
Marek Bryjak

Procesy separacyjne a polimery

O możliwościach nietypowego wykorzystania
syntetycznych polimerów

Wrocław 2001



Marek BRYJAK

Separation Processes and Polymers

On the Possibilities of Extraordinary Use of Artificial Polymers



Prace Naukowe Instytutu Technologii Organicznej
i Tworzyw Sztucznych Politechniki Wrocławskiej

49

Seria:
Monografie

10

Marek Bryjak

Procesy separacyjne a polimery
O możliwościach nietypowego
wykorzystania syntetycznych polimerów



Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej · Wrocław 2001

Recenzenci

Michał BODZEK

Henryk GALINA

Opracowanie redakcyjne

Hanna BASAROWA

Korekta

Alina KACZAK

Biblioteka Główna i OINT
Politechniki Wrocławskiej



002041020



3074264/1

© Copyright by Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2001

OFICyna WYDAWNICZA POLITECHNIKI WROCLAWSKIEJ
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

ISSN 0239-5495

Ark. wyd. 7. Ark. druk. 6¹/8. Papier offset. kl. III, 70 g, B1.

Drukarnia Oficyny Wydawniczej Politechniki Wrocławskiej. Zam. nr 252/01.

0105294601

*membrana polimerowa, sorbent,
separacja, modyfikacja powierzchniowa*

Marek BRYJAK*

PROCESY SEPARACYJNE A POLIMERY O MOŻLIWOŚCIACH NIETYPOWEGO WYKORZYSTANIA SYNTETYCZNYCH POLIMERÓW

Omówiono polimery stosowane w procesach separacji membranowej. Szczególną uwagę zwrócono na procesy filtracyjne oparte na membranach porowatych oraz procesy dyfuzyjne z zastosowaniem unieruchomionych membran ciekłych, polimerowych membran litych lub membran żelowych. Podano również sposoby wykorzystania polimerów w separacji chromatograficznej. W tym przypadku skupiono się na materiałach stosowanych w chromatografii oddziaływań hydrofobowych, chromatografii powinowactwa oraz chromatografii z wykorzystaniem matryc zawierających odciski molekularne.

Oceniając polimerowe membrany ultrafiltracyjne, starano się wykazać, iż dobrym sposobem polepszenia ich właściwości użytkowych jest modyfikacja powierzchniowa. Omówiona metoda modyfikacji plazmowej umożliwia nie tylko zmianę charakteru powierzchni membrany, ale również regulowanie wielkości porów. Dzięki temu staje się możliwe otrzymywanie różnego typu membran z pojedynczej membrany ultrafiltracyjnej. Aby określić wpływ modyfikacji na właściwości membran, opracowano proste metody analityczne. W monografii przedstawiono ich zarys.

Omówienie polimerów używanych do budowy membran litych przeprowadzono wielowątkowo. Zauważono, że rola polimerów w przypadku membran unieruchomionych i układów kontaktorowych nie sprowadza się jedynie do podtrzymywania membrany ciekłej. Charakter powierzchni porowatych membran polimerowych, właściwość stosunkowo łatwa do zmiany przez modyfikację powierzchniową, może decydować o efektywności separacji. Lite lub żelowe membrany polimerowe mogą również być stosowane jako separatory. Dzięki możliwości modyfikacji polimerów tworzących je nadal są budowane membrany o coraz lepszych właściwościach separacyjnych. Szczególnie dotyczy to procesów separacji związków aktywnych biologicznie.

Omówiono przykłady polimerów stosowanych do otrzymywania materiałów chromatograficznych. Przedstawiono metody, w których po kopolimeryzacji odpowiednich monomerów otrzymano sorbenty do chromatografii oddziaływań hydrofobowych, a po ich modyfikacji – żywice jonowymienne czy nośniki do immobilizowania odpowiednich ligandów (chromatografia powinowactwa). W monografii przedsta-

*Instytut Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych Politechniki Wrocławskiej, 50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27.

wiono przykłady ilustrujące taki tryb postępowania. Opisano również metody analityczne umożliwiające lepsze określenie właściwości otrzymanych materiałów.

Ostatnią część pracy poświęcono metodom modyfikowania struktury matrycy polimerowych umożliwiających konstruowanie sorbentów naśladujących procesy zachodzące w naturze. „Wymuszanie” specyficzności materiałów syntetycznych wobec do różnych związków, głównie przez wbudowywanie grup funkcyjnych w odpowiednie miejsca przestrzeni, stanowi jeden z ciekawszych wariantów wykorzystania polimerów w metodach separacyjnych. Zdaniem autora ten rodzaj materiałów oferuje szerokie perspektywy aplikacyjne.

1. Wstęp

Inspiracją do napisania tej monografii był dla jej autora fragment książki Y. Tanabe *Molecular Science and Engineering* [1], w którym można znaleźć opinię, że gwałtowny rozwój cywilizacji wynika z pojawienia się na rynku dużej ilości tanich materiałów. Wśród nich jedno z poczesnych miejsc zajmują tworzywa sztuczne. Niestety dynamiczny wzrost produkcji nowych tworzyw doprowadził do niepokojącego zjawiska powstawania olbrzymich ilości zużytych już wyrobów. Strach przed masowym pojawieniem się prawie niezniszczalnych wyrobów z popularnego „plastyku” wymusił na koncernach przemysłowych zmiany prowadzonych badań. Prawie zaniechano już prac nad syntezą nowych polimerów na rzecz opracowania metod ulepszania tworzyw już produkowanych. Taka zmiana kierunku działania spowodowała przewartościowanie obszaru zainteresowań wielu badaczy. Starają się oni swoją wiedzę i doświadczenia wykorzystać do ograniczania zagrożeń, będących często wynikiem... wcześniejszej ich działalności. Tanabe zauważa dalej, że w sukurs temu procesowi idą rosnące trudności z pozyskiwaniem środków na syntezę nowych polimerów. Zmusza to do lepszego wykorzystania produkowanych już tworzyw, tak aby potrzebne materiały otrzymywać w wyniku modyfikacji istniejącej już bazy surowcowej.

Autor niniejszej monografii w pełni się zgadza z tezą przedstawioną przez Tanabe. **Na wybranych przykładach swych badań starał się dowieść, że przez celowe regulowanie zmian właściwości fizykochemicznych istniejących już tworzyw możliwe jest otrzymanie lepszych wyrobów. Dotyczy to szczególnie materiałów używanych w szeroko pojętych procesach separacyjnych.** Wprowadzenie efektywniejszych metod rozdzielczych, przyjaznych środowisku, jest istotne nie tylko z punktu widzenia ruchu *Greenpeace*. Idą za nim konkretne korzyści ekonomiczne, wśród których najważniejsza jest mniejsza cena produktu. Co więcej, gdy do świadomości społecznej dotrze, że większość materiałów stosowanych w nowoczesnych technologiach separacyjnych to polimery, ulegnie zmianie samo postrzeżenie two-

rzyw sztucznych. Przestaną być widziane jedynie przez pryzmat totalnego zagrożenia dla człowieka i jego środowiska.

Zajmując się różnymi procesami separacyjnymi, autor starał się omówić najważniejsze elementy uwzględniające zarówno specyfikę materiału polimerowego, jak i istotę procesu rozdziału, w którym polimer jest stosowany. Niestety, takie podejście do problemu nie jest nazbyt popularne w środowisku osób zajmujących się polimerami. Dość częstą praktyką jest otrzymywanie wielu różnych materiałów, spośród których – metodą prób i błędów – wybiera się te odpowiednie. Na nieszczęście doboru dokonują zwykle już inni badacze, którzy traktują materiał separatora jak typową „czarną skrzynkę”. Co prawda takie postępowanie prowadzi do wyboru najlepszego materiału z danej serii, lecz nie ułatwia poszukiwań najbardziej przydatnego polimeru. Ta powszechna praktyka budzi sprzeciw autora, gdyż w jego opinii gwarancją prawidłowego rozwoju technik separacyjnych jest **poznanie**, najlepiej przez jedną osobę, **zarówno kluczowych właściwości materiałów, jak i zebrania informacji o samej specyfice procesu rozdziału**.

