

УДК 541.64 : 534.121

Г. А. Тищенко, В. Тырачкова, З. Грушка, Л. К. Шатаева

pH-ЗАВИСИМЫЙ ТРАНСПОРТ ЦВИТТЕР-ИОНОВ ЧЕРЕЗ КОМПОЗИЦИОННУЮ АИОНООБМЕННУЮ МЕМБРАНУ¹

Методом электронной микроскопии изучена пористая структура композиционных мембран, полученных «мокрым» способом на основе микродисперсии анионита с использованием ПАН в качестве связующего. Введение гидрофильной микродисперсии ионита в матрицу практически не изменяет пористую структуру ПАН-мембран, полученных осаждением в воду. Изучена pH-зависимость равновесной сорбции аминокислоты и белковой макромолекулы на анионообменных мембранах. Показано влияние равновесной и динамической сорбции на транспорт этих диффузантов в отсутствие гидравлического потока через мембрану. Изменяя степень ионизации цвиттер-ионов на двух сторонах мембранны, можно влиять на их диффузионный транспорт.

Известно, что транспортные характеристики мембран зависят не только от их пористости, но и от межмолекулярного взаимодействия диффузанта с материалом мембраны. Так, например, введение краун-эфирных групп в полимерную матрицу мембраны влияет на проницаемость катионов первой группы [1]. Введение дополнительно карбоксильных групп в структуру матрицы мембраны усиливает это влияние [2], причем отмечено решающее влияние трансмембранныго градиента pH на транспорт низкомолекулярных компонентов через мембрану даже в случае использования жидких мембран [3]. Ранее было показано, что при диффузии белковых макромолекул через пористые карбоксильные мембранны, способные с высокой емкостью сорбировать белки на поверхности пор, эффективная проницаемость мембраны повышается в тех системах, где за счет буферных растворов поддерживается разница pH на двух сторонах мембранны [4]. По-видимому, для высокопроницаемых ионообменных мембранны существует возможность регулирования проницаемости по отношению к физиологически активным веществам путем небольшого изменения pH буферных растворов на двух сторонах мембранны.

Цель данной работы — изучение взаимосвязи сорбционных и транспортных свойств слабодиссоциированных ионообменных мембран по отношению к цвиттер-ионам разной ММ.

Композиционные мембранны, содержащие первичные аминогруппы, были получены на основе микродисперсии анионита АМБД, синтез и кислотно-основные характеристики которого описаны ранее [5]. Микродисперсию с размером частиц 4±2 мкм получали измельчением анионита в шаровой мельнице и фракционировали по скорости седиментации. Размер частиц и однородность микродисперсии оценивали при помощи микроскопа МБИ-6.

Мембранны получали «мокрым» способом, так как при этом образуются пористые структуры с наибольшей удельной поверхностью и пористостью. В качестве связующего использовали ПАН-волокно нитрон производства НПО «Нитрон» [6]. Раствор связующего получали, растворяя волокно в 50%-ном водном растворе перекристаллизованного роданида натрия при нагревании до 80° до конечной концентрации 9 вес.%. Суспензию анионита АМБД (25% от веса композиции), предварительно уравновешенную с 50%-ным раствором роданида натрия, вводили в раствор связующего так, что конечная концентрация ПАН в смеси была ≥7 вес.%. Смесь отливали на стеклянную подложку из фильеры с заданной шириной щели и получали мембрану, помещая смесь на подложку в воду. Термообработку полученных мембранны про-

¹ Работа выполнена в рамках прямого двустороннего сотрудничества ИВС АН СССР (Ленинград) и ИМХ АН ЧССР (Прага) по теме «Полимерные мембранны».

