

# 接枝聚 *N,N*-二甲氨基丙基丙烯酰胺 制备大孔聚合物阴离子交换层析 介质及其吸附性能

徐千惠, 徐 振, 马子奥, 乔 娟, 李 楠, 马 磊, 靳海波, 张荣月  
(北京石油化工学院新材料与化工学院, 燃料清洁化及高效催化减排技术北京市重点实验室, 北京 102617)

**摘要** 针对传统大孔聚合物离子交换层析介质比表面积小而导致蛋白吸附容量低的问题, 提出了一种基于“Grafting to”法的新型制备方法来提高蛋白吸附容量. 以过硫酸铵为引发剂, 引发甲基丙烯酸2-氨基乙酯(2-AM)和 *N,N*-二甲氨基丙基丙烯酰胺(DMAPAA)两种单体共聚, 获得带有伯胺基团的预聚物, 通过调节2-AM和DMAPAA的摩尔比, 控制所得预聚物pDMAPAA的平均聚合度范围为2~10. 将该预聚物接枝到大孔聚丙烯酸酯类微球表面, 制备了弱阴离子交换层析介质. 通过对偶联条件进行优化确定最佳制备条件, 并以牛血清白蛋白(BSA)为模型蛋白, 探究了不同配基密度以及不同链长的接枝型介质对蛋白静态吸附容量(SBC)的影响规律、不同链长介质的吸附动力学及离子强度对不同配基密度的介质吸附行为的影响. 结果表明, 接枝链长增加(2~10单元), 介质的离子交换容量(IC)和SBC显著提升, 平衡吸附容量( $q_e$ )从130.9 mg/mL增加至196.5 mg/mL, 但准二级吸附速率常数( $k_2$ )减小; 配基密度升高, 使SBC从(95.6±2) mg/mL增加至(174.0±3) mg/mL; 盐浓度升高(0~0.25 mg/mL), 导致SBC下降, 较高配基密度的介质表现出更强的盐耐受性.

**关键词** 大孔阴离子交换层析介质; Grafting to法; *N,N*-二甲氨基丙基丙烯酰胺; 配基密度; 蛋白质吸附  
**中图分类号** O631.5; O647 **文献标志码** A **doi**: 10.7503/cjcu20250238

## Preparation of Macroporous Polymer Anion Exchange Chromatography Media by Grafting Poly(*N,N*-dimethylaminopropyl acrylamide) and Their Adsorption Properties

XU Qianhui, XU Zhen, MA Ziao, QIAO Juan, LI Nan, MA Lei, JIN Haibo, ZHANG Rongyue\*  
(Beijing Key Laboratory of Clean Fuel and Efficient Catalytic Emission Reduction Technology, College of New Materials and Chemical Engineering, Beijing University of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China)

**Abstract** The low protein adsorption capacity is caused by the low specific surface area of traditional macroporous polymer-based ion exchange chromatography media. A novel preparation method based on a "grafting to" strategy was proposed to enhance the protein adsorption capacity in this study. A pre-polymer containing primary amine groups was synthesized by copolymerizing two monomers, 2-aminoethyl methacrylate (2-AM) and *N,N*-dimethylaminopropylacrylamide (DMAPAA), using ammonium persulfate as the initiator. The average degree of polymerization of the resulting pre-polymer, pDMAPAA, was controlled between 2 and 10 by adjusting the molar ratio of 2-AM to DMAPAA. This pre-polymer was then grafted onto the surface of macroporous polyacrylate microspheres to fabricate a weak anion exchange chromatography medium. The optimal preparation conditions were determined by optimizing the

收稿日期: 2025-08-31. 网络首发日期: 2025-09-30.

联系人简介: 张荣月, 男, 博士, 教授, 主要从事生物分离纯化层析介质的开发与应用方面的研究. E-mail: zhangrongyue@bupt.edu.cn  
基金项目: 国家自然科学基金(项目编号: 32372445)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.32372445).

coupling parameters. Using bovine serum albumin (BSA) as a model protein, the effects of ligand density and grafted chain length on the static binding capacity (SBC), the adsorption kinetics of media with different chain lengths, and the influence of ionic strength on adsorption behavior at different ligand densities were investigated. The results showed that increasing the grafted chain length (2—10 units) significantly enhanced the ion exchange capacity (IC) and SBC of the media. The equilibrium adsorption capacity ( $q_e$ ) increased from 130.9 mg/mL to 196.5 mg/mL, while the pseudo-second-order adsorption rate constant ( $k_t$ ) decreased. A higher ligand density increased the SBC from (95.6±2) mg/mL to (174.0±3) mg/mL. Increasing the salt concentration (0—0.25 mol/L) led to a decrease in SBC, with media of higher ligand density exhibiting stronger salt tolerance. This study provides a valuable reference for the controlled preparation and application of high-performance weak anion exchange chromatography media.

**Keywords** Macroporous anion exchange chromatography media; Grafting to; *N,N*-dimethylaminopropylacrylamide (DMPAA); Ligand density; Protein adsorption

近年来,离子交换层析技术作为一种重要的分离纯化方法,在生物医药下游生产制备中应用广泛,其可以有效实现生物活性物质的分离与纯化,具有快速、高效、低成本、易于放大的优势<sup>[1]</sup>.其中离子交换层析介质是该技术的关键,其性能直接影响分离效率的高低,离子交换层析介质通过蛋白质混合物中每个组分和带相反电荷的层析介质的静电相互作用不同分离纯化蛋白混合物<sup>[2]</sup>,技术的核心是介质表面的活性基团,根据其电荷性质可分为阴离子交换层析介质和阳离子交换层析介质,根据活性基团的电离程度强弱又可分为强型和弱型<sup>[3]</sup>.弱阴离子交换层析介质的活性基团有伯胺(—NH<sub>2</sub>)、仲胺(—NHR)和叔胺[—N(R)<sub>2</sub>]等.

