

研究论文

动态 Monte Carlo 模拟蛋白质与微滤膜 相互作用及其对微滤过程的影响

康 锴, 卢滇楠, 张敏莲, 刘 铮
(清华大学化学工程系, 北京 100084)

摘要: 构建了二维晶格蛋白质-微滤膜疏水相互作用模型, 采用动态 Monte Carlo 方法模拟了微滤膜污染过程及其受膜孔径、蛋白质浓度和蛋白质结构特性等因素的影响。模拟结果显示: 微滤过程中膜通量的变化呈现快速下降、缓慢下降和平台期 3 个阶段。小孔径微滤膜的滤阻从以膜孔阻力为主转变为以饼层阻力为主; 而大孔径微滤膜的滤阻则以膜孔阻力为主。提高蛋白质浓度会强化滤阻从膜孔阻力向饼层阻力的转变。在微滤过程中, 蛋白质会因疏水相互作用在膜孔内发生构象转换, 进而发生不可逆吸附并形成多层堆积, 导致膜污染和通量下降。提高蛋白质的构象稳定性可以显著降低其对微滤膜的污染。分子模拟结果与文献报道的实验结果和理论模型相符, 所提供的微观信息对于微滤过程优化和微滤膜设计具有参考作用。

关键词: 微滤; 膜污染; 蛋白质; 动态 Monte Carlo 模拟

中图分类号: O 629 73; TQ 936 21

文献标识码: A

文章编号: 0438-1157(2007)12-3011-08

Dynamic Monte Carlo simulation of protein-membrane interaction and its implication on micro-filtration process

KANG Kai, LU Diannan, ZHANG Minlian, LIU Zheng

(Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: A two-dimensional lattice model that highlights the hydrophobic interaction between protein and micro-filtration (MF) membrane was presented for dynamic Monte Carlo simulation of the membrane fouling process. The effect of membrane pore size, protein concentration and structure on membrane fouling was examined. It was shown that the MF process could be divided into three stages according to the changes in the trans-membrane flux, i.e., rapid declining, slow declining and quasi-steady-state. For the MF membrane with a small pore size, cake resistance became dominating while the pore resistance contributed less to the overall filtration resistance along with the filtration process, while the filtration using the membrane with a large pore size was dominated by the pore resistance. The increase of protein concentration accelerated the shift of the dominating role from pore resistance to cake resistance. The hydrophobic interaction between membrane and protein may lead to the unfolding of protein, the enhancement of the irreversible multi-layer adsorption onto membrane surface, and consequently, the reduction of trans-membrane flux. The enhancement of protein structure characterized by hydrophobic core may repress the adsorption and this could be accomplished by choosing an appropriate solution. The simulation results agreed well with both experimental investigation and theoretical models reported

2007-02-07 收到初稿, 2007-05-29 收到修改稿。

联系人: 刘铮。第一作者: 康锴(1982-), 男, 博士研究生。

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(22063040)。

Received date: 2007-02-07.

Corresponding author: Prof. LIU Zheng. E-mail: liuzheng@mail.tsinghua.edu.cn

Foundation item: supported by the National Natural Science

Foundation of China(22063040).

elsewhere. The molecular insight of the MF process provided by the above simulation is helpful for the optimization of the MF process and design of new MF membrane.

Key words: micro-filtration; membrane fouling; protein; dynamic Monte Carlo simulation

引 言

微滤是生物分离过程中的重要单元操作,常用于从蛋白质溶液中除去不溶性固体颗粒。但在分离过程中常会发生蛋白质在膜表面的吸附与堆积,导致膜通量下降和目标产物损失。降低蛋白质在膜表面的吸附始终是膜分离技术中的重要研究内容^[1]。静电和疏水相互作用是导致蛋白质在膜表面吸附和堆积的主要成因^[2]。现有的微滤膜污染模型主要包括表面吸附模型、拥挤模型和饼层模型^[3-5]。Nakamura等^[6]指出微滤膜污染过程分为单层和多层吸附两个阶段,并提出 Pore narrowing 模型描述蛋白质在孔道内部的吸附沉淀,但该模型忽略了饼层形成对膜污染的影响。Tracey 等^[7]的研究表明膜污染首先发生在膜孔的开口处,进而造成膜孔狭窄,导致蛋白质通量下降和蛋白质堆积层的形成。Wessling 等^[8]采用单粒子代表蛋白质来模拟其在膜的表面堆积过程。但与蛋白质的真实结构相比,单粒子结构过于简化,难以反映蛋白质分子立体结构在膜分离过程中的变化以及蛋白质分子-膜、蛋白质-蛋白质分子的多重相互作用。因此,需要采用能够反映蛋白质分子结构特征的模型进行相关的分子模拟研究。

