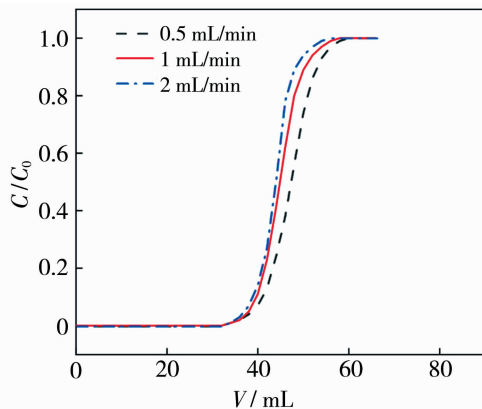
图 9 不同离子强度下 CTA 中空纤维亲和色谱对 γ -球蛋白的吸附

Fig. 9 Adsorption of γ -globulin by CTA hollow fiber affinity chromatography at different ionic strengths

2.2.5 流速对动态吸附曲线(穿透曲线)的影响

通过动态吸附研究 CTA 中空纤维亲和色谱对

γ -球蛋白的吸附,分别在 0.5 mL/min、1 mL/min 和 2 mL/min 的流速下,探究了 γ -球蛋白的穿透曲线,如图 10 所示。可以看到,在 γ -球蛋白浓度相同的情况下,3 种流速下的穿透曲线都呈现出类似“S”型的曲线,都达到了吸附平衡($C/C_0=1$),且穿透体积大致相同,在实验研究的范围内流速并不影响 CTA 中空纤维亲和色谱上 γ -球蛋白的结合能力,表 3 中不同流速下 γ -球蛋白的动态吸附容量值也证实了这一结论。在开始的一段时间内,经亲和色谱吸附后流出的 γ -球蛋白溶液的浓度极低,可以忽略不计。这是因为在初始阶段亲和色谱上可以提供大量的位点与 γ -球蛋白结合,随着吸附的持续进行,当 $C/C_0=0.1$ 后,动态吸附曲线开始变“陡”,吸附快速达到平衡。



(γ -球蛋白的质量浓度为 0.5 mg/mL, pH=8, 离子浓度为 0, 温度为 25 °C)

图 10 不同流速下 γ -球蛋白在 CTA 中空纤维亲和色谱上的动态吸附曲线

Fig. 10 Dynamic adsorption curves of γ -globulin on CTA hollow fiber affinity chromatography at different flow rates

表 3 不同条件下 γ -球蛋白的动态吸附容量

Table 3 Dynamic adsorption capacity of γ -globulin under different conditions

流速/(mL·min ⁻¹)	Q_{DRC} /(mg·cm ⁻³)
0.5	1.68
1	1.65
2	1.57
初始质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	Q_{DRC} /(mg·cm ⁻³)
0.25	1.12
0.5	1.65
1	2.31

2.2.6 吸附液初始浓度对穿透曲线的影响

探究了 γ -球蛋白的初始质量浓度分别在 0.25、

0.5 和 1 mg/mL 时的穿透曲线,如图 11 所示。可以看到,初始浓度不同,穿透曲线的位置也不一样。在实验研究的范围内,随着初始浓度的增加,在低初始浓度下的穿透体积更大,在高初始浓度下的穿透体积更小。这是因为在较高浓度下, γ -球蛋白在 CTA 中空纤维亲和色谱上的吸附更快,同时从表 3 中不同初始浓度下 γ -球蛋白的动态吸附容量值也可以看出, γ -球蛋白的动态吸附容量与初始浓度紧密相关。当初始质量浓度为 0.25 mg/mL 时, γ -球蛋白的动态吸附容量为 1.12 mg/cm³;当初始质量浓度增加到 1 mg/mL 时,动态吸附容量增加到 2.31 mg/cm³。

2.2.7 不同膜基质下 γ -球蛋白吸附性能

表 4 对比了不同膜基质在不同的改性方法下对 γ -球蛋白的吸附容量,本实验中 γ -球蛋白的吸附量为 2.4 mg/cm³,比一些中空纤维膜在单位体积内 γ -球蛋白的吸附容量高,但本研究选用的蛋白纯度是优级纯,因此可以进一步探索使用此装置分离混

