

# Obținerea membranelor de afinitate din polimeri funcționali pe bază de polisulfonă și polifenilenoxid bromurat

DANA GARGANCIUC<sup>1</sup>, GHEORGHE BĂTRÎNESCU<sup>2</sup>, OVIDIU POPA<sup>3</sup>, MIHAELA OLTEANU<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Agenția Regională pentru Protecția Mediului București, Str. Al. Borneanu, Nr.4, 060758, București, România

<sup>2</sup>Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Ecologie Industrială – București, <sup>a</sup>os. Panduri, Nr. 90-92, 050663, București, România

<sup>3</sup>Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară-Facultatea de Biotehnologii, București, Bd. Mărăști, Nr. 59, 011464, București, România

<sup>4</sup>Universitatea București, Facultatea de Chimie, Bd. Regina Elisabeta, Nr. 4-12, 030018, București, România

*The applications of membranes and membrane processes in advanced separations from biotechnology have gained lately a great importance determining their inclusion among the top technologies. This paper presents an original variant for preparation of some affinity membranes from acylated polysulphone and brominated polyphenyleneoxide, with immobilized starch as affinity ligand for biospecific separations.*

*Keywords: membranes, phase inversion, affinity ultrafiltration, ligand*

În prezent, studiul chimiei coloidale și a interfețelor reprezintă un domeniu de vârf al cercetărilor din chimia fizică. Pe baza cunoștințelor acumulate cu privire la sistemele coloidale și proprietățile acestora, au fost dezvoltate noi tehnologii de obținere a materialelor coloidale cu proprietăți superioare. Dintre acestea, membranele se disting ca o categorie aparte, ale căror proprietăți și domenii de aplicare le fac deosebit de interesante, devenind subiectul a numeroase studii și cercetări. Membranele sunt elemente filtrante cu dimensiuni submicronice ale porilor, care permit separarea componentelor din amestecuri complexe. Membranele cu afinitate s-au dovedit în ultimul timp a fi cele mai adecvate sisteme de separare pentru fluidele de natură biologică asigurând o separare de nivel avansat, prefiltrarea și adsorbția specifică putând fi adesea combinate într-o singură etapă de lucru. Principiul de funcționare a membranelor cu afinitate se bazează pe adsorbția specifică reversibilă a unui compus țintă, denumit "ligat", prin intermediul situsurilor de legătură asigurate de un "ligand" fixat direct sau cu ajutorul unor molecule spațiatoare pe grupele active ale membranei [1,2]. Una dintre cele mai interesante aplicații ale membranelor de afinitate este procesul de ultrafiltrare de afinitate, destinat în special prelucrării mediilor de biosinteză. Acesta este un proces de separare cu specificitate, rezultat prin combinarea purificării bazate pe interacții de afinitate cu cea bazată pe separarea membranelor, similar cromatografiei de afinitate, în care coloana cromatografică este înlocuită cu membrana inteligentă [3,4].

Primul pas în vederea obținerii unei membrane cu afinitate o reprezintă introducerea grupelor funcționale în matricea polimerică din care se va constitui membrana. Într-o lucrare anterioară a fost prezentată introducerea grupelor reactive de tipul -R-COOH, -COOR, -Ar-COOH, -CH<sub>2</sub>Br, în structura polisulfonului și polifenilenoxidului, prin reacții de acilare de tip Friedel-Crafts, respectiv prin substituție radicalică în catena laterală [7].

În lucrare este prezentată obținerea de membrane cu grupe funcționale active din polisulfonă acilată și din polifenilenoxid bromurat, destinate imobilizării de macromoleculă, celule microbiene sau enzime și unor separări avansate utilizate în procesele biotehnologice moderne.

Originalitatea lucrărilor efectuate constă în stabilirea unor recepturi polimerice și condiții de realizare a membranelor care permit obținerea de structuri controlate, predefinite.