动态 Monte Carlo 模拟已被用于探讨蛋白质结构转化^[9-10],其中的 HP 二维晶格模型很好地抽提了蛋白质结构及其变化的本质,即蛋白质分子结构中疏水核心区域的丧失与重建^[9],并被广泛应用于研究单分子蛋白质结构转换^[11-12]、表面活性剂^[10]和高分子^[13]辅助蛋白质折叠等。

本文采用二维晶格蛋白质分子模型和动态 Monte Carlo 方法来模拟微滤过程中的膜污染现象,着重探讨膜孔结构、蛋白质浓度、蛋白质特性以及疏水基团相互作用等对蛋白质在膜表面吸附和堆积过程的影响作用机制。分子模拟与文献报道的实验结果符合并能很好地再现多种膜污染理论模型,其所提供的微观细节对于微滤过程优化和微滤膜设计具有重要的参考意义。

1 模型和模拟方法

1.1 蛋白质模型

选用 16 个粒子组成的蛋白分子作为模型蛋白,如图 1 所示。模型蛋白由白色的亲水性粒子(hydrophilic bead, P)和黑色的疏水性粒子(hydrophobic bead, H)构成,其序列为 HHHH-HPHHPHHPHHPH。该模型蛋白表面具有暴露的疏水相互作用位点,被广泛应用于蛋白质折叠、聚集和表面吸附等相关研究中^[14-15]。

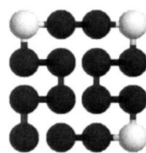


图 1 模型蛋白

Fig 1 Model proteins

1.2 微滤膜模型

微滤膜模型如图 2 所示,模拟空间由 3 部分组成:膜外、膜体和膜孔。其中膜孔宽度和长度均可根据模拟条件加以调节。微滤膜的孔径通常为 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$,而蛋白质分子的当量直径多在 $10 \sim 50 \text{ nm}$ 之间,亦即膜孔直径和蛋白质分子平均直径之比 $d_m : d_p$ (下文简称孔径比)为 $10 \sim 50$ 。由于本文采用的模型蛋白的直径为 4~6 个晶格长度,所以将膜孔直径选定为 40 个晶格长度以上。

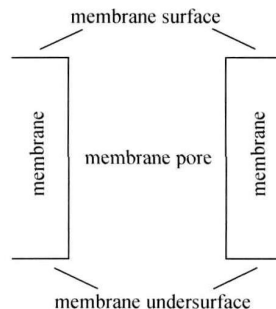


图 2 微滤膜模型

Fig 2 Micro-filtration membrane model

1.3 势能函数

蛋白质分子在膜表面的吸附主要由静电和疏水

作用力所致,前者可通过调整溶液的 pH 值来弱化甚至变为相互排斥;而后者发生在蛋白质表面疏水区域与膜表面间并总是相互吸引的,进一步地,蛋白质在膜表面的堆积则是由于蛋白质-蛋白质分子间的疏水相互作用^[16],故本文主要考察疏水相互作用所导致的膜污染特性。静电作用对膜污染的影响则主要纳入下述的相互作用函数中来考虑。

蛋白质分子内和分子间的疏水相互作用采用如式(1)所述的方阱势函数来表示

$$u(r) = \begin{cases} \infty, & r = 0 \\ \epsilon_i^* \delta_{ij}, & r = \sigma \\ 0, & r > \sigma \end{cases} \quad (1)$$

式中 $\epsilon_i^* = \epsilon_i / k_B T$ 为量纲 1 的 HP 蛋白氨基酸残基间疏水相互作用能; k_B 为 Boltzmann 因子; T 为体系温度; ϵ_i 为氨基酸残基间疏水相互作用能,其反映蛋白质所处的溶剂环境, $|\epsilon_i|$ 越小,氨基酸间疏水相互作用越弱,表明蛋白质易于失活,反之易于维持天然结构; δ_{ij} 为狄拉克函数,取决于蛋白残基 i 和残基 j 的性质,当 i 和 j 均为疏水残基时, $\delta_{ij} = 1$, 否则 $\delta_{ij} = 0$; r 为氨基酸残基之间的距离; σ 为晶格长度。

