DOI:10.11918/j.issn.0367-6234.201608035

超滤过程中蛋白质带电性对水合作用的影响机制

邓东旭,王 磊,李兴飞,李松山,朱 苗

(西安建筑科技大学 环境与市政工程学院,西安 710055)

摘 要:为解析超滤过程蛋白质带电性能对水合作用力的影响机制,在牛血清蛋白(BSA)带正电、中性及负电条件下,分别考察 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的相互作用力随离子强度的变化特征,结合相应条件下 BSA 的 Zeta 电位变化特征,探讨超滤过程蛋白质带电性能对水合作用力的影响机制.结果证实 BSA 带电性能是影响水合作用力的关键因素.在 BSA 带正电条件下,作用力随离子强度的增大而增大,主要是因为 BSA 带正电时无水合作用存在,静电作用力的变化是控制膜污染的主要因素.在 BSA 电中性及负电条件下,BSA 及 PVDF 膜面吸附累积大量的水合阳离子,随离子强度的增大,有效触发 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的水合排斥力,进而大幅度减缓膜污染;且在 BSA 等电点更容易观察到水合作用现象.

关键词:膜污染;牛血清蛋白;带电性;原子力显微镜;水合力

中图分类号:X703.1 **文献标志码**:A **文章编号**:0367-6234(2017)08-0078-05

Effect mechanism of protein electrical property to hydration in ultrafiltration

DENG Dongxu, WANG Lei, LI Xingfei, LI Songshan, ZHU Miao

(Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: To analyze the effect of protein electrical property to hydration in ultrafiltration, the characteristics of the interaction forces of PVDF- BSA and BSA-BSA (Bovine Serum Albumin) changing with different ionic strengths were separately investigated, as BSA was positively, neutrally and negatively charged. In accordance with the potential variation of Zeta, the mechanism of how the protein electrical property affected hydration was illustrated. When BSA was positively charged, the interaction force increased with the increase of ionic strength, mainly due to that the positively charged BSA could not trigger hydration, and electrostatic force was the main factor controlling membrane fouling. When BSA was neutrally and negatively charged, a large number of hydrated cations adsorbed and accumulated on membrane surfaces of BSA and PVDF, and the increase of the ionic strength would trigger the repelling force of PVDF-BSA and BSA-BSA, and hence the membrane fouling was reduced remarkably. In addition, the hydration phenomenon was more easily observed in BSA isoelectric point.

Keywords: membrane fouling; bovineserum albumin; electrical property; atomic force microscope; hydration forces

近年来,超滤膜已经广泛应用于污水处理和深度资源化回用领域[1-4],但膜污染仍然是限制膜分离技术在水处理领域推广应用的主要因素[5-6].而废水中大量存在的蛋白质是引起膜污染的主要物质之一[7-8].蛋白质的膜污染行为受到诸多因素的影响,而废水中广泛存在的无机阳离子是影响其膜污染的主导因素之一.但是,既往关于无机阳离子对蛋白质膜污染影响的研究,并没有得到统一的认识或结论.多数结果表明,蛋白质污染随离子强度增加而加剧.主要通过 DLVO 理论解释此现象.即随着离子含量增加,膜-蛋白质及蛋白质-蛋白质之间的静电排斥力减小,从而加剧膜污染[9-10].但是,另外一些研究者发现,随着离子强度的增大,蛋白质膜污染幅度明显减缓,与 DLVO 理论恰恰相反[4,11-12].而关于膜污染减缓的原因多是基于宏观膜通量变化而给出的一些推测性解释.