## Parte experimentală

### Materiale utilizate

- polisulfonă activată prin acilare cu anhidridă maleică (PSF-AM);
- polisulfonă activată prin acilare cu anhidridă ftalică (PSF-AF);
- polisulfonă activată prin acilare cu cloroformiat de etil (PSF-FE);
- polifenilenoxid activat prin bromurare radicalică (PPO-Br);
- polisulfonă (PSF)- ULTRASON S3010-BASF-Germania: M-36.000 g/mol, densitate 1,24 g/cm<sup>3</sup>, conținut de apă 0,8% la 23°C ;
- N-metilpirolidonă C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NO (NMP)- Merck conținut: 99%; masă moleculară: 99,13 g/mol; solubilitate în apă: 1000 g/L la 25°C; densitate la 20°C: 1,03 g/mL; temperatură de fierbere: 202°C;
- amidon solubil Merck (pH 6,0 - 7,5).

### Metode

Metoda utilizată pentru obținerea membranelor de UF este inversia de fază, tehnica de precipitare prin imersie. Membranele polimerice cu structură asimetrică obținute din polimerii studiați au fost caracterizate prin determinarea mărimii, distribuției porilor și a caracteristicilor de curgere. Pentru caracterizarea membranelor polimerice din punct de vedere structural s-a utilizat un aparat tip COULTER POROMETER, dotat cu un sistem de analiză, sistem de calcul, sistem de vizualizare și sistem de transcriere a informațiilor referitoare la diametrul minim, maxim și mediu al porilor situați peste valoarea de 0,049 μm, precum și a numărului total de pori/cm<sup>2</sup>. Pentru membranele cu pori de dimensiuni mai mici de 0,049 μm (limita de detecție a porometrului), caracterizarea s-a realizat prin determinarea valorii de cut-off (masa moleculară de excludere). Metoda de caracterizare constă în parcurgerea următoarelor etape: trecerea prin membrana studiată de soluții de proteine globulare de mase moleculare cunoscute, stabilirea

\* email : dani\_garganciuc@yahoo.com; Tel.: 0745 017094

gradului de retenție a acestora, reprezentarea grafică a retenției funcție de masa moleculară a proteinelor și interpolarea pentru o retenție de 90%. Structura asimetrică a membranelor a fost pusă în evidență prin microscopie electronică de baleiaj (SEM). Caracteristicile de curgere ale membranelor au fost măsurate cu ajutorul unui modul de microfiltrare-ultrafiltrare, de tip CELFA MEMBRANE SYSTEME. Conținutul de amidon în permeat, în concentrat și în apele de spălare a membranelor funcționalizate s-a determinat prin metoda specifică SCHORL, care are ca principiu dozarea zaharurilor reducătoare totale (calculate ca glucoză).

### Mod de lucru

Prima etapă în prepararea membranelor a constat în obținerea unor soluții din polimerii menționați, în N-metil pirolidonă. Soluțiile de diverse concentrații au fost preparate în vase închise etan<sup>o</sup>, cu agitare continuă, după care au fost filtrate pentru îndepărtarea impurităților mecanice. Pentru obținerea membranelor soluțiile au fost aplicate sub forma unei pelicule direct pe o suprafață netedă (sticlă), cu ajutorul unui trăgător denumit generic "doctor blade", apoi s-a realizat precipitarea polimerului în baia de coagulare. Definitivarea coagulării se realizează prin staționarea peliculei pentru un timp definit în baie. Timpul de staționare a soluției polimerice în mediul de coagulare depinde de tipul fiecărei membrane și a fost adoptat (fixat) în intervalul 1 - 10 min.

După coagularea definitivă a membranei, aceasta este trecută într-o baie de spălare cu apă demineralizată, la 20°C, pentru îndepărtarea urmelor de solvent și nesolvent de pe suprafața acesteia. Pentru definitivarea structurii se aplică o etapă de condiționare, într-o baie de glicerină/apă demineralizată 10%. Anterior caracterizării, membranele sunt uscate, prin menținerea în aer, în cameră curată, la 20°C, timp de minim 24 h.

Fazele procesului prin care au fost obținute membranele sunt prezentate în figura 1.

Ulterior, au fost obținute membrane de afinitate utilizând ca ligand amidonul. Au fost preparate trei soluții de amidon solubil Merck (pH 6,0 - 7,5) de diferite concentrații: 10%, 20% și 30%, prin dizolvarea la rece a amidonului în apa demineralizată. Fiecare soluție a fost recirculată prin câte o membrană funcționalizată montată în modulul de ultrafiltrare, la 50°C, timp de 2 h.