蛋白质分子和膜孔内壁间的疏水相互作用采用如式(2)所述的势能函数来表示

$$u(r) = \begin{cases} \infty, & r = 0 \\ \frac{\epsilon_2^*}{r} \delta_i, & 0 < r \leq r_c, \quad r_c = N\sigma \\ 0, & r > r_c \end{cases} \quad (2)$$

式中 $\epsilon_2^* = \epsilon_2 / k_B T$ 为量纲 1 的氨基酸残基与膜孔壁面的疏水相互作用能,反映了膜孔壁面对蛋白质的吸附能力, $|\epsilon_2|$ 越大,膜孔壁面对蛋白质的疏水吸附越强; δ_i 为狄拉克函数,取决于蛋白质残基 i 的性质,当 i 为疏水残基时 $\delta_i = 1$, 否则 $\delta_i = 0$; r_c 为截断距离; $N\sigma$ 为 N 个晶格长度; r 为氨基酸残基 i 与膜孔壁面的距离。

1.4 移动方式

所选用的移动方式包括链端单粒子重排、链端双粒子重排、双键移动、单键移动、三键移动和分子平动 6 种典型的晶格模型 Monte Carlo 模拟移动方式^[10]。考虑到蛋白分子可能形成聚集态,故加入了聚集态蛋白粒子的平动。

根据膜过程的特点,规定粒子的重心不能向上移动,即每次蛋白质粒子移动后,其重心位置不能比移动之前向上改变。为了模拟膜吸附对蛋白质过

膜过程的影响,规定吸附在膜表面的蛋白质只能在脱离壁面(脱附)之后才能自由移动。

1.5 模拟过程

每一次模拟时在距离膜上方的空间内随机放入设定浓度的天然态蛋白质,蛋白质按照上述移动方式移动,根据操作浓度和操作流量,在膜上空间内补充蛋白质分子。定义一个 Monte Carlo 步骤为体系内所有的粒子平均移动一次。凡是发生重叠或者移到膜区域的移动均被拒绝,且非膜区域满足周期性边界条件。

1.6 分析方法

阻力的计算采用 Bowen 等^[17]的方法,即阻力以 Poiseuille 方程计算, $R \sim d^{-4}$, 其中 R 为阻力, d 为直径。总阻力可通过对厚度求和得到,即 $R_t \sim \Sigma d^{-4}$ 。膜孔阻力 R_p 为对初始膜厚度求和,饼层阻力 R_c 为膜表面到蛋白质分子堆积层的最高点的阻力求和。**总阻力为膜孔阻力和饼层阻力之和。**

取初始流量均为 $J_0 = 10$ 。不同时刻流量 $J_t = \frac{J_0}{R_t}$, 其中 R_t 为相对阻力。因此在下述通量-微滤时间曲线中,横坐标单位是 MC (Monte Carlo 步长),纵坐标是通量相对值,即以膜在过滤初始的通量为 10 作为参比,因此没有单位。而在阻力-微滤时间曲线中,横坐标单位仍然是 MC (Monte Carlo 步长),纵坐标为阻力,根据 Poiseuille 公式,其单位应为 $s \cdot \sigma^{-3}$, 其中 σ 为单位晶格长度。

当流量随时间变化曲线斜率变化率的绝对值在至少 30 个 MC 的模拟时间内持续低于 0.01,且后续过程不存在连续 30 个 MC 的模拟时间内斜率变化率的绝对值高于 0.01,即认为达到平台期。