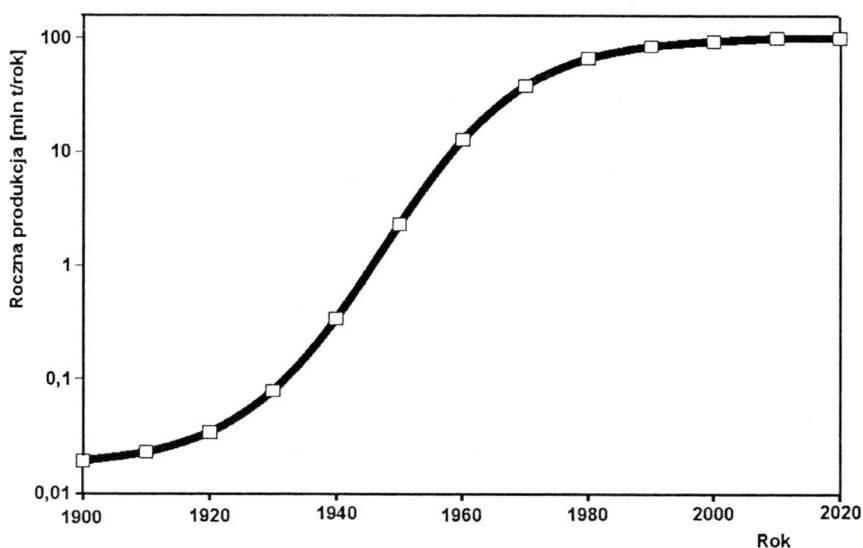
Takie podejście skłoniło autora niniejszej monografii do przedstawienia w niej zarówno podstaw procesowych, jak i cech materiałów polimerowych decydujących o efektywności separacji. Wydaje się, że tak pomyślana prezentacja powinna ułatwić czytelnikowi ocenę przydatności modyfikowania polimerów używanych jako separatory.

2. Polimery

Historia ludzkości była zależna od dostępności materiałów. W naszych dziejach mieliśmy więc do czynienia z erą kamienia, brązu i żelaza. Rozwój cywilizacji doprowadził do sytuacji, w której nie tylko materiały, ale i technologie zaczęły decydować o tempie rozwoju. Po wynalazku Watta wiek dziewiętnasty okrzyknięto erą pary. Wiek dwudziesty to już era prądu, energii atomowej i komputerów. Początek lat 80. XX w. to początek „ery polimerów” [2]. W tym czasie produkcja tworzyw sztucznych w Stanach Zjednoczonych zrównała się z produkcją stali, a w następnych latach skala produkcji tworzyw znacznie już przewyższała wielkość produkcji hutniczej. Obecnie polimery syntetyczne są stosowane do otrzymywania artykułów gospodarstwa domowego oraz jako materiały konstrukcyjne czy izolacyjne w budownictwie i przemyśle. Znaczna ich część jest używana do produkcji opakowań. Takie dziedziny, jak elektronika, motoryzacja, telekomunikacja, medycyna czy aeronautyka zawdzięczają swój rozwój właśnie syntetycznym polimerom. Dziś nie można sobie wyobrazić otaczającego nas świata bez tworzyw sztucznych.

Człowiek wykorzystywał polimery niemal od początków swoich dziejów. Jednak były to zawsze polimery występujące w naturze – włókno naturalne, drewno, skóry czy wreszcie kamień. Doceniono właściwości materiałów, jednak nie podejmowano prób poszukiwania związków między ich cechami a budową. Po prostu korzystano z wytrzymałości, giętkości lub trwałości różnych włókien czy też sztywności rogu lub elastyczności drewna. Dopiero pod koniec XIX w. Kekule i Fischer założyli, iż praktyczne cechy materiałów mogą wynikać z łańcuchowego charakteru cząsteczek je tworzących. Uważa się, że początek produkcji tworzyw sztucznych w skali przemysłowej przypada na schyłek XIX w. Pierwszym syntetycznym polimerem był celulozid otrzymany przez nitrowanie celulozy. Właśnie dzieje tego materiału są najlepszym przykładem zadziwiającej historii syntetycznych polimerów. Technologia otrzymywania celulozidu została wymuszona potrzebą wprowadzenia na rynek dużej liczby kul bilardowych. Tworząca się w tamtych czasach warstwa ludzi zamożnych gwałtownie potrzebowała rozrywki. Mogły jej dostarczyć sale bilardowe, jednak cena kul z kości słoniowej – przy ciągle rosnącym popycie – osiągała poziom nie zawsze akceptowalny. Tak więc produkcja kul z celulozidu, opracowana w 1868 r. przez Hyatta, była jak

najbardziej na czasie. Sztuczne polimery „zadomowiły się” na świecie. Dalszy rozwój produkcji tworzyw sztucznych można łączyć z jednej strony z dążeniem ludzi do tworzenia rzeczy służących przyjemnościom, zabawie lub co najmniej ułatwiających życie codzienne, z drugiej zaś – z zastosowaniem ich jako materiałów o znaczeniu militarnym. Właśnie celulooid jest najlepszym przykładem tej dychotomii. Był on stosowany do produkcji kul bilardowych, a następnie taśm filmowych, lalek czy piłeczek pingpongowych. Jednocześnie zaś nitrocelulozy, zwanej bawełną strzelniczą, używano jako materiału wybuchowego. Niestety przydatność polimerów do takich celów zadecydowała o szybkim rozwoju technologii ich otrzymywania. Gwałtowny wzrost produkcji tworzyw w latach II wojny światowej i okresie „zimnej wojny” (rys. 1) najlepiej świadczy o tym, iż znaczenie militarne polimerów było siłą napędową powstawania nowych technologii.



Rys. 1. Światowa produkcja tworzyw sztucznych w latach 1900–2020 [3]

Etapy rozwoju technologii otrzymywania tworzyw sztucznych w skali przemysłowej można prześledzić w tabeli 1. Obok roku rozpoczęcia produkcji określonego tworzywa podano nazwę firmy, w której proces wdrożono. Przedstawione daty tworzą historię rozwoju technologii syntezy polimerów.

Oczywiście produkcja wyrobów z tworzyw sztucznych prowadzi do masowego wytwarzania odpadów polimerowych. Zagospodarowanie odpadów jest jednym z najważniejszych problemów, z jakimi współcześni technolodzy będą musieli sobie poradzić już w najbliższej przyszłości. Tworzywa syntetyczne, nie będące naturalnymi składnikami naszego ekosystemu, nie podlegają naturalnemu obiegowi materii. Procesy degradacji tworzyw przebiegają tak wolno, że potrzeba setek lat, by wypro-

dukowane materiały zostały całkowicie „rozłożone”. Widmo olbrzymich hałd śmieci zmusiło kraje Unii Europejskiej do opracowania norm prawnych regulujących gospo-

Tabela 1. Wdrożone technologie produkcji tworzyw sztucznych [2, 3]

Rok	Tworzywo	Producent
1868	azotan celulozy	Hyatt Bros.
1909	żywice fenylowo-formaldehydowe	Bakelit AG
1915	polistyren	I.G.Farbenindustrie
1927	octan celulozy	Canadian Celanese
1929	poli(kaprolaktam)	I.G.Farbenindustrie
1930	kauczuk chloroprenowy	E.I.du Pont de Nemours & Co.
1931	poli(chlorek winylu) poli(metakrylan metylu)	I.G.Farbenindustrie Rohm and Haas
1935	nylon 6,6	E.I.du Pont de Nemours & Co.
1936	poliakrylonitryl kopolimer styrenu/akrylonitrylu	I.G.Farbenindustrie
1937	poliuretany	Bayer AG
1938	żywice epoksydowe	R.J.Plunkett
1939	poli(chlorek winylidenu) polietylen wysokociśnieniowy	Dow Chem. Co. ICI Ltd.
1942	poli(tetrafluoroetylen) polietylen niskociśnieniowy	E.I.du Pont de Nemours & Co. BASF
1943	poli(dimetylosiloksan) poli(alkohol winylowy)	Dow Chem.Co. Shawinigan Chem.Ltd.
1946	akrylonitryl/butadien/styren poli(tereftalan etylu)	U.S.Rubber ICI Ltd.
1947	poliuretany	Bayer AG
1957	polipropylen poliwęglan	Hoechst Bayer AG
1960	kauczuk etylenowo-propylenowy	Exxon
1962	poliimidy poli(fluorek winylidenu) jonomery	E.I.du Pont de Nemours & Co. Pennwalt Chem. Co. E.I.du Pont de Nemours & Co.
Lata 70.	poliamidy aromatyczne polieterosulfony poliaryloketony	E.I.du Pont de Nemours & Co. ICI Ltd. Union Carbide
Lata 80.	polieteroimidy poliimidiosulfony polilftalimidy	General Electric Co. Celenese Amoco

darke odpadami z tworzyw sztucznych. W grudniu 1994 r. kraje członkowskie podpisały Dyrektywę 94/62 dotyczącą zasad zagospodarowania odpadowych opakowań i zobowiązały się do regulacji własnego prawodawstwa w celu dostosowania go do tej dyrektywy. Zalecane jest, by 50–65% masy odpadów trafiało do ponownego przero-

bu. Skutkiem tego producenci opakowań zostali zmuszeni do zorganizowania obrotu surowcami wtórnymi i wykorzystania ich w produkcji nowych opakowań. Rozwiązania dotyczące zagospodarowania opakowań ze względu na ich krótki „czas życia” oraz olbrzymią skalę produkcji zostały wprowadzone jako pierwsze. Należy przypuszczać, że w podobny sposób zostanie zorganizowany wtórny przerób polimerów używanych w innych gałęziach przemysłu.

