



季铵化纤维素微球的制备及其动态吸附性能

邱小雪, 周寅鹏, 龚文丽, 杨武迪, 刘琳

(浙江理工大学材料科学与工程学院, 杭州 310018)

摘要: 为了提高现有蛋白纯化用纤维素微球的传质速率及吸附效率, 将环氧季铵盐(2, 3-Epoxy-propyl-trimethyl ammonium chloride, EPTAC)接枝到纤维素分子骨架上, 采用乳液自组合法制备季铵化纤维素多孔微球(Quaternized cellulose porous microspheres, QCPM); 以 QCPM 为填料搭建动态吸附装置, 以牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)为目标蛋白, 分析填料高度、进液速度和进液质量浓度对 QCPM 动态吸附性能的影响, 并通过响应面法分析填料高度、进液速度和进液质量浓度三因素对平衡吸附量的影响。结果表明: 所制备的 QCPM 兼具互连多级孔结构与丰富的活性位点, 比表面积高达 $242.76 \text{ m}^2/\text{g}$, 可促进蛋白质的快速传质, 并提高分离效率; 在动态蛋白吸附过程中, 增加填料高度和进液质量浓度, 降低进液流速, 均有助于提高 QCPM 对 BSA 的吸附能力, 最大吸附量为 $50.38 \text{ mg}/\text{g}$, 其动态吸附行为符合 Yoon-Nelson 和 Modified dose response 模型, 为均匀表面的单分子层吸附; 填料高度与进液速度对平衡吸附量的影响呈显著主效应, 其作用强度优于进液质量浓度对平衡吸附量的影响, 三因素间的交互作用以填料高度与进液质量浓度为主。该研究以纤维素为基质, 通过乳化法制备 QCPM, 解决了传质受限与吸附效率低的难题, 为蛋白质分离纯化领域提供了理论依据与实践指导。

关键词: 纤维素多孔微球; 季铵化改性; 动态吸附性能; 蛋白纯化; 响应面分析

中图分类号: Q816

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2026)01-0045-12

引文格式: 邱小雪, 周寅鹏, 龚文丽, 等. 季铵化纤维素微球的制备及其动态吸附性能[J]. 浙江理工大学学报(自然科学), 2026, 55(1): 45-56.

Reference Format: QIU Xiaoxue, ZHOU Yinpeng, GONG Wenli, et al. Preparation and dynamic adsorption properties of quaternized cellulose porous microspheres[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2026, 55(1): 45-56.

Preparation and dynamic adsorption properties of quaternized cellulose porous microspheres

QIU Xiaoxue, ZHOU Yinpeng, GONG Wenli, YANG Wudi, LIU Lin

(College of Materials Science & Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: To improve the mass transfer rate and adsorption efficiency of existing cellulose microspheres for protein purification, 2, 3-Epoxy-propyl-trimethyl ammonium chloride (EPTAC) was grafted onto the cellulose molecular skeleton, and quaternized cellulose porous microspheres (QCPM) were prepared by lotion self-assembly method. A dynamic adsorption device was constructed using QCPM as the packing material, with bovine serum albumin (BSA) as the target protein. The effects of packing height, intake flow velocity and liquid inlet mass concentration on the dynamic adsorption performance of QCPM were analyzed, and the effects of the three factors on the equilibrium adsorption capacity were analyzed using response surface methodology. The results showed that the prepared QCPM has both an interconnected multi-level pore structure and abundant active sites, with a specific surface area of up to $242.76 \text{ m}^2/\text{g}$. It can promote rapid mass transfer of proteins and improve separation efficiency. In the

收稿日期: 2025-05-12 网络出版日期: 2025-09-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(22375181)

作者简介: 邱小雪(1999—), 女, 四川泸州人, 硕士研究生, 主要从事纤维素基功能材料的研究。

通信作者: 刘琳, E-mail: liulin@zstu.edu.cn

dynamic protein adsorption process, increasing the packing height and liquid inlet mass concentration, and reducing the intake flow velocity can enhance the adsorption capacity of QCPM for BSA, with a maximum adsorption capacity of 50.38 mg/g. Its dynamic adsorption behavior conforms to the Yoon-Nelson and modified dose response models, and is monolayer adsorption on a uniform surface. The influence of packing height and intake flow velocity exhibits significant main effects on equilibrium adsorption capacity, with their influence being more pronounced than that of the liquid inlet mass concentration. The interaction between the three factors is mainly based on packing height and liquid inlet mass concentration. This study used cellulose as the matrix and prepared QCPM by emulsification method, addressing the challenges of limited mass transfer and low adsorption efficiency, and providing theoretical basis and practical guidance for protein separation and purification.

Key words: cellulose porous microspheres; quaternized modification; dynamic adsorption performance; protein purification; response surface analysis

0 引言

随着全球生物医药产业的快速发展,蛋白质类生物药品凭借其高靶向性、低毒副作用和卓越疗效等优势正成为生物医药市场规模持续扩张的驱动力。以胰岛素^[1]、干扰素^[2]和单克隆抗体^[3]为代表的治疗性蛋白作为蛋白类药品的核心成分,通常需要通过基因工程、细胞培养或发酵工程获得初始表达产物;而这些产物往往混有宿主细胞蛋白、核酸、内毒素和培养基成分等杂质^[4],须借助蛋白纯化技术实现目标蛋白的分离、富集与精制,才能满足药品安全性和有效性的严格标准。

蛋白质纯化技术主要包括沉淀法、层析法及电泳技术^[5],其中层析法因其操作便捷性与高效分离性,已成为下游加工中蛋白质分离的首选方案。层析介质的选择对蛋白的分离性能至关重要,天然多糖基层析介质因其优异的生物相容性、非特异性吸附弱等备受关注,Lei等^[6]采用醋酸纤维素作为前驱体,采用乳液-蒸发诱导的相分离以及脱乙酰化的方法制备了大孔纤维素微球,并通过海藻酸钠进行化学改性,获得了阳离子吸附剂;在进液质量浓度为250 mg/L及进液流速为30 mL/h时,纤维素微球的动态吸附容量为77.51 mg/g。Zhao等^[7]通过化学交联方法制备了具有高比表面积和一定机械强度的多孔纤维素-琼脂糖微球,再利用 Cu^{2+} 对其进行改性,获得对牛血红蛋白具有优异亲和力的吸附剂;在牛血红蛋白进液质量浓度为250 mg/L及进液流速为30 mL/h时动态吸附容量为51.00 mg/g。但这类分离介质往往需要通过调控制备工艺获得多孔结构,再经后处理对其进行表面修饰赋予吸附能力,

该过程工艺繁琐,并且在后处理环节中易造成分离介质微观结构破坏,在吸附过程中影响传质效率,同步构筑具有多孔结构和高效吸附性能的蛋白分离介质并用于动态蛋白吸附依然是一个持续性挑战。

本文以高亲水性、生物相容性的微晶纤维素(Microcrystalline cellulose, MCC)为基体,通过环氧季铵盐(2,3-Epoxy-propyl-trimethyl ammonium chloride, EPTAC)开环反应将季铵基团接枝至纤维素分子链,利用两性链段在油水界面的自组装行为,同步构建具有贯通孔道结构的季铵化纤维素多孔微球(Quaternized cellulose porous microspheres, QCPM);利用红外光谱、X射线光电子能谱和 N_2 吸附-脱附等手段表征QCPM的理化性质;构建了一套基于QCPM的动态吸附系统,并选取牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)作为目标蛋白,通过分析调控填料高度(H)、进液速度(V)及进液质量浓度(C_0)对穿透曲线的影响,探索QCPM对BSA动态吸附过程中的关键作用规律,并结合Yoon-Nelson(YN)与Modified dose response(MDR)模型揭示吸附动力学规律,以期QCPM在工业级蛋白纯化中的应用提供策略与技术支撑。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