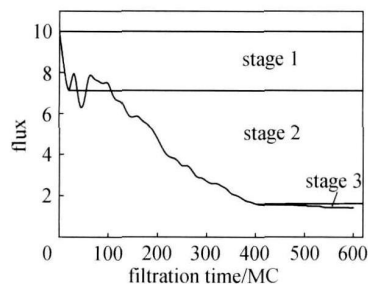
膜通量和阻力随时间变化曲线均经过 30 次以上模拟重复平均。

2 结果与讨论

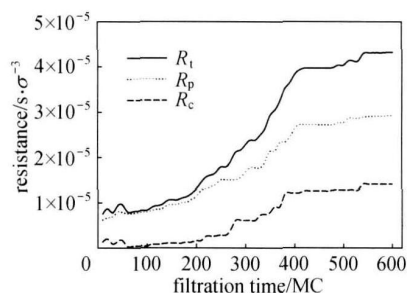
2.1 微滤膜污染过程模拟

首先模拟了微滤膜通量及阻力随时间的变化,结果如图 3 所示。模拟条件为 $|\epsilon_i^*| = 1.5$, 孔径比为 15。

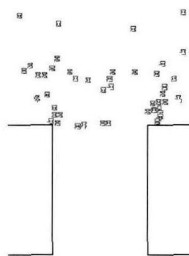
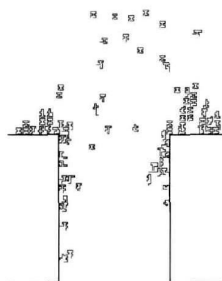
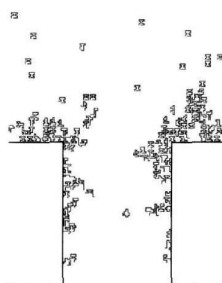
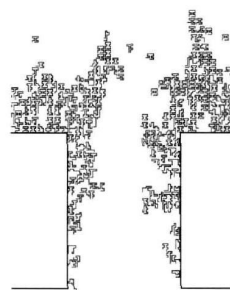
图 3(a) 和 (b) 均显示随着微滤进行,膜通量逐渐降低而膜阻力逐渐增高。图 3(a) 显示膜通量的变化可分为 3 个阶段。在 $t = 0 \sim 100$ MC 时,膜通量迅速降低,此时阻力以膜孔阻力为主,



(a) flux



(b) cake/ bore/ total resistance

(c) snapshot at $t=10$ MC(d) snapshot at $t=100$ MC(e) snapshot at $t=200$ MC(f) snapshot at $t=520$ MC图 3 微滤膜的通量和阻力随时间变化
曲线及过滤过程的微观图景Fig 3 Flux and resistance of micro-filtration
membrane as function of filtration time and
some snapshots during filtration process

蛋白质主要堆积在膜孔表面和膜孔附近 [图 3 (c)]。在 $t=100 \sim 400$ MC 时, 膜通量持续降低, 阻力持续增加, 此时饼层阻力和膜孔阻力均存在, 但仍以膜孔阻力为主, 如图 3 (d) 和 (e) 所示, 蛋白质在膜孔道表面发生单层和多层吸附, 尤其在膜孔入口处最为明显。在微滤过程后期即 $t > 400$ MC 时, 膜通量和阻力基本上不再发生明显变化, 饼层阻力和膜孔阻力均存在, 此时, 蛋白质不仅吸附在膜孔道表面造成孔道狭窄, 而且彼此聚集堆积在膜孔入口形成饼层而导致膜孔接近堵塞, 如图 3 (f) 所示。

图 3 (a)、(b) 所给出膜通量和过滤阻力随时间的变化特性与 Hallstrom 等^[18] 的实验结果一致。而图 3 (c) ~ (f) 所示的微观图证实了 Hallstrom 等的猜测, 即污染确实首先发生在膜表面和膜孔附近, 然后才是在膜表面的多层堆积, 膜孔附近的进一步堆积和膜孔内部污染区域的逐渐扩大, 最终导致膜孔被完全堵塞^[17]。

2.2 孔径比对膜污染的影响

微滤膜孔径是影响膜分离过程和膜污染现象的重要因素, 为此模拟了孔径比 ($d_m : d_p$) 对微滤过程通量和阻力的影响, 设定 $|\epsilon_1| = 1.5$, 结果如图 4 所示。

图 4 (a) 表明, 无论孔径大小如何, 过膜通量均可分为快速下降、缓慢下降和平台期 3 个阶段。 $d_m : d_p$ 越小, 则通量降低越显著, 达到平台期越迅速, 最终的通量也越小。