表 4 不同膜基质对 γ -球蛋白的吸附容量

Table 4 The adsorption capacity of γ -globulin under different membrane matrices

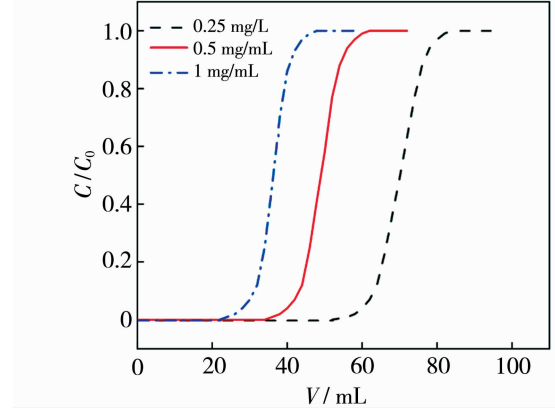
膜种类	改性方式	γ -球蛋白吸附容量	文献
聚偏氟乙烯中空纤维膜	1,6-己二胺为空间臂,L-Phe、L-Trp、L-His 为疏水配体	0.318 mg/cm ²	[27]
疏水性苯基纤维素膜	硫酸铵促进疏水相互作用	16.3 mg/mL	[24]
中空聚丙烯膜	与甲基丙烯酸缩水甘油辐射诱导接枝共聚,再与 L-苯丙氨酸功能化	1.6 mg/g	[31]
聚 HEMA-MAPA4 膜	紫外光引发聚合 HEMA 和甲基丙烯酰胺苯丙氨酸	2.37 mg/g	[32]
CTA 中空纤维膜	EGDE 交联活化、接枝间隔 HMDA 并螯合 Cu ²⁺	2.4 mg/cm ³	本研究

3 结论

1) 以 CTA 平板膜和中空纤维膜为基膜,通过水解、EGDE 交联活化、接枝 HMDA 作为间隔臂对膜表面进行改性,降低了膜表面的空间位阻效应,有助于后续制备的亲合色谱对蛋白质的吸附。

2) 以 IDA 为配基,螯合 Cu²⁺ 制备了改性 CTA 中空纤维亲和色谱,探究 γ -球蛋白在自制的 CTA 中空纤维亲和色谱上的吸附性能。静态吸附研究表明:吸附液的初始浓度、pH 值和离子浓度都对 γ -球蛋白的静态吸附容量有影响,在吸附液 γ -球蛋白质量浓度 1 mg/mL、离子浓度 0.2 mol/L 和 pH=8 时, γ -球蛋白有最大静态吸附容量 2.4 mg/cm³,且其吸附过程符合 Langmuir 等温吸附模型。动态吸附研究表明:在实验研究的范围内,吸附液条件相同的情况下,流速并不影响 CTA 中空纤维亲和色谱上 γ -球蛋白的结合能力;当保持吸附液的流速不

变,改变 γ -球蛋白的初始浓度时, γ -球蛋白的动态吸附容量随着初始浓度的增加而增加。



(缓冲液 pH=8,离子浓度为 0,流速为 1 mL/min,温度为 25 °C)

图 11 不同初始浓度下 γ -球蛋白在 CTA 中空纤维亲和色谱上的动态吸附曲线
Fig. 11 Dynamic adsorption curves of γ -globulin on CTA hollow fiber affinity chromatography at different initial concentrations

参考文献:

[1] Porath J, Carlsson J, Olsson I, *et al.* Metal chelate affinity chromatography, a new approach to protein fractionation[J]. *Nature*, 1975, 258(5536): 598-599.

[2] Moore C P, Pieterse K, Desousa J M, *et al.* Characterization and utility of immobilized metal affinity-functionalized cellulose membranes for point-of-care malaria diagnostics[J]. *J Chromatogr B*, 2021, 1186: 123023.

[3] Chen J, Yu B, Cong H, *et al.* Recent development and application of membrane chromatography[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2022, 415(1): 45-65.