聚合物基质的层析介质机械强度高且孔径可调控范围广,弥补了琼脂糖基质层析介质质地软、孔径小的不足<sup>[4]</sup>.如聚丙烯酸酯类微球<sup>[5]</sup>,近年来受到越来越多的关注,但因其孔径大,比表面积降低,致使蛋白吸附容量降低<sup>[6]</sup>.为了提高介质的吸附容量,常用的方法是在微球表面接枝<sup>[7]</sup>聚合物长链,其在介质表面的构象丰富且易伸展,能够形成三维空间吸附蛋白质,有效地提高了介质的蛋白吸附容量. Qiao等<sup>[8]</sup>在大孔纤维素微球(MCMs)表面接枝二乙胺基乙基葡聚糖(DEAE),发现其对牛血清白蛋白(BSA)的吸附容量比未接枝的传统阴离子交换层析介质提高了192.6 mg/mL. 聚合物接枝方法主要有两种:(1)“Grafting to”法<sup>[9]</sup>是将聚合物长链通过共价键合的方式直接接枝到基质表面.如Yu等<sup>[10]</sup>通过在Sephacryl表面接枝聚乙烯亚胺(PEI),考察了不同PEI接枝链密度对蛋白吸附行为的影响,发现当离子交换容量(IC)高于临界值(cIC)时,PEI接枝链能通过链传递效应有效促进吸附相蛋白质传递,从而提高介质对蛋白质分子的吸附效率,对BSA的静态吸附容量最高可达(273±9) mg/mL;(2)“Grafting from”法<sup>[11]</sup>是首先在基质表面偶联引发剂,然后引发小分子单体在介质表面发生接枝聚合反应,即在介质表面“长出”一定链长的聚合物<sup>[12]</sup>.如本课题组<sup>[13]</sup>曾采用“Grafting from”方法,引发带有季胺基团的功能单体*N,N,N*-三甲基-3-(2-甲基烯丙酰氨基)-1-氯化丙铵(MAPTAC)接枝聚合,制备了高性能的pMAPTAC接枝型大孔强阴离子交换层析介质,将该类大孔聚合物层析介质的蛋白吸附容量提高至138.9 mg/mL.

针对叔胺类型的接枝型介质,Liang等<sup>[14]</sup>通过硫酸铈铵在壳聚糖表面引发甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(DMAEMA)聚合制备了一种pDMAEMA接枝型阴离子交换层析介质,由于叔胺基团与过渡金属螯合作用的影响,其引发接枝聚合效率较低,单体自身均聚数量远大于接枝聚合,从而导致接枝率较低.除了Ce(IV)类的引发剂,过硫酸铵(APS)和过硫酸钾(KPS)作为自由基聚合反应中的引发剂时,也存在叔胺类单体接枝率低的情况,如Zhu等<sup>[15]</sup>使用氧化还原引发(KPS)和紫外引发(AIBN)的两种引发聚合方式,引发含叔胺单体甲基丙烯酸-2-(二甲氨基)乙酯(DMAEMA)聚合,制备了一种纳米复合水凝胶(NC凝胶),发现叔胺类化合物对APS和KPS引发自由基聚合有促进作用,容易发生向含叔胺化合物的链转移,致使引发过程速率过快,聚合物局部交联密度较高,网络结构不均匀,接枝率下降. Wang等<sup>[16]</sup>通过表面引发原子转移自由基聚合(SI-ATRP)技术<sup>[17]</sup>将高亲水性的*N,N*-二甲基胺丙烯丙烯酰胺(DMAPAA)接枝到琼脂糖凝胶(Sephacryl)-FF上,开发出了具有较高吸附性能和传质速率的新型阴离

子交换剂。但上述反应体系通常需要在材料表面进行活化处理引入引发位点,该步骤常用的溴代异丁酰溴试剂需在无水条件下进行反应,步骤繁琐苛刻<sup>[18]</sup>,尤其对于分离纯化所用多孔物质,除水过程要使用大量的无水有机溶剂,成本较高且对环境极不友好,因此该方法在大规模制备层析介质的应用中受到很大限制<sup>[17]</sup>。

针对以上内容,本文首先利用氧化还原<sup>[19]</sup>引发体系,通过自由基聚合实现了单体DMAPAA的端基功能基团的可控聚合。随后,利用“Grafting to”的接枝方法将pDMAPAA接枝到聚丙烯酸酯类微球FastSep-epoxy上,制备了一系列接枝链密度一定而链长不同的弱阴离子交换层析介质。以BSA为模型蛋白,研究了不同链长的介质对蛋白静态吸附容量和吸附动力学的影响,以及离子强度对静态吸附容量的影响,有望为该类接枝型弱阴离子交换层析介质的制备和应用提供一定的参考。

## 1 实验部分

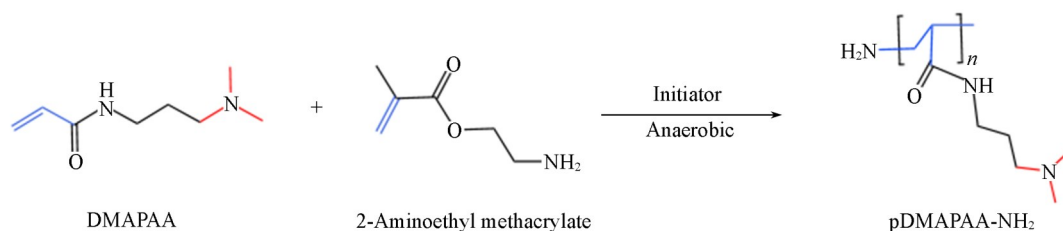
### 1.1 试剂与仪器

大孔聚合物微球FastSep-epoxy(表面富含环氧基,平均孔径500 nm,粒径分布范围50~90 μm),北京博尔赛谱生物科技有限公司; *N,N*二甲胺基丙基丙烯酸酰胺(DMAPAA,纯度98%),上海麦克林生化科技股份有限公司; 甲基丙烯酸2-氨基乙酯(2-AM),分析纯,宁波卡瑞欧化工科技有限公司; 过硫酸铵(APS,纯度98.5%),北京六一生物科技有限公司; 三-(羟甲基)氨基甲烷(Tris),分析纯,北京伊诺凯科技有限公司; 牛血清白蛋白(BSA),分析纯,北京百灵威科技有限公司; 去离子水电阻率18 MΩ·cm。