Obserwując sposób wykorzystania produkowanych już polimerów, można zauważyć pewną prawidłowość. Te polimery, które produkuje się masowo, są wytwarzane w rafineriach zlokalizowanych głównie w miejscu wydobywania ropy naftowej. Nazywa się je często polimerami podstawowymi. Polimery o wysokim stopniu przetworzenia, mieszaniny i kompozyty czy też polimery o specjalnym przeznaczeniu są z kolei produkowane w krajach uprzemysłowionych. Taka lokalizacja produkcji wskazuje na to, iż okres poszukiwań technologii wytwarzania nowych polimerów zbliża się powoli do końca. Na bazie istniejących już materiałów podstawowych – przez ich modyfikowanie – zaczyna się konstruować „nowe polimery” o pożądanych właściwościach [3]. Możliwe jest również produkowanie polimerów w mniejszej skali, co nie znaczy – mniej ważnych. W mikroelektronice np. technologie otrzymywania obwodów o coraz większej skali integracji opierają się na specjalnych polimerach. Często są to poliimidy aromatyczne, polisiloksany czy też ich kopolimery. Polimery działając jako pasywanty uniemożliwiają osadzanie się cząsteczek wody na powierzchni mikroprocesora i zapobiegają korozyjnemu uszkodzeniu znajdujących się tam metalowych ścieżek. Są doskonałymi dielektrykami, umożliwiającymi stosowanie szybkozmiennego pola elektrycznego. Nadto poliimidów używa się jako masek w produkcji układów zintegrowanych. Polimery są stosowane również do zabezpieczania obwodów drukowanych, w których na płycie może się znajdować wiele mikroelementów.

Polimery specjalne są dość powszechnie stosowane w biotechnologii. Kontrolowana synteza białek jest możliwa z zastosowaniem procedury Merrifielda. Metoda opiera się na stopniowym przyłączaniu aminokwasów do rosnącego łańcucha polipeptydu, przy czym cząsteczki pierwszego aminokwasu są przytwierdzone bezpośrednio do powierzchni nierozpuszczalnego polimeru. Gdy do syntezy użyje się izomerów D-aminokwasów, otrzymuje się D-odmianę polipeptydu. Właśnie w ten sposób skonstruowano D-proteazę HIV-1 [4], enzym nierozpoznawalny przez układ immunologiczny pacjenta i mogący blokować rozwój wirusa HIV. W niedalekiej przyszłości przewiduje się zastosowanie białek otrzymanych z D-aminokwasów jako specyficznych substancji leczących [5].

Omówione polimery należy zaliczyć do grupy polimerów specjalnych, wyróżniających się swoistą budową chemiczną, strukturą fizyczną lub czasami użyciem w nietypowych procesach lub sytuacjach. Polimery stosowane w procesach separacyjnych czy to jako membrany półprzepuszczalne, czy też jako selektywne sorbenty, są często zaliczane do tej grupy materiałów. Stanowią one szczególnie obiekt zainteresowania autora monografii, i im będą poświęcone następne rozdziały.

3. Membrany

3.1. Historia separacji membranowej

Zjawisko rozdziału membranowego jest ludziom znane od dawna. Po raz pierwszy zastosowano je do produkcji wina i warzenia piwa. Klarowanie zawiesin przez ich filtrację na tkaninach było właściwie niczym innym jak realizacją pierwszych separacji membranowych. Tworząca się na tkaninie warstwa substancji filtrowanej (tzw. filtr dynamiczny) doskonale zatrzymywała cząstki koloidalne. Otrzymany klarowny filtrat (czy permeat według obowiązującej obecnie nomenklatury) stanowił pożądany produkt końcowy. W procesie produkcji papieru pożądanym produktem był osad zbierany na filtrach. Co ciekawsze, technologię tę stosuje się do dziś, a papier czerpany jest nadal w wysokiej cenie. Poznanie zjawiska separacji membranowej było podstawą opracowania zasad termodynamiki (równanie van't Hoffa) oraz opisu zjawiska transportu masy (I oraz II prawo Ficka). Jednak milowy krok w technologiach membranowych poczyniono dopiero w latach 60. XX w. Loeb i Sourirajan opracowali sposób otrzymywania asymetrycznych membran porowatych z polimerów używanych do produkcji włókien syntetycznych. Zbieżność dat intensyfikacji badań nad membranową separacją z okresem gwałtownego wzrostu produkcji nowych tworzyw sztucznych nie jest przypadkowa. Procesy membranowe można prowadzić wtedy, gdy ma się do dyspozycji odpowiednie materiały. Dostępność polimerów determinowała i nadal determinuje szybkość rozwoju nowych metod membranowych. Obecnie, biorąc pod uwagę wystąpienia niektórych ekspertów zajmujących się procesową stroną separacji membranowej, autor tego opracowania dochodzi do wniosku, że ta prosta prawda jest często zapominana.

Większość badań prowadzonych w latach 60. XX w. nie kończyła się wdrożeniem procesu w dużej skali. Przyczyn tego zjawiska należy upatrywać w obawie ówczesnych decydentów przed stosowaniem nowych i niesprawdzonych technik separacji. Dopiero gwałtowny wzrost cen energii w latach 70. XX w. zmienił ten sposób myślenia i zmusił do poszukiwania bardziej energooszczędnych technologii. Odkryte na nowo procesy membranowe na dobre weszły do praktyki przemysłowej.

3.2. Membrany porowate

Większość stosowanych procesów membranowych jest oparta na efekcie przesiewania. Nie wnikając zbytnio w szczegóły dotyczące opisu zjawiska separacji membranowej, można stwierdzić, że pod względem mechanizmu działania membrany porowate są podobne do makroskopowych sit. Małe cząsteczki, mieszczące się w porach, przechodzą przez membranę, duże natomiast zostają zatrzymane i zbierają się na jej powierzchni. Właśnie fakt akumulacji filtrowanych substancji w warstwach przypowierzchniowych membran wraz ze zjawiskami zachodzącymi w tych obszarach mogą znacznie zaburzać separację. Polaryzacja stężeniowa wynikająca ze specyfiki zjawisk występujących w obszarze międzyfazowym – a powierzchnia styku membrany z roztworem jest takim obszarem – oraz zarastanie* membran to dwa zjawiska towarzyszące każdej filtracji. Jeżeli w wyniku pierwszego z nich substancja ulegnie zagęszczeniu przy powierzchni membrany, to w wyniku drugiego zachodzą nieodwracalne zmiany w budowie warstwy przypowierzchniowej. Cząstki lub cząsteczki substancji filtrowanej wiążą się z powierzchnią membrany. W warstwie zagęszczonej reagują między sobą, tworząc struktury przestrzennie usieciowane, by następnie osadzić się na ściankach porów i zmniejszać ich wymiary lub nawet je blokować. Czasem pod zwiększonym ciśnieniem porowata membrana ulega kompresji – zmieniają się wymiary i kształt porów. Wszystkie te niekorzystne zjawiska powodują gwałtowne zmniejszenie przepuszczalności membran, a w konsekwencji pogorszenie ekonomiki separacji. Badania zjawiska zarastania membran są prowadzone niemal we wszystkich ważniejszych ośrodkach zajmujących się procesami filtracji. Do tej pory nie udało się opracować ogólnego modelu tego procesu, uwzględniającego wszystkie zjawiska towarzyszące filtracji. Badania koncentrują się na poszczególnych układach filtracyjnych, i wprawdzie wyjaśniają częściowo powody zarastania membran w konkretnych przypadkach, lecz ich wyników nie można uogólniać.

Choć zarastania nie udaje się całkowicie wyeliminować, możliwe jest jego znaczne ograniczenie. Można tego dokonać zwłaszcza przez właściwe przygotowanie surowca, zapewnienie odpowiednich przepływów w układzie i dobór właściwej membrany [6].