Recircularea soluției de amidon s-a menținut prin închiderea robinetului de colectare a permeatului, după care prin deschiderea robinetului permeatul a fost colectat timp de 30 min.

La finalul operației a fost îndepărtat surplusul de soluție din incinta aparatului, a fost scoasă membrana cu ligandul fixat la suprafață și în matricea polimerică și a fost spălată cu apă demineralizată. Până la utilizare membrana se păstrează în stare umedă adăugând drept conservant benzoat de sodiu (0,01M).

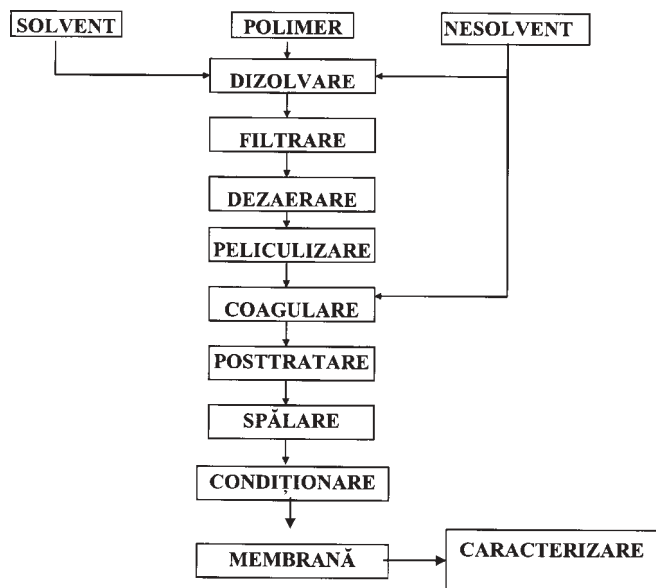


Fig. 1. Schema fluxului de preparare a membranelor

### Rezultate si discuții

Dintre polimerii acilați au fost selectați pentru prepararea de membrane cei obținuți după rețeta care a asigurat obținerea randamentului maxim de grefare a grupărilor reactive, în cercetările anterioare. [7] Din gama polimerilor de tipul polifenilenoxid bromurat au fost reținuți cei care conțin doar grupări metil monobromurate și al căror grad de bromurare depășește 25%. Selecția polimerilor s-a făcut pe principiul existenței unui număr cât mai mare de grupări reactive distribuite uniform pe lanțul polimeric. În același timp s-a luat în considerare uorința cu care aceștia se dizolvă în solvenții utilizați în mod uzual la prepararea membranelor, precum și proprietatea de a genera membrane cu rezistență mecanică bună.

Pentru a obține membrane cu caracteristici adecvate aplicației căreia le sunt destinate au fost impuse condiții de lucru specifice, determinate pe baza studiilor de laborator și a numeroase experimente anterioare, în care a fost studiată influența tuturor parametrilor care intervin în procesul de obținere a membranelor (viteza de tragere a peliculei, fanta trăgătorului, timpul de expunere în aer, temperatura și poziția băii de coagulare, a băii de spălare, respectiv de condiționare, condițiile de uscare etc).

Din polisulfona acilată s-au preparat soluții de concentrații cuprinse între 10% și 20%, în scopul studierii influenței concentrației asupra caracteristicilor structurale și hidrodinamice ale membranelor. Soluțiile au fost peliculizate cu ajutorul unui trăgător cu fanta de 0,3 mm, iar precipitarea s-a realizat în apă demineralizată. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele 1-3. Pentru comparație au fost preparate și membrane din polisulfonă neacilată, din soluții de concentrații similare cu cele de mai sus. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.