图 4 (b) 为孔径比 $d_m : d_p = 10$ 时阻力随微滤时间的变化。图中显示, 在微滤膜污染前两个阶段

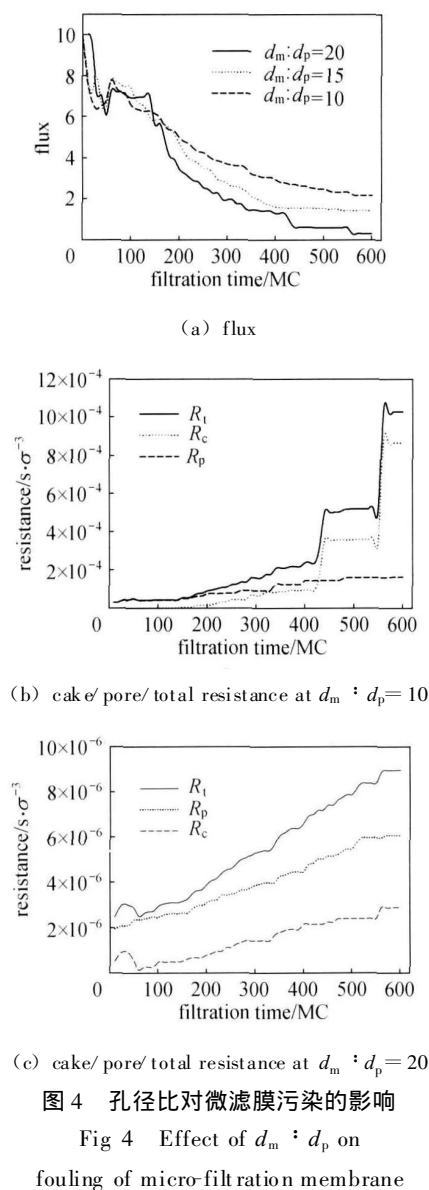


图 4 孔径比对微滤膜污染的影响

Fig 4 Effect of $d_m : d_p$ on

fouling of micro-filtration membrane

($t < 400$ MC), 膜孔阻力大于饼层阻力, 而膜污染后期, 则膜孔阻力小于饼层阻力, 表明蛋白质分子易于在膜孔入口处聚集, 膜孔入口处的直径逐渐减小, 直至饼层阻力成为主导因素。

图 4 (c) 为孔径比 $d_m : d_p = 20$ 时阻力随微滤时间的变化。图中显示, 整个微滤过程中的膜孔阻力始终大于饼层阻力, 即微滤膜通量主要受膜孔道表面污染的影响。因此对于大膜孔径微滤过程, 阻力主要以膜孔阻力为主, 膜孔内孔道吸附成为膜污染的主要因素。

Kim 等^[19] 曾研究平均直径 (8.3 ± 2.6) nm 的粒子在不同膜孔尺寸的微滤膜中微滤过程, 结果表明, 在较小的膜孔直径下, 粒子首先在接近膜表面的膜孔内堆积, 然后逐渐在膜表面形成饼层。随着

膜孔尺寸逐渐增加, 污染区域逐渐扩大至膜孔内部, 膜孔内污染面积加大。而当膜孔直径进一步增大至 $0.22 \mu\text{m}$, 则部分粒子堆积于膜孔内壁, 但膜孔堵塞明显减轻, 膜的阻力较小。Porter 等^[20] 的实验结果也发现了类似现象。图 4 所示的模拟结果与上述实验结果吻合。

2.3 蛋白质浓度对膜污染的影响

蛋白质浓度是膜分离过程的重要操作参数。模拟条件为 $|\epsilon_1^*| = 1.5$, 孔径比为 15, 初始蛋白分子数 N_p 分别为 30、60 (模拟过程中加入蛋白分子数之比也为 1:2), 结果如图 5 所示。

