

壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球的制备及其对 BSA 吸附性能的研究

岳凯婷, 王兆梅, 黄泽娜

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 以离子液[Emim]Ac 为溶剂, 采用挤球法制备壳聚糖/纤维素硫酸酯 (CHT-CS) 复合小球, 探索制备条件, 并用 FT-IR、SEM 和 XRD 对其进行表征。将复合小球用于吸附牛血清蛋白 (BSA), 考察影响 CHT-CS 吸附 BSA 的因素。结果表明: 制备复合小球的最佳条件是纤维素硫酸酯的取代度为 0.58, 复合原料液的浓度为 5%, 壳聚糖:纤维素硫酸酯为 1:1; 纤维素硫酸酯和壳聚糖在制备过程中发生了复杂的相互作用, 形成了结构稳定, 表面和内部均存在大量沟壑和孔洞的小球; 所制备的复合小球对 BSA 的最大平衡吸附量达到 157 mg/g, 高于其他壳聚糖复合材料; 当 BSA 初始浓度 1 mg/mL、溶液 pH 为 5 左右, 小球对 BSA 的吸附量最大; 一定范围内增加小球投加量在可增大 BSA 吸附量。本研究结果为分离纯化 BSA 和 CHT-CS 复合小球固定化酶等方面的应用提供了参考。

关键词: 壳聚糖; 纤维素硫酸酯; 复合小球; 牛血清蛋白; 吸附

文章编号: 1673-9078(2017)1-159-165

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.025

Preparation of Chitosan/Cellulose Sulfate Composite Beads and Their Bovine Serum Albumin Adsorption Behavior

YUE Kai-ting, WANG Zhao-mei, HUANG Ze-na

(College of Food Science and Technology, South China University of Technology Guangzhou 510640, China)

Abstract: Composite beads of chitosan and cellulose sulfate (CHT-CS) were prepared by squeezing with ionic liquid [Emim]Ac as the solvent. The preparation conditions were optimized, and the CHT-CS beads were characterized by fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscope (SEM), and X-ray diffraction (XRD) measurement. The adsorption capacity of CHT-CS beads for bovine serum albumin (BSA) was evaluated, and the conditions affecting BSA adsorption were investigated. The results indicated that the optimum conditions for CHT-CS bead preparation were a cellulose sulfate substitution degree of 0.58, a composite raw material concentration of 5% (*m/V*), and a CS/CHT ratio of 1:1. A complex interaction between cellulose sulfate and chitosan occurred during the preparation of the composite beads, providing structural stability with many gaps and holes on the surface and in the interior of the beads. The maximum BSA adsorption capacity of the composite beads (157 mg/g) was achieved when the initial concentration of BSA was 1 mg/mL and the pH was 5. The adsorption capacity increased with the amount of CHT-CS beads, within a certain range. These results may potentially provide a reference for the separation and immobilization of BSA.

Keywords: chitosan; cellulose sulfate; composite beads; BSA; adsorption

近年来, 蛋白质的分离和纯化吸引了许多学者的兴趣, 常用的方法有沉淀、盐析、膜分离、吸附和电泳等。吸附分离方法因成本低廉、活性损伤小、效率高和易于加工的特点而被广泛应用, 其中, 由低廉易得的天然聚合物和生物聚合物制备的吸附材料得到广泛关注。壳聚糖 (chitosan, CHT) 是一种天然的阳离子

收稿日期: 2016-01-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31071505, 31371743)

作者简介: 岳凯婷 (1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事纤维素改性研究

通讯作者: 王兆梅 (1974-), 女, 博士, 副教授, 主要从事天然高分子材料

研究

子聚合物, 由甲壳素经脱乙酰化得到的碱性多糖, 由于其独特的分子结构和活性基团, 具有较好的吸附性能, 在污水处理、固定化酶和吸附重金属等方面有着广泛的应用^[1-3]。但壳聚糖的机械强度和耐酸性较差, 常与其他材料复合应用。Mousa 等^[4]采用二缩水甘油基醚和聚(二甲氧基硅氧烷)作交联剂制备壳聚糖水凝胶, 聚合物的表面积得以显著增大, 有利于吸附。辛梅华等^[5]将具有良好力学性能的聚乳酸(PLLA)与 N-组氨酸壳聚糖制成复合支架, 使壳聚糖的机械性能得到改善, 且大大提高了其吸附性能。Zoheb 等^[6]通过冷冻干燥和压缩的方式制备壳聚糖和纤维素薄膜, 两者发

生复杂的交联,形成结构稳定程度远远超过戊二醛交联的壳聚糖聚合物,且其对不同染料有较高的吸附率。

纤维素是自然界产量最大的天然高分子,因其来源广、价格低廉和强度高特点,被国内外研究者广泛关注,其中改性纤维素类吸附剂是目前研究重点之一^[7,8]。纤维素硫酸酯(Cellulose Sulfate, CS)是纤维素中的羟基被硫酸酯基团取代后所得的阴离子聚合物,能与壳聚糖交联形成机械强度较好的高分子材料^[9]。受此启发,本文采用自然界中存在最为广泛的两种多糖作为原料,制备壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球,为吸附法提供一种新型的可降解的环保吸附材料奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验原料与仪器