近来,本研究小组从微观层面深入考察了不同 Na^+ 离子浓度下牛血清蛋白在超滤膜界面的作用过程,结果证实[7,13],当 Na^+ 浓度达到一定值后,水合排斥力的出现削弱膜-蛋白及蛋白与蛋白之间的作用力,导致蛋白质在膜界面的吸附累积速率减缓,是引起膜污染减轻的本质原因.水合作用力是一种典型的短程排斥力[14-15],其主要是因为 Na^+、K^+ 及 Mg^{2+} 等水合阳离子,导致膜及污染物表面形成特定结构的水合层,进而触发二者之间的水合排斥力.水合排斥力的存在,可削弱膜-污染物及污染物之间的相互作用力,进而减缓膜污染.但是,目前在膜污染领域,关于水合作用的研究鲜有报道,主要是因为

收稿日期:2016-08-18
基金项目:国家自然科学基金(51278408);中国博士后科学基金(2015M580820, 2016T90895);陕西省自然科学基金(2016JQ5067);陕西省教育厅计划项目(16JS062);陕西省高校科协青年人才托举计划(20160220)
作者简介:邓东旭(1991—),男,硕士研究生;
王 磊(1971—),男,教授,博士生导师
通信作者:王 磊,wl0178@126.com

只有当 pH、离子及固体界面性质等外界因素满足适对的条件,才能有效触发水合作用力.

综上,在既往研究的基础上,进一步探明超滤过程水合排斥力的作用行为及其关键控制因素,对利用水合作用减缓膜污染至关重要.本研究选用牛血清蛋白(BSA)代表水中蛋白类污染物,并采用典型一价水合阳离子 Na^+,通过原子力显微镜(AFM)结合 BSA 胶体探针,考察 BSA 不同带电性能条件下,膜-BSA 及 BSA-BSA 之间的作用力随离子强度的变化特征,结合相应条件下 BSA 的 Zeta 电位,解析 BSA 带电性对超滤过程水合作用力的影响机制.

1　实　验

1.1　污染物

污染物溶液:牛血清蛋白(BSA, Sigma-Aldrich, St.Louis, Mo, M_w=6.7 ku).配置 20 mg/L 的 BSA 溶液进行试验.通过 NaOH 及 HCl 调节 BSA 溶液的 pH,进而控制 BSA 的带电性.采用 1 mol/L NaCl 溶液调节 BSA 溶液的离子强度.

采用 Zeta 电位仪(ZS90Zetasizer, Malvern, England)进行各 pH 及离子条件下 BSA 分子 Zeta 电位的测定.

1.2　PVDF 超滤膜的制备

膜材料:聚偏氟乙烯(PVDF, Solvay Advanced Polymers Co., Solef 1015);聚乙烯吡咯烷酮(PVP K30,分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司);N,N-二甲基乙酰胺(DMAc,分析纯,天津福晨化学试剂厂).

采用浸没沉淀相转化法制备平板 PVDF 超滤膜:将 PVDF、PVP 按照一定比例混溶于 DMAc 中,恒温搅拌 12 h 得到均质铸膜液,静置脱泡后,均匀涂覆于玻璃板上,分相得到 PVDF 超滤膜,经充分漂洗后待用.所制备 PVDF 超滤膜亲水性接触角为 72°,表面 Zeta 电位为-47 mV.

1.3　BSA 污染层制备及膜通量试验

采用死端超滤杯系统进行 BSA 污染层的制备.将平衡后的 PVDF 超滤膜,在 0.1 MPa 下持续过滤特定水质的 BSA 污染物溶液,至膜通量稳定,此时膜面形成稳定的 BSA 污染层.试验结束后将污染膜置于相应污染物溶液中,待作用力测定使用.

1.4　BSA 胶体探针的制备

为了实现 PVDF 超滤膜与 BSA 及 BSA 之间相互作用力的测试,首先制备了 BSA 胶体探针,方法如下:在自行搭建三维操作台及光学显微镜辅助下,首先在 AFM 无针尖探针微悬臂自由端黏附适量环氧树脂光学胶(Epo Tek 公司),其次通过光学胶将 BSA 微球(3 μm, GmbH, Germany)黏附于微悬臂自由端,最后将黏附有 BSA 微球的探针置于 4 ℃冰柜中静置固化一周以上待用.图 1 为 3 μm BSA 胶体探针 SEM 图.