Nr. crt.	Conc. polimer, %	d <sub>min</sub> μm	d <sub>max</sub> μm	d <sub>mediu</sub> μm	Nr. total pori/cm <sup>2</sup> X10 <sup>-11</sup>	Cut-off, Da	Flux AD l/m <sup>2</sup> h
1	10	0,237	0,714	0,416	5,3	-	2240
2	12	0,149	0,586	0,271	6,7	-	1889
3	14	0,08	0,314	0,168	6,9	-	1385
4	16	SLD*	0,179	0,093	5,8	-	981
5	18	SLD	SLD	SLD	-	49.000	728
6	20	SLD	SLD	SLD	-	45.000	587

\*SLD- sub limita de detecție a aparatului-domeniu ultrafiltrare

**Tabelu 1**  
INFLUENȚA CONCENTRAȚIEI  
ASUPRA STRUCTURII  
MEMBRANELOR DIN PSF-AM

**Tabelul 2**  
INFLUENȚA CONCENTRAȚIEI ASUPRA STRUCTURII MEMBRANELOR DIN PSF-AF

Nr. crt.	Conc. polimer, %	d <sub>min</sub> μm	d <sub>max</sub> μm	d <sub>mediu</sub> μm	Nr. total pori/cm <sup>2</sup> X10 <sup>-11</sup>	Cut-off, Da	Flux AD l/m <sup>2</sup> h
1	10	0,214	0,639	0,395	4,6	-	2015
2	12	0,118	0,493	0,215	7,11	-	1714
3	14	0,06	0,241	0,136	8,2	-	1170
4	16	SLD	0,106	0,080	9,1	-	832
5	18	SLD	SLD	SLD	-	33.000	545
6	20	SLD	SLD	SLD	-	31.000	517

**Tabelul 3**  
INFLUENȚA CONCENTRAȚIEI ASUPRA STRUCTURII MEMBRANELOR DIN PSF-CE

Nr. crt.	Conc. polimer, %	d <sub>min</sub> μm	d <sub>max</sub> μm	d <sub>mediu</sub> μm	Nr. total pori/cm <sup>2</sup> X10 <sup>-11</sup>	Cut-off, Da	Flux AD l/m <sup>2</sup> h
1	10	0,149	0,568	0,245	2,4	-	1916
2	12	0,109	0,415	0,168	3,2	-	1609
3	14	0,06	0,209	0,113	5,1	-	1014
4	16	SLD	SLD	SLD	-	34.000	695
5	18	SLD	SLD	SLD	-	31.000	483
6	20	SLD	SLD	SLD	-	29.000	402

**Tabelul 4**  
INFLUENȚA CONCENTRAȚIEI ASUPRA STRUCTURII MEMBRANELOR OBTINUTE DIN PSF

Nr. crt.	Conc. polimer, %	d <sub>min</sub> μm	d <sub>max</sub> μm	d <sub>mediu</sub> μm	Nr. total pori/cm <sup>2</sup> X10 <sup>-11</sup>	Cut-off, Da	Flux AD l/m <sup>2</sup> h
1	10	0,214	0,321	0,275	6,3	-	1858
2	12	0,107	0,218	0,145	7,2	-	1504
3	14	0,05	0,091	0,075	7,9	-	961
4	16	SLD	SLD	SLD	-	18.000	659
5	18	SLD	SLD	SLD	-	12.000	425
6	20	SLD	SLD	SLD	-	8.000	312

Datele prezentate pun în evidență faptul că odată cu creșterea concentrației soluțiilor polimerice se obțin membrane din ce în ce mai dense, diametrul porilor (minim, maxim și mediu) fiind în descrescătoare continuă. În corelație cu această are loc și scăderea fluxului normalizat de apă. Scăderea fluxului de apă distilată nu este totuși drastică de la o valoare de concentrație la alta, deoarece în majoritatea cazurilor reducerea dimensiunii porilor este corelată cu o creștere a numărului total de pori din structura membranei, ceea ce asigură o bună comportare hidrodinamică. Aceste rezultate conduc la concluzia că se pot obține membrane cu caracteristici impuse prin monitorizarea riguroasă a procesului.

Polisulfona de tip ULTRASON, care are o distribuție uniformă și restrânsă în jurul valorii masei moleculare, duce la obținerea de membrane cu structură asimetrică adecvată: diferența dintre diametrul maxim și minim al porilor este mică, porii fiind distribuiți după o curbă gaussiană. Valorile de cut-off ale membranelor funcționalizate sunt considerabil mai mari decât cele ale membranelor similare din polisulfonă, acest aspect fiind favorabil preparării de membrane de afinitate, care să permită trecerea tuturor biomoleculelor din mediul de prelucrat, cu excepția celor care, chiar având dimensiuni foarte mici, sunt reținute de liganzii atașați membranei.