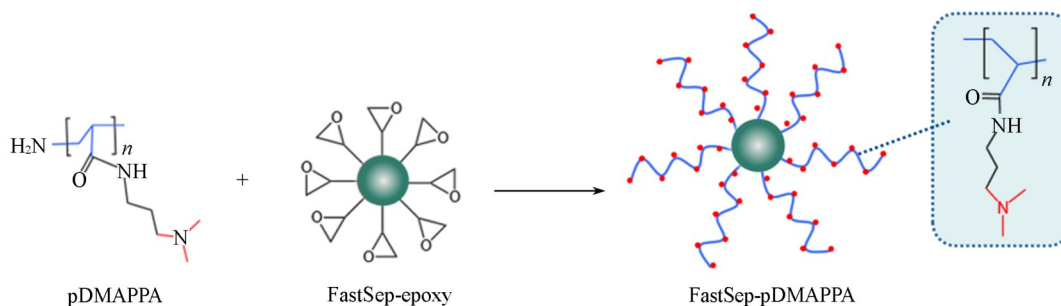
SHA-BA型水浴恒温振荡器(IS),常州荣华仪器制造有限公司; HS-3垂直混合仪,宁波新芝生物科技股份有限公司; L5型紫外-可见分光光度计(UV-Vis),上海仪电分析仪器有限公司; CM-30型扫描电子显微镜(SEM),韩国COXEM公司; UPC10 AKTA型自动纯化系统(Cytiva),美国CE公司。

### 1.2 FastSep-DMAPAA接枝型阴离子交换层析介质的制备

1.2.1 Grafting to法制备接枝型介质 以“Grafting to”法制备FastSep-DMAPAA接枝型阴离子交换层析介质的方法分为预聚物pDMAPAA接枝链的合成和将预聚物接枝到FastSep-epoxy微球表面两个步骤,如Scheme 1和Scheme 2所示。



Scheme 1 Preparation process of pDMAPAA



Scheme 2 Preparation process of FastSep-DMAPAA

(1) pDMAPAA接枝链的制备过程如下:该反应由2-AM/APS共同构成氧化还原引发体系,引发单体DMAPAA在链转移剂上不断聚合形成长链,具体步骤如下:在锥形瓶中加入0.68 mL 2-AM、0.06 g APS、4.1 mL DMAPAA和20 mL去离子水,通氮气进行除氧后,密封放入恒温水浴摇床,于室温下震荡

反应3 h. 保持2-AM/APS的摩尔比为20, 得到预聚物反应液. 通过改变反应体系中 DMAPAA 的加入量(0, 4.1, 5.1, 7.2, 8.2, 10.3 mL)来改变接枝聚合物的链长.

(2) 将以上制备的预聚物与 FastSep-epoxy 微球进行偶联. 预聚物分子链链端为伯氨基, 可通过与微球表面的环氧基发生反应将聚合物分子链接枝至微球表面. 将20 mL微球 FastSep-epoxy 加入预聚物反应液中, 在一定温度下进行偶联反应, 反应结束后用去离子水洗涤至中性, 将微球存放于20 mL 20% (质量分数)乙醇水溶液中备用, 制备所得的弱阴离子交换层析介质命名为 FastSep-DMAPAA.

(3) 采用(1)和(2)相同的方法, 保持 DMAPAA 的加入量(4.1 mL)不变, 保持 APS 加入量不变(0.069 g), 改变2-AM加入量(0, 0.34, 0.54, 0.68, 0.91, 1.36 mL), 制备链长不同的 DMAPAA 接枝型介质, 命名为 FastSep-DMAPAA- $n$ ,  $n$  表示介质的平均链长.

1.2.2 Grafting from 法制备接枝型介质 参照文献[20]方法将 DMAPAA 通过“Grafting from”法接枝到微球表面的制备过程如下:

(1) FastSep-epoxy 微球水解: 将20 mL微球 FastSep-epoxy 在0.5 mol/L  $H_2SO_4$  水溶液中加热反应24 h, 将微球表面的环氧基水解为邻羟基, 得到水解后的微球 FastSep-hydroxyl.

(2) 接枝聚合 DMAPAA 单体: 取20 mL FastSep-hydroxyl 与4.1 mL DMAPAA 混合并通入氮气, 加入0.06 g 引发剂 APS, 于50 °C进行接枝聚合反应. 聚合结束后将制得的微球用去离子水洗涤至中性, 测试其离子交换容量与蛋白吸附容量, 与“Grafting to”法进行对比.