Przygotowanie surowca. Dobór pH roztworu, jego siły jonowej, lepkości, temperatury czy też stopnia agregacji cząsteczek substancji filtrowanej umożliwia do pewnego stopnia sterowanie zarastaniem membran. Działania takie nazywa się wstępnym przygotowaniem surowca (*feed pretreatment*);

Sposób prowadzenia procesu. Ingerencja w hydraulikę układu polega na tworzeniu takich warunków przepływu, by osadzanie się substancji na membranie ograniczyć do minimum. Zastosowanie przepływów krzyżowych (*cross-flow filtration*) znacznie przedłuża czas eksploatacji membran. Widać to szczególnie w konstrukcjach

* Angielski termin *fouling* zastąpiono tu polskim słowem „zarastanie”.

modułów płaskich. Płyty rozptylowe w aparatach są tak zaprojektowane, by cała membrana było równomiernie obciążona, a przepływ retentatu przy jej powierzchni był burzliwy. Do rozwiązań z tej grupy zaliczyć można zastosowanie specjalnych „promotorów burzliwości” (elementów podobnych do stosowanych w mieszalnikach statycznych), które, znajdując się wewnątrz membrany rurkowej, powodują ciągłą zmianę linii przepływu surowca i tworzenie się lokalnych wirów. Ciesząc się ostatnio coraz większym zainteresowaniem metody separacji z użyciem wirującej membrany (*centrifugal membrane separations* [7]) można również zaliczyć do tej grupy rozwiązań technicznych.

Dobór właściwej membrany. Dobór odpowiedniego rodzaju membrany oraz materiału, z którego jest wykonana, daje największą szansę ograniczenia zarastania. Zastosowanie membran asymetrycznych, w których właściwą membraną filtracyjną jest cieniutka warstewka naskórkowa (przyjmuje się, iż jej grubość wynosi ok. 1 μm), w znacznej mierze ograniczyło zarastanie wewnętrzne. Również zmiany charakteru powierzchni membrany na skutek jej modyfikacji umożliwiają regulację zarastania czy wręcz przeciwdziałania mu.

Biorąc pod uwagę liczbę udokumentowanych rozwiązań w wymienionych dziedzinach, najwięcej możliwości daje wybór właściwej membrany. Wynika to nie tylko z dostępności na rynku stosunkowo dużej grupy materiałów, z których można otrzymać membrany, ale również z możliwości zmiany właściwości istniejących już polimerów przez ich modyfikację.

Zjawisko zarastania membran występuje najczęściej podczas filtracji białek. Hydrofilizowane membrany zarastają mniej intensywnie niż ich hydrofobowe analogi [8, 9]. Po osadzeniu na membranach związków powierzchniowo czynnych, pokryciu membrany warstewkami polimerów rozpuszczalnych w wodzie czy też wprowadzeniu na powierzchnię membran odpowiednich grup funkcyjnych możliwa jest zmiana charakteru membrany na bardziej hydrofilowy. Jest to zgodne z obserwowanym zjawiskiem mniejszej sorpcji białek na powierzchniach hydrofilowych [10]. Jeżeli membrana i cząsteczka białka mają ładunek, to sytuacja jest podobna do zjawiska opisanego przez Ruckenstein i Lesiene’a [11] w przypadku chromatografii z barierą potencjału, (*Potential Barrier Chromatography, PBC*). Podstawy chromatografii PBC, będącej właściwie uogólnionym przypadkiem większości rodzajów chromatografii, są oparte na teorii DLVO [12] uwzględniającej oddziaływania między powierzchniami ciał fizycznych*. Zakłada się w niej, że cząsteczki białka w pobliżu naładowanej powierzchni znajdują się w polu oddziaływań kulombowskich i van der Waalsowskich. W przypadku, gdy ładunki obu ciał mają ten sam znak, cząsteczki białka są odpychane i to tym silniej, im większy ładunek jest zgromadzony na powierzchni (a dokładniej – im więcej grup zdolnych do dysocjacji znajduje się na niej). Jeżeli efekt odpychania przewyższy efekt przyciągania (oddziaływania dyspersyjne mają

*DLVO – nazwa ta pochodzi od pierwszych liter nazwisk jej twórców: Derjagina, Lablanca, Volkesa i Overblocka.

charakter przyciągający), to cząsteczki białka nie wpadną w studnię potencjału i nie zostaną zasorbowane, dzięki czemu membrana nie będzie tak intensywnie zarastać. Teoria DLVO równie dobrze tłumaczy zależność zmian sorpcji białek od wstępnego przygotowania surowca. Odpowiednio dobrane pH roztworu może na tyle zmienić ładunki cząsteczek białka i membrany, że proteiny będą odpychane od powierzchni i nie będą się na niej osadzały.

Zupełnie inny sposób rozumowania przedstawił autor tej monografii w swojej oryginalnej pracy [13], posługując się modelem warstwowym [14]. Jeżeli założy się, że proces przebiega w stanie ustalonym, to strumień substancji przenoszony przez membranę J_s opisuje zależność:

$$J_s = Jc_i - D \frac{dc_i}{dx} \quad (1)$$

w której: J – strumień objętościowy, c_i – stężenie filtrowanej substancji, D – współczynnik dyfuzji.

Uwzględniając występowanie ładunków na filtrowanych cząsteczkach i na membranie oraz zakładając dla prostoty, że mamy do czynienia z jednostkowym ładunkiem membrany, można równanie (1) rozszerzyć do postaci:

$$J_s = Jc_i - D \frac{dc_i}{dx} - \omega_i c_i z_i F \frac{d\Phi_i}{dx} \quad (2)$$

gdzie: ω_i – ruchliwość cząsteczki, z_i – jej ładunek, Φ_i – potencjał elektryczny membrany.

Jeżeli przyjmie się następujące uproszczenia:

- badana membrana całkowicie zatrzymuje filtrowaną substancję (tj. $J_s = 0$),
 - współczynnik dyfuzji nie jest zależny od stężenia ($D \neq D(c_i)$),
 - potencjał przyjmuje wartość Φ_m na powierzchni membrany i 0 w głębi roztworu,
- to można wykazać, iż w granicach warstwy przypowierzchniowej

$$\begin{aligned} x = 0 & \quad c_i = c_m & \quad \Phi_i = \Phi_m \\ x = \delta & \quad c_i = c_b & \quad \Phi_i = 0 \end{aligned} \quad (3)$$

i zależność (2) przyjmuje postać:

$$J = -\frac{D}{\delta} \ln \left(\frac{c_m}{c_b} \right) - \frac{\omega_i z_i F}{\delta} \Phi_m \quad (4)$$

gdzie: δ – grubość warstewki przypowierzchniowej, c_m i c_b – stężenia substancji filtrowanej w warstwie przymembranowej i w roztworze, Φ_m – potencjał wynikający z gęstości ładunku na powierzchni membrany.

Wyznaczenie stężenia substancji filtrowanej na powierzchni membrany jest już prostą operacją. Wystarczy przeprowadzić ekstrapolację zależności $J = J(\ln c_b)$ do wartości $J = 0$. Stężenie substancji filtrowanej w warstwie przymembranowej będzie wówczas równe stężeniu w roztworze ($c_b = c_m$).

Wpływ obecności ładunku na zarastanie membran najlepiej prześledzić przez porównanie stężenia filtrowanej substancji w warstwie przymembranowej wyznaczone dla membrany pozbawionej ładunku (c_m^0) ze stężeniem dla membrany o tej samej geometrii, lecz naładowanej (c_m^n). W przypadku membrany posiadającej ładunek otrzymuje się zależność:

$$\frac{c_m^n}{c_b} = \exp\left(-\frac{\omega_i z_i F}{D}\right) \Phi_m \quad (5)$$

Gdy membrana oraz filtrowana cząsteczka mają ładunek tego samego znaku, wówczas:

$$\exp\left(-\frac{\omega_i z_i F}{D}\right) \Phi_m < 1 \quad (6)$$

a stężenie przy powierzchni membrany (c_m^n) będzie mniejsze od stężenia, dla którego obojętna membrana zostanie całkowicie zablokowana (c_m^0). Gdy znaki ładunków membrany i cząstek koloidalnych są przeciwne, stężenie przy powierzchni jest większe od tego, które powoduje blokowanie membrany bez ładunku (tabela 2).

Tabela. 2. Zmiana stężenia filtrowanej substancji przy powierzchni membrany* w zależności od znaku ładunków [13]

Ładunek membrany	Ładunek cząsteczki	Stężenie substancji w warstwie przymembranowej
0	+ lub -	c_m^0
+ lub -	0	c_m^0
0	0	c_m^0
-	-	$c_m^n < c_m^0$
+	+	$c_m^n < c_m^0$
-	+	$c_m^n > c_m^0$
+	-	$c_m^n > c_m^0$

*We wszystkich przypadkach rozważa się membranę o tej samej geometrii.