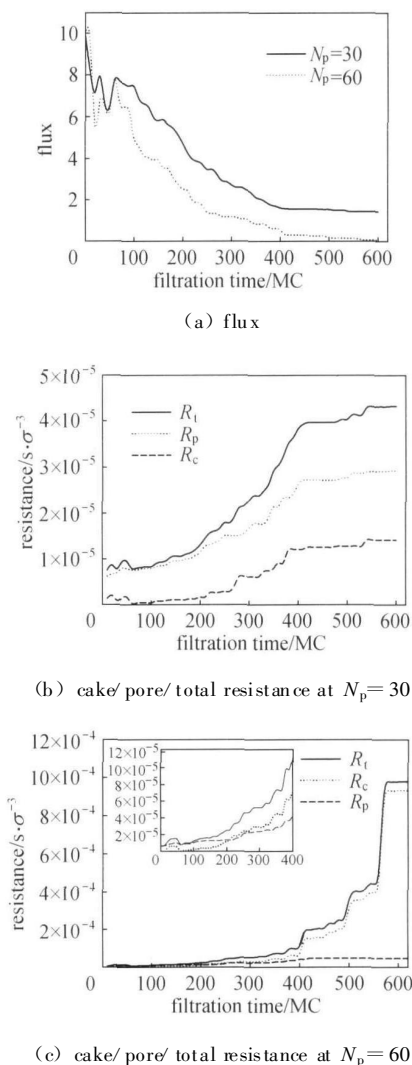


图 5 蛋白质的浓度对微滤膜污染程度的影响

Fig 5 Effect of protein concentration on fouling of micro-filtration membrane

图 5 (a) 表明, 随着蛋白质浓度增高, 微滤膜通量在膜污染的快速下降期中的降低更为迅速和明显; 而在缓慢下降期, 高浓度时膜通量下降速率

也要明显快于低浓度时的情形。高浓度条件下, 在 $t=250$ MC 时基本达到平台期, 而低浓度条件则要在 $t=400$ MC 左右才能达到平台期。高浓度时的最终过膜通量也远低于低浓度条件的过膜通量。

图 5 (b) 为蛋白质浓度 $N_p=30$ 时滤阻随过滤过程的变化。结果表明, 前期的滤阻主要为膜孔阻力, 是由蛋白质吸附在膜孔表面所致。而后期, 饼层阻力有所提高, 但仍以膜孔阻力为主。在其他孔径比条件下, 例如 $d_m:d_p=10$ 和 $d_m:d_p=20$, 可以得到类似现象。因此, 低浓度蛋白质微滤过程中, 膜孔道表面对蛋白质的吸附是膜污染的主要原因。

图 5 (c) 为蛋白质浓度 $N_p=60$ 时滤阻随过滤过程的变化。与图 5 (b) 相比, 滤阻显著上升。前期的滤阻以膜孔阻力为主, 而当 $t>200$ MC 以后, 滤阻则以饼层阻力为主, 表明膜污染机理发生了变化, 从微观图 (此因篇幅而略去) 可知, 此时蛋白质在膜孔口形成饼层, 且逐渐堵塞孔口。在其他孔径比条件下, 例如 $d_m:d_p=10$ 和 $d_m:d_p=20$, 可以得到类似现象。

Grace 等^[21] 的研究指出, 较稀的溶液中, 粒子主要困于膜内部, 也就是说污染主要发生在膜孔内。而对于高浓度溶液, 则将在膜的表面形成一个连续的饼层。即对于高浓度溶液, 过滤的过程中会形成滤饼, 严重阻碍过滤过程。模拟结果与上述结论是一致的。

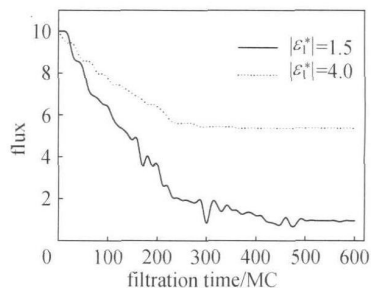
2.4 蛋白质构象和聚集行为对膜污染的影响

蛋白质的聚集行为显著影响其微滤过程。在模拟过程中, 选取 $|\epsilon_1^*|=1.5$ 和 $|\epsilon_1^*|=4.0$, 分别代表溶液环境中蛋白分子构象变化较为活跃的状态和蛋白质稳定性较高的状态, 其对应的膜污染过程如图 6 所示。

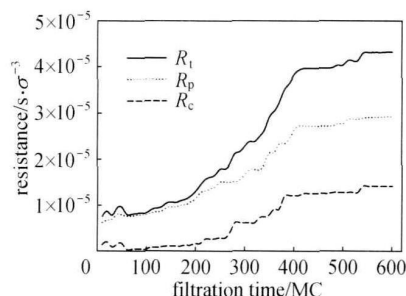
图 6 (a) 表明, ϵ_1^* 对微滤膜通量的影响并不非常显著, 当进入微滤后期时, 低 $|\epsilon_1^*|$ 值蛋白质的通量略低于高 $|\epsilon_1^*|$ 值的情况。图 6 (b) 和 (c) 给出了 ϵ_1^* 对微滤过程阻力的影响, 结果表明, $|\epsilon_1^*|=1.5$ 的阻力, 尤其是膜孔阻力, 要显著高于 $|\epsilon_1^*|=4.0$ 的情况。

微观图显示 [图 6 (d) 和 (e)], $|\epsilon_1^*|=1.5$ 时, 溶液中蛋白分子多呈现天然态, 存在少量变性态; 而在膜孔内, 膜孔壁的疏水作用导致模型蛋白结构变得松散, 即蛋白质在膜表面失活。膜孔内壁的第一层吸附蛋白都呈变性态, 这也印证了 Lund-