试剂:氢氧化钠(NaOH)、尿素($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$)、2,3-环氧丙基三甲基氯化铵(EPTAC)、液体石蜡、Span-80、叔丁醇、氯化钠、牛血清白蛋白(BSA)、磷酸氢二钠和磷酸二氢钠均购于上海麦克林生物化学有限公司;微晶纤维素粉(MCC)(聚合度 n 为284,粒径分布为56.8 μm ,堆密度为0.33 g/mL)购于上海源叶生物科技有限公司;盐酸(HCl)购于华东医

药股份有限公司;无水乙醇购于杭州高晶精细化工有限公司。所有试剂规格均为分析纯。

仪器:DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(上海力辰邦西仪器科技有限公司)、ME104E 电子天平(梅特勒-托利多精密仪器有限公司)、FE28 型 pH 计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)、SCIENTZ-12N 冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司)、Milli-Q Biocel 纯水仪(美国 Millipore 公司)、Nicolet 5700 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Electron 公司)、K-AlphaX 光电子能谱仪(美国 Thermo Scientific)、3 H-2000PS1 比表面积分析仪(北京贝士德仪器科技有限公司)、Ultra 55 场发射扫描电子显微镜(德国 Carl Zeiss 公司)、U-3900 液体紫外测试仪(日本 HITACHI 公司)和 CL100W 流量型蠕动泵(保定迪朗电子科技有限公司)。

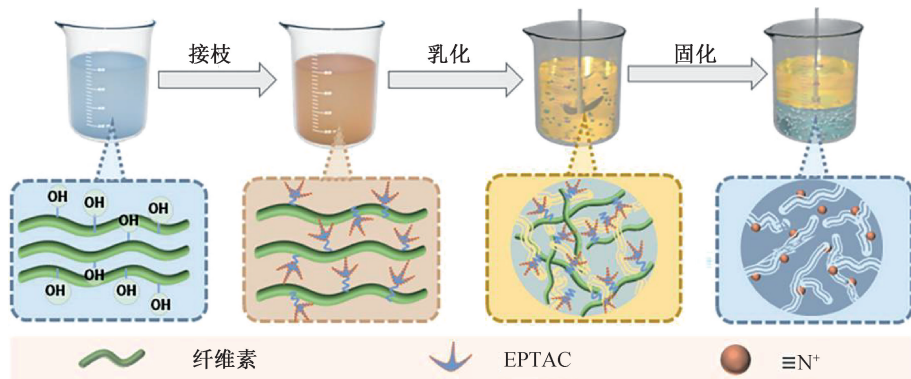


图 1 QCPM 合成路线

1.3 结构表征

对样品 MCC 和 QCPM 进行傅里叶变换红外光谱和 X 射线光电子能谱分析,采用场发射扫描电镜对 MCC 和 QCPM 的微观形貌进行表征,并通过 N_2 吸附-脱附方法测定其比表面积与孔隙率。

1.4 动态吸附性能研究

为评估 QCPM 在实际分离场景中的性能,构建了固定床装置开展动态吸附试验,装置示意图见图 2。具体操作如下:称取一定质量的 QCPM(0.12~0.18 g)装填至内径为 8 mm、柱高为 15 cm 的玻璃层析柱内,通过流量型蠕动泵驱动 BSA 溶液(进液质量浓度 0.2~0.8 mg/mL,磷酸盐缓冲液 pH 值为 6.0)以设定流速(0.3~0.7 mL/min)通过层析柱;在预设时间节点采集流出液,并采用考马斯亮蓝法利用紫外分光光度计于 595 nm 处测定 BSA 的浓度变化,绘制穿透曲线,系统探究了 3 因素的作用机制。

1.2 QCPM 的制备

QCPM 合成路线如图 1 所示。将 6.0 g 纤维素溶解于 94.0 g 预冷冻的 NaOH、 CH_4N_2O 、 H_2O (质量百分比为 7%、12%、81%)溶液中,得到质量分数为 6% 的纤维素溶液;在纤维素溶液中加入 1.8 g 的 EPTAC,在反应温度为 75 °C、搅拌速度为 500 r/min 下进行反应 4 h,再将混合物滴入由 40 mL 液体石蜡和 1.6 g Span-80 组成的油相中,在 30 °C 和 500 r/min 下搅拌 2 h,获得 W/O 悬浮乳液后再加入 0.5 mol/L HCl 进行固化;用体积分数 20% 乙醇和纯水洗涤去除残留油相,并将样品浸泡在无水乙醇中过夜;用叔丁醇进一步置换出无水乙醇,冷冻干燥 12 h 得到季铵化纤维素多孔微球,标记为 QCPM。在相同的制备工艺下,制备未经季铵化改性的纤维素微球作为对照,标记为 MCC。

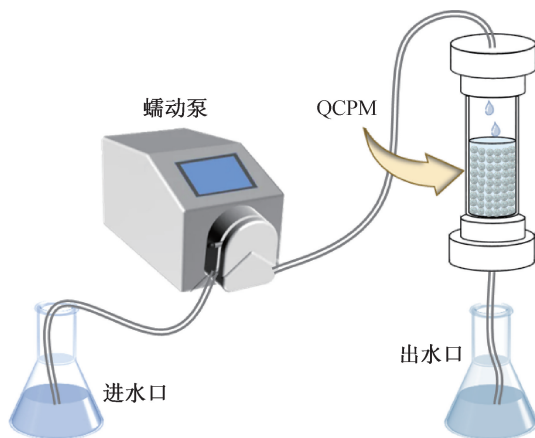


图 2 动态吸附处理装置示意图

1.5 动态吸附模型的构建

确定具有实际应用优势的装置参数须以穿透曲线的基础动力学数据为基础。穿透曲线即流出液浓度与进液质量浓度比值(C_t/C_0)随时间(t , min)变化的关系曲线,该曲线能够揭示动态吸附过程中填料与目标蛋白间的传质机理及动力学特征^[8]。

穿透曲线的关键参数及其计算公式如下。运行 t 时处理蛋白液量(W, mL)的计算公式:

$$W = V_t \quad (1)$$

运行 t 时 BSA 总质量(M_m, mg)的计算公式为:

$$M_m = C_0 V_t \quad (2)$$

运行 t 时的 QCPM 的吸附量(Q_c, mg)的计算公式为:

$$Q_c = V \int_{t=0}^{t=t} (C_0 - C_t) dt \quad (3)$$

传质区高度(MTZ, cm)的计算公式为:

$$MTZ = H \left(1 - \frac{t_b}{t_s} \right) \quad (4)$$

QCPM 的 BSA 吸附量($Q_e, \text{mg/g}$)的计算公式为:

$$Q_e = \frac{Q_s}{M} \quad (5)$$

其中: C_0 和 C_t 分别为 BSA 的初始浓度和吸附后流出液浓度, mg/mL ; V 为 BSA 进液速度, mL/min ; H 为 QCPM 填料的高度, cm ; t_b 为穿透时间($C_t/C_0 = 10\%$), min ; Q_b 为穿透时间时 QCPM 对 BSA 的吸附量, mg/g ; $t_{0.5}$ 为 $C_t/C_0 = 50\%$ 的时间, min ; $Q_{0.5}$ 为 $C_t/C_0 = 50\%$ 时 QCPM 对 BSA 的吸附量, mg/g ; t_s 为饱和时间($C_t/C_0 = 80\%$), min ; Q_s 为饱和时间时 QCPM 对 BSA 的吸附量, mg/g 。