### 1.3 蛋白静态吸附容量测定

选择 BSA 作为模型蛋白, 使用50 mmol/L、pH=8.0 的 Tris-HCl 作为平衡缓冲液, 将1~2 mL 的 FastSep-DMAPAA 用所配制的平衡缓冲液浸泡平衡后, 与40 mL 5 mg/mL BSA 溶液混合, 于室温下在混合仪上振荡混合吸附4 h, 离心后取上层清液, 使用紫外-可见分光光度计测量在280 nm 波长处的紫外吸收值, 通过标准曲线计算剩余蛋白浓度, 按照下式计算蛋白静态吸附容量(SBC, mg/mL), 数据测定取3次实验平均值.

$$SBC = \frac{(c_0 - c_1) \times V_0}{V_2} \quad (1)$$

式中:  $c_0$ (mg/mL)为初始 BSA 溶液浓度;  $V_0$ (mL)为初始 BSA 溶液体积;  $c_1$ (mg/mL)为剩余 BSA 溶液浓度;  $V_2$ (mL)为介质体积.

### 1.4 配基密度的测定

采用酸碱滴定法测定介质的离子交换容量(IC, mmol/L). 将用去离子水充分洗涤后的介质用1 mol/L NaOH 溶液浸泡改性, 然后用去离子水洗涤至中性(将10 mL FastSep-DMAPAA 加入层析柱, 加入35 mL 标准 HCl 溶液, 平衡后收集流出液, 再加25 mL 1 mol/L NaCl 洗涤, 待其自然流尽后, 在流出液中滴加1~2滴酚酞指示剂, 用标准 NaOH 溶液进行滴定, 直至溶液变色, 且30 s 内不褪色, 记录滴定所消耗的 NaOH 体积, 按照下式计算 IC, 数据测定取3次实验平均值.

$$IC = \frac{V'_1 c'_1 - V'_2 c'_2}{V'_3} \quad (2)$$

式中:  $V'_1$ (mL)为标准 HCl 溶液体积;  $c'_1$ (mol/L)为标准 HCl 溶液浓度;  $V'_2$ (mL)为标准 NaOH 溶液体积;  $c'_2$ (mol/L)为标准 NaOH 溶液浓度;  $V'_3$ (mL)为微球体积.

### 1.5 吸附动力学曲线测定

在恒温(25 °C)条件下, 将200 mL 的1 mg/mL BSA 溶液和1 mL 用缓冲液平衡后的吸附介质加入三口烧瓶中, 确定合适的搅拌速度, 通过 UV-Vis 记录蛋白溶液吸光值(280 nm 波长)随时间的变化情况, 并绘制吸附动力学曲线, 拟合准二级动力学方程. 准二级动力学方程式为

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (3)$$

式中:  $q_t$ (mg/mL)为  $t$  时刻层析介质的吸附量;  $q_e$ (mg/mL)为平衡时刻层析介质的吸附量;  $k_2$ (mL·mg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)为准二级吸附速率常数.

## 1.6 不同盐浓度下的SBC测定

配制含有不同浓度 NaCl (0.05 ~ 0.25 mol/L) 的 Tris-HCl 缓冲溶液, 将 1 mL 介质与 50 mL 1 mg/mL BSA 溶液混合. 按 1.3 节方法测定不同盐浓度下的 SBC. 每组实验重复 3 次取平均值.

## 2 结果与讨论

### 2.1 两种接枝方法的SBC与IC对比

在相同单体浓度条件下, 分别采用“Grafting from”和“Grafting to”两种接枝方法制备 FastSep-pDMPAA, 并测定它们的 SBC 值与 IC 值. 结果显示, “grafting to”法的 SBC 值为 (180.7±3) mg/mL, IC 值为 (245.7±5) mmol/L, 均明显高于“Grafting from”法 [SBC=(68.4±2) mg/mL, IC=(61.0±5) mmol/L]. 以上 IC 值主要表征介质表面 pDMPAA 数量的多少, “Grafting from”法所得介质的 IC 值较低, 表明其接枝 pDMPAA 的数量显著低于“Grafting to”法, 这是因为通过“Grafting from”进行接枝时, 叔胺类化合物对 APS 引发自由基聚合有促进作用<sup>[15]</sup>, 容易发生向含叔胺化合物的链转移, 致使均聚物比例增加, 从而导致接枝率下降. 通常介质的蛋白吸附容量与配基数量呈正相关<sup>[21]</sup>, Zhang 等<sup>[22]</sup>曾采用 PEI 对超大孔聚合物微球 PGMA-DVB 进行亲水改性, 获得了高通量的弱阴离子交换层析介质, 随着 PEI 配基数量的增加, 蛋白吸附容量随之增加. 通过以上两种接枝方法的对比, 证明该实验设计的“Grafting to”制备方法可行, 且 DMAPAA 单体的接枝率有明显提升, 基于此结果展开进一步研究.

### 2.2 FastSep-DMPAA 制备条件的优化

**2.2.1 偶联时间对 SBC 的影响** 在 6~30 h 时间范围内, 考察偶联时间对介质 SBC 的影响规律 (图 1). 随着反应时间的增加, SBC 的值先增加后减少. 姜泽平等<sup>[23]</sup>在研究聚甲基丙烯酸酯大孔微球表面接枝聚烯丙基胺 (PAA) 时也报道了这种趋势. 因为微球表面富含环氧基, 故在反应初期与预聚物偶联速率较快, 随着反应的进行, 偶联至微球表面的 pDMPAA 链增多, 介质的蛋白吸附位点增多, 从而 SBC 逐渐增大. 随着反应时间的进一步增加, 微球表面的 pDMPAA 链不断增多, 互相缠绕, 会造成微球内部部分空隙体积被占据, 孔内空间位阻逐渐增大, 从而导致蛋白的可及孔隙减小<sup>[24]</sup>, 故导致介质的 SBC 下降. 当反应进行 18 h 时, SBC 达到最高, 为 (158.8±4) mg/mL, 故选择 18 h 作为最优偶联时间.