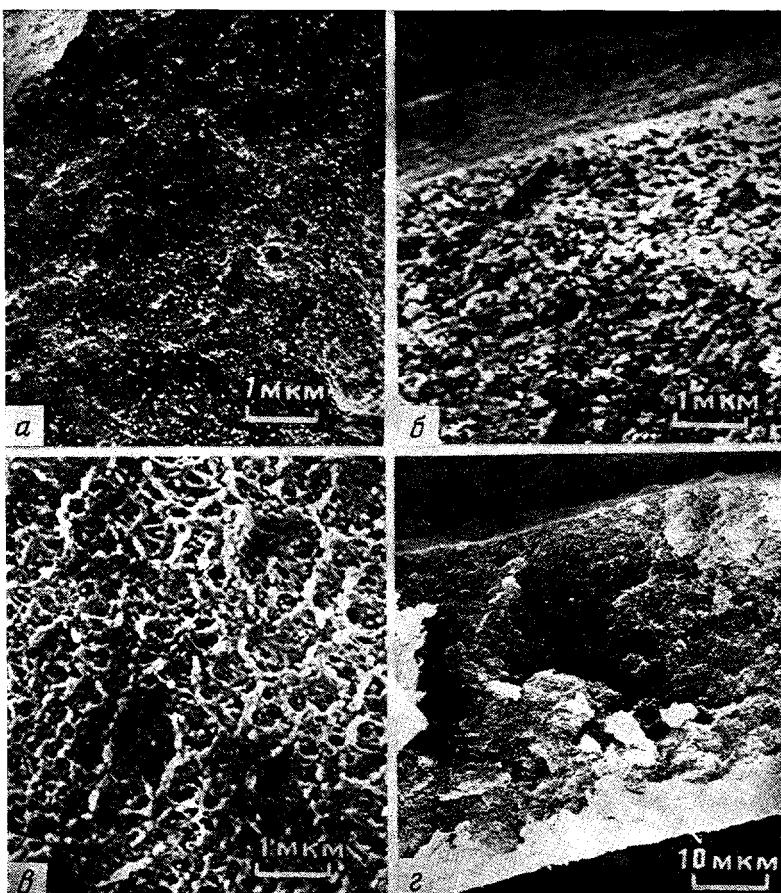


Рис. 1. Электронные микрофотографии нейтральной ПАН-мембраны (а) и композиционных ионообменных мембран ПАН – АМБд (б–г): а и б – излом вблизи верхней поверхности; в – излом вблизи нижней поверхности; г – сечение мембраны на малых увеличениях

водили при T_c связующего, равной 90° [7]. Толщину мембран измеряли микрометром.

Для электронной микроскопии мембранны лиофильно высушивали, делали излом в жидким азоте и затем напыляли на образцы слой золота толщиной 10 нм в камере «Бальзерс». Морфологию поверхностей мембранны и излома наблюдали в растровом электронном микроскопе LSM JEOL при 35 кВ. Ионообменную емкость мембранны по хлору определяли аргентометрическим титрованием [8].

Для изучения pH-зависимого транспорта цвиллер-ионов использовали 0,1 м. растворы *трис*-буфера (фирмы «Серва») и соляной кислоты в качестве базовой буферной системы для поддержания разных значений pH на двух сторонах ионообменной мембранны. Исследовали низкомолекулярный цвиллер-ион – фузариновую кислоту (ФК) (5-бутилпиридин-2-карбоновая кислота фирмы «Сигма») и макромолекулярный цвиллер-ион – белок цитохром С (БЦ) (фирмы «Серва»).

Равновесную сорбцию ФК и БЦ на анионообменной мемbrane изучали в статических условиях в диапазоне pH 1–10. Концентрацию ФК и БЦ измеряли спектрофотометрически при 280 нм.