YN 模型是一个简单的突破模型, 广泛用于预测动态吸附中流出物浓度达到进水浓度一半的时间。该模型假设每个分子吸附的下降速率与填料吸附量和穿透率呈正相关^[9]。YN 模型的计算公式为:

$$\frac{C_t}{C_0} = \frac{1}{\exp(k_{YN}(\tau - t)) + 1} \quad (6)$$

其中: C_t 和 C_0 分别为 BSA 的流出物质量浓度和进水质量浓度, mg/mL ; τ 表示 50% 吸附时间突破的时间, min ; k_{YN} 为 YN 速率常数, min^{-1} 。

MDR 模型是一种用于描述和预测吸附剂对目标物质吸附行为的数学模型, 该模型的特点是它比其他模型能更好地匹配突破曲线, 特别是在相对浓度低或高时^[10]。MDR 模型的表达式为:

$$\frac{C_t}{C_0} = 1 - \frac{1}{\left(\frac{C_0 V_t}{Q_{0m}} \right)^a + 1} \quad (7)$$

其中: a 是 MDR 模型的参数; m 是 QCPM 的质量, g ; Q_0 为模型拟合所得的平衡吸附量, mg/g 。其他符号的含义与前文一致。

1.6 响应面法试验设计

使用响应面法对不同填料高度、进液速度、进液

质量浓度条件下的吸附效果进行分析, 探究各因素及交互作用对 BSA 吸附量的影响规律。效应面设计(Box-behnken design, BBD)是一种基于响应面理论的试验方法, 被广泛应用于多因素影响研究, H 、 V 和 C_0 为影响因素, 分别用 A、B 和 C 表示, 响应值吸附量用 Y 表示, 每个因素取 3 个水平, 分别采用编码值 0、-1 和 1 表示, 试验因素及水平如表 1 所示。

表 1 试验因素及水平

因素	不同水平的试验因素掺量		
	-1	0	1
A	2	3	4
B	0.3	0.5	0.7
C	0.2	0.5	0.8

2 结果与讨论

2.1 QCPM 的化学结构

为了确认 QCPM 上季铵盐基团($\equiv \text{N}^+$)的改性成功, 对 MCC、QCPM 分别进行 FTIR 光谱的扫描, 结果如图 3 所示。由图 3 可以看出: MCC 与 QCPM 在 3314 、 2903 cm^{-1} 和 896 cm^{-1} 处的特征峰分别归属于纤维素 O—H、C—H 和 β -1,4-糖苷键的伸缩振动峰^[11]; QCPM 与 MCC 相比在 1642 cm^{-1} 和 1370 cm^{-1} 处新增的较强峰, 属于 $\equiv \text{N}^+$ 的变角振动和烷烃中甲基的变形振动^[12]; 并且 QCPM 在 993 cm^{-1} 处出现的新峰, 归属于 EPTAC 开环反应接枝引起的 C—O 伸缩振动。所有结果均证明了 EPTAC 成功接枝到了纤维素分子链上。

为了进一步证实了 EPTAC 的成功接枝, 检测了 MCC 及 QCPM 的高分辨率 XPS 光谱, 结果图 4 所示。图 4 表明: 所有样品在 C 1s 光谱中均显示出 O—C—O、C—OH、C—C/C—H 峰, 在 O 1s 光谱中则显示 O—C、O—H 峰^[13]; 与 MCC 相比, QCPM 的特征峰强度依次在 284.8 eV (C—C/C—H) 处增强, 并且 QCPM 在 401.0 eV 处出现了明显的 $\equiv \text{N}^+$ 特征峰^[14], 这与 FTIR 结果一致; 接枝了 EPTAC 的 QCPM, 其 N 元素含量比未接枝的 MCC 增加了 4.31% (见表 2)。上述结果表明了 EPTAC 已成功接枝到纤维素上。

2.2 QCPM 的结构表征

2.2.1 QCPM 的微观形貌

季铵化纤维素微球的微观结构对 BSA 吸附具有重要影响, 图 5(a)—(d) 为 MCC 和 QCPM 的 SEM 谱图。图 5(a)—(b) 显示: MCC 整体球形规