纤维素硫酸酯系列样品 CS-1、CS-2 和 CS-3,采用多相硫酸酯化法制备^[10],以氯磺酸-二甲基甲酰胺

为酯化剂制备,经测试,取代度分别为 0.42、0.58 和 1.02;壳聚糖(脱乙酰度 85%),国药集团化学试剂有限公司;离子液体 1-乙基-3-甲基咪唑醋酸盐(1-Ethyl-3-methyl-imid--azol-Acetate, [Emim]Ac),上海成捷化学有限公司;牛血清蛋白(Bull Serum Albumin, BSA),广州齐云生物技术有限公司;考马斯亮蓝 G250,天津市凯通化学试剂有限公司;冰乙酸、无水乙醇、DMF、磷酸二氢钠、无水乙酸钠、磷酸和磷酸氢二钠均为分析纯。

集热式恒温加热磁力油浴锅:巩义市予华仪器有限公司;恒温摇床:武汉中科科仪技术发展有限公司;台式离心机:长沙湘仪离心机仪器有限公司;傅里叶红外光谱仪:德国 Bruker 公司;扫描电子显微镜:德国卡尔公司;紫外-可见分光光度计,UV 5200:上海 Unico 仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 复合小球的制备

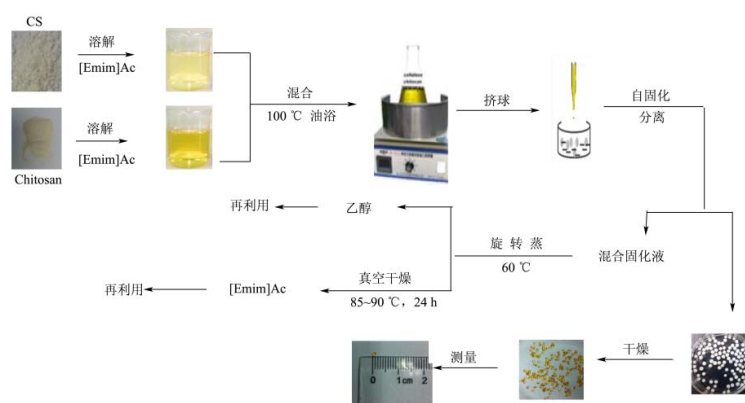


图 1 制备壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球过程示意图

Fig.1 Schematic illustration of chitosan/CS composite bead preparation

壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球的制备如图 1 所示,在 90 °C 下将壳聚糖(ChT)和纤维素硫酸酯(CS)分别溶解在[Emim]Ac 离子液中,再将两种原料液按照一定质量比在 100 °C 油浴混合反应 30 min,反应过程中保持均匀的磁力搅拌,最终得到均匀透明的液体。然后用胶头滴管采用挤球法向固化液无水乙醇挤球,在低速磁力搅拌下中固化 2h 成球,再分离小球后用去离子水清洗小球 3 次,得到湿态复合小球,经过 60 °C 下鼓风干燥得图中小球。分离小球后剩余的固化液中含有乙醇、[Emim]Ac 和少量水分,可通过旋转蒸发和真空干燥进行回收再利用。

1.2.2 复合小球制备工艺选择

复合小球的制备按照图 1 的工艺流程,以成球性和小球的散失率作为工艺评价目标。重点考察以下工艺条件:

纤维素硫酸酯原料:三种纤维素硫酸酯原料 CS-1、CS-2 和 CS-3 的[Emim]Ac 溶液(5%)分别与壳聚糖的[Emim]Ac 溶液(5%)按 1:1 的比例制备复合小球。

原料浓度:分别配制 2%、5%和 8%的纤维素硫酸酯和壳聚糖离子溶液,按 1:1 的比例混合均匀,根据小球的成球性确定原料最佳浓度。

复合小球原料配比:将最佳原料浓度的纤维素硫酸酯和壳聚糖按 8:1、4:1、1:1、1:4 和 1:8 比例混合制备小球,比较小球的成球性,确定最佳原料配比。

其中,小球的散失率的测定通过高速离心法测定,即取一定量的小球,在 8000 r/min 转速下高速离心 30 min,比较小球离心前后的重量,通过以下公式计算散失率:

$$\eta = \frac{M - m}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中, M 为离心前的质量(g), m 为离心后的质量 (g)。

1.2.3 复合小球的结构表征

①含水率的测定: 采用干燥恒重法; ②SEM 分析: 将复合小球进行清洗、冷冻干燥、粘样和镀膜等处理, 用扫描电镜对复合小球的形貌及表面结构进行分析; ③FT-IR 分析: 利用 VECTOR 33 傅里叶红外光谱仪对复合小球进行结构分析, 并和原料进行对比, 试样的制备采用 KBr 压片法; ④X-射线衍射分析: 将复合小球研磨成粉, 利用 X 射线衍射仪分析复合小球的结晶结构, 并与原料进行对比。实验条件为铜靶, 入射线波长 0.15418 nm, Ni 滤波片, 管压为 40 kV, 管流为 40 毫安, 扫描步长 0.04°, 扫描速度 38.4 s/步; 狭缝 DS=0.5°; RS=8 mm(对应 LynxExe 阵列探测器)。