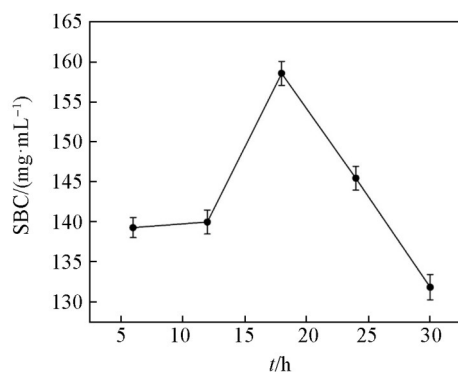


Fig. 1 Effect of coupling time on SBC of media

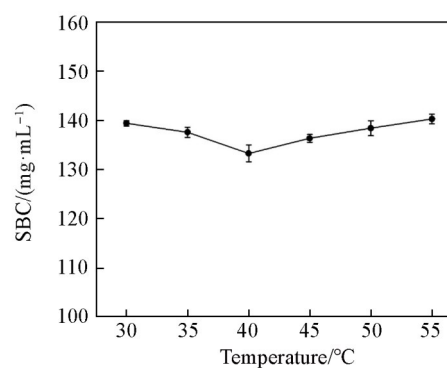


Fig. 2 Effect of coupling temperature on SBC of media

**2.2.2 偶联温度对静态吸附容量的影响** 偶联温度 (30~55 °C) 对介质 SBC 的影响规律如图 2 所示. 因为反应为碱性环境, 且温度过高会造成环氧基水解<sup>[25]</sup>, 导致反应效率下降, 故不再进一步升高反应时间进行考察. 图 2 结果显示, 在温度范围为 30~55 °C 时, 随着温度上升, 介质的 SBC 没有明显变化, 约为 (135±3) mg/mL. 说明该反应的反应速率较快, 温度变化对反应过程不会造成明显的影响.

### 2.3 层析介质表面形貌表征

通过 SEM 对 FastSep-epoxy 与 FastSep-pDMPAA 的形貌进行了表征, 结果如图 3 所示. 由图 3(A)~(C) 可以看出, FastSep-epoxy 微球的表面具有微米级通孔结构且孔道之间相互连通, 形成了一种三维网络结构, 这有利于蛋白质分子在介质中的快速传质. 图 3(D)~(F) 为 FastSep-pDMPAA 的全貌、表面及内部结构图, 可以看出, 接枝后的介质未发生明显形变, 仍保持良好的球形形貌, 聚合物骨架尺寸略有

增加,孔道结构的边缘更为清晰,且保持了原有的微米级贯通孔道,表明接枝过程并未破坏微球的骨架结构,也间接表明pDMAPAA已成功接枝至微球孔道表面。

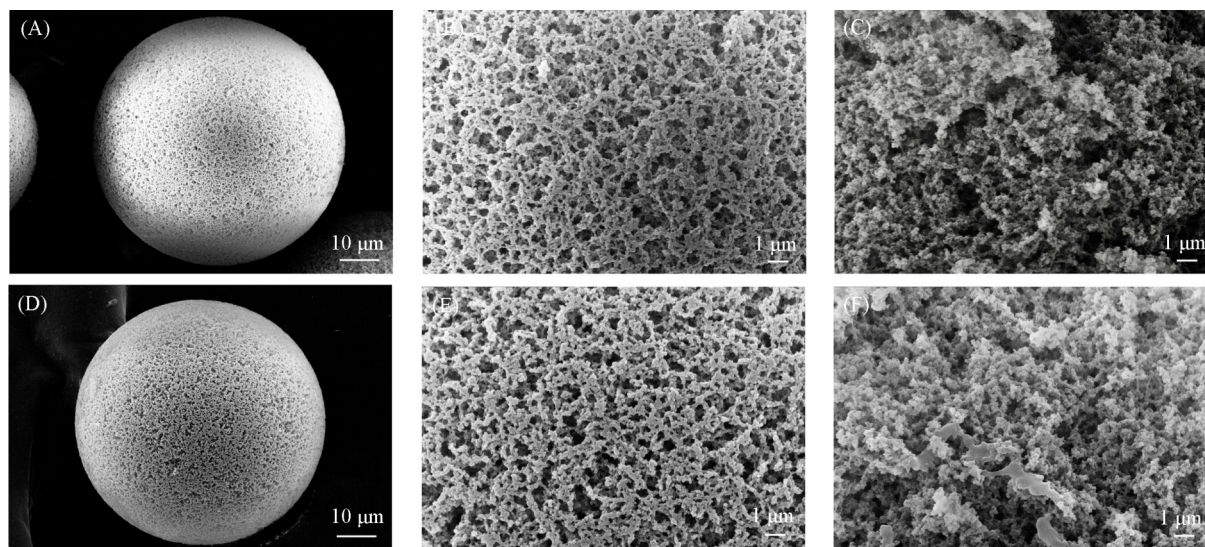


Fig. 3 SEM images of FastSep-epoxy and FastSep-pDMAPAA

(A—C): The bulk, surface, and internal structure of FastSep-epoxy; (D—F): the bulk, surface and internal structure of FastSep-pDMAPAA.

#### 2.4 配基密度对静态吸附容量的影响

通过改变偶联时加入微球的体积来改变介质的配基密度,通常该类介质的蛋白吸附容量与配基密度密切相关.对不同配基密度的介质的SBC进行评价,结果如图4所示.可见,随着配基密度的增加,介质的静态吸附容量增加,当IC值为97 mmol/L时,SBC较低,为(95.6±2) mg/mL;当IC值为220 mmol/L时,SBC增加至(174.0±3) mg/mL.这一规律与Yu等<sup>[10]</sup>在琼脂糖 Sepharose 表面接枝聚乙烯亚胺研究中发现的该介质对BSA的平衡吸附容量随介质配基密度的变化规律相似.这是因为在预聚物总量一定的条件下,加入微球的体积减少,单位表面积的接枝链密度增加,配基数目增加,蛋白的结合率增加<sup>[26]</sup>,且Qiao等<sup>[8]</sup>在大孔纤维素微球(MCMs)表面接枝二乙胺基乙基葡聚糖(DEAE)的研究中发现,适中的链密度能够促进BSA在相邻接枝链间的传递.基于以上两点,随着配基密度的增加,介质表面的吸附位点数量随之增加,同时接枝链密度的增加增强了相邻链传导效应,因此,呈现蛋白吸附容量与配基密度为正相关的规律.