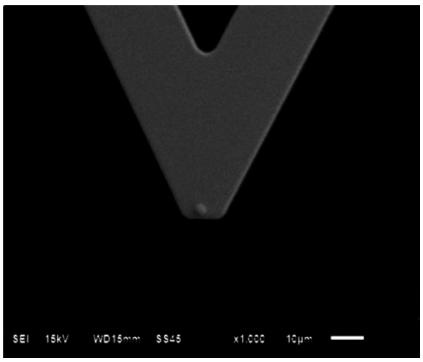


图 1　3 μm 的 BSA 胶体探针 SEM 图

Fig.1　SEM image of 3 μm BSA colloidal probe

1.5　微观作用力测定

使用 Multimode 8.0 原子力显微镜(AFM, Bruker, Germany)结合自行制备 BSA 胶体探针,定量测量特定 pH 及离子条件下 PVDF 超滤膜-BSA 以及 BSA-BSA 之间的作用力.

AFM 作用力测定:首先将 BSA 胶体探针安装于 AFM 作用力测试系统中,并在"接触"模式和相应的液体环境下校正其灵敏度与弹性系数;其后将样品(干净的 PVDF 超滤膜或者 BSA 污染层)固定于作用力测试系统中,用测试溶液冲洗测试回路,充满测试液体池;随后设定参数,在"接触"模式和相应 pH 及离子条件的测试环境下进行作用力测定.为减小实验误差,每个样品随机选取 10 个不同测试点,每个测试点重复测试 10 次,剔除离奇数据后取平均值进行数据分析,作用力大小以数据绝对值表示,负号表示测量时探针向下方弯曲.胶体探针使用前后进行完整性检测.

2　结果与讨论

2.1　不同 pH 下 BSA 带电性能随离子强度的变化

表 1 为 pH 为 3.0、4.7 及 9.0 时,BSA 的 Zeta 电位随离子强度的变化特征.可以看出:在所考察的离子强度范围内,pH 为 3 时,BSA 始终带有正电荷;而 pH 为 9 时,BSA 始终带有负电荷;在 pH 为 4.7,即 BSA 等电点,BSA 带有少量负电荷,特别是离子强度达到 100 mmol/L 时,BSA 净电荷量几乎趋于 0.

此外,无论是 BSA 带正电、负电还是在 BSA 等电点,随着离子强度的增大,BSA 所带净电荷量都是逐渐减小.主要是因为随着离子强度的增大,BSA 溶液中抗衡离子引起的静电屏蔽及压缩双电层效应逐渐增强,导致 BSA 表面所带净电荷量逐渐减小.

表 1 不同 pH 条件下 BSA 表面的 Zeta 电位随离子强度的变化

Tab.1 Change characters of BSA surface Zeta potential with ionic strengths under different pH conditions mV

pH	离子强度/(mmol · L^{-1})			
	0	1	10	100
3.0	18.27	15.67	5.64	3.02
4.7	−3.64	−2.71	−1.50	−0.20
9.0	−25.40	−21.63	−12.03	−7.70

2.2 BSA 带正电条件下膜污染微观作用力随离子强度的变化

首先考察了 pH 为 3,即 BSA 带正电条件下,PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的相互作用力随离子强度的变化特征,相应典型作用力曲线见图 2.当离子强度为 0、1、10 及 100 mmol/L 时,膜通量衰减率分别为 56.42%、60.05%、68.37%、81.09%.可以看出,膜通量衰减率随离子强度的增大而增大,即膜污染随离子强度的增大而加剧.而相应条件下 PVDF-BSA 之间的平均作用力分别为 12.7、12.2、12.0、10.1 mN/m, BSA-BSA 之间的平均作用力分别为 0.33、0.53、0.67、0.93 mN/m,由 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的相互作用力随离子强度的变化特征可以看出:

1)针对 PVDF-BSA 之间的作用力,随离子强度的增大, PVDF-BSA 之间的作用力呈现逐渐减小的趋势.这主要是因为,在 pH 为 3.0 时,BSA 呈正电性,而 PVDF 超滤膜呈负电性,PVDF-BSA 之间存在的是静电吸引力.而静电作用力的大小与 PVDF 及 BSA 表面所带净电荷量呈正比关系.随着离子强度的增大,电荷屏蔽及压缩双电层效应导致 PVDF 及 BSA 所带净电荷量逐渐减小,相应 PVDF-BSA 之间的静电吸引力逐渐减小,最终体现为 PVDF-BSA 之间的相互作用力随离子强度的增大而减小.

2)针对 BSA-BSA 之间的作用力,随离子强度的增大,其变化规律与 PVDF-BSA 之间作用力的变化恰好相反,即 BSA-BSA 之间作用力随离子强度的增大而增大.同样是由静电作用力的变化引起.随离子强度的增大,削弱了 BSA-BSA 之间的静电排斥力,进而导致 BSA-BSA 之间的综合作用力随离子强度的增大而增大,膜污染随离子强度的增大而加剧.

3)综上,当 BSA 带正电荷时,随着离子强度的增大,膜污染加剧,PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的作用力完全遵循 DLVO 理论,即静电作用力的变化是控制膜污染微观作用力的主导作用,并无水合现象出现.这是因为 BSA 在正电条件下,其表面吸附的是阴离子 Cl^-,而 Cl^-离子无水合性能,BSA 表面并不能形成特定结构的水合层,因此,并不能触发水合作用力.

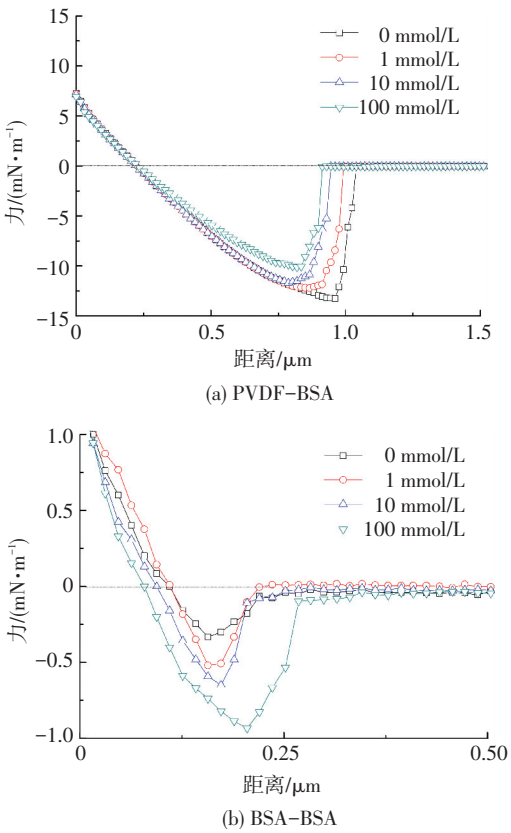


图 2 BSA 带正电条件下 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的典型作用力曲线随离子强度的变化

Fig.2 Representative normalized interaction forces versus characteristics of PVDF-BSA and BSA-BSA at different ionic strengths and positive charge of BSA

2.3 BSA 在等电点条件下膜污染微观作用力随离子强度的变化

在 BSA 等电点,不同离子强度下 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间典型作用力曲线见图 3.当离子强度为 0、1、10 及 100 mmol/L 时,PVDF-BSA 之间的平均作用力分别为 3.2、3.4 、2.3、1.3 mN/m, BSA-BSA 之间的平均作用力分别为 4.2 、7.1、4.9、0.9 mN/m,膜通量衰减率分别为 87.62%、92.06%、85.46%、77.88%.显然,在 BSA 等电点,无论是 PVDF-BSA、BSA-BSA 之间作用力,还是膜通量衰减率,随离子强度的增大皆呈现先增大后减小的趋势,该现象并不能采用 DLVO 理论解释.