1.2.4 复合小球的吸附试验

复合小球对 BSA 吸附: 称取干燥的复合小球 20mg, 放入试管中, 随后向试管中各加入 1 mg/mL 的 BSA 溶液 10 mL, 于 25°C 摇床中恒温振荡, 每隔一定时间取上清液, 用紫外-可见分光光度计测 595 nm 处的吸光值, 根据 BSA 的标准曲线, 算出 BSA 含量, 得出吸附量。吸附量的计算方式如下:

$$Q = \frac{(\rho_0 - \rho_1)V}{m} \quad (2)$$

式中: ρ_0 和 ρ_1 分别为吸附前和后的 BSA 质量浓度(mg/mL); V 为溶液的体积 (mL); m 为复合小球的质量 (g)。

1.2.5 影响复合小球吸附的因素

BSA 的初始浓度: 取相同质量的复合小球分别加入不同质量浓度(0、0.2、0.4、0.8、1.0、1.5 和 2.5 mg/mL) 的 10 mL 的 BSA 溶液中, 恒温振荡吸附 4 h 后, 取上清液, 测 BSA 含量。

复合小球投加量: 分别向相同质量浓度的 BSA 溶液中加入不同质量 (0、2、4、6、8 和 10 mg) 的复合小球, 恒温振荡吸附 4h, 取上清液, 测 BSA 含量。

pH 值: 配制 pH 4~8 的缓冲液, 其中 pH 4 和 pH 5 使用醋酸-醋酸钠缓冲液, pH 6、pH 7 和 pH 8 使用磷酸盐缓冲液, 用以上缓冲液分别配制 BSA 溶液, 并分别加入一定量的复合小球, 恒温振荡吸附 4h, 取上清液, 测 BSA 含量。

1.2.6 溶液的回收与再利用

分离复合小球后的固化液含有大量乙醇、离子液和少量水分。通过 60 °C 真空下旋转蒸发回收乙醇, 之后将剩余的离子液倒入表面皿中, 置于真空干燥箱中, 85~90 °C 下真空干燥 24 h 以去除离子液中微量的水分, 即得到回收的离子液。将回收的离子液和乙醇再用于壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球的制备。

1.3 数据统计分析

本文采用 Origin Pro 8、OMNIC 8.0 等软件处理实验数据, 获得复合小球的理化数据和衍射图谱等。试验结果未特殊说明的均为 3 次以上重复, 结果表示为“平均值±标准差”(Mean±SD)。

2 结果与分析

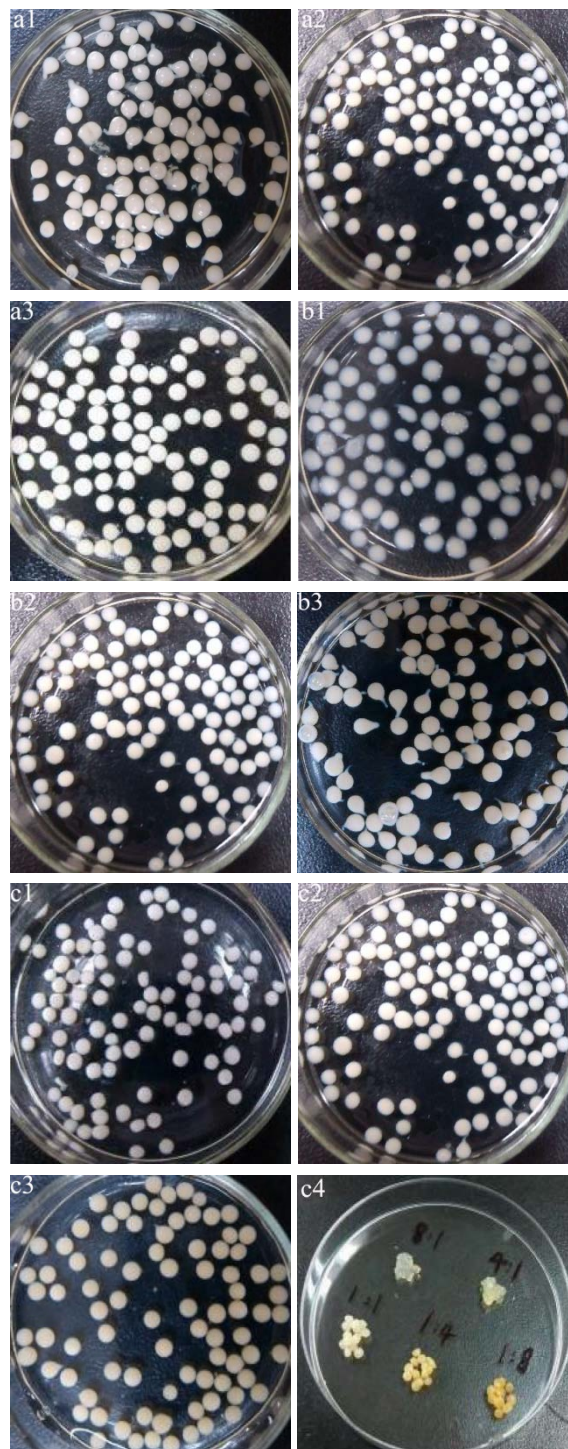


图2 不同制备条件下壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球的形貌
Fig.2 Morphology of chitosan/cellulose sulfate composite beads prepared under different conditions