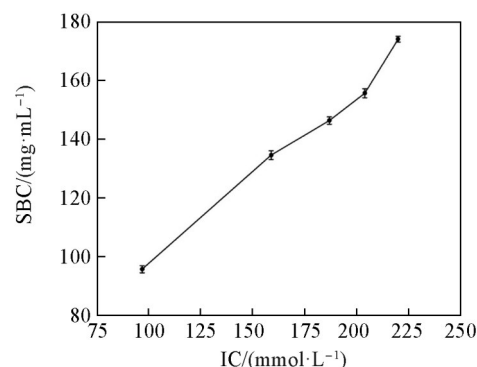


Fig. 4 Effect of ligand density on SBC of media

#### 2.5 接枝pDMAPAA链长对静态吸附容量的影响

制备了几种具有不同接枝pDMAPAA链长的介质,物理性质如表1所示,介质的平均链长由每个接枝链上DMAPAA单元的平均数目表示,用DMAPAA与2-AM的摩尔比值来估算<sup>[27]</sup>.图5列出了介质的IC和SBC随链长的变化情况.结果表明,在接枝密度一定的条件下,随着pDMAPAA接枝链长度的增加(2~10单元),介质的IC和SBC显著提高.Li等<sup>[28]</sup>在类似研究中,将甲基丙烯酸钠(MA)接枝到商品琼脂糖凝胶(Sepharose-FF)上,制备了5种接枝密度

Table 1 Physical properties of FastSep-epoxy and grafted media with different chain lengths of pDMAPAA

V(2-AM added)/mL	V(DMAPAA added)/mL	Chain length/unit
0	0	0
0.68	4.1	4
0.68	5.1	5
0.68	7.2	7
0.68	8.2	8
0.68	10.3	10

相同而链长不同(离子容量不同)的FF-PMA凝胶,并用该介质吸附溶菌酶,发现在一定的IC范围内,FF-PMA对溶菌酶的平衡吸附容量( $q_m$ )随IC值的增大而增加. IC值增加意味着链长的增加,表明介质上可结合蛋白的位点增多. 同理,在本研究中,IC增加说明可用于离子交换的位点数量增加<sup>[26]</sup>,反映出该实验方法中单体能有效地转化为更长的聚合物链,且长链比短链含有更多的配基. 因此,在该研究条件范围内,接枝链链长增加有助于提升介质的静态吸附容量.

## 2.6 吸附动力学

制备了5种配基密度相近但链长不同的DMAPAA接枝型介质(FastSep-DMAPAA- $n$ ,介质的平均链长 $n$ 的计算方法同2.5节),不同介质的物理性质列于表2.

Table 2 Physical properties of FastSep-epoxy and different DMAPAA grafted media

Resin	V(2-AM added)/mL	V(DMAPAA added)/mL	IC/(mmol·L <sup>-1</sup> )	Chain length/unit
FastSep-epoxy	0	0	0	0
FastSep-DMAPAA-8	0.34	4.1	117±3	8
FastSep-DMAPAA-5	0.54	4.1	120±2	5
FastSep-DMAPAA-4	0.68	4.1	118±2	4
FastSep-DMAPAA-3	0.91	4.1	120±2	3
FastSep-DMAPAA-2	1.36	4.1	121±1	2

介质的传质速率是介质的重要参数,相同配基密度的介质因为链长的不同,使其传质速率有所不同. 以1 mg/mL BSA溶液作为模型蛋白,选取表2中5种不同链长的DMAPAA接枝介质进行吸附动力学测试,结果如图6(A)所示,对结果进行准二级吸附动力学拟合,得到了介质的平衡吸附容量( $q_e$ )和准二级吸附速率常数( $k_2$ ),如图6(B)和表3所示, $R^2$ 均大于0.999<sup>[29]</sup>,说明准二级动力学模型符合FastSep-DMAPAA对BSA的吸附行为.

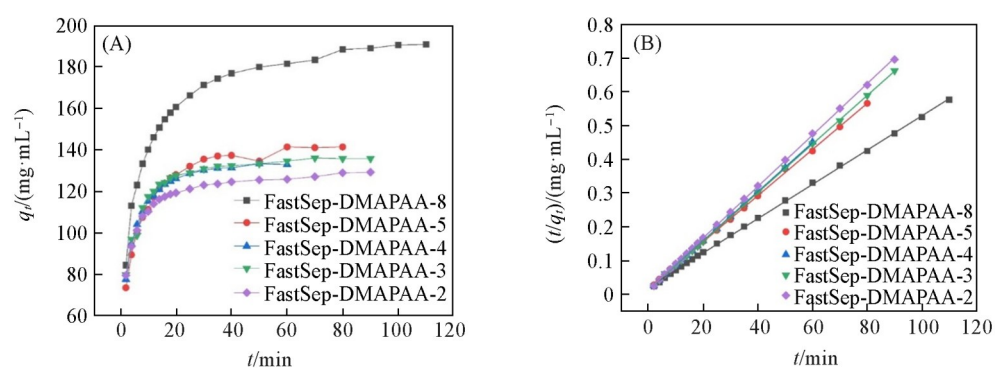


Fig. 6 Adsorption kinetic curves(A) and pseudo-second-order kinetic fitting curves(B) for different DMAPAA graft chain lengths