当离子强度为 0 ~ 1 mmol/L 内时,PVDF-BSA 与 BSA-BSA 之间的作用力及膜通量衰减率均随离子强度的增大而增大.这与 pH 为 3 条件下,膜污染微观作用力随离子强度的变化特征相似.这主要是因为在 BSA 等电点,PVDF 超滤膜表面仍然带负电荷,而 BSA 表面带有少量负电荷,随着离子强度从 0 增大到 1 mmol/L,电荷屏蔽作用导致 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 间静电排斥力减小,而 PVDF 及 BSA 表面水合 Na^+的吸附累积量较少,并不能观测到水合作用力,最终致使 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间作用力

增大, 膜污染加剧.

随着离子强度继续从 1 增加到 10 及100 mmol/L, PVDF-BSA 与 BSA-BSA 之间的作用力及膜通量衰减率却随离子强度的增大而逐渐减小.而此时 BSA 净电荷量逐渐趋于 0,即 PVDF-BSA 及 BSA 之间的静电作用力几乎可忽略.但是,随着离子强度增加, PVDF 超滤膜及 BSA 表面吸附累积的水合 Na^+离子量逐渐增大,有效触发了水合作用力[16-18],进而削弱了 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的作用力,减缓膜污染.

综上, 在 BSA 等电点,静电作用力及水合排斥力皆是控制膜污染微观作用力的主要因素.较低离子强度条件下,静电作用力的变化仍然是控制 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间相互作用力的主导因素.当离子强度大于 1 mmol/L 后,由于水合 Na^+离子在 PVDF 超滤膜及 BSA 表面的不断吸附累积,有效触发了水合作用力,从而削弱 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的相互作用力,减缓膜污染.

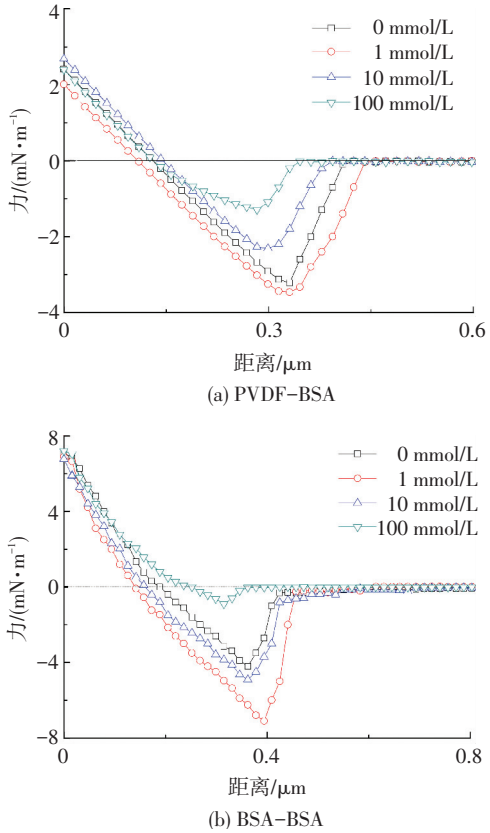


图 3　BSA 电中性条件下 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的典型作用力曲线随离子强度的变化

Fig.3　Representative normalized interaction forces versus characteristics of PVDF-BSA and BSA-BSA at different ionic strengths and neutral charge of BSA

2.4　BSA 带负电条件下膜污染微观作用力随离子强度的变化

当 pH 为 9.0,即 BSA 带负电荷时,离子强度为 0、1、10 及 100 mmol/L 条件下,膜通量衰减率分别为 41.36%、55.88%、61.31%、46.23%.相应离子条件下 PVDF-BSA 之间的平均作用力分别为 1.1、1.7、2.3、1.1 mN/m, BSA-BSA 之间的的平均作用力分别为 0.10、0.11、0.34、0.21 mN/m,相应的典型作用力曲线如图 4 所示.