注: a, 不同纤维素硫酸酯原料制备的复合小球形貌, a1:

CS-1; a2: CS-2; a3: CS-3; b, 不同原料浓度条件下制备的复合小球的形貌, b1: 2%; b2: 5%; b3: 8%; c, 原料不同的质量配比下制备的复合小球的形貌, c1~c3 依次为: CHT:CS 1:8, 1:1 和 8:1; 最右图为离心后的小球。

2.1 壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球制备工艺

2.1.1 纤维素硫酸酯原料选择

由图 2a 可知, 三种纤维素硫酸酯均能与壳聚糖复合成球, 但由 CS-1 复合而成的小球基本都有拖尾现

象, 球形度不佳; CS-2 复合小球少数出现拖尾, 整体球形度较好; CS-3 复合小球球形圆润, 整体球形度最好。这是因为三种纤维素硫酸酯原料的取代度不同, 硫酸酯基取代度越大, 纤维素硫酸酯的黏度越小, 流动性较好, 成球时更易分离, 拖尾现象越少; 其次带负电的纤维素硫酸酯能与带正电的壳聚糖分子相互作用, 当静电排斥力降低至足以克服排斥力障碍, 形成结构完整均一的凝聚体, 因此, 球形度好。

表 1 壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球制备结果

Table 1 Results of chitosan/cellulose sulfate composite bead preparation

原料种类	制备条件		小球形貌		物理指标		
	原料浓度	原料配比	形态	色泽	得率%	含水率%	散失率%
CHT:CS-1	5%	1:1	卵形, 拖尾	乳白色	76.24±1.23	93.21±0.46	25.14±3.21
	2%	1:1	不规则性状	白色	68.46±0.75	96.81±1.21	57.43±4.36
		1:8	不规则球形	乳白色	69.33±1.02	96.22±2.14	--
		1:4	球形, 拖尾	乳白色	71.45±2.13	95.82±1.43	--
CHT:CS-2	5%	1:1	较好的球形	乳白色	72.33±2.14	95.67±1.07	36.82±3.25
		4:1	较好的球形	淡棕黄色	73.53±1.86	92.47±0.68	32.04±2.45
		8:1	均匀球形	棕黄色	74.85±2.66	92.82±1.22	30.52±4.67
	8%	1:1	卵形, 拖尾	淡棕黄色	75.41±2.12	92.14±2.34	34.23±5.39
CHT:CS-3	5%	1:1	圆润的球形	乳白色	71.21±2.79	93.42±3.14	58.72±3.65

注: “--”无法测量。

表 1 为 CHT-CS 复合小球的制备结果及小球的特性, 以三种 CS 为原料所制备的复合小球, 其散失率随着 CS 的取代度增大而增大, CS-3 复合小球的球形度虽然最好, 但其强度最差; 而 CS-1 复合小球虽然拖尾比较严重, 但强度最好, 不易破碎。综合考虑, 选择 CS-2 来与壳聚糖复合进行下面的实验, 保证小球具有较好的球形度, 同时机械强度良好。

2.1.2 原料浓度的选择

溶液浓度是影响复合微球形态和粒径的重要因素之一, 如图 2b 和表 1 所示, 当原料浓度为 2% 时, 浓度太低, 溶液黏度不够, 形成的凝胶机械强度太小, 容易破碎和坍塌成扁平状, 在分散剂中无法维持球形; 增大溶液浓度, 大大改善了微球的形态和分散性, 当浓度为 5% 时, 其流动速度适宜, 小球滴落时速度均匀且易分离, 在分散剂中具有良好的成球性, 形成的小球较圆; 当浓度为 8% 时, 浓度过高, 黏性太大, 流动性较差, 难以分离, 且液滴滴落速度慢, 球体不均匀, 导致小球形状呈卵形, 有拖尾现象。因此, 在以下制备过程中选择原料浓度 5% 来制备小球。

2.1.3 原料配比的选择

如图 2c 所示, 不同原料配比下制得的壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球都具有一定的球形度。当 CHT