Din experimente s-a constatat că membranele realizate numai din polimerii PSF-AM, PSF-AF, PSF-FE, indiferent de concentrația soluțiilor polimerice și a adjuvanților din compoziția acestora, sunt friabile și nu pot fi utilizate ulterior pentru obținerea de membrane cu liganzi de afinitate. Membranele obținute din polisulfonele modificate (polimerii activați) au structuri neuniforme, cu diferențe foarte mari între diametrul maxim și minim al porilor, neuniformitatea structurii ducând la o selectivitate scăzută. Din aceste motive au fost realizate membrane din polimerii modificați prin acilare, în amestec cu polisulfonă ULTRASON în diverse proporții, după cum urmează:

M1 - membrană din PSF-AM/ PSF, raport masic 2:3, soluție 15% în NMP;

M2 - membrană din PSF-AF/ PSF, raport masic 2:3, soluție 15% în NMP;

M3 - membrană din PSF-FE/ PSF, raport masic 2:3, soluție 15% în NMP;

De asemenea s-au obținut membrane din soluții de concentrație 15% PPO-Br cu grad de bromurare de 26%, 27% și 28%:

M4 - membrană din PPO-Br, grad bromurare 26%, soluție 15% în NMP;

M5 - membrană din PPO-Br, grad bromurare 27%, soluție 15% în NMP;

**Tabelul 5**  
**CARACTERISTICILE STRUCTURALE <sup>o</sup>i HIDRODINAMICE ALE MEMBRANELOR DIN AMESTECURI**  
**DE POLISULFONĂ/POLISULFONĂ ACILATĂ <sup>o</sup>i DIN POLIFENILENOXID BROMURAT**

Nr.crt.	Tip membrană	Cut-off Da	Flux apă distilată (l/m <sup>2</sup> h)
1	M1	18.000	740
2	M2	20.000	860
3	M3	19.000	768
4	M4	25.000	904
5	M5	26.000	920
6	M6	28.000	955

**Tabelul 6**  
**GRADE DE FIXARE A LIGANDULUI AMIDON**

Nr. crt.	Tip membrană	Concentrație soluție de amidon (%)	Grad de fixare g/cm <sup>2</sup>
1	M1	10	0,2
		20	0,33
		30	0,4
2	M2	10	0,25
		20	0,38
		30	0,47
3	M3	10	0,22
		20	0,33
		30	0,44
4	M4	10	0,29
		20	0,37
		30	0,46
5	M5	10	0,32
		20	0,41
		30	0,58
6	M6	10	0,38
		20	0,54
		30	0,68

M6 - membrană din PPO-Br, grad bromurare 28%, soluție 15% în NMP;

Dimensiunile de pori ale acestor membrane s-au situat sub limita de detecție a porometrului (membrane de ultrafiltrare), caracterizarea lor structurală realizându-se pe baza valorilor de cut-off <sup>o</sup>i prin microscopie SEM. Caracteristicile structurale <sup>o</sup>i hidrodinamice ale membranelor funcționalizate sunt prezentate în tabelul 5.

Valorile de cut-off, ca <sup>o</sup>i cele ale fluxurilor de apă, sunt comparabile în cazul membranelor M1-M6. Totuși se remarcă valori superioare la membranele din polifenilenoxid bromurat, în acest sens membrana din PPOBr cu grad de bromurare 28% având cele mai bune caracteristici.

În figura 2 este prezentată imaginea SEM a unei membrane asimetrice de ultrafiltrare din polisulfonă ULTRASON iar în figurile 3 - 8 sunt redată imaginile SEM ale membranelor funcționalizate M1-M6. Aceste micrograme confirmă structura asimetrică a membranelor funcționalizate, evidențiind existența unui strat superficial activ subțire <sup>o</sup>i a unui strat macroporos suport.