[4] Ribeiro M B, Vijayalakshmi M, Todorova B D, *et al.* Effect of IDA and TREN chelating agents and buffer systems on the purification of human IgG with immobilized nickel affinity membranes[J]. *J Chromatogr B*,

- 2008, 861(1): 64—73.
- [5] Cheung R C, Wong J H, Ng T B. Immobilized metal ion affinity chromatography: A review on its applications[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 96(6): 1411—1420.
- [6] Block H, Maertens B, Spriestersbach A, *et al.* Immobilized-metal affinity chromatography (IMAC): A review[J]. *Methods Enzymol*, 2009, 463: 439—473.
- [7] Jain P, Vyas M K, Geiger J H, *et al.* Protein purification with polymeric affinity membranes containing functionalized poly(acid) brushes[J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(4): 1019—1026.
- [8] Hong Y G, Zhen H S, Jun D W, *et al.* Influence of preparation conditions on properties of chemical modified nylon affinity membrane (used for γ -globulin adsorption)[J]. *Chin J Chem*, 2010, 18(4): 516—520.
- [9] Ozeki K, Nagashima I, Hirakuri K K, *et al.* Adsorptive properties of albumin, fibrinogen, and gamma-globulin on fluorinated diamond-like carbon films coated on PTFE[J]. *J Mater Sci-Mater M*, 2010, 21(5): 1641—1648.
- [10] Yavuz H, Bereli N, Yilmaz F, *et al.* Antibody purification from human plasma by metal-chelated affinity membranes[J]. *Methods Biochem Anal*, 2011, 123(6): 3476—3484.
- [11] Asena O M, Cimen D, Bereli N, *et al.* Metal-chelated polyamide hollow fiber membranes for ovalbumin purification from egg white[J]. *J Chromatogr B*, 2022, 1203: 123293.
- [12] Lu P, Gao Y, Umar A, *et al.* Recent advances in cellulose-based forward osmosis membrane[J]. *Sci Adv Mater*, 2015, 7(10): 2182—2192.
- [13] Madadkap P, Ghosh R. High-resolution protein separation using a laterally-fed membrane chromatography device[J]. *J of Membr Sci*, 2016, 499: 126—133.
- [14] Boi C, Malavasi A, Carbonell R G, *et al.* A direct comparison between membrane adsorber and packed column chromatography performance[J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1612: 460629.
- [15] Ghosh R. Ultrahigh-speed, ultrahigh-resolution preparative separation of protein biopharmaceuticals using membrane chromatography[J]. *J Sep Sci*, 2022, 45(12): 2024—2033.
- [16] Rathore A S, Muthukumar S. High-throughput process development: II. Membrane chromatography[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1129: 39—44.
- [17] Orr V, Zhong L, Moo-young M, *et al.* Recent advances in bioprocessing application of membrane chromatography[J]. *Biotechnol Adv*, 2013, 31(4): 450—465.
- [18] Wang X, Xu J, Li L, *et al.* Thiourea grafted PVDF affinity membrane with narrow pore size distribution for Au(III) adsorption: Preparation, characterization, performance investigation and modeling[J]. *Chem Eng J*, 2017, 314: 700—713.
- [19] Wei Y M, Li Y, Yang C, *et al.* More effective membrane chromatography[J]. *AIChE J*, 2015, 61(11): 3871—3878.
- [20] Liu Y, Feng Z, Shao Z, *et al.* Chitosan-based membrane chromatography for protein adsorption and separation[J]. *Mater Sci Eng C*, 2012, 32(6): 1669—1673.
- [21] 魏永明, 吴荣荣, 许振良, 等. 具有微米级内外径 CTA 中空纤维膜制备与表征[J]. *膜科学与技术*, 2018, 38(5): 8—14.
- [22] 吴荣荣. CTA 螯合 Cu^{2+} 亲和膜色谱的制备与表征[D]. 上海: 华东理工大学, 2018.
- [23] Li Y, Sun Y. Poly(4-vinylpyridine): A polymeric ligand for mixed-mode protein chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1373: 97—105.
- [24] Kosior A, Antosova M, Faber R, *et al.* Single-component adsorption of proteins on a cellulose membrane with the phenyl ligand for hydrophobic interaction chromatography[J]. *J Membr Sci*, 2013, 442: 216—224.
- [25] Li X, Liu Y, Sun Y. Development of poly(methacrylate)-grafted Sepharose FF for cation-exchange chromatography of proteins[J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1634: 461669.
- [26] Ge D T, Shi W, Ren L, *et al.* Variation analysis of affinity-membrane model based on Freundlich adsorption[J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1114(1): 40—44.
- [27] Sun H, Zhang L, Chail H, *et al.* A study of human γ -globulin adsorption capacity of PVDF hollow fiber affinity membranes containing different amino acid ligands[J]. *Sep Purif Technol*, 2006, 48(3): 215—222.
- [28] Xiang T, Fu H, Yue W W, *et al.* Preparation and characterization of poly(acrylonitrile-co-maleic anhydride) copolymer modified polyethersulfone membranes[J]. *Sep Sci Technol*, 2013, 48(11): 1627—1635.
- [29] Kanavova N, Kosior A, Antosova M, *et al.* Application of a micromembrane chromatography module to the examination of protein adsorption equilibrium[J]. *J*