比例大于 CS 时, 少数小球会出现拖尾, 且 CHT 含量越高, 小球颜色越深; 当 CS 比例大于 CHT 时, 小球的机械强度降低, 清洗时小球只要轻轻挤压就会导致变形。这是因为原料中主含的纤维素硫酸酯部分溶于水, 在清洗的过程中, 游离的纤维素硫酸酯分子溶解在去离子水中, 小球内部结构疏松, 强度降低, 容易崩塌, 并且纤维素硫酸酯含量越高越易崩塌。表 1 所示, 在高速离心后, 壳聚糖比例大于 1:1 的复合小球的散失率都在 30% 以上, 壳聚糖比例越高, 散失率越小, 小球得率越高。从图 2c 也可看出, 壳聚糖比例大于 1 时, 离心后的小球仍维持独立的个体, 强度较好, 而原料配比是 8:1 与 4:1 (CS:CHT) 的小球在离心力的作用下变成糊状团, 散失率无法测量。因此, CS:CHT=1:1、1:4 和 1:8 的复合小球都具有良好的成球性, 将这三种小球简称复合小球 1、复合小球 2 和复合小球 3, 下文中将选取三种小球中的全部或部分样品分别进行结构表征和吸附性能分析。

2.2 复合小球的表征

2.2.1 复合小球的 IR 分析

如图 3 所示, 将复合小球的谱图 a、b 和 c 与原料谱图 d 和 e 相比可知, 1643 cm^{-1} 与 1598 cm^{-1} 属于壳

聚糖分子中的 C=O-N 及 N-H 的伸缩振动峰移向了低场, 随着纤维素硫酸酯比例的减少, 3440 cm^{-1} 左右的 -OH 与 -NH₂ 的伸缩振动峰逐渐减弱且发生红移, 表明在成球过程中壳聚糖与纤维素硫酸酯的部分羟基发生交联形成了氢键。而在 1262 cm^{-1} 和 816 cm^{-1} 处特属于纤维素硫酸酯的 S=O 与 C-O-S 吸收峰也逐渐减弱, 这是因为 SO₃⁻ 与 -NH₃⁺ 发生了反应生成聚电解质复合物, 分子的极性降低, 峰形减弱^[1]。由此看来, 壳聚糖和纤维素硫酸酯在复合的过程中发生了复杂的相互作用, 使得两者均匀混合且形成均匀一致的小球。

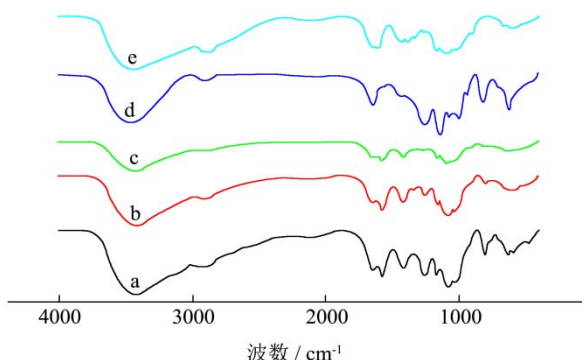


图3 壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球的傅里叶红外光谱图

Fig.3 FT-IR spectra of CHT/CS composite bead and chitosan and cellulose sulfate

注: a 表示复合小球 1; b 表示复合小球 2; c 表示复合小球 3; d 表示纤维素硫酸酯; e 表示壳聚糖。

2.2.2 复合小球的 XRD 分析

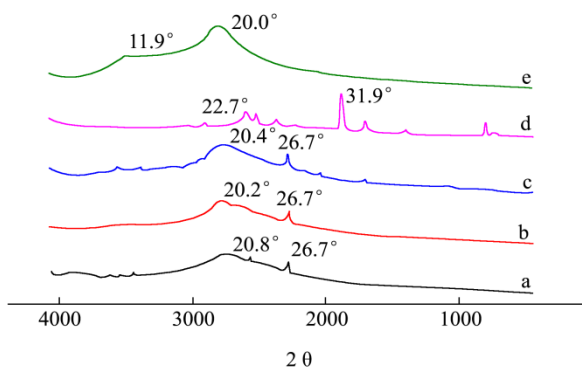


图4 壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球的 XRD 图谱

Fig.4 XRD spectra of CHT/CS composite bead, chitosan, and cellulose sulfate

注: a 为复合小球 1; b 为复合小球 2; c 为复合小球 3; d 为纤维素硫酸酯; e 为壳聚糖。

从图 4e 可看出, 壳聚糖的主要衍射峰出现在 $2\theta=11.9^\circ$ 和 20.0° 处, 表明壳聚糖具有两种不同的晶体形态。纤维素硫酸酯的衍射峰(d)位于 22.7° 和 31.9° 附近, 且峰形较弱。比较三种复合小球的衍射图, 三种小球的衍射峰的位置基本相同, 都是在 20° 和 26.7° 附近, 但图中原料的主衍射峰都消失了且产生新的衍射

峰, 随着纤维素硫酸酯比例的升高, 衍射峰的强度减弱。这说明, 在成球过程中由于分子间的相互作用, 壳聚糖的二级结构被破坏, 整个混合体系的无序性增大, 无定形面积相对增加, 有利于与吸附质相互作用而吸附, 且纤维素硫酸酯的含量越多, 这种作用越明显。因此, 图 4 的 X-射线衍射谱图进一步证实了在成球过程中壳聚糖与纤维素硫酸酯之间发生了复杂的相互作用。

