

Study on the Separation of Ethanol by Adsorption

(State Key Laboratory of Bioreactor Engineering ECUST, Shanghai 200237)

Yan XiKang Fan LiMei Zhuang YinPin Yan Ming

Abstract This study deals with separation of ethanol by macroreticular polymeric adsorbents. Amberlite XAD-4 were selected from more than ten different kinds of adsorbents made at home and abroad, because of its high static adsorption capacity as 108.3 mg ethanol/g XAD-4 resin. The adsorption isotherms were determined at the temperatures of 20°C, 30°C and 40°C, and showed the behavior that turned out contrary to the ordinary one. It can be explained that both of physical adsorption and non-reversible chemical adsorption are included in this process. Langmuir model expended equation for adsorption isotherm of this process was proposed after regression and optimization by computer work.

Key Words Macroreticular Polymeric Adsorbents, Ethanol, Adsorption, Adsorption Isotherm

空间质量作用模型预测蛋白质离子交换平衡

陈卫东 孙彦

(天津大学化工学院生物化工系, 天津 300072)

摘要 研究了 BSA 在阴离子交换剂 DEAE-Spheredex M 上的吸附平衡行为, 用空间质量作用模型 (SMA) 描述了盐浓度对吸附平衡的影响。结果表明, SMA 模型较准确的预测了在不同盐浓度下的吸附平衡行为, 但随着盐浓度的增加, 其预测精度下降。

关键词 空间质量作用模型, 离子交换平衡, 蛋白质吸附

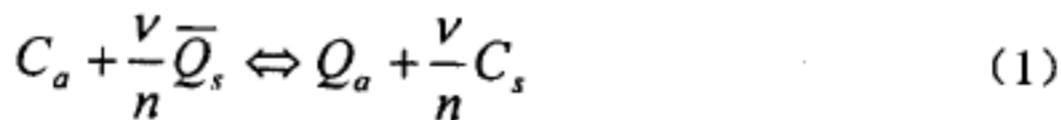
1 引言

吸附和离子交换广泛应用于生物分离过程, 在原料液脱色、除臭、目标产物的提取、浓缩和粗分离方面发挥着重要作用。各种基于吸附和离子交换原理的层析法是纯化生物产物的主要手段^[1]。吸附色谱具有高选择性和通用性, 广泛应用于复杂物系的分析和生物化学物质的分离提纯。在化学工业中大约有 50% 的产品的生产制造与之相关^[2]。因此深刻理解吸附平衡对于层析的工程应用是相当重要的。

吸附平衡模型有多种形式, 最频繁使用的是 Langmuir 模型^[3]及其各种改进模型^[4, 5]、Freundlich 方程^[6]、BET 方程^[7]和理想配比替换模型^[8, 9]等。在众多模型中, 非线性竞争吸附平衡的研究对于理解蛋白质的离子交换色谱分离过程是极其重要的。其要点是考虑蛋白质的多点吸附, 以及吸附相对于蛋白质分子吸附行为的阻碍, 还必须考虑液相中盐浓度的影响。前述模型均没有考虑空间位阻及盐浓度对吸附平衡的影响。本文采用考虑以上三个方面的空间质量作用模型 (SMA)^[10~13], 研究了蛋白质在离子交换介质上的吸附平衡行为。该模型的理论预测结果与实验值的比较表明, 使用 SMA 模型预测大分子离子交换系统中的复杂行为是有效的。

2 SMA 模型

SMA 模型基于如下假设: 用特征电荷 ν 描述具有多点形状的天然蛋白质的离子交换吸附; 在离子交换系统中, 竞争性的吸附可以用质量作用平衡来描述, 在此过程中维持吸附相上的电中性; 蛋白质分子的吸附导致了已被吸附的平衡盐离子的空间位阻, 这些被覆盖的平衡盐离子不能和其它蛋白质发生交换反应; 伴离子的影响在离子交换过程中可以忽略。另外 SMA 模型不考虑引起蛋白质立体结构发生改变的种种非理想因素。特征电荷 ν 的意义为, 在吸附过程中一个被吸附的蛋白质与 ν 个吸附点相互作用, 取代 ν 个单价平衡盐离子。蛋白质和平衡盐离子的化学计量关系如下式所示:



其中 C 和 Q 分别表示液相和吸附相浓度, n 表示盐离子的荷电荷数, 下标 a 和 s 分别表示蛋白质和盐。上杠-表示可以和液相中蛋白质进行交换反应的被吸附的盐离子。对应的离子交换过程的平衡常数 K_a 为:

$$K_a = \left(\frac{Q_a}{C_a} \right) \left(\frac{C_s}{\bar{Q}_s} \right)^{\frac{\nu}{n}} \quad (2)$$