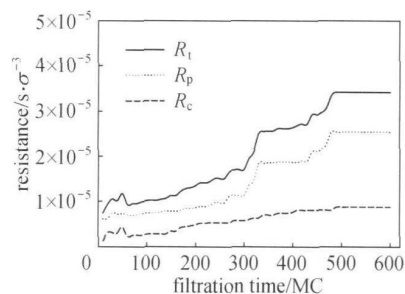
strom^[22] 和 Larsson^[2] 等的观点。而后进入膜孔的蛋白分子, 与贴壁吸附蛋白相互缠绕堆积, 进一步形成膜孔内的多层堆积, 导致膜孔直径缩小和通量



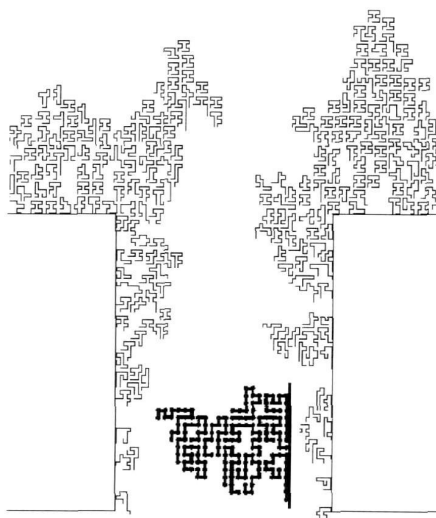
(a) flux



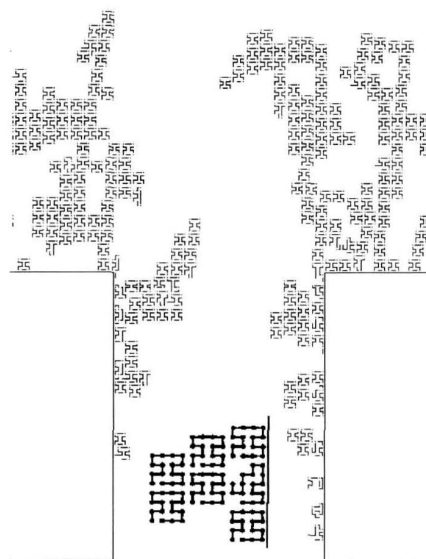
(b) cake/pore/total resistance at $|\epsilon_1^*|=1.5$



(c) cake/pore/total resistance at $|\epsilon_1^*|=4.0$



(d) snapshot at $|\epsilon_1^*|=1.5$ and $t=600$ MC



(e) snapshot at $|\epsilon_1^*| = 4.0$ and $t = 600$ MC

图 6 蛋白质分子的疏水相互作用强度对微滤膜污染程度的影响

Fig 6 Effect of hydrophobic protein on fouling of micro-filtration membrane

下降。因此在蛋白质结构不够稳定的条件下, 造成膜污染的主要原因是膜孔内壁疏水作用造成的蛋白分子失活和多层堆积。而当 $|\epsilon_1^*| = 4.0$ 时, 蛋白分子非常稳定, 无论在溶液环境下还是在膜孔内, 大部分都以天然态存在。对于表面疏水性较强的蛋白分子, 由疏水相互作用导致的蛋白质分子聚集并堆积在膜孔是导致膜污染的主要原因。

3 结 论

本文采用二维晶格动态 Monte Carlo 模拟微滤过程中膜污染现象, 考察了膜孔结构、蛋白质浓度、蛋白质特性以及疏水基团相互作用等因素对微滤过程的影响。模拟结果显示微滤过程的膜通量变化可以分为快速下降、缓慢下降和平台期 3 个阶段。对于小孔径微滤膜, 微滤阻力从以膜孔阻力为主转为以饼层阻力为主; 而对于大孔径微滤膜, 则主要以膜孔阻力为主。提高溶液中的蛋白质浓度会加速滤阻以膜孔阻力为主转为以饼层阻力为主。在微滤过程中, 蛋白质会因疏水相互作用在膜孔表面发生结构转换, 疏水基团与膜表面发生相互作用而导致吸附, 同样原因, 结构不稳定的蛋白质分子会在膜孔内形成多层堆积, 导致膜污染和通量下降, 提高蛋白质的稳定性则可以降低微滤膜污染程度。上述分子模拟结果与文献报道实验结果一致, 并能