2.2.3 SEM 分析

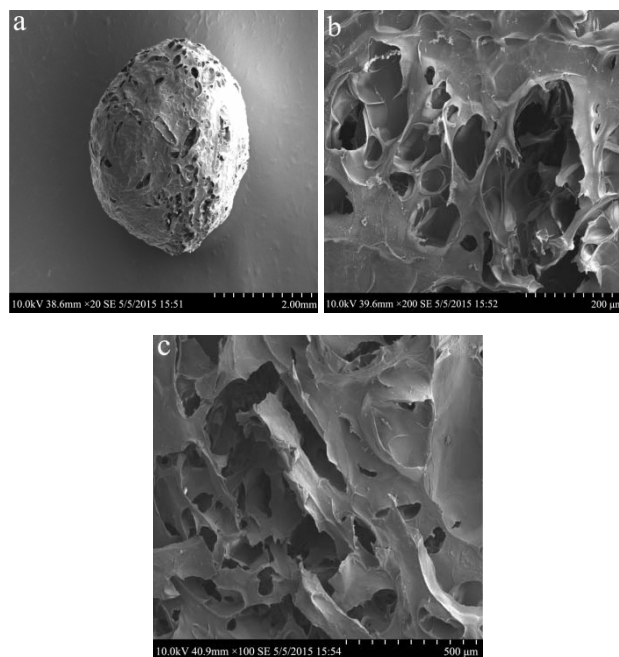


图5 壳聚糖/纤维素硫酸酯复合小球 1 的 SEM 图

Fig.5 SEM images of chitosan/cellulose sulfate composite bead 1

注: a, 全貌图; b, 表面结构图; c, 断面结构图

2.3 复合小球对 BSA 的吸附

2.3.1 复合小球对 BSA 的吸附效果

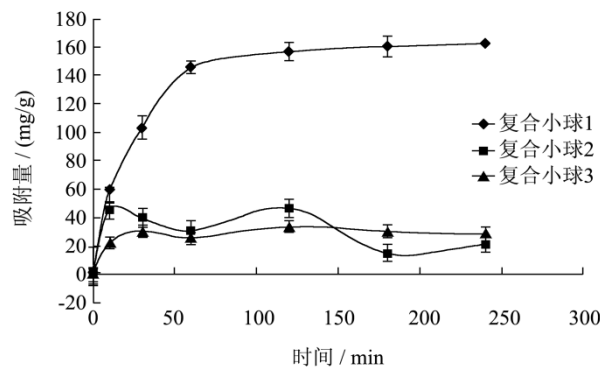


图6 复合小球对 BSA 的吸附效果

Fig.6 Effects of composite bead concentrations on BSA adsorption profiles

通过紫外-可见分光光度法检测 BSA 含量, 并建立浓度 (x) 与吸光值 (y) 之间的工作曲线:

$y=0.0074x+0.0813$, 经方差检验, $R^2=0.9948$, BSA 在 $10\mu\text{g/mL}\sim 70\mu\text{g/mL}$ 的范围内线性良好。图 6 为三种不同配比的复合小球对 BSA 的吸附结果, 从图中可看出, 复合小球 1 的吸附效果最佳, 最大吸附量可达 157 mg/g , 高于相同质量下单一壳聚糖的最大吸附量 100 mg/g , 且高于 Yujun Wang 等人用磁性壳聚糖纳米粒子吸附 BSA 最高值为 110 mg/g ^[12], 这充分说明, CHT/CS 复合小球对 BSA 的吸附作用不仅与 CHT 本身的化学吸附有关, 还与 CS 的存在有关。CS 与 CHT 的交联破坏了分子链的规整性, 从而导致高聚物结晶能力下降, 比表面积增加, 有利于与吸附质相互作用而吸附。从图 6 可以看出, 复合小球 2 和 3 的最大吸附量远远低于复合小球 1, 不超过 50 mg/g 。这是因为三个样品中复合小球 1 中 CS 含量最高, 此外, 复合小球 1 的含水量最高, 对亲水性物质的吸附能力最强。因此复合小球 1 的吸附能力最佳, 以下实验均采用复合小球 1。

2.3.2 吸附试验的影响因素

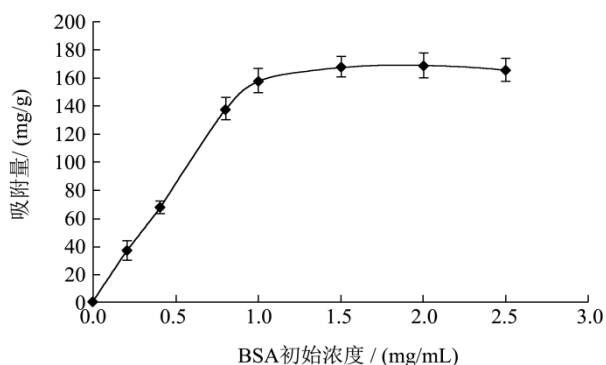


图 7 不同 BSA 初始浓度下复合小球对 BSA 的吸附效果

Fig.7 Effect of initial BSA concentration on the adsorption profile of BSA onto composite beads