Table 3 Adsorption kinetic parameters of grafted DMAPAA with different chain lengths

Resin	$q_e$ /(mg·mL <sup>-1</sup> )	$k_2$ /(mL·mg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	$R^2$
FastSep-DMAPAA-8	196.5	0.00125	0.99961
FastSep-DMAPAA-5	146.0	0.00252	0.99952
FastSep-DMAPAA-4	138.7	0.00390	0.99992
FastSep-DMAPAA-3	137.6	0.00396	0.99993
FastSep-DMAPAA-2	130.9	0.00418	0.99985

从图6(A)和表3可以看出,5种不同链长的介质对BSA均有较好的结合能力,相同配基密度(IC)下,随着链长增加,介质的平衡吸附容量 $q_e$ 从130.9 mg/mL增加到了196.5 mg/mL,总体呈逐渐增大的

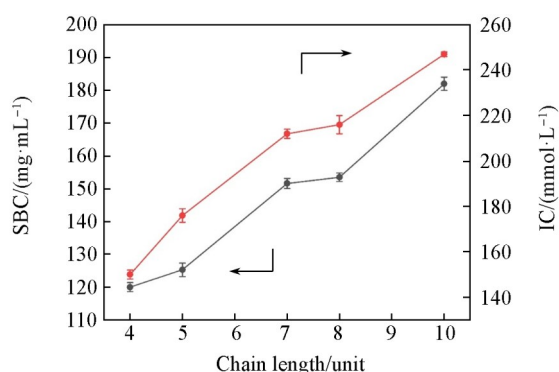


Fig. 5 Effect of chain length on SBC and IC of media

趋势,同2.3节所得出的结论一致.而随着链长增加,介质的准二级吸附速率常数 $k_2$ 减小. Li等<sup>[28]</sup>在研究不同链长的接枝型介质FF-PMA时也发现了这一规律,随着链长增加,由于分子链的空间位阻,对溶菌酶的吸附速率呈现下降趋势.这是由于蛋白表面带有同种电荷,当介质结合的蛋白数量增加,已结合的蛋白与溶液中自由扩散的蛋白存在静电斥力,会导致蛋白在介质中传质时的空间位阻<sup>[30]</sup>增大,进而导致介质的传质速率下降.

### 2.7 盐浓度对静态结合容量的影响

为了考察盐的浓度(0~0.25 mol/L)对不同配基密度的介质吸附的影响,从上述实验中选择5种不同配基密度的 DMAPAA 接枝介质,命名为 FastSep-DMAPAA $n$ ,  $n$  表示介质的配基密度,用离子交换容量表示.在考察浓度范围(0~0.25 mol/L)内,SBC值随着盐浓度的增加而呈下降的趋势,其具体结果如图7所示.这是因为随着离子强度的增加,电荷屏蔽作用增强,从而降低了蛋白质与介质上反应位点的静电相互作用<sup>[31]</sup>,这表明盐离子的静电屏蔽效应对蛋白质的吸附具有显著的影响<sup>[32]</sup>.随着配基密度的增加,介质对蛋白的吸附容量下降趋势减缓,意味着更高的配基密度范围对盐浓度的耐受能力更大,原因可能在于更高的配基密度提供了更多的蛋白结合位点<sup>[33]</sup>.

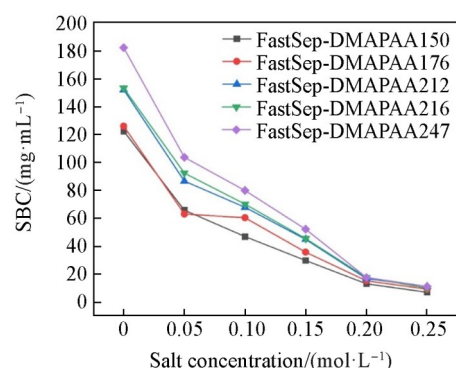


Fig. 7 Effect of salt concentration on SBC of media with different ligand densities

## 3 结 论

开发了一种基于“Grafting to”法制备大孔弱阴离子交换层析介质的方法,通过氧化还原引发体系实现pDMAPAA链长的可控聚合,避免了传统方法复杂的表面活化步骤.研究发现,针对接枝聚合单体DMAPAA,“Grafting to”法的接枝率比“Grafting from”法显著提升,前者的SBC[(180.7±3) mg/mL]和IC[(245.7±5) mmol/L]明显高于后者[SBC=(68.4±2) mg/mL, IC=(61.0±5) mmol/L].当配基密度一定时,增加链长可提升IC与SBC( $q_e$ 最高达196.5 mg/mL),但因为空间位阻增大导致传质速率下降;链长一定时,提高配基密度可以增加介质表面结合位点的数量,进而使SBC增加[最高(174.0±3) mg/mL].该类介质的SBC受盐浓度的影响较大,较高配基密度的介质因结合位点丰富,对盐浓度的耐受性更强.研究结果为该类链长可控的接枝型弱阴离子交换层析介质的制备和应用提供了一定参考.