Проницаемость ФК и БЦ через мембрану изучали в двухкамерной ячейке с объемом камер 50 см³. Диаметр окошка для фиксации мембранны 2 см. Разница давлений между камерами отсутствовала, и в эксперименте фиксировали только диффузионные потоки компонентов. В камеры ячейки помещали буферные растворы с определенным значением pH; при этом одна камера (ресурсная) содержала изучаемый цвиллер-ион ФК или БЦ. При непрерывном перемешивании в режиме непрерывной записи измеряли концентрацию компонента, продиффундировавшего через мембрану во вторую (приемную) камеру. В экспериментах варьировали начальные концентрации диффузантов в ресурсной камере. После окончания эксперимента мембрану вынимали из зажимного кольца и проводили десорбцию цвиллер-иона, сорбированного мембраной во время диффузионного переноса 0,1 м. раствором соляной кислоты.

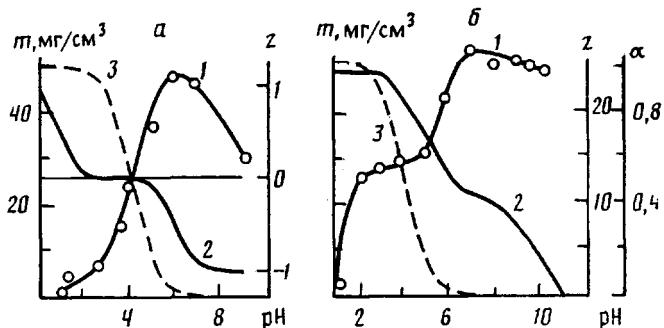


Рис. 2. pH- зависимости равновесной сорбционной емкости анионообменной мембранны ПАН – АМБД (1) по отношению к ФК (а) и БЦ (б); 2 – собственный электростатический заряд сорбируемых компонентов, 3 – степень ионизации аминогрупп мембранны

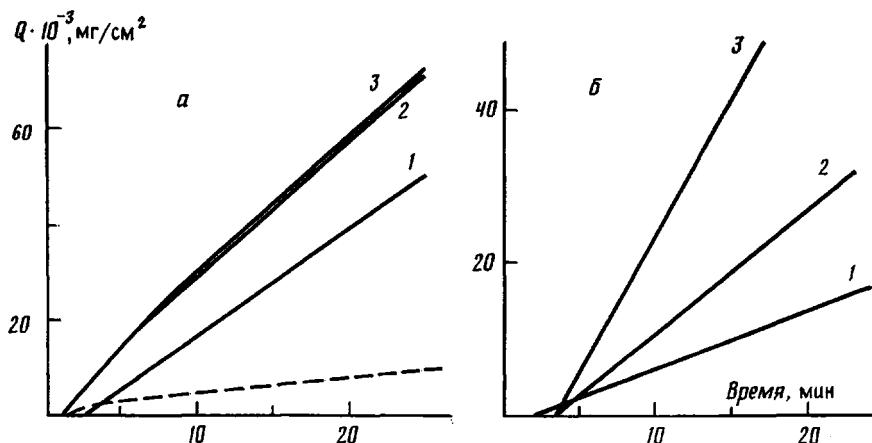


Рис. 3. Диффузионный перенос ФК (а) и БЦ (б) через мембрану ПАН – АМБД при разных условиях на границе мембранны: $pH_1=pH_2=10$ (1); $pH_1=pH_2=1$ (2); и $pH_1=10, pH_2=1$ (3). Штриховой линией показан перенос через нейтральную мембрану при $pH_1=pH_2=10$

Электронная микроскопия позволяет сравнивать морфологию пористой матрицы ПАН с морфологией композиционной мембранны, содержащей 25 вес.% микродисперсии анионита АМБД. На рис. 1, а представлен излом пористой нейтральной мембранны из ПАН вблизи поверхности мембранны. Видно, что использованные условия формования мембранны «мокрым» способом приводят к однородно губчатой структуре с высокой пористостью и размером пор 50–300 нм. Введение гидрофильной дисперсии анионита с размерами частиц более крупными, чем размер пор свободного связующего, не меняет характера губчатой структуры мембранны, хотя упаковка элементов кажется более разреженной (рис. 1, б и в). По-видимому, ПАН и анионит АМБД хорошо совместимы и образуют общую композиционную структуру, в которой методом растровой электронной микроскопии не удается различить отдельные элементы (микрочастицы) введенного ионита. На малых увеличениях (рис. 1, г) видно, что полученные композиционные мембранны не имеют асимметричного строения, хотя поверхность в районе излома кажется более уплотненной. На больших увеличениях (рис. 1, б) видно, что на этой уплотненной поверхности имеются открытые выходы пор из внутренних областей мембранны.