Din volumele măsurate ale permeatului, concentratului <sup>o</sup>i soluțiilor de spălare a membranelor cu ligand amidon, pe baza unei relații de bilanș ca cea de mai jos, se determină cantitatea de amidon legat pe membrană.

$$\text{Amidon legat (g)} = V_i \times C_i - V_p \times C_p - V_c \times C_c - V_a \times C_a$$

unde:

$V_i$  = volum soluție inițială amidon (ml);  $C_i$  = concentrație soluție inițială (g/mL);

$V_p$  = volum de permeat;  $C_p$  = concentrație amidon în permeat

$V_c$  = volum de concentrat;  $C_c$  = concentrație amidon în concentrat

$V_a$  = volum de ape de spălare;  $C_a$  = concentrație amidon în apele de spălare.

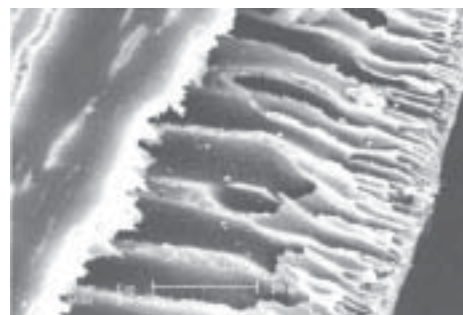


Fig. 2. Micrograme SEM a membranei de ultrafiltrare din polisulfonă

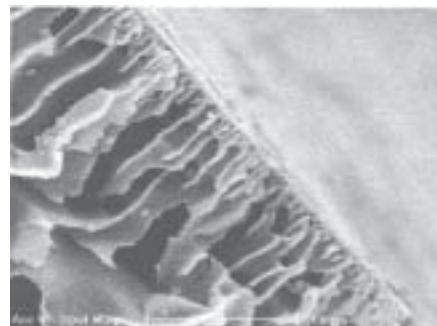


Fig. 3. Micrograme SEM a membranei M1

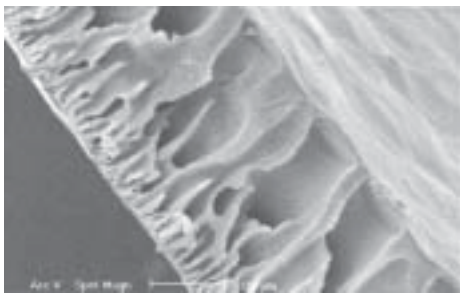


Fig. 4. Micrograma SEM a membranei M2

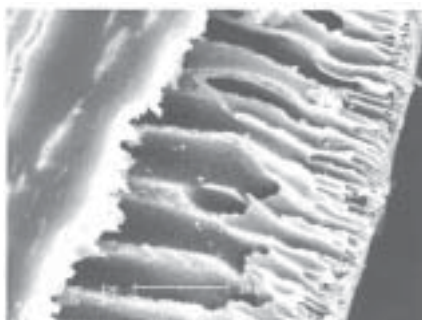


Fig. 5. Micrograma SEM a membranei M3

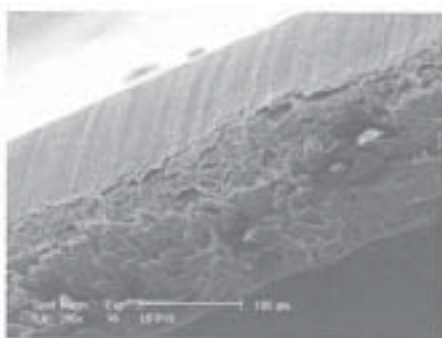


Fig. 6. Micrograma SEM a membranei M4

Gradul de reținere a amidonului pe membrană rezultă ca raport între conținutul de amidon fixat (g) și suprafața membranei utilizate în experimente,  $S = 15\text{cm}^2$ .

În funcție de tipul membranei și de concentrația soluției de amidon, s-au obținut grade diferite de fixare a ligandului, după cum reiese și din tabelul 6.

Din datele prezentate se poate constata că membranele de ultrafiltrare din polisulfonă funcționalizată prin acilare conduc la grade comparabile de fixare a amidonului. Deoarece membrana realizată din PPOBr conține un număr foarte mare de grupări reactive de tipul  $-\text{CH}_2\text{Br}$ , aceasta are o capacitate mai mare de fixare a ligandilor, chiar și din soluții concentrate. Comparând capacitatea de reținere a celor două tipuri de grupări reactive de pe cele două tipuri de membrane reiese că cel mai bun comportament îl are gruparea de tip  $-\text{CH}_2\text{Br}$ .