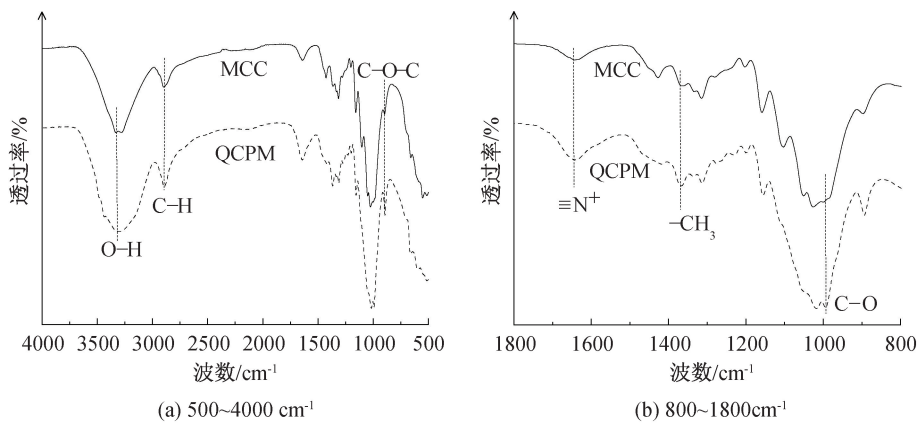


图 3 MCC、QCPM 的 FTIR 谱图

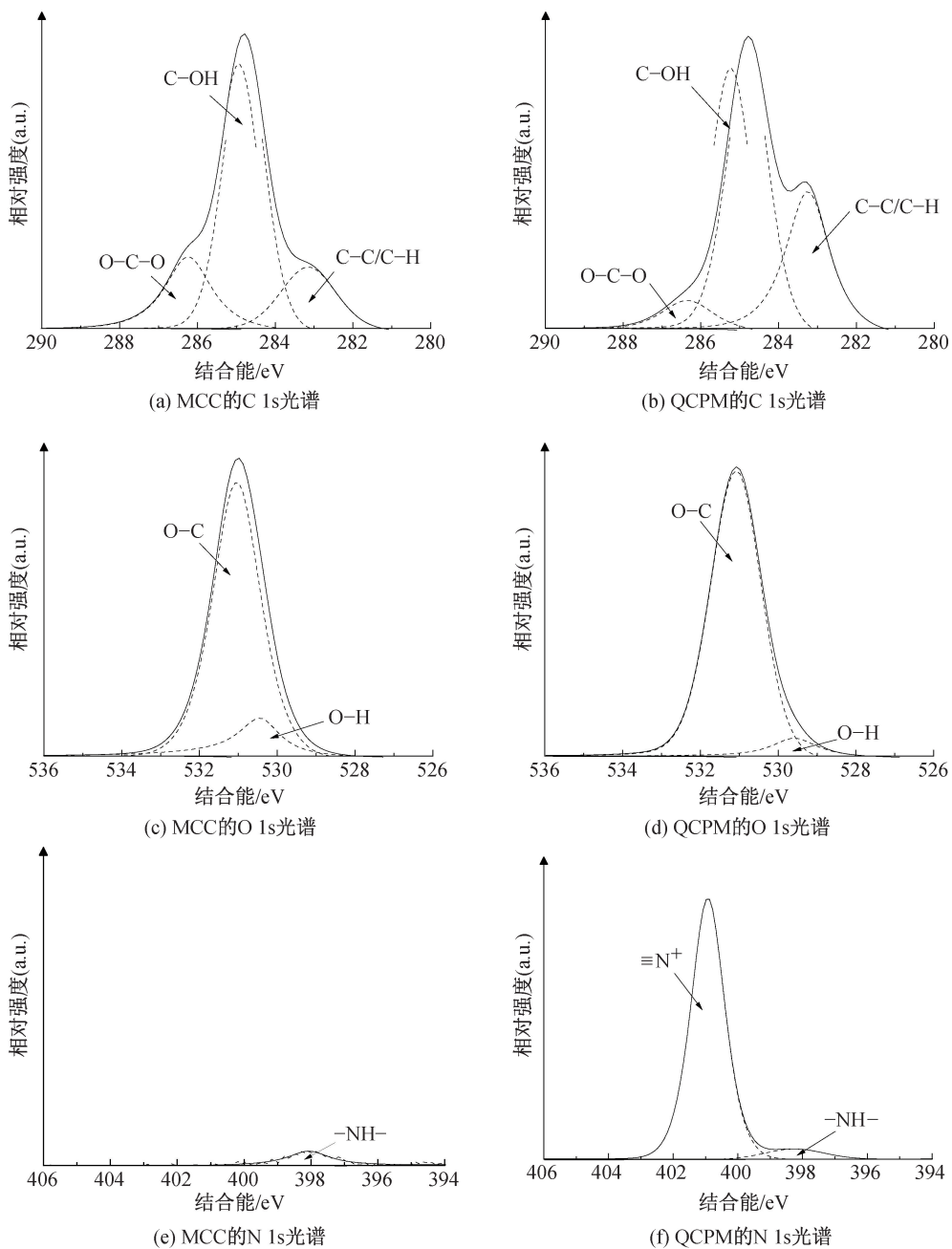


图 4 MCC 和 QCPM 的 XPS 谱图

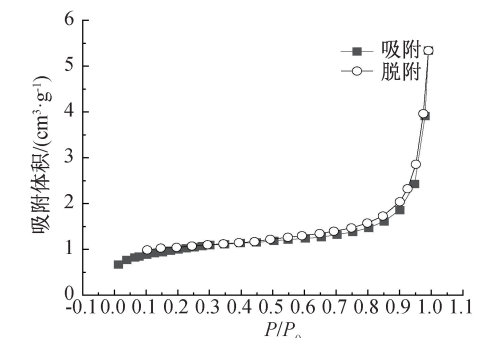
整性较好,表面相对致密,这是纤维素分子链含大量羟基,亲水性强,在水相中通过氢键形成分子间网络,液滴内部黏度高,乳化时难以形成多孔前驱体,固化后表面因分子紧密堆积而形成致密粗糙表面。由图5(c)—(d)可以看出:QCPM表面具有丰富的孔隙网络结构,这是具有季铵基官能团和疏水烷烃链的EPTAC通过环氧开环反应接枝至亲水纤维素分子链上^[15],在乳化过程中,纤维素分子链上的疏水烷烃链吸收了少量外部的油相,形成内部油通道^[16],经固化后油通道转化为孔洞,最终形成多孔结构,相互连接的多孔结构将有助于蛋白质的快速传质并提高分离效率。图5(e)—(f)表明:微球吸附过程没有破坏球形形态和多孔结构,QCPM在吸附性能方面表现较好的稳定性和可重复使用性。

表2 MCC与QCPM中C、N、O元素含量

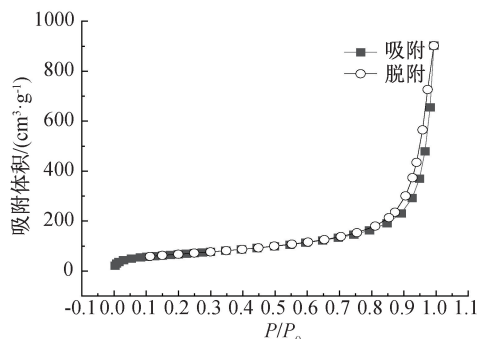
样品	原子百分比/%		
	C	N	O
MCC	57.99	0.46	41.56
QCPM	68.45	4.77	26.78

2.2.2 QCPM的孔隙结构

图6为MCM与QCPM的 N_2 吸附/解吸等温线和孔径分布,MCM与QCPM呈典型IV型等温线且均带有H3型滞后环,表明了微球中介孔的存在^[17];相应的孔径分布通过Barrett-Joyner-Halenda模型拟合,与未加EPTAC的MCM相比,



(a) MCM- N_2 吸附/解吸等温线



(c) QCPM- N_2 吸附/解吸等温线

QCPM的比表面积为 $242.76 \text{ m}^2/\text{g}$,MCM的比表面积仅为 $3.62 \text{ m}^2/\text{g}$,这与SEM图像结果一致,QCPM的孔隙率和孔体积分别达到了 72.67% 和 $1.30 \text{ cm}^3/\text{g}$,QCPM的互连多级孔结构和高比表面积有助于蛋白质的快速质量传递,并且有利于提高分离效率。

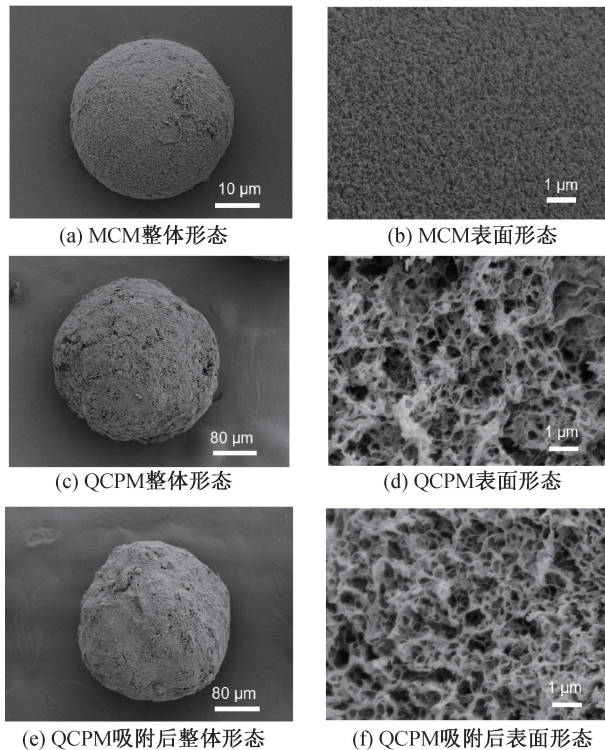
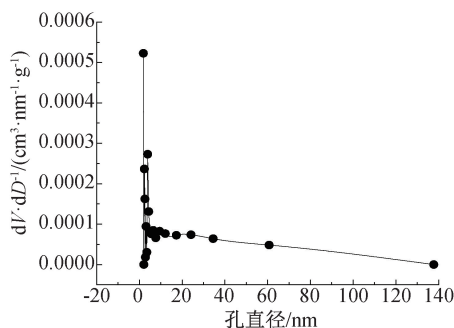
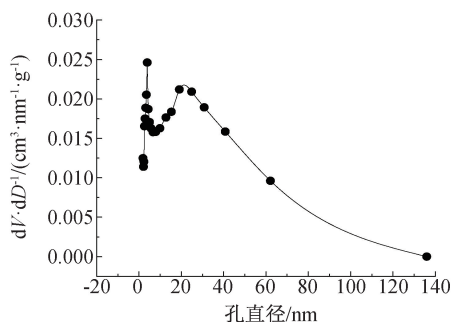