Микродисперсия анионита АМБД, включенная в пористую структуру мембранны, содержит слабоосновные звенья *n*-фенилендиамина, способные взаимодействовать с потоком диффузанта. Известно, что сорбция цвиттер-ионов аминокислот и белков на ионитах со слабо диссоциированными группами зависит от pH внешнего раствора, иначе говоря, от степени ионизации функциональных групп цвиттер-иона и полиэлектролита. Для каж-

дого цвиттер-иона существует область рН, оптимальная для селективного связывания с данным полиэлектролитом. При увеличении степени ионизации функциональных групп полиэлектролита в результате изменения рН внешнего раствора одновременно увеличивается ионизация групп той же полярности на молекуле цвиттер-иона, в результате чего между цвиттер-ионом и полиэлектролитом возникают силы отталкивания, препятствующие сорбции. Если же сорбция произошла при оптимальном значении рН, то при увеличении ионизации происходит разрыв связи цвиттер-ион – полиэлектролит и десорбция цвиттер-иона в раствор [9].

На рис. 2 представлены рН-зависимости равновесной сорбции ФК и БЦ на композиционных ионообменных мембранах ПАН – АМБД. Штриховая линия на этих рисунках отражает изменение степени ионизации аминогрупп мембранны, а кривая 2 – изменение суммарного электростатического заряда каждого цвиттер-иона; данные о константах ионизации отдельных групп взяты из работы [10].

Наибольшая емкость и селективность сорбции ФК наблюдается в области рН раствора, где степень ионизации функциональных групп мембранны очень мала (2–10%). Для БЦ область селективности связывания сдвинута в щелочную область и несколько шире, чем для ФК. Оба цвиттер-иона практически не взаимодействуют с полностью ионизированной мембраной, когда все аминогруппы диффузантов протонированы, т. е. имеют одинаковый знак заряда с матрицей мембранны, а карбоксильные группы их не диссоциированы ($\text{pH} < 2,0$).

Ранее было показано, что эффективный коэффициент диффузии белка в матрице сетчатого полиэлектролита, как и селективность связывания, зависит от рН раствора [11]. При изучении мембранных транспорта эти эффекты легче анализировать, чем на гранульных сорбентах, для которых дисперсия зернения искашает результаты расчетов [12]. На рис. 3 представлены экспериментальные потоки ФК и БЦ через мембрану ПАН – АМБД при различных значениях рН на двух сторонах мембранны. Очевидно, что при $\text{pH} 10$ наблюдается наименьшая проницаемость для обоих цвиттер-ионов, но и в этих условиях она выше, чем проницаемость свободной ПАН-мембранны (штриховая линия).

Увеличение кислотности ($\text{pH} 1,0$) повышает проницаемость мембранны, и наибольший поток белка наблюдается при асимметричных рН-условиях на двух сторонах мембранны, когда из ресурсной камеры с $\text{pH} 10$ БЦ диффундирует в приемную камеру с $\text{pH} 1,0$. Эффективные коэффициенты проницаемости P и диффузии D рассчитывали по уравнению [13]

$$Q_t = \frac{Pc_0}{l} \left(t - \frac{l^2}{6D} \right),$$

где Q_t – количество диффузанта, поступившее в приемную камеру через 1 см^2 мембранны ко времени t ; c_0 – начальная концентрация диффузанта в ресурсной камере; l – толщина мембранны.