### Concluzii

Caracteristicile structurale și hidrodinamice ale membranelor funcționalizate cu grupe acil, respectiv  $-\text{CH}_2\text{Br}$ , sunt comparabile, remarcându-se că membrana din PPOBr cu grad de bromurare 28% are performanțe superioare.

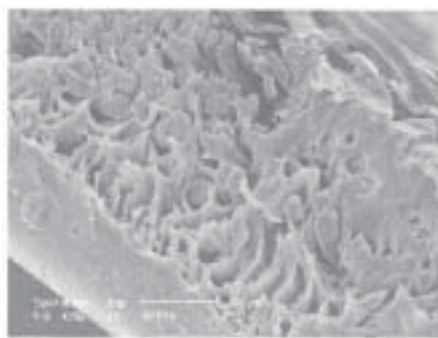


Fig. 7. Micrograma SEM a membranei M5

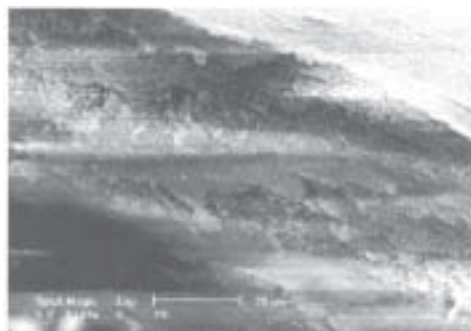


Fig. 8. Micrograma SEM a membranei M6

Imaginile SEM ale membranelor funcționalizate confirmă structura asimetrică a acestora, evidențiind existența unui strat superficial activ subțire și a unui strat macroporos suport.

Membranele de ultrafiltrare din polisulfonă funcționalizată prin acilare conduc la grade comparabile de fixare a amidonului. Deoarece membrana realizată din PPOBr (28% grad bromurare) conține un număr foarte mare de grupări reactive de tipul  $-\text{CH}_2\text{Br}$ , aceasta are o capacitate mai mare de fixare a ligandilor, chiar și din soluții concentrate. Comparând capacitatea de reținere a celor două tipuri de grupări reactive (acil, respectiv brombenzil) de pe cele două tipuri de membrane reiese că cel mai bun comportament îl are gruparea de tip  $-\text{CH}_2\text{Br}$ .

Originalitatea lucrărilor efectuate constă în stabilirea unor recepturi polimerice și condiții de realizare a membranelor care permit obținerea de structuri controlate, predefinite.

### Bibliografie

1. ZHANG W.- A study on the affinity cross-flow filtration process, PhD Thesis, University of Twente, Enschede, The Netherlands, 1993
2. GARGANCIUC D., ROMAN G., BĂTRÎNESCU GH., NIȚĂ O., ALBU B.G., J. Romanian Coll. Surf. Chem. Assoc., 5, nr. 1-2, 2005, p.7
3. MATTIASSON B., LING T.G.I., Membrane Separation in Biotechnology, W.C. Mc Gregor, ed., Marcel Dekker, 1986, p.99
4. BĂTRÎNESCU GH., ROMAN G., GARGANCIUC D., POPESCU G., Membrane cu enzime imobilizate, Ed.Cartea Universitară., ISBN(10) 973-731-372-0, ISBN (13) 978-973-731-372-0, București 2006
5. HUGHES A.J., ZHOU S., BHATTACHARYA D., JAY M., J.Membr.Sci., 60, 1991, p.75
6. FELDHOFF P.W., Immobilised Macromolecules: Application Potentials, U.B.Sleytr, P.Messner, D.Pum and M.Sára, Eds., Springer Series in Applied Biology, University of York, 1992, p. 61
7. GARGANCIUC D., BĂTRÎNESCU GH., NECHIFOR GH., OLTEANU M., Mat. Plast., 45, nr. 1, 2008, p. 29

Intrat în redacție: 26.03.2007