被覆盖的盐离子的总浓度 \hat{Q}_s 用下式表示:

$$\hat{Q}_s = \sigma_a Q_a \quad (3)$$

此处 σ_a 为蛋白质的空间因子。吸附相中的盐离子的总浓度 \bar{Q}_s 用下式表示：

$$Q_s = \bar{Q}_s + \sigma_a Q_a \quad (4)$$

由于吸附相上维持电中性，有下式成立：

$$A = n\bar{Q}_s + (\nu + n\sigma_a)Q_a \quad (5)$$

式中 A 为凝胶的离子交换容量。将 (5) 式代入 (2) 式，得到如下吸附等温线方程：

$$C_a = \left(\frac{Q_a}{K_a} \right) \left(\frac{nC_s}{A - (\nu + n\sigma_a)Q_a} \right)^{\frac{\nu}{n}} \quad (6)$$

式 (6) 为三参数模型。文献中一般采用色谱法确定 SMA 模型参数，而本研究采用间歇吸附平衡实验数据确定 SMA 模型参数。离子交换介质的离子交换容量 A 由滴定法测得； C_a 趋于零时，式 (6) 简化为：

$$\frac{Q_a}{C_a} = K_a \left(\frac{A}{nC_s} \right)^{\frac{\nu}{n}} \quad (7)$$

利用蛋白质浓度趋于零时低盐浓度吸附等温线的斜率值，对 (7) 式两边取对数做图可得一条直线，使用该直线的截距和斜率，求得特征电荷和平衡常数； C_a 趋于无穷大时， \bar{Q}_s 近似为零，有下式成立：

$$Q_a^{\max} = \frac{A}{\nu + n\sigma_a} \quad (8)$$

式中 Q_a^{\max} 为最大吸附密度，由该式可确定空间因子。

3 实验部分

3.1 实验材料

牛血清白蛋白 (BSA) 购自 Sigma 公司；DEAE-Spheredex M 由 Biosepra 公司提供；其它试剂均为国产分析纯产品。

缓冲液为 0.01mol/l Tris-HCl 溶液 (pH7.4) 和 0.01mol/l 磷酸盐缓冲液 (pH7.36)。

3.2 吸附平衡

准确称取约 0.25g 的凝胶 (湿重) 置于锥形瓶中，加入 25mL BSA 溶液 (浓度在 0.1-2.6mg/ml 之间，所用缓冲液盐浓度同浸泡胶所用的缓冲液)。将锥形瓶置于摇床中，25℃下恒温振荡 20 小时，静置，取上层清液 5ml，280nm 下测吸光度，计算吸附量，获得吸附等温线。

4 结果与讨论

4.1 Tris 缓冲液与磷酸盐缓冲液中 BSA 的吸附平衡

BSA 在不同缓冲液中吸附平衡的情况示于图 1 和图 2。在计算中，对 Tris-HCl 缓冲液取 $n=1$ ，对磷酸盐缓冲液，反离子包括 Cl^- 、 HPO_4^{2-} 和 H_2PO_4^- ，按其各自相对浓度，取 $n=1.1$ 。Tris-HCl 和磷酸盐缓冲液分别使用盐浓度为 8.4 和 15mmol/l 的间歇吸附平衡实验数据，用 SMA 模型拟合得到各参数值示于表 1。此处 K_a 为表观平衡常数。

Table 1 SMA model Parameters obtained by fitting to the experimental data

缓冲液	A/(mmol/l)	n	K _a	V	σ
Tris-HCl	53.0	1	1220	1.9	17.4
磷酸盐	53.0	1.1	1182	2.7	17.3

从表 1 可以看出，不同溶液体系的 SMA 模型参数变化不大。据文献报导，溶菌酶在离子交换容量为 525mmol/l 的强阳离子交换柱 (54×5mm I.D., 15 μm) 上吸附，其特征电荷为 6.14，空间因子为 0，表观平衡常数为 0.212^[14]。BSA 在离子交换容量为 200mmol/l 的强阴离子交换剂 Q-Sepharose 上吸附，特征电荷为 4.3，空间因子为 142^[15]。这一现象的主要原因是研究中采用的离子交换介质的性质及孔架结构有很大差异，并且不同蛋白质的性质亦有显著不同。