Транспортные коэффициенты для изученных систем представлены в таблице. Следует сразу отметить, что изучаемые гетеропористые композиционные мембранны – высокопроницаемые системы. Эффективные коэффициенты D в них значительно выше величин, известных для гранульных ионитов [9]. Это, по-видимому, связано с тем, что рыхлая структура этих мембранны содержит до 80% свободной воды в транспортных порах, так что вода является транспортной фазой для диффузии низкомолекулярных веществ и макромолекул белков. В то же время эффективные коэффициенты диффузии D , определяемые по времени задержки ФК и БЦ (с $M = 179$ и $123 \cdot 10^4$ соответственно) значительно ниже, чем для веществ с такими же ММ в растворе. Например, для кофеина ($M=194$) $D=5,3 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{s}$, для цитохрома С $D=11,4 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{s}$ [14, 15].

Коэффициенты проницаемости P , отражающие величину стационарного диффузионного потока вещества через мембрану, на порядок выше, чем коэффициенты диффузии в мембране, что свидетельствует о значительном вкладе межмолекулярных взаимодействий мембрана – диффузант в механизм диффузионного транспорта в ионообменных мембранных.

**Транспортные коэффициенты и динамическая сорбционная емкость Q
мембранны ПАН – АМБД при разных значениях рН на границах мембранны**

Диффузант	рН на границах мембранны		$c_0, \text{ мг}/\text{см}^3$	$D \cdot 10^7$	$P \cdot 10^6$	$Q, \text{ мг}/\text{см}^2$
	pH ₁	pH ₂		см ² /с		
Фузариновая кислота	10	10	0,2	1,6	2,1	–
	1	1	0,2	3,7	3,3	–
	10	1	0,2	3,7	3,6	–
	10	1	0,02	3,7	3,6	–
	10	1	1,0	7,3	3,5	–
Цитохром С	10	10	1,0	1,0	0,2	108
	1	1	1,0	0,9	0,3	0
	10	1	1,0	0,9	0,7	81
	10	1	0,2	–	0,8	20

Сравнение сорбционной емкости мембран по отношению к БЦ в равновесных условиях из растворов с концентрацией 1 мг/см³ (рис. 2) с динамической сорбционной емкостью (таблица) показывает, что когда через мембрану протекает стационарный поток сорбируемого компонента с определенной концентрацией и pH, динамическая сорбционная емкость мембранны близка к равновесной. Максимальная динамическая емкость наблюдается для системы, где pH₁=pH₂=10, и практически равна равновесной сорбционной емкости при pH=10. При pH₁=pH₂=1,0 сорбционные емкости мембран равны нулю, а в асимметричных условиях при транспорте из pH₁=10 в pH₂=1,0, сорбционная емкость мембранны имеет среднее значение, соответствующее равновесной сорбционной емкости при pH 6,0.

Для интерпретации повышенной проницаемости ионообменных мембран может быть использована простейшая сорбционная модель: высокая сорбционная емкость мембранны приводит к значительному концентрированию диффузанта в фазе мембранны по сравнению с концентрацией его в растворе. Вследствие сорбции возрастает градиент концентрации вещества между мембранный и приемной камерой и соответственно увеличивается диффузионный поток.