够解释不同膜污染模型, 而其所提供的分子水平的过程细节对于微滤过程优化和膜材料设计具有重要的指导意义。

本文的研究还显示: 膜分离技术应用于蛋白质等立体结构可变性较强的产品的分离过程中时, 分子结构的改变是影响过程宏观行为的内因, 这也是导致前期理论和实验结果呈现多样性的内因。本文着重考察的是疏水相互作用的影响, 静电相互作用等因素是隐含在相互作用参数的选取中来加以考虑的, 这需要在后续研究中加以深入探讨。

References

- [1] Yao Hongjuan (姚红娟), Wang Xiaolin (王晓琳), *et al* Membrane separation technology and its application in purifying and separating the proteins. *Food Science (食品科学)*, 2003, 24 (1): 167-171
- [2] Larsson K. Interfacial phenomena—bioadhesion and biocompatibility. *Desalination*, 1980, 35: 105-114
- [3] Kelly S T, Zedney A L. Mechanism for BSA fouling during microfiltration. *Journal of Membrane Science*, 1995, 107: 115-127
- [4] Bowen W R, Calvo J L, *et al* Steps of membrane blocking in flux decline during protein microfiltration. *Journal of Membrane Science*, 1995, 101: 153-165
- [5] Guell C, Czekay P, *et al* Membrane fouling during microfiltration of protein mixtures. *Journal of Membrane Science*, 1996, 119: 269-284
- [6] Nakamura K, Matsumoto K. A mathematical model of internal fouling in protein microfiltration. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 1998, 31 (4): 536-544
- [7] Tracey E M, Davis R H. Protein fouling of track-etched polycarbonate microfiltration membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1994, 167 (1): 104-116
- [8] Wessling M. Two-dimensional stochastic modeling of membrane fouling. *Separation and Purification Technology*, 2001, 24 (3): 375-387
- [9] Lau K F, Dill K A. A lattice statistical mechanics model of the conformational and sequence spaces of proteins. *Macromolecules*, 1989, 22: 3986-3997
- [10] Lu Diannan (卢滇楠), Wang Jun (王君), *et al* Surfactant assisted protein refolding *in vitro*: molecular simulation. *Journal of Chemical Industry and Engineering (China)* (化工学报), 2005, 56 (6): 1063-1069
- [11] Gupta P, Hall C K. Computer-simulation of protein refolding pathways and intermediates. *AIChE Journal*, 1995, 41: 965-990
- [12] Chen Jin (陈进), Dong Zhijun (董志君), Zhang Linxi (章林溪), *et al* Conformation studies of two-dimensional model molecules of proteins in the process of folding. *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2003 (4): 577-580

- [13] Lu D N, Liu Z. Molecular simulation of polymer assisted protein refolding. *Journal of Chemical Physics*, 2005, 123: 134903 (1-8)
- [14] Ping G, Yuan J M, *et al*. Effects of confinement on protein folding and protein stability. *Journal of Chemical Physics*, 2003, 118 (17): 8042-8048
- [15] Chan H S, Dill K A. Transition states and folding dynamics of proteins and heteropolymers. *The Journal of Chemical and Physics*, 1994, 100: 9238
- [16] Le M S, Howell J A. Progress in Food Engineering. Kunsnacht; Forster-Verlag, 1983: 321-336
- [17] Bowen W R, Gan Q. Properties of microfiltration membranes: flux loss during constant pressure permeation of bovine serum albumin. *Biotechnology and Bioengineering*, 1991, 38 (7): 688-696
- [18] Hallstrom B, Tragardh G, Nilsson J L. Membrane technology in the food industry//Spiess W E L, Schubert H. Engineering and Food: Volume 3—Advanced Processes. London: Elsevier Applied Science, 1989: 194-208
- [19] Kim K J, Madaeni S, *et al*. The microfiltration of very dilute colloidal suspensions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1994, 166 (2): 462-471
- [20] Porter M C. Handbook of Separation Techniques for Chemical Engineers. 2nd ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1988: 2-3-2 103
- [21] Grace H P. Structure and performance of filter media (I): The internal structure of filter media. *AIChE Journal*, 1956, 2 (3): 307-315
- [22] Lundstrom I. Models of protein adsorption on solid surface. *Progress in Colloid & Polymer Science*, 1985, 70: 76-82