图5 MCM和QCPM的扫描电镜照片



(b) MCM-BJH拟合孔径分布



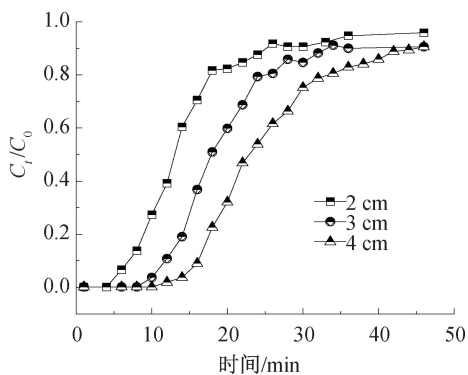
(d) QCPM-BJH拟合孔径分布

图6 MCM和QCPM的 N_2 吸附/解吸等温线与孔径分布图

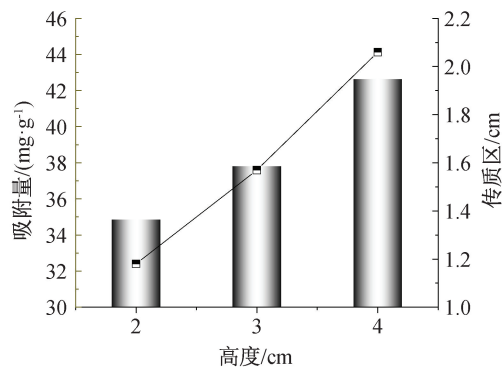
2.3 动态吸附性能

2.3.1 填料高度的影响

填料高度数值变化直接决定吸附剂床层的饱和吸附容量,对动态吸附性能具有重要影响。用于蛋白吸附的微球填料进行柱实验常采用 2~5 cm 的填料高度^[18-19],通过搭建柱高分别为(2±0.5)、(3±0.5) cm 和(4±0.5)cm 的蛋白处理装置开展实验。2~4 cm 的填料高度覆盖了多数场景的安全区间,在此范围内的高度便于手动填充,可减少填料堆积不均匀的风险,并且蛋白液通过填料层的压力降适中,无需额外高压设备,适配常规蠕动泵进行重力流操作。床层高度对应的填料干重依次为 0.12、0.15 g 和 0.18 g。



(a) 不同填料高度下 QCPM 的突破曲线图



(b) 不同填料高度下吸附量与传质区的变化图

图 7 不同填料高度下 QCPM 的突破曲线图及吸附量与传质区的变化图

表 3 不同填料高度下的动态吸附结果

填料高度	t_b /min	Q_b /mg	W_b /mL	t_s /min	Q_s /mg	W_s /mL
H_2	7	1.75	3.50	17	4.18	8.50
H_3	11	2.75	5.50	23	5.67	11.50
H_4	15	3.75	7.50	31	7.67	15.50

2.3.2 进液流速的影响

进液流速作为动态吸附过程中的关键操作参数,直接影响传质效率和接触反应时间。在进液流速为 0.3、0.5 mL/min 和 0.7 mL/min 的条件下开展对比实验,相应进液流速分别用 $V_{0.3}$ 、 $V_{0.5}$ 及 $V_{0.7}$ 表示,不同流速条件下的动态吸附行为如图 8 所示,相关实验数据列于表 4。从图 8 可以看出:进液流速的增加引起穿透曲线斜率呈现梯度性递增趋势,同时 t_b 与 t_s 均显著缩短,单位质量吸附剂的平衡吸附量则从 48.03 mg/g 降至 32.41 mg/g,这是当进液流速过快时,BSA 分子与 QCPM 活性吸附位点的接触时间减小,部分未饱和的吸附位点无法与 BSA 结合,造成吸附容量降低^[18]。由表 4 可知,当进液流速从 0.3 mL/min 提升至 0.7 mL/min 时,穿透时间由 30 min 递减至 10 min,饱和时间从 58 min 缩短至 24 min。流速过低虽然能延长传质时间

不同柱高条件下的动态吸附行为如图 7 所示,相关数据计算结果见表 3,相应柱高分别用 H_2 、 H_3 及 H_4 表示。图 7 显示:随着填料高度的增加,穿透曲线斜率呈现梯度性降低趋势,且填料高度与 t_b 和 t_s 均呈现显著的正相关关系,填料高度的增加同时延长了溶液在床层内的停留时间,保证了传质过程充分进行,吸附容量逐渐升高^[20]。由表 3 可知,柱高从 2 cm 增至 4 cm 时, t_b 从 7 min 延长至 15 min, t_s 则由 17 min 延长至 31 min。这一现象主要归因于床层高度的增加扩展了有效吸附面积,使得单位体积吸附剂暴露的活性位点数量增加。因此,后续实验的最佳填料高度参数设置 4 cm。

并提升吸附容量,处理周期延长,因此,综合评估吸附效率与操作经济性,确定 0.5 mL/min 为最佳进液流速参数。

2.3.3 进液质量浓度的影响

进液质量浓度是影响蛋白处理装置性能的另一个重要因素。将干重为 0.18 g 的微球填入柱,分别将质量浓度 0.2、0.5 mg/mL 和 0.8 mg/mL 的 BSA 溶液泵入装置,通过不同时间的 BSA 出水浓度获得的穿透曲线,相应进液质量浓度分别用 $C_{0.2}$ 、 $C_{0.5}$ 及 $C_{0.8}$ 表示。穿透曲线如图 9 所示,相关数据列于表 5。图 9 表明:随着进液质量浓度的增加,曲线的倾斜程度加大,动态吸附进程加快,饱和时间相应减少;QCPM 对 BSA 的平衡吸附量也随着 BSA 初始浓度的增大而增大,从 27.04 mg/g 变为 50.38 mg/g,传质区从 1.96 cm 增加到 2.43 cm;从表 5 可知,当 BSA 的初始浓度从 0.2 mg/mL 增加到

0.8 mg/mL时,BSA的 t_b 和 t_s 分别从 25 min 变为 9 min,从 49 min 变为 23 min,表明 BSA 蛋白分子的扩散过程高度依赖进液质量浓度,其原因是进液