Однако для интерпретации pH-зависимой проницаемости такое представление оказывается недостаточным, так как между динамической сорбционной емкостью мембранны и ее транспортными коэффициентами не наблюдается корреляции. Для каждой из изученных систем коэффициент P меняется с изменением pH-условий на границах мембранны, причем для полизарядного белкового цвиттер-иона эта зависимость ярче. По-видимому, по аналогии с динамической структурой полиэлектролитных комплексов, для мембранный проницаемости полизарядных диффузантов определенную роль играет кооперативность взаимодействия с полиэлектролитной сеткой мембранны [16]. Можно предполагать, что в изучаемых системах не столько селективная сорбция диффузанта, сколько кинетика отдельных реакций ассоциации и диссоциации комплекса мембрана – диффузант определяют динамическую подвижность вещества в ионообменной матрице. В асимметричных pH-условиях на одной стороне мембранны происходит селективная сорбция диффузанта по кооперативному механизму связывания с большой скоростью, и фронт сорбции двигается по толщине мембранны, пока не достигнет такой координаты pH, при которой наблюдается кооперативная (по принципу все или ничего) десорбция диффузанта в раствор. Соотношение скоростей сорбции и десорбции при высокой сорбционной емкости определяет транспортные характеристики ионообменной мембранны по отношению к потоку полизарядных противоионов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sakamoto H., Kimura K., Shono T. // Europ. Polymer J. 1986. V. 22. № 2. P. 97.
2. Dulyea L. M., Fyles T. M., Robertson G. D. // J. Membr. Sci. 1987. V. 34. № 1. P. 87.
3. Yoshikawa M., Kishida M., Tanigaki M., Egushi W. // Makro (Japan), 1987. V. 12. № 4. P. 221.
4. Shataeva L. K., Samsonov G. V., Vacik I., Kopecek I., Kalal I. // J. Appl. Polymer Sci. 1979. V. 23. P. 2245.

5. Шатаева Л. К., Вацк И., Блесга М., Калал Я., Самсонов Г. В. // Высокомолек. соед. А. 1984. Т. 26. № 8. С. 1610.
6. Бараш А. Н., Зверев М. П., Литовченко Г. Д., Костина Т. Ф. // Высокомолек. соед. Б. 1984. Т. 26. № 9. С. 687.
7. Начинкин О. И., Дьяконова Э. Б., Рубан И. Г. Волокнисто-пленочные полимерные связующие и изделия на их основе. Л., 1980. 80 с.
8. Штамберг Ю., Юрчак Ф. // Журн. прикл. химии. 1969. Т. 35. № 10. С. 2295.
9. Шатаева Л. К., Кузнецова Н. Н., Елькин Г. Э. Карбоксильные катиониты в биологии/Под ред. Самсонова Г. В., Л. 1979. 282 с.
10. Handbook of Biochemistry./2nd ed. Cleveland, 1970.
11. Шатаева Л. К., Широхова Т. О., Самсонов Г. В. // Коллоид. журн. 1976. Т. 38. № 3. С. 530.
12. Cooney D. O., Adesanya B. A., Hines A. L. // Chem. Engng Sci. 1983. V. 38. № 9. P. 1535.
13. Crank J. The Mathematics of Diffusion/2nd ed. Oxford, 1975. P. 51.
14. Чапк Р. Физическая химия. М., 1980. С. 558.
15. Викторов М. М. Методы вычисления физико-химических величин и прикладные расчеты. Л., 1977. С. 282.
16. Изумрудов В. А., Касаукин В. А., Ермакова Л. Н., Мустафаев М. И., Зезин А. Б. // Высокомолек. соед. А. 1981. Т. 23. № 6. С. 1365.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
11.04.88

G. A. Tishchenko, V. Tyrachkova, Z. Grushka, L. K. Shataeva

**pH-DEPENDENT TRANSPORT OF ZWITTERIONS THROUGHOUT
THE COMPOSITIONAL ANION-EXCHANGE MEMBRANE**

S u m m a r y

The porous structure of compositional membranes prepared by the «wet» method from anion-exchanger microdispersion using PAN as a binding agent has been studied by electron microscopy method. Introducing of the ion-exchanger microdispersion was shown not to alter practically the porous structure of PAN membranes obtained by precipitation into water. pH-Dependence of the equilibrium sorption of aminoacid and protein macromolecules on anion-exchange membranes was studied. The effect of the equilibrium and dynamic sorption on the transport of these diffusates in the absence of the hydraulic flow throughout a membrane was shown. The possibility to affect the diffusional transport of zwitterions by changing the degree of their ionization on two sites of a membrane was shown.