不难发现,与 pH4.7 时的作用力及膜通量衰减率变化特征相似,pH 为 9 时,PVDF-BSA 与 BSA-BSA 之间作用力及通量衰减率随离子强度的增大亦呈现先增大后减小的趋势.说明在此条件下亦有效触发了水合作用力.这也是因为,在 pH 为 9 时,BSA 及 PVDF 表面皆带负电荷,随着离子强度的增大,二者表面吸附累积大量的水合 Na^+离子,进而触发了水合作用力,减缓膜污染.

此外,结合图 3 发现,在 pH 4.7 时,当离子强度达到 10 mmol/L,膜污染微观作用力明显减小.但是 pH 为 9 时,离子强度达到 100 mmol/L 时,才能观察到 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 间作用力的减小.说明 BSA 所带负电荷越多,反而越不易观察到水合作用力.这可能是因为在相同的离子强度变化范围内,当 pH 为 9 时,膜面及 BSA 表面所带净电荷量大幅度减小,相应静电作用力的变化幅度较大,所以,需要更强的水合作用力来掩盖静电力的变化量.

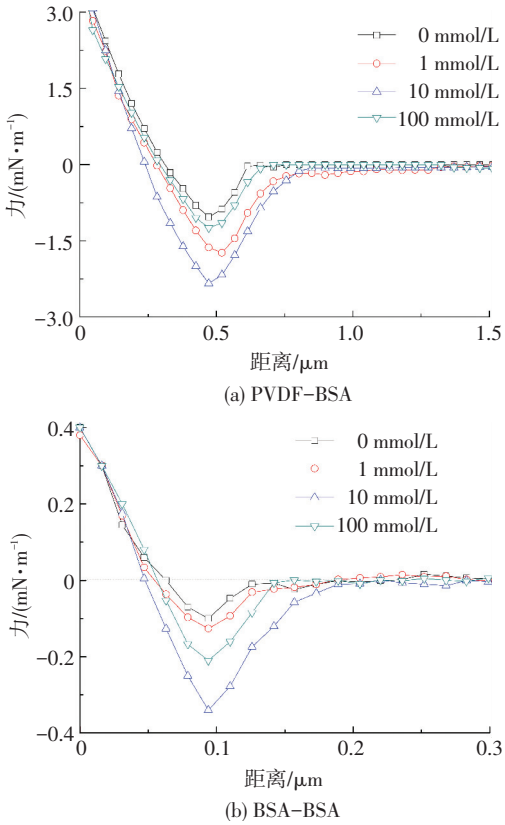


图 4　BSA 带负电性条件下 PVDF-BSA 及 BSA-BSA 之间的典型作用力曲线随离子强度的变化

Fig.4　Representative normalized interaction forces versus characteristics of PVDF-BSA and BSA-BSA at different ionic strengths and negative charge of BSA

3 结 论

1)在超滤过程中,当 pH 及离子强度满足一定条件,水合离子大量吸附于蛋白质及超滤膜表面,形成特定水合层,有效地触发了水合排斥力,水合排斥力可减弱膜-蛋白质及蛋白质-蛋白质之间的吸引力,减缓膜污染.

2)BSA 带正电性条件下膜污染微观作用力测定结果表明:当 pH 为 3.0 时,BSA 带正电性,而 PVDF 膜带负电性,膜-BSA 之间的作用力随着离子强度的增大而减小,BSA-BSA 之间的作用力随着离子强度的增大而增大,完全遵循 DLVO 理论,此时静电作用力是主导因素,无水合作用力.

3)当 BSA 呈电中性或电负性时,PVDF 膜表面呈负电性,二者表面均吸附水合阳离子,当离子强度达到一定值时,由水合阳离子触发的水合排斥力将掩盖部分膜-BSA 及 BSA-BSA 之间的吸引力,有效削弱膜-BSA 及 BSA-BSA 之间的作用力,且在 BSA 等电点更容易观察到水合作用现象.BSA 带电性能及其离子强度是超滤过程中控制水合作用的关键因素.