质量浓度较高,微球内外出现较高的传质驱动力和较大的浓度梯度,使更多的 BSA 蛋白分子与微球上的吸附位点结合^[21]。

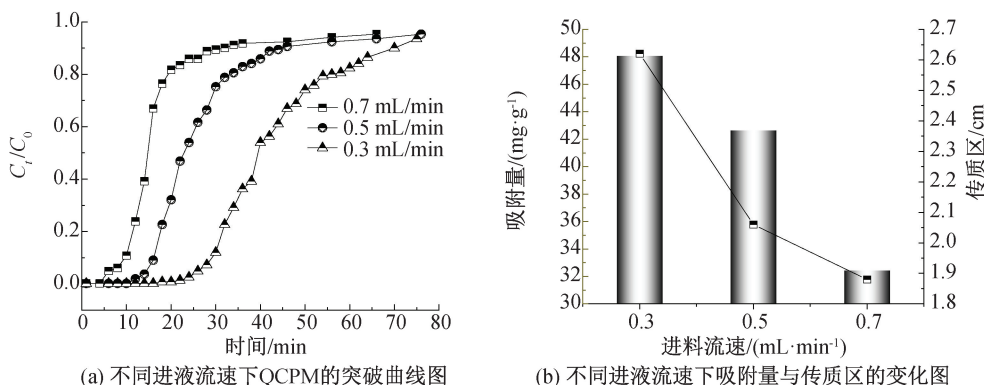


图8 不同进液流速下QCPM的突破曲线图及吸附量与传质区的变化图

表4 不同进液流速下的动态吸附结果

进液流速	t_b /min	Q_b /mg	W_b /mL	t_s /min	Q_s /mg	W_s /mL
$V_{0.3}$	30	4.50	9.00	58	8.65	17.40
$V_{0.5}$	15	3.75	7.50	31	7.67	15.50
$V_{0.7}$	10	3.50	7.00	24	8.28	16.80

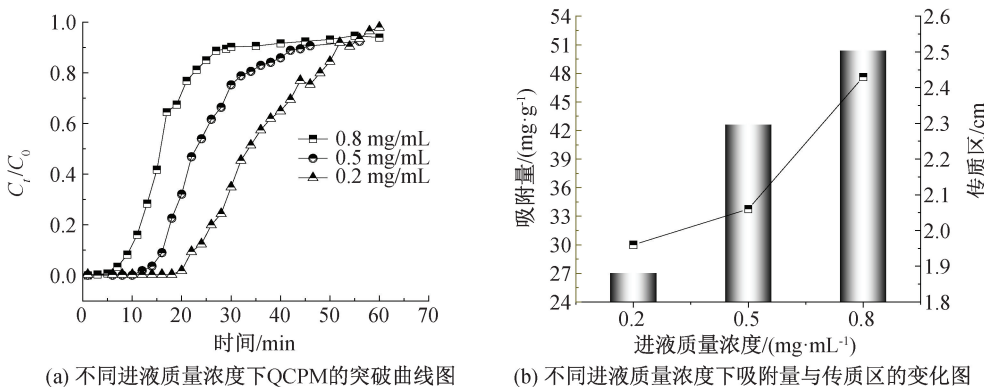


图9 不同进液质量浓度下QCPM的突破曲线图及吸附量与传质区的变化图

表5 不同进液质量浓度下的动态吸附结果

进液质量浓度	t_b /min	Q_b /mg	W_b /mL	t_s /min	Q_s /mg	W_s /mL
$C_{0.2}$	25	3.75	12.50	49	4.87	24.50
$C_{0.5}$	15	3.75	7.50	31	7.67	15.50
$C_{0.8}$	9	3.60	4.50	23	9.07	11.50

2.4 动态吸附模型

2.4.1 YN模型拟合

YN模型在本文中用于吸附柱50%穿透点的突破时间预测与动力学分析。该模型通过非线性拟合数据,拟合曲线如图10所示,拟合参数详见表6。由图10和表6可以看出:所有实验参数下的拟合数据 R^2 均大于0.96,并且 $\tau_{0.5}$ 的理论值与实验测量的 $t_{0.5}$ 较为接近,表明该模型能有效描述本实验的动态吸附行为^[22];随着填料高度的增加,吸附速率

常数 k_{YN} 从 0.30 min^{-1} 递减至 0.18 min^{-1} , $\tau_{0.5}$ 则从13.51 min延长至24.64 min,这一现象可归因于填料高度增加使得传质路径延长,使得BSA与QCPM活性位点的接触概率显著提升;当进液流速或进液质量浓度增加时, k_{YN} 呈现显著上升趋势,分别增加至 0.31 min^{-1} 和 0.26 min^{-1} , $\tau_{0.5}$ 则相应缩短至15.21 min和16.47 min,这可能归因于高流速或高浓度条件下吸附剂床层快速达到饱和状态, $\tau_{0.5}$ 出现降低。

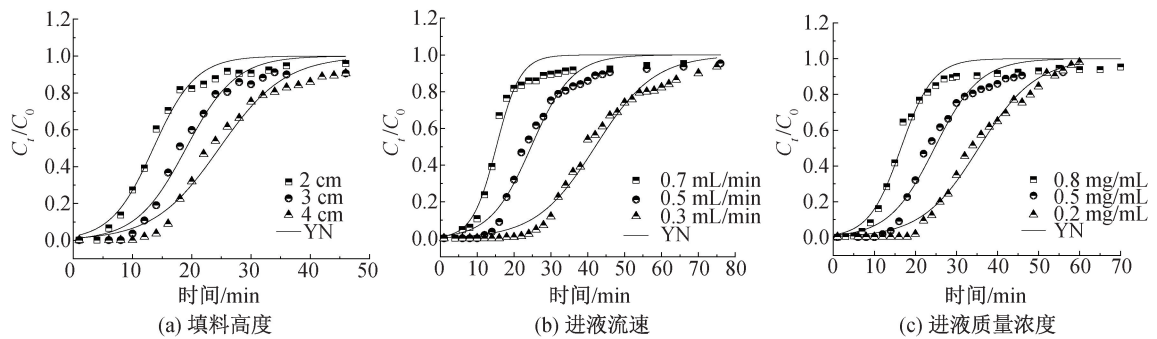


图 10 YN 模型拟合曲线

表 6 YN 模型拟合参数

实验组	本文数据		拟合数据	
	$t_{0.5}/\text{min}$	$k_{\text{YN}}/\text{min}^{-1}$	$\tau_{0.5}/\text{min}$	R^2
H_2	14	0.30	13.51	0.98
H_3	18	0.24	19.03	0.97
H_4	24	0.18	24.64	0.97
$V_{0.3}$	40	0.12	42.01	0.98
$V_{0.5}$	18	0.18	24.65	0.97
$V_{0.7}$	16	0.31	15.21	0.96
$C_{0.2}$	34	0.14	35.42	0.99
$C_{0.5}$	18	0.18	24.65	0.97
$C_{0.8}$	15	0.26	16.47	0.98

2.4.2 MDR 模型拟合

采用 MDR 对 BSA 在 QCPM 表面的吸附数据进行非线性曲线拟合分析,结果如图 11 所示,相关拟合参数见表 7。从图 11 和表 7 可以看出:MDR 模型对实验数据的相关系数 R^2 均保持在 0.98 以

上,较 YN 模型拟合精度提升约 1.65%,这表明 MDR 模型能更好地代表 BSA 在 QCPM 上的吸附行为,说明该模型对蛋白处理装置中的适用性^[23]。拟合结果显示平衡吸附量值与填料高度呈现正相关关系,这是更多的 QCPM 能将更多的 BSA 保留在吸附剂上,使得吸附量升高。吸附量值随着进液流速的增加而减小,这是因为流速增加,导致 BSA 与吸附剂之间作用时间缩短。吸附量值随着进液质量浓度的增加而增加,这是进液质量浓度的升高增大了吸附的传质驱动力,随着吸附过程的持续,吸附剂表面的活性位点将 BSA 快速捕捉,使得吸附量增大。MDR 模型通过拟合突破曲线特征参数,所得结果与实验趋势一致,这表明本文成功揭示了不同条件下吸附动力学行为,证实了 QCPM 在蛋白质纯化中的应用潜力。