Wprowadzając zatem na powierzchnię membrany grupy zdolne do dysocjacji elektrolitycznej, można regulować ilość substancji osadzonej na membranie, a przez to skutecznie przeciwdziałać jej zarastaniu.

3.2.1. Modyfikacja membran porowatych

Jakościowy opis zjawisk towarzyszących osadzaniu się cząsteczek umożliwił odpowiedni dobór materiału membranowego. Modyfikując powierzchnię membrany, na przykład przez wprowadzenie na nią pewnych grup zdolnych do dysocjacji elektrolicyjnej, można w prosty sposób osiągnąć zamierzony cel – ograniczyć jej zarastanie [15–17]. W dalszej części monografii przedstawiono wyniki prób nad wprowadzeniem takich ugrupowań na powierzchnię typowych membran ultrafiltracyjnych. W omawianych pracach autor przedstawił efekty chemicznej modyfikacji polimeru, z którego otrzymywał następnie membrany [28] oraz badania nad modyfikowaniem wstępnie uformowanych membran porowatych [24, 30]. Przedstawił również możliwości prowadzenia reakcji chemicznej równocześnie z formowaniem porowatych membran z mieszanin polimerów [18]. Autor opisał też próby modyfikacji plazmowej czy to przez nanoszenie warstwy polimeru na powierzchnię membrany, a następnie jej chemiczną modyfikację [13], czy też przez wprowadzenie grup funkcyjnych bezpośrednio na powierzchnię membrany [19, 20]. Autor otrzymał w ten sposób membrany o właściwościach odmiennych od membran pozbawionych ładunku. Z tego powodu nazwał tę grupę membran *porowatymi membranami jonowymiennymi* (PMJ). Dalej przedstawiono krótki opis sposobów otrzymywania membran tego typu.

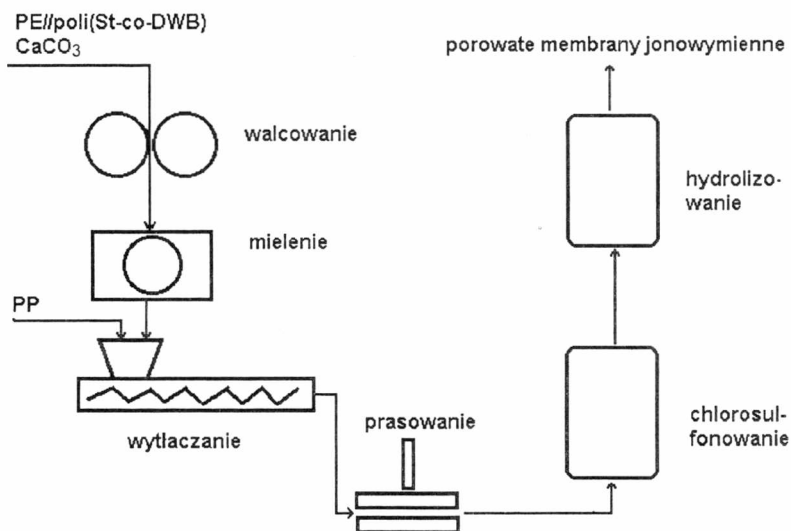
Aby określić charakter PMJ oraz oszacować skutki modyfikacji, niezbędne było zastosowanie specyficznych metod analitycznych. W dostępnej literaturze autor nie natrafił na opis procedury analitycznej gotowej do stosowania. Prawdopodobnie określenie stężenia powierzchniowych grup zdolnych do dysocjacji, jedno z podstawowych kryteriów oceny efektywności modyfikacji, nie było do tej pory przedmiotem bardziej szczegółowych badań. Autor niniejszej monografii podjął się tego zadania i opracował prosty sposób miareczkowania powierzchniowego [21]. Opracował również własny sposób oceny funkcji rozkładu wielkości porów w membranach [20]. Metoda ta umożliwiła śledzenie wpływu wprowadzonej modyfikacji na wymiary porów. Obie metody analityczne zostaną omówione pod koniec rozdziału.

3.3. Otrzymywanie i charakterystyka porowatych membran jonowymiennych

3.3.1. Otrzymywanie PMJ z mieszanin polimerowych

Jedną z metod mieszania polimerów jest tworzenie wzajemnie przenikających się sieci polimerowych (*Interpenetrating Polymer Networks, IPN*) [22]. Posługując się tą procedurą, autor otrzymał interpolimer polietylenu ze styrenem sieciowanym diwinylobenzenem, PE//poli(St-co-DWB). Następnie otrzymany interpolimer homogenizo-

wał na walcach z węglanem wapnia i polipropylenem. Otrzymaną trójskładnikową mieszaninę, PE//poli(St-co-DWB)-PP-CaCO₃, formował w arkusze i poddawał działaniu kwasu chlorosulfonowego. W kolejnym etapie syntezy grupy chlorosulfonowe hydrolizował w wodnym roztworze NaOH. Sposób otrzymania PMJ został szczegółowo opisany w publikacji [18]. Na rys. 2 przedstawiono jedynie jego schemat blokowy.



Rys. 2. Schemat procesu wytwarzania PMJ z mieszanin PE//poli(St-co-DWB)-PP-CaCO₃ [18]

Przeprowadzone badania porównawcze umożliwiły autorowi określenie dość nietypowego mechanizmu tworzenia porowatych membran jonowych. W pierwszym etapie cząsteczki kwasu chlorosulfonowego dyfundują w głąb mieszaniny. Część z nich reaguje z pierścieniami aromatycznymi polistyrenu. Po dojściu cząsteczek kwasu do powierzchni wypełniacza zachodzi reakcja z węglanem. Wydziela się duża ilość dwutlenku węgla. Ciśnienie CO₂ zamkniętego wokół ziarna wypełniacza zwiększa się, by wreszcie spowodować przerwanie litej masy polimeru. Pękają najsłabsze miejsca – obszary położone na granicy faz PP-PE//poli(St-co-DWB). Tworzy się trójwymiarowa struktura porowata. W przypadku zastosowania promotorów adhezji, tj. substancji obniżających energię powierzchniową kredy, obserwowano powstawanie membran o większych porach. Tłumacząc to zjawisko, trzeba pamiętać, iż arkusze membran były formowane ze stopu. W trakcie schładzania poliolefiny krystalizowały. Polietylen rozpoczynał krystalizację przy powierzchni kryształów węglanu wapnia [23]. Powstawała warstwa transkryształiczna, w której około 95% polietyleny występowało w postaci uporządkowanej. Ta zwarta warstwa (gęstość amorficz-

nego PE wynosi 0,85, krystalicznego zaś – 1,00 g/cm³) utrudniała dyfuzję cząsteczek kwasu. Ciśnienie gazu narastało więc wolno, polimer miał czas na „przejęcie” części naprężeń i ich rozproszenie. Gdy zabrakło warstwy transkryształicznej, lub gdy była ona mniej zwarta na skutek działania promotorów, większa liczba cząsteczek kwasu docierała do wypełniacza. W konsekwencji ciśnienie CO₂ narastało gwałtowniej, a układ polimero- wy nie mógł przejść części nagromadzonej energii. Następował „wybuch” pęcherzyka gazu. Fragmenty polimerów zostawały rozsunięte na większe odległości – otrzymywano membrany z większymi porami.

Przedstawioną metodą otrzymano PMJ o różnej wielkości porów i różnej zawartości grup jonowymiennych. Wprowadzając do mieszaniny polietylen w miejsce interpolimeru, autor otrzymał membrany porowate praktycznie bez grup sulfonowych. W badaniach porównawczych membrany te były stosowane jako wzorce pozbawione ładunku. Dało to możliwość określenia wpływu grup sulfonowych na zachowanie się membrany w trakcie filtracji białka. Wprowadzenie grup sulfonowych do membrany znacznie poprawia jej zdolności separacyjne oraz zmniejsza tendencje do zarastania [18]. Właściwości membran można dość dobrze opisać za pomocą dwóch parametrów: współczynnika retencji (*SR*) oraz stopnia zarastania membrany (*FI*). Pierwszy z nich wskazuje na selektywność membrany

$$SR = 1 - \frac{C_p}{C_b}$$

gdzie: C_p oraz C_b są stężeniami filtrowanej substancji w permeacie i w retentacie. Im większa wartość współczynnika *SR*, tym sprawniejsza jest membrana. Drugi parametr wskazuje na spadek strumienia permeatu w trakcie procesu. Im membrana szybciej zarasta, tym wartość stopnia zatrufania jest większa:

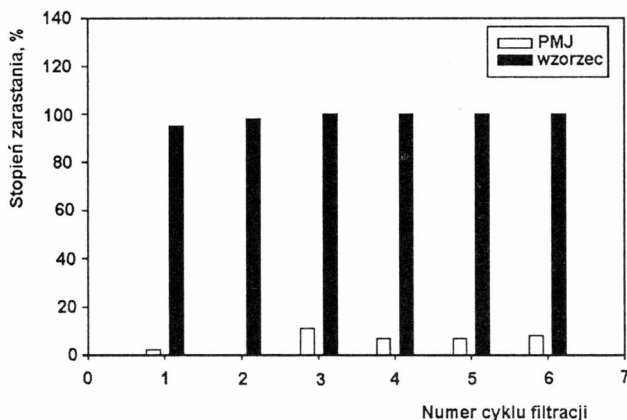
$$FI = 1 - \frac{J_1}{J_0}$$

gdzie: J_1 oraz J_0 są strumieniami permeatu po godzinie filtracji oraz w chwili rozpoczęcia procesu.