参考文献

[1] HASHINO M, HIRAMI K, ISHIGAMI T, et al. Effect of kinds of membrane materials on membrane fouling with BSA[J]. Fuel & Energy Abstracts, 2011, 384(1):157-165.

[2] MENG F, CHAE S R, SHIN H S, et al. Recent advances in membrane bioreactors: configuration development, pollutant elimination, and sludge reduction[J]. Environmental Engineering Science, 2011, 29(3):139-160.

[3] XIAO K, XU Y, LIANG S, et al. Engineering application of membrane bioreactor for wastewatertreatment in China: Current state and future prospect[J]. Front Env Sci Eng,2014(8): 805-819.

[4] HE X, MENG F, LIN A, et al. Monovalent ion-mediated fouling propensity of model proteins during low-pressure membrane filtration [J]. Separation & Purification Technology, 2015, 152:200-206.

[5] KIM H C, DEMPSEY B A. Effects of wastewater effluent organic materials on fouling in ultrafiltration[J]. Water Research, 2008, 42 (13):3379-3384.

[6] BROENS F, MENNE D, POTHOF I, et al. Water hammer reduces fouling during natural water ultrafiltration[J]. Water Research, 2012, 46(4):1113-1120.

[7] MIAO R, WANG L, MI N, et al. Enhancement and mitigation mechanisms of protein fouling of ultrafiltration membranes under different ionic strengths[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(11).:6574-6580.

[8] WANG Y N, TANG C Y. Protein fouling of nanofiltration, reverse osmosis, and ultrafiltration membranes—The role of hydrodynamic conditions, solution chemistry, and membrane properties[J]. Journal of Membrane Science, 2011, 376(1/2):275-282.

[9] BHATTACHARJEE S, CHEN J Y, ELIMELECH M. DLVO interaction energy between spheroidal particles and a flat surface [J]. Physicochemical and Engineering Aspects, 2000, 165:143-156.

[10] MO H, TAY K G, NG H Y. Fouling of reverse osmosis membrane by protein (BSA): Effects of pH, calcium, magnesium, ionic strength and temperature[J]. Journal of Membrane Science, 2008, 315(s 1/2):28-35.

[11] PARIDA V, NG H Y. Forward osmosis organic fouling: Effects of organic loading, calcium and membrane orientation [J]. Desalination, 2013,312:88-98.

[12] ZHANG Y, MA F, LI G. Fouling of ultrafiltration membrane by algal-rich water: Effect of kalium, calcium, and aluminum [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2013,405:22-27.

[13] 米娜, 王磊, 苗瑞,等. 不同离子强度下蛋白质在 PVDF 膜面吸附行为评价[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2016, 48(2):109-113.
MI N, WANG L, MIAO R, et al. Protein adsorption behavior evaluation under different ionic strength on PVDF membrane [J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2016, 48(2):109-113.

[14] TANSEL B, SAGER J, RECTOR T, et al. Significance of hydrated radius and hydration shells on ionic permeability during nanofiltration in dead end and cross flow modes[J]. Separation and Purification Technology, 2006,51:40-47.

[15] HUANG H H, RUCKENSTEIN E. Effect of hydration of ions on double-layer repulsion and the hofmeister series [J]. Journal of Physical Chemistry Letters, 2013,4:3725-3727.

[16] LEE S, ELIMELECH M. Salt cleaning of organic-fouled reverse osmosis membranes[J]. Water Research, 2007, 41(5):1134-1142.

[17] MANCIU M, RUCKENSTEIN E. Role of the hydration force in the stability of colloids at high ionic strengths[J]. Langmuir, 2001, 17 (22):7061-7070.

[18] PARSEGIAN V A, ZEMB T. Hydration forces: Observations, explanations, expectations, questions [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2011, 16(6):618-624.

(编辑 刘 彤)