从图 7 可知, 随着 BSA 初始浓度的增加, 小球的吸附量也随之增加, 呈线性关系; 当 BSA 的初始浓度达到 1 mg/mL 时小球的吸附量最大, 此后, 吸附值趋于平稳。对于固液体系的吸附行为, 常用 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温模型来描述。经分析, Langmuir 模型拟合的系数远远高于 Freundlich 模型拟合的系数, 说明复合小球对 BSA 以单层吸附为主, 与曹淼等人的分析吻合^[13]。在低浓度时, 复合小球表面尚有足够的吸附位, 故 BSA 吸附量随 BSA 初始浓度增大而增加, 此时吸附量取决于由溶液主体扩散至吸附界面层 BSA 数量, 即由内扩散控制。在高浓度区, 由于吸附位逐渐被占据, 空余吸附位较少, 扩散控制变为络合反应控制, 吸附值趋于饱和和吸附容量。

图 8 为复合小球投加量对其吸附效果的影响。随着复合小球投加量的增加, 小球对 BSA 的吸附量先增

加后减少。这是因为当复合小球的投加量适当增大时, 复合小球中亲水性 SO_4^{2-} 的浓度增大, 促进 BSA 溶液的表面张力增大, 这有利于 BSA 内部的疏水部分活化, 与复合小球相互反应, 因此小球对 BSA 吸附容量增大; 另一方面, 离子浓度增加, 导致蛋白质的双电层的抑制减少, 蛋白间的静电排斥减少, 增加吸附^[14]。但是, 复合小球投加量过大, 离子强度的增加使蛋白质分子处于更多的离子气氛中, 与配体结合的空间阻碍和静电排斥作用增大; 其次, 多余的 SO_4^{2-} 与 BSA 中的与某些基团相互作用, 阻碍了复合小球与蛋白质分子之间的结合, 导致吸附量减少。因此, 适当的小球的投加量 0.2 mg/mL 对 BSA 的吸附有利。

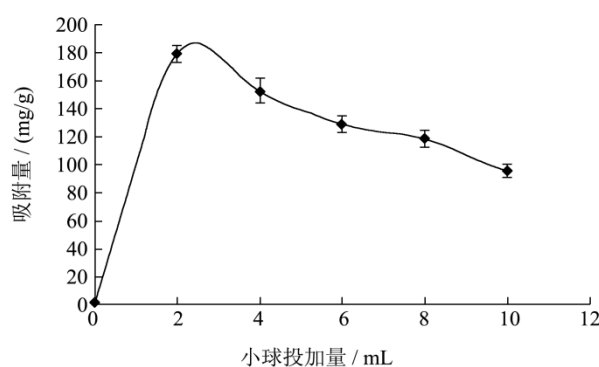


图 8 不同复合小球的投加量对 BSA 吸附效果的影响

Fig.8 Effect of the dosage of composite beads on BSA adsorption profile

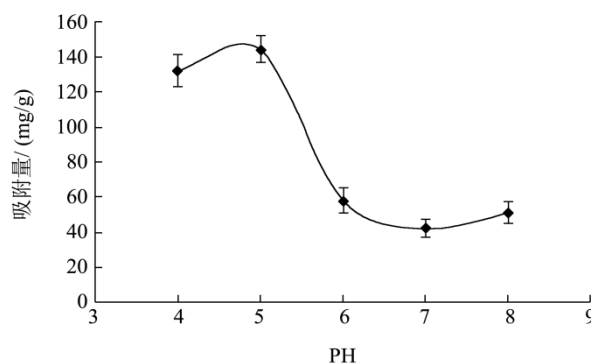


图 9 不同 pH 吸附效果的影响

Fig.9 BSA absorption behavior as a function of initial pH

图 9 是不同 pH 环境下, 复合小球对 BSA 的吸附效果。当 pH 小于 5 时, 随着 pH 的增大, 小球的平衡吸附量增大, 在 pH 为 5 左右时, 小球的吸附量达到最大; 当 $\text{pH}>5$ 时, 平衡吸附量随着 pH 的增大而减少。这是因为 BSA 的等电点为 4.7, 当 pH 值小于 BSA 的等电点时, BSA 带正电, 其本身存在着静电排斥, 而 BSA 与复合小球的吸附作用以静电吸引为主, 当 pH 越高, 排斥力逐渐越弱, 小球对 BSA 的吸附效果就越好; 当 pH 大于等电点时, BSA 带负电, 除了本身的静电排斥外, 它与复合小球的 SO_3^- 的静电排斥力