利用表 1 参数，SMA 的理论预测曲线与实验结果的比较见图 1 和 2 所示。由图可见，该模型在预测盐浓度导致的吸附等温线显著下降方面显示出了较强的功能。对于不同的缓冲液，SMA 模型在盐浓度较低时的预测结果非常准确，但随着盐浓度的增加，其预测精度下降。尤其是在盐浓度较高的情况下，其预测结果偏差较大。导致这一现象的原因，笔者认为主要是由于模型的假设中未考虑造成蛋白质立体结构发生改变的因素。在较高的离子强度下，BSA 分子之间长程的吸引力和排斥力被极强的屏蔽^[16]，使得 BSA 分子难于在凝胶表面上吸附，并且使吸附质 BSA 分子难于在凝胶表面上重排，从而使得 SMA 模型的预测值大于实际值，并且随着盐浓度的增加，其预测结果的偏差呈增大趋势。

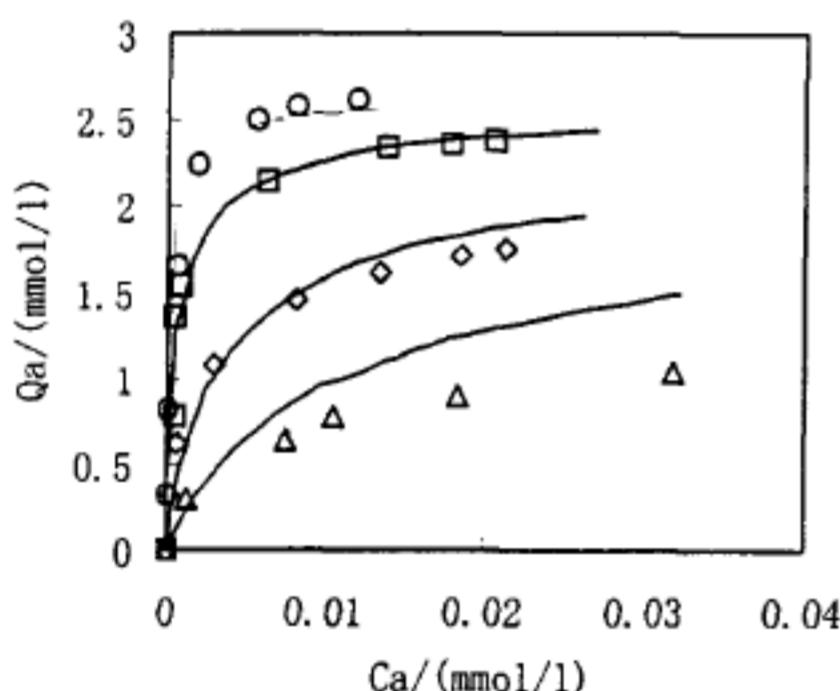


Fig.1 Adsorption isotherms of BSA in Tris buffer

with different NaCl concentrations;

Solid lines calculated from SMA model,

○ 8.4mmol/l; □ 28.4mmol/l; ◇ 58.4mmol/l;

△ 108.4mmol/l

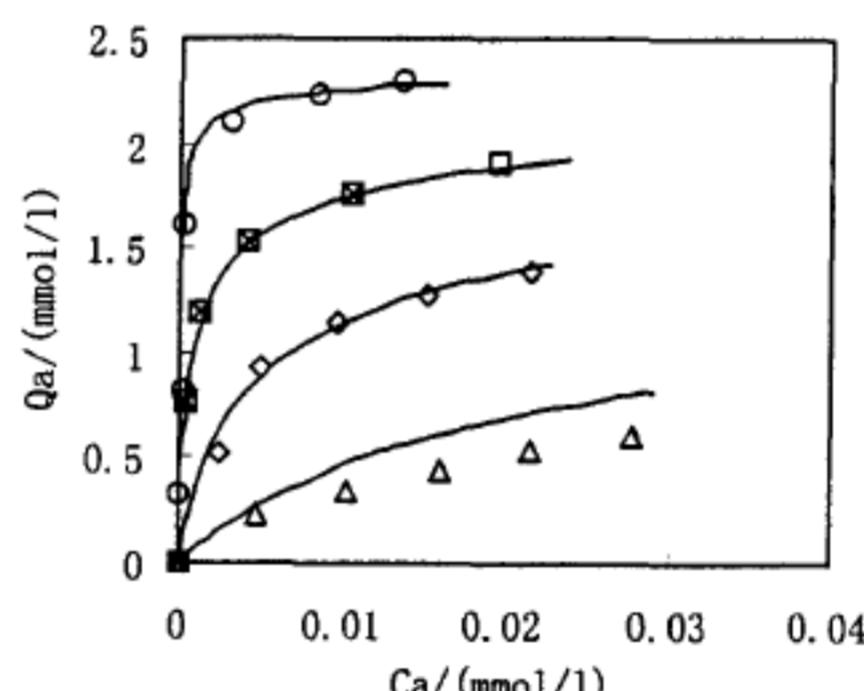


Fig.2 Adsorption isotherms of BSA in phosphate buffer

with different NaCl concentrations;