Tabela 3. Zachowanie się PMJ w porównaniu z membranami wzorcowymi (bez grup sulfonowych). Surowiec: 0,1% roztwór albuminy z krwi wołowej w 0,1 M buforze fosforanowym, pH = 7,8 [18]

Membrana	Wymiar porów, nm	Stopień zarastania <i>FI</i>	Współczynnik retencji <i>SR</i>
Wzorzec 1	2,6	1,00	–
PMJ 1	2,5	0,25	0,82
Wzorzec 2	20	0,62	0,05
PMJ 2	27	0,36	0,25

W przypadku badań prowadzonych na realnych mediach efekt grup sulfonowych zlokalizowanych na powierzchni membrany jest jeszcze wyraźniejszy. Autor prowadził filtrację mleka w sposób cykliczny; po czterech godzinach filtracji przerywał proces, a membrany poddawał regeneracji, tzn. umieszczał je naprzemiennie w 0,1 M roztworach kwasu solnego i wodorotlenku sodu [18]. Stwierdził, że membrana PMJ zarasta tylko nieznacznie i można ją całkowicie zregenerować. Membrana bez ochronnych grup sulfonowych zarastała w sposób nieodwracalny już po pierwszym cyklu pracy. Zmiany stopnia zarastania membran w kolejnych cyklach filtracji mleka przedstawiono na rys. 3.



Rys. 3. Porównanie skali zatrufania membran podczas filtracji mleka [18]

Selektywne wytrawianie jednego polimeru z mieszaniny uformowanej w postaci membrany jest kolejną metodą otrzymywania PMJ. W wyniku tej operacji otrzymuje się układ porowaty, w którym wolne przestrzenie tworzą się w miejscach zajmowanych poprzednio przez usunięty składnik. Doskonałym obiektem do przeprowadzenia tego typu badań były membrany przeznaczone do elektrolizy. Składniki są w nich dostatecznie rozproszone, a domeny fazy zdyspergowanej mają submikronowe wymiary. W swoich badaniach autor zastosował membrany jonowymienne typu KESD-2, wykonane z sulfonowanego interpolimeru polietylenu z styrenem sieciowanym diwinylobenzenem, PE//poli(St-co-DWB). Polimer aromatyczny usuwał z nich, działając na membrany 5% wodą utlenioną w obecności jonów Fe(II) [24]. Trawienie prowadziło do całkowitego wycięcia składnika aromatycznego z mieszaniny.

Wychodząc z interpolimerów PE//poli(St-coDWB) o różnym składzie, autor otrzymał membrany porowate o średnim wymiarze porów od 1 do 6 nm [24]. Zauważył on, że jednocześnie z utleniającą degradacją polistyrenu w mieszaninie zachodziło utlenianie polietylenu znajdującego się w kontakcie z cieczą reakcyjną. Na powierzchni porów pojawiały się grupy karbonylowe, nadtlenkowe, wodorotlenkowe czy nienasycone, które z powodzeniem można wykorzystać do zakotwiczenia grup funk-

cyjnych w kolejnych etapach modyfikacji. Tą drogą autor otrzymał porowate membrany kationowymienne (chlorosulfonowanie, a następnie hydroliza w wodnym roztworze NaOH) lub anionowymienne (aminoliza grup chlorosulfonowych za pomocą etylenodiaminy). Na tak otrzymanych membranach autor badał osadzanie się albuminy z krwi wołowej w trakcie filtracji jej buforowanych roztworów o różnym pH. Stwierdził, że można tak dobrać membranę, by znacznie ograniczyć jej zarastanie. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Stężenie albuminy na membranie* w zależności od pH roztworu i rodzaju zakotwiczonych grup jonoczynnych; 0,1% roztwór albuminy w 0,1 M buforze fosforanowym [24]

pH roztworu	Ładunek cząsteczki białka**	Grupy aminowe	Bez grup	Grupy sulfonowe
3,0	+14	M (20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Ś (30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	D (50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
5,0	0	D (65 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	D (70 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	D (65 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
7,0	-17	M (30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	D (50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	M (35 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

*Osadzanie białka na membranie: M – małe, Ś – średnie, D – duże. W nawiasach podano sorpcję białka po 5 godzinach procesu.

**Ładunek białka podano za Viikereem [26].

Zebrane dane doświadczalne dobrze ilustrują omówione poprzednio wnioski (tabela 2). W przypadku, gdy membrana i cząsteczki substancji filtrowanej mają ładunek tego samego znaku, obserwuje się stosunkowo niewielkie osadzania na jej powierzchni. Co więcej, zjawisko to występuje dla membran modyfikowanych powierzchniowo. Wskazuje to na kluczową rolę powierzchni w procesie zarastania. W omawianym przypadku pojemność jonowymienna membran (stężenie grup zdolnych do dysocjacji przeliczone na całą objętość polimeru) zmieniała się od 0,1 mmol/g przed modyfikacją (ślady pojemności wynikają z utleniania powierzchniowego polietylenu) do 0,2 mmol/g po modyfikacji. Mimo że jest to prawie stu procentowy wzrost pojemności, bezwzględna jej wartość nadal pozostaje mała. Przedstawione wyniki dowodzą, że membrany modyfikowane zarastają w mniejszym stopniu, niż membrany nie poddane działaniu kwasu chlorosulfonowego. Skoro warstwa przypowierzchniowa jest tak ważna, można pokusić się o oszacowanie jej udziału w strukturze całej membrany. Autor stwierdził wcześniej, że powierzchnia właściwa badanych membran wynosi 20–100 m² na 1 g materiału [24]. Przyjmując grubość warstwy powierzchniowej jako 1 nm oraz gęstość polimeru jako 1 g/cm³, łatwo obliczyć udział objętościowy takiej warstwy. Tworzy ją co najwyżej 10% całego polimeru. Wystarczy zatem zmodyfikować nie więcej niż 10% masy całej membrany, by otrzymać membranę inną jako-

ściowo. Modyfikacja powierzchniowa powinna zatem ze względów ekonomicznych powoli zastępować modyfikację objętościową membran porowatych.

Mimo że badania nad otrzymywaniem PMJ ze wstępnie zmodyfikowanych polimerów są nadal prowadzone [27], nie jest to droga zbyt obiecująca. Modyfikowanie całego polimeru po to, by przygotować z niego membranę, o właściwościach której decyduje jedynie znikoma część materiału, jest niepotrzebnym marnotrawieniem środków. Co więcej, otrzymywanie membran z całkowicie zmodyfikowanego polimeru może być znacznie utrudnione przez jego pęcznienie czy rozpuszczanie w wodzie. Istnieją jednak pewne zabiegi prowadzące do lepszego wykorzystania zmodyfikowanego materiału. Autor współuczestniczył w badaniach właściwości membran otrzymanych z mieszanin polisulfonu (UDELL 1700, o budowie $[-O-C_6H_4-C(CH_3)_2-C_6H_4-O-C_6H_4-S(O)_2-C_6H_4-]_n$) oraz jego sulfonowanej pochodnej (stopień podstawienia 0,7 grupy $-SO_3H$ na mer) [28]. W badaniach tych membrany otrzymywano tradycyjną metodą inwersji faz. Polimery rozpuszczano w dimetyloformamidzie, formowano membrany na powierzchni szklanej i następnie koagulowano je w wodzie. Pod względem podatności na zarastanie membrany otrzymane z mieszanin zawierających 50% niemodyfikowanego polimeru zachowują tak jak te otrzymane z sulfonowanego polisulfonu. Prawdopodobnie w wyniku separacji faz, zachodzącej przy kontakcie mieszaniny polimerów z wodą, grupy sulfonowe z modyfikowanego polimeru zajmowały uprzywilejowaną pozycję w warstwie przypowierzchniowej. Obserwacje te mają duże znaczenie praktyczne. By otrzymać membrany mniej podatne na zarastanie, nie jest konieczne użycie jedynie zmodyfikowanego polimeru. Wystarczy zmieszać go z polimerem wyjściowym, a membrany formować z mieszaniny. Oszczędza się w ten sposób drogi materiał, nie pogarszając właściwości separacyjnych preparowanych membran.