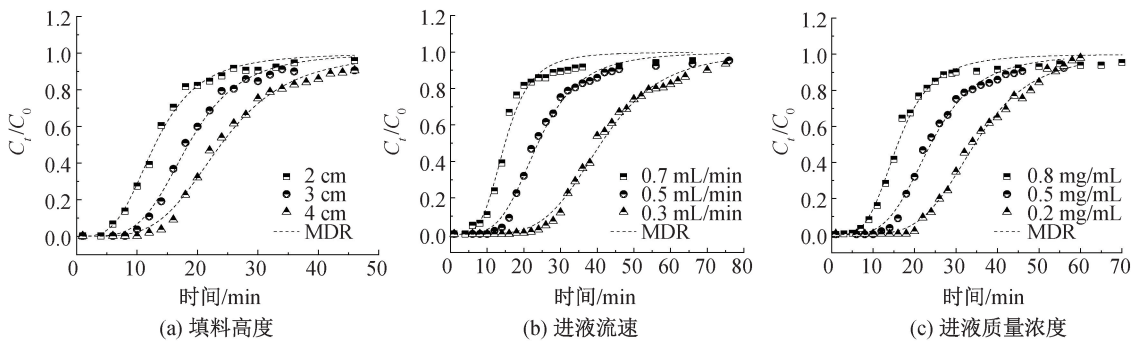


图 11 MDR 模型拟合结果

表 7 MDR 模型拟合参数

实验组	本文数据		拟合数据	
	$Q_e/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Q_0/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	a	R^2
H_2	34.85	26.99	3.52	0.99
H_3	37.81	30.78	4.28	0.99
H_4	42.62	33.14	4.24	0.99
$V_{0.3}$	48.06	34.22	4.97	0.99
$V_{0.5}$	42.62	33.16	4.17	0.99
$V_{0.7}$	32.41	28.93	4.17	0.98
$C_{0.2}$	27.04	19.16	4.97	0.99
$C_{0.5}$	42.62	33.15	4.22	0.99
$C_{0.8}$	50.38	35.39	3.86	0.99

2.4.3 响应面试验结果分析

基于单因素实验的结果,开展了蛋白吸附响应面分析,剖析了各因素间的交互作用对 BSA 吸附过程的影响,响应面分析采用 BBD 设计原理,按照该原理设计的实验方案及其结果见表 8。以平衡吸附量 Q_e 作为关键响应值,构建动态蛋白吸附影响因素回归方程。利用 Design-Expert 软件实验数据进行拟合与分析,结果如表 9 所示,所构建动态蛋白吸附影响因素回归方程如下:

$$Y = 39.78 + 4.06A - 8.6B - 1.64C + 1.01AB + 2.71AC - 0.002BC - 0.00777A^2 - 3.46B^2 - 5.42C^2$$

由表8和表9可知:模型F为53.16,表示该模型具有显著性, $P < 0.05$ 表示模型项具有显著性,回归模型合适无异常。 $P > 0.01$ 表示模型项不显著,不显著的失拟项代表模型拟合符合预期;A、B和C的P均小于0.05,说明各因素对平衡吸附量有显著影响,各因素对平衡吸附量的影响的显著性并不相同,其中填料高度与进液流速的对吸附量的影响大于进液质量浓度,不同因素的交互作用显著性影响顺序从小到大为AC、AB和BC,AC的 $P < 0.05$,AB和BC的 $P > 0.05$,说明各因素间交互作用对平衡吸附量的影响主要以填料高度与进液质量浓度为主。

表8 动态吸附影响因素 BBD 实验设计与结果

实验号	因素水平			$Q_e / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
	A	B	C	
1	1	-1	0	48.06
2	0	0	0	37.81
3	-1	0	1	25.55
4	0	-1	1	37.87
5	0	1	1	21.13
6	-1	-1	0	42.12
7	0	0	0	39.45
8	0	0	0	39.44
9	-1	1	0	22.41
10	1	0	1	39.26
11	-1	0	-1	34.73
12	0	0	0	39.45
13	0	1	-1	23.94
14	0	-1	-1	40.27
15	1	0	-1	37.60
16	1	1	0	32.41
17	0	0	0	42.77

表9 平衡吸附量响应面回归模型

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	963.56	9	107.06	53.16	<0.0001	显著
A:H	132.12	1	132.12	65.60	<0.0001	
B:V	592.16	1	592.16	294.01	<0.0001	
C:C ₀	21.53	1	21.53	10.69	0.0137	
AB	4.09	1	4.09	2.03	0.1972	
AC	29.36	1	29.36	14.58	0.0066	
BC	0.00	1	0.00	7.94×10^{-6}	0.9978	
A ²	0.03	1	0.03	0.01	0.9137	
B ²	50.32	1	50.32	24.98	0.0016	
C ²	123.79	1	123.79	61.46	0.0001	
残差	14.10	7	2.01			
失拟项	0.95	3	0.32	0.10	0.9579	不显著
纯误差	13.15	4	3.29			
总和	977.66	16				

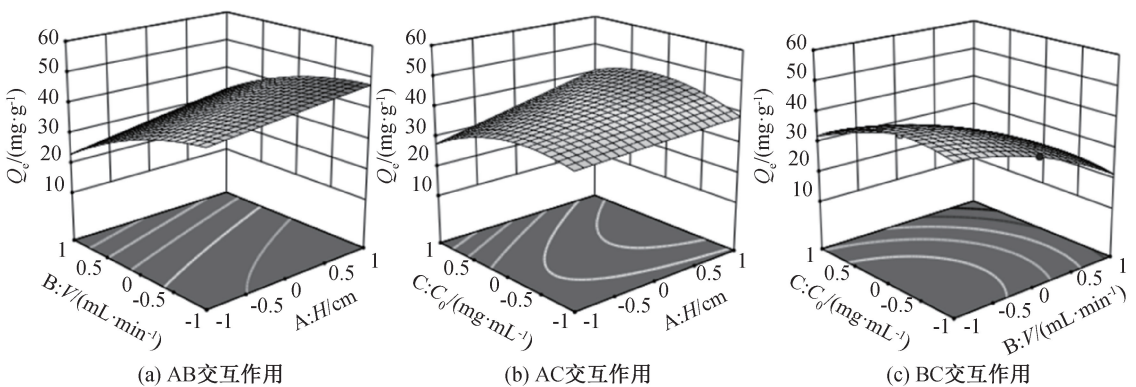


图12 平衡吸附量响应曲面

为了更直观地显示填料高度、进液流速和进液质量浓度对平衡吸附量的影响规律,基于上述回归模型绘制平衡吸附量的响应曲面,结果图12所示。

图12表明:响应3D曲面图由2个自变量组成,等高线的形状及响应面坡度陡峭程度均能够看出两因素间的交互作用强弱,等高图趋于圆形时,响应面坡

度越缓^[24],表示 2 因素的交互作用越不显著,反之则表示越显著^[25]。填料高度(A)和进液质量浓度(C)的交互作用对平衡吸附量的影响极显著,进液流速(B)和进液质量浓度(C)的交互作用对平衡吸附量的影响最小。