较大,小球须克服的阻力太大,吸附效果降低,且pH越高,BSA所带负电荷越多,排斥力越大。因此,pH在接近等电点的位置时小球的吸附量最大。

3 结论

以可再生天然资源壳聚糖和纤维素的硫酸酯化衍生物为原料、以绿色溶剂离子液为溶解体系,采用挤球的方法,制备CHT/CS复合小球吸附材料,用于牛血清蛋白的吸附。CHT/CS复合小球制备过程中两种原料壳聚糖和纤维素硫酸酯在离子液[Emim]Ac体系中发生了复杂的氢键相互作用和静电吸附反应,形成了结构均一、高度缠结的空间网络结构,复合小球的表面和内部存在大量的沟壑和孔洞,有利于对蛋白质等物质的吸附。控制BSA初始浓度、复合小球的投加量和溶液pH值等条件可达到复合小球对BSA的最佳吸附效果。CHT/CS复合小球可望应用于牛血清蛋白的回收利用、作为蛋白类药物载体或酶的固定化等领域。

参考文献

- [1] Mohammadtaghi Vakilia, Mohd Rafatullaha, Mahamad Hakmilbrahima. Chitosan hydrogel beads impregnated with hexadecylamine for improved reactive blue 4 adsorption [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 137: 139-146
- [2] Fernanda G L Medeiros Borsaglia, Alexandra APMansura, Poliane Chagasb. O-carboxymethyl functionalization of chitosan: Complexation and adsorption of Cd (II) and Cr(VI) as heavy metal pollutants [J]. Reactive and Functional Polymers, 2015, 97: 37-47
- [3] Chen Hou, Yang Wang, Hao Zhu, et al. Construction of enzyme immobilization system through metal-polyphenol assisted Fe₃O₄/chitosan hybrid microcapsules [J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 283: 397-403
- [4] Mousa G, Motahare N. Synthesis of chitosan networks: swelling, drug release and magnetically assisted BSA separation using Fe₃O₄ nanoparticles [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(3): 1265-1272
- [5] 辛梅华,陈彰旭,李明春,等.N-组氨酸壳聚糖/聚乳酸支架吸附牛血清白蛋白研究[J].功能材料,2015,46(12):12106-12109
XIN Mei-hua, CHEN Zhang-xu, LI Ming-chun, et al. Adsorption behavior of bovine serum albumin onto the N-histidine chitosan/poly(lactic acid) scaffold [J]. Functional Materials, 2015, 46(12): 12106-12109
- [6] Zoheb Karim, Aji P Mathew, Mattias Grahn, et al. Nanoporous membranes with cellulose nanocrystals as functional entity in chitosan: Removal of dyes from water [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 112: 668-676
- [7] Sanna Hokkanena, Amit Bhatnagarb, Mika Sillanpää. A review on modification method to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity [J]. Water Research, 2016, 91: 156-173
- [8] Inimfon A Udoetoka, Raquel M Dimmicka, Lee DWilso, et al. Adsorption properties of cross-linked cellulose-epichlorohydrin polymers in aqueous solution [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 329-340
- [9] 朱丽英,晏晓琴,张红漫,等.壳聚糖-纤维素硫酸钠聚电解质复合物膜对药物表观渗透系数的测试[J].物理化学学报,2014, 30(2):365-370
ZHU Li-ying, YAN Xiao-qin, ZHANG Hong-man, et al. Determination of apparent drug permeability coefficients through chitosan-sodium cellulose sulfate polyelectrolyte complex films [J]. Acta Phys.-Chim. Sin., 2014, 30(2): 365-370
- [10] 邱常玲,王兆梅,郭祀远,等.抗凝血纤维素硫酸酯制备过程的优化[J].现代食品科技,2007,23(11):54-57
QIU Chang-lin, WANG Zhao-mei, GUO Si-yuan, et al. Optimization of anticoagulation cellulose sulfate ester preparation process [J]. Modern Food Science & Technology, 2007, 23(11): 54-57
- [11] Li-ying Zhu, Xiao-qin Yan, Hong-man Zhang, et al. Novel double-walled microspheres based on chitosan, sodium cellulose sulfate and sodium tripolyphosphate: Preparation, characterization and *in vitro* release study [J]. Rapid Communication, 2015, 32(3): 369-372
- [12] Yu-jun Wang, Xiang-hua Wang, Guang-sheng Luo, et al. Adsorption of bovine serum albumin (BSA) onto the magnetic chitosan nanoparticles prepared by a microemulsion system [J]. Bioresource Technology, 2008, 99: 3881-3884
- [13] 曹淼,李忠宏,朱伟,等.活性红 120 改性磁性壳聚糖微球对牛血清白蛋白的吸附性能[J].食品科学,2013,34(21):64-68
CHAO Miao, LI Zhong-hong, ZHU Wei, et al. Adsorption of bovine albumin by reactive red 120 modified magnetic chitosan microspheres [J]. Food Technology, 2013, 34(21): 64-68
- [14] Jing Zhang, Zheng-pu Zhang, Yu Song, et al. Bovine serum albumin (BSA) adsorption with cibacron blue F3GA attached chitosan microspheres [J]. Reactive and Functional Polymers, 2006, 66(9): 916-923