Omówione przykłady wskazują, że więcej uwagi należy skupić na metodach modyfikacji istniejących już uformowanych membran porowatych, a szczególnie na zmianach ich struktury w warstwach powierzchniowych.

3.3.2. Otrzymywanie PMJ przez modyfikację powierzchniową wstępnie uformowanych membran

Porowate membrany, w większości asymetryczne, są produkowane na dużą skalę przez wyspecjalizowane firmy. Można je z dobrym skutkiem wykorzystać do tworzenia porowatych membran jonowymiennych. Metody te cieszą się zrozumiałym zainteresowaniem wśród technologów.

Autor badał możliwości sulfonowania kapilarnych membran polisulfonowych [13]. Do modyfikacji wykorzystał procedurę podaną przez Schwarza [29]. Tendencję do zarastania membran w różnych warunkach procesowych wyraził za pomocą stężenia albuminy w warstwie przypowierzchniowej. Obliczone wartości zestawiono w tabeli. 5.

Tabela 5. Obliczone stężenie albuminy z krwi wołowej w warstwie przymembranowej*

Czas modyfikacji membran, h	Całkowite stężenie grup kwasowych, mmol/g	Ciśnienie transmembranowe, MPa	Stężenie białka w warstwie przymembranowej, g/cm ³
0	0,45	0,03	0,190
0	0,45	0,06	0,554
0	0,45	0,09	1,343
2	0,56	0,03	0,125
2	0,56	0,06	0,203
2	0,56	0,09	0,321
8	0,59	0,03	0,114
8	0,59	0,06	0,174
8	0,59	0,09	0,249

*Roztwory białka przygotowano w 0,1 M buforze fosforanowym, którego pH = 7,8 [13].

To, że wzrasta stężenie w warstwie przymembranowej, gdy zwiększa się ciśnienie transmembranowe, nie powinno nikogo dziwić. Im większe ciśnienie, tym silniejsza jest tendencja do „zgniatania” tworzącej się warstwy białek na membranie. Jednak znacznie mniej białka osadzi się na membranie, gdy na jej powierzchni znajdują grupy sulfonowe. Zjawisko to jest szczególnie widoczne, gdy ciśnienie transmembranowe jest niskie.

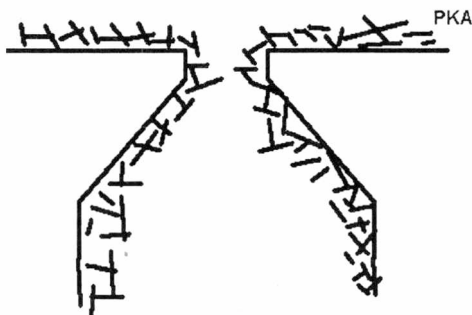
O wiele mniej skomplikowaną metodę modyfikacji można stosować w przypadku membran z poliakrylonitrylu. Zanurzenie membrany w wodnym roztworze NaOH powoduje hydrolizę grup nitrylowych. Metodę tę zastosował autor monografii do modyfikacji membran typu PAN1514, produkowanych przez Deutche Carbon GmbH, [30]. Badając właściwości modyfikowanych membran, autor stwierdził, że nie zarastają one tak szybko jak membrany niemodyfikowane. Dla obu typów membran zaobserwował natomiast zmniejszenie średnicy porów na skutek osadzania się filtrowanego białka. W membranach niemodyfikowanych światło porów zmniejszało się o około 80%, w membranach hydrolizowanych natomiast nie więcej niż o 20%. Przykład ten również wskazuje na rolę, jaką odgrywają powierzchniowe grupy jonocenne w ograniczaniu zarastania. Przeprowadzone badania doprowadziły autora do wniosku, iż mając do dyspozycji jeden rodzaj ultrafiltracyjnych membran poliakrylonitrylowych, można w prosty sposób otrzymać całą gamę membran o różnej charakterystyce. Przedłużając czas hydrolizy, otrzymuje się membrany o coraz mniejszych porach (por. tabela 6).

Autor przyjął, że w wyniku hydrolizy na powierzchni membrany tworzy się warstwa zdominowana przez poli(kwas akrylowy). Warstwa ta pęcznieje w wodzie i stopniowo zaślepia pory. Schematycznie zjawisko to przedstawiono na rys. 4.

Tabela 6. Charakterystyka membran otrzymanych z PAN1514 przez hydrolizę w 1 M NaOH [30]

Czas modyfikacji, h	Średnia wielkość porów, nm
0	2,7
1	2,5
6	1,0
12	0,9
84	0,6
110	zniszczenie membrany

Tak otrzymane membrany można zastosować do procesów separacji mniejszych cząsteczek. W omawianym przykładzie autor zastosował je z powodzeniem do nanofiltracji roztworów soli wielowartościowych anionów. Stwierdził, że membrany poddane 84-godzinnej hydrolizie spełniały wymagania stawiane nanofiltrom; zatrzymywały one węglany z wydajnością 40–50%. Niestety dalsze działanie wodorotlenku powodowało zniszczenie membran. Powstawała luźna warstwa hydrożelu o małej wytrzymałości mechanicznej.



Rys. 4. Zmiana wymiarów porów na skutek tworzenia warstw poli(kwasu akrylowego) (PKA)

Przedstawione wyniki badań powinny być przestrożą przed bezkrytycznym myciem membran poliakrylonitrylowych w roztworach wodorotlenków. Wielokrotny kontakt membrany z ługiem może doprowadzić do jej mechanicznego uszkodzenia. Powstająca struktura poli(kwasu akrylowego) nie jest w stanie przenosić naprężeń wywołanych przez ciśnienie stosowane w procesie.

3.3.3. Otrzymywanie PMJ przez plazmową modyfikację powierzchni

Plazmowe modyfikowanie polimerów jest jedną z nowszych metod zmian charakteru powierzchni. Zaletą metody jest jej szybkość, efektywność i tania. Charakteryzuje się ona również małą szkodliwością dla środowiska. Chemiczna modyfikacja

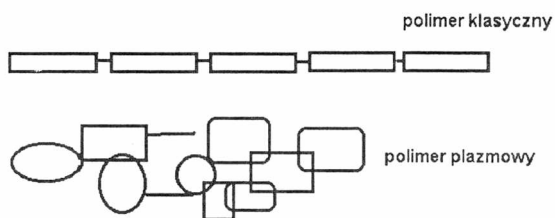
powierzchni wiąże się z pokaźną ilością odpadów. Są to zużyte reagenty, zawierające zwykle agresywne składniki, których utylizacja podraża koszty wytwarzania PMJ. Nie można też przemilczeć wątpliwości wielu ekologów, czy dopuszczalne jest produkowanie membran, które, co prawda, służą ochronie środowiska, ale przy ich produkcji powstają szkodliwe odpady. Poszukiwania nowych, tańszych i bezpieczniejszych sposobów modyfikacji polimerów doprowadziły do rozwoju metod plazmowych [31]. W trakcie działania plazmy na powierzchni polimeru zachodzą zwykle trzy procesy [32]:

- Degradacja polimeru, zwana też ablacją, charakteryzująca się znacznym ubytkiem jego masy. W tych warunkach następuje fragmentacja łańcuchów polimeru, a powstałe małe cząsteczki zostają uniesione poza obszar reakcji.

- Zmiana charakteru grup powierzchniowych. Procesowi przebudowy powierzchni towarzyszy tworzenie nowych grup, które nie występują w macierzystym polimerze.

- Osadzanie polimeru. W wyniku wzbudzenia pękają wiązania w cząsteczkach związków wprowadzonych do reaktora, a ich fragmenty tworzą rodniki. Chaotyczna reakcja między nimi prowadzi do otrzymania struktur wielkocząsteczkowych, które osadzają się na podłożu w formie proszku lub filmu. Ostateczna forma osadzonego polimeru zależy od warunków procesu i od rodzaju stosowanych par.