Solid lines calculated from SMA model,

○ 15mmol/l; □ 35mmol/l; ◇ 65mmol/l;

△ 115mmol/l

4.2.SMA 模型与 Langmuir 模型的比较

在 Tris 和磷酸盐缓冲液中得到的 BSA 吸附平衡实验值与使用 Langmuir 吸附等温方程得到的预测结果吻合较好，即使在盐浓度较高时，其预测精度也达到了较高要求。但是 Langmuir 吸附等温方程的参数必须从实验数据的拟合中才能得到，并且需要使用不同盐浓度的实验数据进行拟合，才能得到不同盐浓度的 Langmuir 吸附等温方程，这是它的最大缺点。

SMA 模型在这方面有较大优势，它仅需要使用低浓度盐溶液的吸附平衡数据获得模型参数，可以对任一盐浓度的蛋白质吸附平衡行为进行预测。SMA 模型对较低盐浓度下的蛋白质吸附平衡行为预测精度较高，但是由于模型假设的局限，使得该模型对较高盐浓度下的预测结果偏差较大。

5 结论

- 实验结果表明，SMA 模型是研究蛋白质吸附平衡行为的有效工具，SMA 模型在预测盐浓度增大导致的吸附等温线显著下降方面是有效的。

2. SMA 模型较为准确的预测了在不同盐浓度下的吸附平衡行为，但随着盐浓度的增加，其预测精度下降。在较高盐浓度下，SMA 模型的预测结果均比实验值偏大。

参 考 文 献

- 1 Sun Y (孙彦). Bioseparation Engineering (生物分离工程), Beijing, Chemical Industry Press (化学工业出版社), 1998: 130
- 2 Xuezhi J, Julian T, Linda W. AIChE J., 1994, 40 : 1685-1696
- 3 Langmuir I. J. Chem. Soc., 1918, 40:1361
- 4 Markham E C, Benton A F. J. Am. Chem. Soc., 1931, 53: 497
- 5 Fritz W, Schlunder E U. Chem. Eng. Sci., 1974, 29: 1279
- 6 Freundlich H. Colloid and Capillary Chemistry, Mathuen, London, 1926: 110
- 7 Brunauer S, Emmett P H, Teller E. J. Am. Chem. Soc., 1938, 60: 309
- 8 Kopaciewicz W, Rounds M A, Fausnaugh J, Regnier F E. J. Chromatog., 1983, 266: 3
- 9 Rounds M A, Regnier F E. J. Chromatog., 1984, 283: 37
- 10 Vunnum S, Gallant S R, Cramer S M. Biotechnol. Prog., 1996, 12: 84-91
- 11 Brooks C A, Cramer S M. AIChE J., 1992, 38 : 1969-1978
- 12 Vunnum S, Gallant S R, Young J K, Cramer S M. Chem. Eng. Sci., 1995, 50 : 1785-1803
- 13 Vunnum S, Natarajan V, Gallant S R, Cramer S M. Sep. Sci. Tech., 1998, 33 : 2465-2489
- 14 Gallant S R, Vunnum S, Cramer S M. J. Chromatog., 1996, 725: 295-314
- 15 Bosma J C, Wesselingh J A. AIChE J., 1998, 44 : 2399-2409
- 16 Fair B D, Jamieson A M. J. Colloid Interface Sci., 1980, 73 : 130-135

Steric Mass-Action Model for the Prediction of Protein Ion-Exchange Equilibrium

Chen Weidong Sun Yan

(Department of Biochemical Engineering, School of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072)

Abstract BSA adsorption equilibrium to the anion exchanger DEAE-Spheredex M has been studied. The steric mass action (SMA) model was used to describe the adsorption isotherms. The results show that the SMA model could accurately predict protein adsorption equilibrium in different buffers with different salt concentrations. However, at a higher salt concentration, the calculated isotherm from the SMA model was somewhat higher than the experimental data.

Keywords steric mass-action model, ion-exchange equilibrium, protein adsorption