## 参 考 文 献

- [1] Jiang J. S., Wang Y. K., Shi J., Wang S. F., *Ion Exch. Adsorpt.*, **2023**, 39(3), 228—242(姜锦珊, 王裕康, 史杰, 王淑芳. 离子交换与吸附, **2023**, 39(3), 228—242)
- [2] Zhao L., Hu H. L., Ma X. Q., Lyv Y. F., Yuan Q., Tan W. H., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, 40(2), 173—189
- [3] Xue Y. X., *Preparation and Performance Evaluation of Macroporous Polymer Cation Exchange Chromatography Media via Surface Grafting Method*, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing, **2022**(薛彦晓. 表面接枝法制备大孔聚合物阳离子交换层析介质及其性能评价, 北京: 北京石油化工学院, **2022**)
- [4] Zhao X., Huang L., Wu J., Huang Y. D., Zhao L., Wu N., Zhou W. Q., Hao D. X., Ma G. H., Su Z. G., *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **2019**, 182, 110377
- [5] Chi W. Y., *Study on the Structure-Performance Relationship of Polyacrylate Microspheres for Chromatography*, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing, **2021**(池伟亚. 聚丙烯酸酯微球结构与色谱性能的构效关系研究, 北京: 北京石油化工学院, **2021**)
- [6] Xu R., Li X. X., Dong X. Y., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2020**, 1611, 460586
- [7] Wan J., Zhang J. Z., Chen H. L., Shen H. M., Wang Z., Zhang C., *Prog. Chem.*, **2024**, 36(3), 416—429(万江, 张景泽, 陈虹伶, 沈含梅, 王震, 张春. 化学进展, **2024**, 36(3), 416—429)
- [8] Qiao L. Z., Du Y. C., Du K. F., *Sep. Purif. Technol.*, **2022**, 297, 121434
- [9] Bowes B. D., Koku H., Czymmek K. J., Lenhoff A. M., *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216(45), 7774—7784
- [10] Yu L. L., Tao S. P., Dong X. Y., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2013**, 1305, 76—84

- [11] Urmann M., Graalfs H., Joehneck M., Jacob L. R., Frech C., *MAbs*, **2010**, 2(4), 395—404
- [12] Liu G. J., Ma K., Chen Q., Zhang D. H., Liu R. H., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, 40(1), 153—158
- [13] Li Z. Y., Hou H. Y., Cai Z. B., Zhang K., Qiao J., Ma L., Jin H. B., Zhang R. Y., *China Biotechnol.*, **2024**, 44(10), 64—74(李子炆, 侯恒扬, 柴振博, 张恺, 乔娟, 马磊, 靳海波, 张荣月. 中国生物工程杂志, **2024**, 44(10), 64—74)
- [14] Liang J., Ni P. H., Zhang M. Z., Yu Z. Q., *J. Macromol. Sci., Part A: Pure Appl. Chem.*, **2004**, 41(6), 685—696
- [15] Zhu M. N., Xiong L. J., Wang T., Liu X. X., Wang C. Y., Tong Z., *React. Funct. Polym.*, **2010**, 70, 267—271
- [16] Wang S. H., Li X. X., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2019**, 1597, 187—195
- [17] Zhang Y. P., Li P. P., Hou M. Y., Chen L. Y., Wang J. F., Yang H. X., Feng W. S., *Bioelectrochemistry*, **2022**, 144, 108037
- [18] Dworakowska S., Lorandi F., Gorczyński A., Matyjaszewski K., *Adv. Sci. (Weinh)*, **2022**, 9(19), e2106076
- [19] Hong Anh Ngo T., Dinh Do K., Thi Tran D., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2017**, 45110
- [20] Guo W., Jiang Z. P., Ma L., Qiao J., Mo W. Q., Jin H. B., He G. X., Huang Y. D., Zhang R. Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2024**, 45(3), 20230487(郭旺, 姜泽平, 马磊, 乔娟, 莫文清, 靳海波, 何广湘, 黄永东, 张荣月. 高等学校化学学报, **2024**, 45(3), 20230487)
- [21] Li M., Li Y. Y., Yu L. L., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2017**, 1486, 103—109
- [22] Zhang R. Y., Li Q., Gao Y., Li J., Huang Y. D., Song C., Zhou W. Q., Ma G. H., Su Z. G., *J. Chromatogr. A*, **2014**, 1343, 109—118
- [23] Jiang Z. P., Guo W., Li Z. Y., Hou H. Y., Huo W. D., Wang J. Y., Ma L., Jin H. B., Huang Y. D., Zhang R. Y., *Chin. J. Chromatogr.*, **2024**, 42(4), 360—367(姜泽平, 郭旺, 李子炆, 侯恒扬, 霍文迪, 王佳一, 马磊, 靳海波, 黄永东, 张荣月. 色谱, **2024**, 42(4), 360—367)
- [24] Zhao Y. Y., Yu L. L., Dong X. Y., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2018**, 1580, 72—79
- [25] Zhang W., Shen L., Wang X. Q., Huang P. C., *Acta Mater. Compositae Sin.*, **2003**, (4), 81—87(张炜, 申蕾, 王新庆, 黄鹏程. 复合材料学报, **2003**, (4), 81—87)
- [26] Lu H. L., Lin D. Q., Zhu M. M., Yao S. J., *J. Sep. Sci.*, **2012**, 35(22), 3084—3090
- [27] Wang Q. Q., Yu L. L., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1443, 118—125
- [28] Li X. X., Liu Y., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2020**, 1634, 461669
- [29] Vinco J. H., Botelho Junior A. B., Duarte H. A., Espinosa D. C. R., Tenório J. A. S. T., *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, **2022**, 32(7), 2438—2450
- [30] Zhu M., Carta G., *J. Chromatogr. A*, **2014**, 1326, 29—38
- [31] Li M., Yu L. L., Liu Y., Sun Y., *Biochem. Eng. J.*, **2018**, 134, 94—100
- [32] Yu L. L., Dong X. Y., Sun Y., *J. Chromatogr. A*, **2012**, 1225, 168—173
- [33] Cheng F., Li M. Y., Wang H. Q., Lin D. Q., Qu J. P., *Langmuir*, **2015**, 31(11), 3422—3430

(Ed.: F, K, S)