Sep Sci, 2012, 35(22): 3177—3183.

[30] 兰 天. 醋酸纤维素基纳米纤维膜制备及其在蛋白质分离与纯化的应用[D]. 北京:北京理工大学, 2016.

[31] Hwang T S, Park J W. Preparation of modified hollow polypropylene membrane and their adsorption properties of γ -globulins[J]. Macromol Res, 2003, 11(5):

347—351.

[32] Yakup A M, Akn-Oktem G, Denizli A. Novel hydrophobic ligand-containing hydrogel membrane matrix: Preparation and application to gamma-globulins adsorption[J]. Colloid Surface B, 2001, 21(4): 273—283.

Preparation and adsorption properties of CTA hollow fiber affinity chromatography

LI Shuqin, WU Jiaojie, ZHOU Junjie, WEI Yongming, XU Zhenliang, YANG Hu

(Joint State Key Laboratory of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Research Center of Functional Membrane Science and Engineering, Shanghai 200237, China)

Abstract: In order to explore the adsorption properties of cellulose triacetate (CTA) hollow fiber affinity chromatography, the CTA hollow fiber membrane was used as the basal membrane, The surface of the membrane was modified by hydrolysis, crosslinking activation of 1,4-butanediol diglycidyl ether (EGDE), grafting 1,6-hexanediamine (HMDA) as the spacer arm, and then the modified CTA hollow fiber affinity chromatography was prepared by chelating Cu^{2+} with iminodiacetic acid (IDA) as ligand. In the static adsorption study of γ -globulin; when the concentration of γ -globulin adsorption solution is 1 mg/mL, ion concentration is 0.2 mol/L and $\text{pH}=8$, the maximum static adsorption capacity is 2.4mg/cm³. The adsorption process accords with Langmuir isothermal adsorption model. For the study of dynamic adsorption of γ -globulins: within the scope of experimental studies, the penetration curves at different flow rates were similar to “S” shape, and the flow rate did not affect the binding ability of γ -globulin on CTA hollow fiber affinity chromatography; The dynamic adsorption capacity of γ -globulin increased with the increase of initial concentration.

Key words: surface modification; CTA hollow fiber affinity chromatography; static adsorption; dynamic adsorption

(上接第 96 页)

were prepared by interfacial polymerization reaction and imidization treatment. to study the effects of UiO-66 amination and the influence of different adding methods on membrane structure and separation performance. The water contact results showed that the four PI composite NF membranes had better hydrophilic properties compared to pure PI NF membranes. The nanofiltration performance showed that the UiO-66-NH₂-doped aqueous phase had the best nanofiltration performance with 91% CaSO₄ rejection and 219 L/(m² · h · MPa) water flux. The fluxes of the four PI composite NF membranes were attenuated by less than 0.1% after soaking in organic solvents (THF, DMAc, MT, NMP) for 48 h. CaSO₄ rejection did not change much (attenuation <1%); flux attenuation ranged from 9–17 L/(m² · h · MPa) during 120 h of long-term operation, indicating good stability.

Key words: UiO-66; aqueous phase added; organic phase added; polyimide