3 结 论

本文将含有氨基头部和疏水烷烃链的 EPTAC 接枝到亲水纤维素骨架上,采用乳液自组装策略同步构建具有多孔结构和丰富配体位点的 QCPM,并探究了 QCPM 对 BSA 的动态吸附性能,主要结论如下:

a) 通过乳液自组装策略制备的 QCPM 拥有互连多孔结构和 $242.76 \text{ m}^2/\text{g}$ 的大比表面积。

b) 通过提升填料高度、增加进液质量浓度并降低进液速度,可有效促进 BSA 吸附量的提高。当填料高度为 4 cm,进液质量浓度为 0.8 mg/mL ,进液流速为 0.5 mL/min 时最大吸附量为 50.38 mg/g 。

c) 在 QCPM 上的动态吸附行为与 YN 模型及 MDR 模型呈现良好拟合,吸附过程属于均匀表面的单分子层吸附。

d) 响应面结果分析表明填料高度(A:H)与进液流速(B:V)对平衡吸附量的影响呈显著主效应($P < 0.0001$),其作用强度优于进液质量浓度(C: C_0)($P = 0.0137$);各因素交互作用显著性由小到大的排序为 AC、AB 和 BC,各因素间的交互作用对平衡吸附量的影响主要为填料高度与进液质量浓度为主。

参考文献:

- [1] Siew Y Y, Rai A, Pek H B, et al. New and efficient purification process for recombinant human insulin produced in *Escherichia coli*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(24): 9137-9151.
- [2] Lin W, Zhao Z G, Du W J, et al. Interferon-gamma-inducible protein 16 inhibits hepatocellular carcinoma via interferon regulatory factor 3 on chemosensitivity[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2024, 69(2): 491-501.
- [3] Mekala R J, Nalluri P H, Reddy N P, et al. Emerging trends and therapeutic applications of monoclonal antibodies[J]. *Gene*, 2024, 925: 148607.
- [4] Kastenhofer J, Cataldo A L, Ebner J, et al. Economic and ecological benefits of a leaky *E. coli* strain for downstream processing: A case study for staphylococcal protein A [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2021, 96(6): 1667-1674.
- [5] Liu S X, Li Z H, Yu B, et al. Recent advances on protein separation and purification methods[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2020, 284: 102254.
- [6] Lei D, Tang Z H, Zhao L S, et al. Macroporous cellulose microspheres derived from cigarette butts waste: Preparation, characterization, and application in proteins adsorption [J]. *Cellulose*, 2023, 30(14): 9061-9077.
- [7] Zhao L S, Li S S, Liang C, et al. High-strength and low-crystallinity cellulose/agarose composite microspheres: Fabrication, characterization and protein adsorption [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2021, 166: 107826.
- [8] Kumpanenko I V, Dyubonov M V, Ivanova N A, et al. Dynamic adsorption of ammonium ions from aqueous solutions by strong-acid cationites [J]. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 2022, 14(6): 914-921.
- [9] Jiang S S, Lyu Y, Zhang J, et al. Continuous adsorption removal of organic pollutants from wastewater in a UiO-66 fixed bed column [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2024, 12(2): 111951.
- [10] 袁纯怡, 孙玉柱, 杨颖, 等. D301 树脂动态吸附溴离子过程探究及模型拟合[J]. *过程工程学报*, 2020, 20(6): 655-666.
- [11] Zhang L W, Hua J R, Zhu W J, et al. Flocculation performance of hyperbranched polyethylenimine-grafted cellulose in wastewater treatment [J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(2): 1592-1601.
- [12] Yao S Q, Shi W J, Chen X Y, et al. IR spectra of quarternary ammonium cellulose and its adsorption properties to POPs[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, 29(9): 2370-2374.
- [13] Wang Q, Li Y J, Tang Z Y, et al. Regulation of macroporous cellulose microspheres via phase separation force induced by carbon nanotubes doping for enhanced protein adsorption[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 344: 122541.
- [14] He X Y, Suo X K, Bai X Q, et al. Functionalizing aluminum substrata by quarternary ammonium for antifouling performances [J]. *Applied Surface Science*, 2018, 440: 300-307.
- [15] Zhou Y, Jiang Y Z, Zhang Y, et al. Improvement of antibacterial and antifouling properties of a cellulose acetate membrane by surface grafting quarternary ammonium salt[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2022, 14(33): 38358-38369.
- [16] Qiao L Z, Wang T, Liao Y X, et al. Macroporous chitin microspheres prepared by surfactant micelle swelling strategy for rapid capture of lead (II) from wastewater [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 276: 118775.
- [17] Qiao L Z, Zhao L S, Liang C, et al. The construction of porous chitosan microspheres with high specific surface area by using agarose as the pore-forming agent and further functionalized application in bioseparation [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7(36): 5510-5519.
- [18] Li S S, Shi C, Ai H, et al. Bacterial cellulose-based submicrobundle framework-induced hyperporous cellulose microspheres functionalized by ionic liquids for anion exchange

- chromatography[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 475:146030.
- [19] Li S S, Wang Y H, Qiao L Z, et al. Fabrication of self-reinforced polymorphic cellulose nanofiber composite microspheres for highly efficient adsorption of proteins[J]. *Cellulose*, 2022, 29(9): 5191-5205.
- [20] Fu Q, Si Y, Duan C, et al. Highly carboxylated, cellular structured, and underwater superelastic nanofibrous aerogels for efficient protein separation [J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 29(13):1808234.
- [21] 郑康, 龚文丽, 鲍杰, 等. 两性纤维素多孔凝胶球的制备及其动态吸附性能[J]. *纺织学报*, 2024, 45(5): 102-112.
- [22] Omitola O B, Abonyi M N, Akpomie K G, et al. Adams-Bohart, Yoon-Nelson, and Thomas modeling of the fix-bed continuous column adsorption of amoxicillin onto silver nanoparticle-maize leaf composite[J]. *Applied Water Science*, 2022, 12(5): 94.
- [23] Vera M, Aguilar J, Coronel S, et al. Machine learning for the adsorptive removal of ciprofloxacin using sugarcane bagasse as a low-cost biosorbent; Comparison of analytic, mechanistic, and neural network modeling[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2024, 31(35): 48674-48686.
- [24] Gu Y M, Feng H X, Wang B, et al. Adsorption of Pb^{2+} by inorganic liquid-treated sepiolite; Adsorption process optimization and mechanism analysis via response surface methodology [J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2024, 363:112821.
- [25] 陆甜, 陶渊, 杨托, 等. 石墨相氮化碳特异性吸附血液中血红蛋白的条件优化[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(30): 4817-4823.

团队介绍

生物基纤维材料研究团队聚焦国家生物制造与“双碳”战略目标, 攻关生物质固废资源增值转化及衍生化生物材料绿色制备与规模化生产、可循环可降解生物基新产品成型加工与应用一体化中的基础理论与关键技术, 重点开展蚕丝蛋白、纤维素、木质素及其衍生化生物基新材料的可控制备、成型加工与工程化应用研究。刘琳, 是中国化学会高级会员; 目前主持包括国家自然科学基金、浙江省“尖兵”科技计划在省内省部级及以上项目 7 项, 企业委托项目 10 余项; 在国内外重要学术期刊已发表 SCI 论文 60 余篇, 授权国家发明专利 30 余件; 获浙江省科学技术进步奖一等奖 1 项、浙江省自然科学奖二等奖 1 项等多项荣誉; 在生物质资源高值化利用与功能材料研究与开发方面形成特色与比较优势。

(责任编辑: 廖乾生)