Dla lepszego zrozumienia istoty polimeryzacji plazmowej konieczne jest wyjaśnienie pojęcia *polimer plazmowy* oraz wykazanie różnic między nim a *polimerem klasycznym*. Na rysunku 5 przedstawiono najważniejsze różnice między obu typami makrocząsteczek.



Rys. 5. Schemat budowy polimeru klasycznego i plazmowego

Jak widać, cząsteczki polimeru plazmowego prócz olbrzymiego ciężaru cząsteczkowego nie przypominają typowego polimeru. Nie można w nich wyróżnić powtarzających się elementów budowy. Polimer plazmowy tworzy zwartą, bardzo usiecioną strukturę przestrzenną, w której obok fragmentów związków stosowanych w polimeryzacji, można znaleźć fragmenty zdegradowanego podłoża czy elementy pochodzące z obudowy reaktora. Aby zaznaczyć różnice w budowie, polimery otrzymane metodą plazmową oznacza się literą p przed symbolem związku, w parach którego powstawał polimer. Dla przykładu pSt to plazmowo polimeryzowany polistyren, który, w odróżnieniu od klasycznego polistyrenu, w skrajnym przypadku może nie zawierać w makrocząsteczce pierścieni aromatycznych. Mogły one zostać otwarte

w plazmie, a polimeryzujące fragmenty cząsteczek nie odtworzyły struktury pierścieniowej. Plazmowo można polimeryzować również cząsteczki, które w klasycznych warunkach są uważane za związki nie poddające się polimeryzacji. Możliwe jest np. otrzymanie polimeru z alkoholu etylowego (pEtOH) czy też butyloaminy (pButNH₂).

Osadzony polimer plazmowy na tyle zmienia charakter powierzchni, że można odnieść wrażenie, iż jest to jakościowo inny materiał. Z tanich matryc polimerowych można zatem otrzymać membrany o właściwościach podobnych do tych przygotowywanych ze szlachetnych tworzyw. Przykładem jest badana przez autora membrana z poliakrylonitrylu, pokryta plazmowo polimeryzowanym perfluoroheksanem (pPFHek) [33]. Właściwości otrzymanych membran zestawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Charakterystyka membran otrzymanych z PAN przez osadzenie na nim pPFHek [33]

Czas polimeryzacji, min	Kąt zwilżania, deg	Średnia wielkość porów, nm
0	37,8	3,7
0,5	122,3	2,5
1	122,4	1,8
2	122,6	1,3
3	118,8	1,1
10	122,4	0

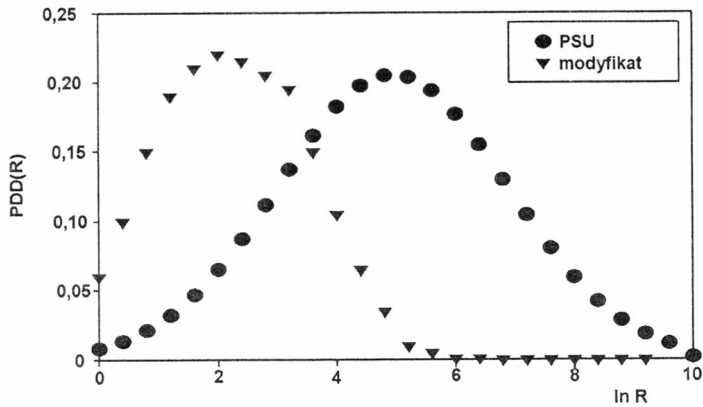
Warstewka pPFHek tworzy się niemal natychmiast po rozpoczęciu modyfikacji, a jej grubość wzrasta wraz ze zwiększaniem czasu reakcji. Prowadząc reakcję osadzania pPFHek na tanich membranach porowatych, autor monografii mógł otrzymać wiele membran o właściwościach podobnych do właściwości membran teflonowych.

Autor badał również właściwości ultrafiltracyjnych membran polisulfonowych pokrytych warstwą plazmowo polimeryzowanego kwasu akrylowego (pKA) [34]. Stwierdził on, że osadzenie warstewki pKA nie tylko zmieniło charakter powierzchni membrany, ale spowodowało zmniejszenie wymiarów porów (rys. 6).

Również i w tym przypadku przedłużenie czasu modyfikacji prowadzi do otrzymania membran z coraz mniejszymi porami. Można zatem otrzymać membrany kompozytowe przydatne w nanofiltracji, w których selektywna warstwa pKM jest umieszczona na chemicznie odpornym podłożu z polisulfonu [35].

Plazma ablacyjna, nie powodująca osadzania się polimeru, może natomiast z dobrym skutkiem być wykorzystana do tworzenia jakościowo nowych membran. Celowe jest prowadzenie tej modyfikacji na dostępnych handlowo, tanich membranach porowatych. Degradacja polimeru jest związana z tworzeniem nowych grup funkcyjnych na powierzchni membrany. W tabeli 8 podano zarejestrowane przez au-

torą zmiany energii powierzchniowej poliakrylonitrylu i polisulfonu po poddaniu ich działaniu plazmy utleniającej [20, 36].



Rys. 6. Zmiana rozkładu wielkości porów ($PDD(R) = f(\ln R)$) membrany poddanej działaniu plazmy argonowej w parach kwasu akrylowego [34]. PSU – wyjściowa membrana z polisulfonu, modyfikat – membrana PSU poddana działaniu plazmy przez 2 min. Sposób obliczania PDD(R) podano w p. 3.3.4.1

W obu przypadkach wraz ze wzrostem czasu reakcji zwiększa się wartość energii powierzchniowej polimeru. Szczególnie przejawia się to wzrostem składowej polarnej napięcia powierzchniowego, wynikającym z pojawiania się na powierzchni nowych grup polarnych.

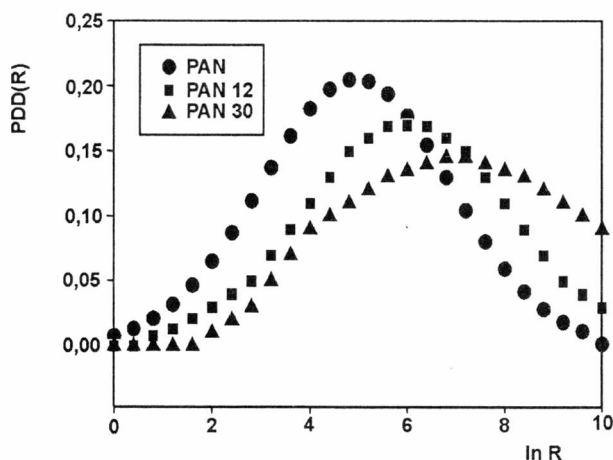
Tabela 8. Napięcie powierzchniowe poliakrylonitrylu i polisulfonu poddanych działaniu plazmy utleniającej [20, 36]

Czas modyfikacji, min	Napięcie powierzchniowe [mN/m]			
	Poliakrylonitryl, plazma powietrzna		Polisulfon, plazma CO ₂	
	Całkowite napięcie powierzchniowe	Składowa polarna napięcia	Całkowite napięcie powierzchniowe	Składowa polarna napięcia
0	52,2	23,0	45,2	2,3
2,5	66,8	41,3	61,3	31,2
5	64,1	40,9	62,2	31,6
10	62,6	45,8	64,0	31,0

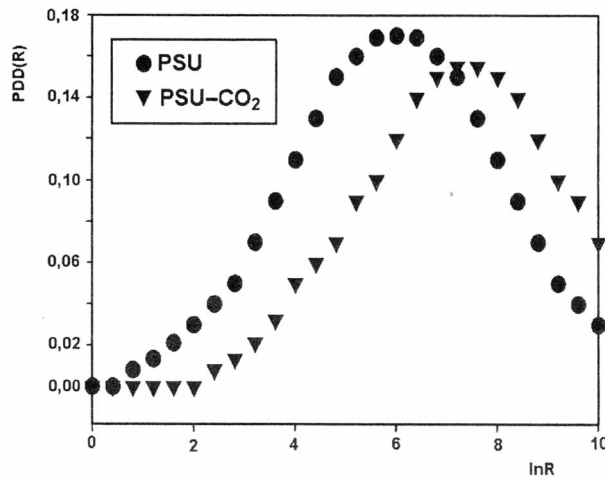
Sposób obliczania napięcia powierzchniowego oraz jego składowych podano w p. 3.3.4.2.

W metodzie ablacyjnej zmianie charakteru chemicznego powierzchni towarzyszy zwykle częściowa degradacja polimeru. Autor zaobserwował zwiększanie się wymia-

rów porów w trakcie modyfikacji membran asymetrycznych z poliakrylonitrylu i polisulfonu (rys. 7 i 8).



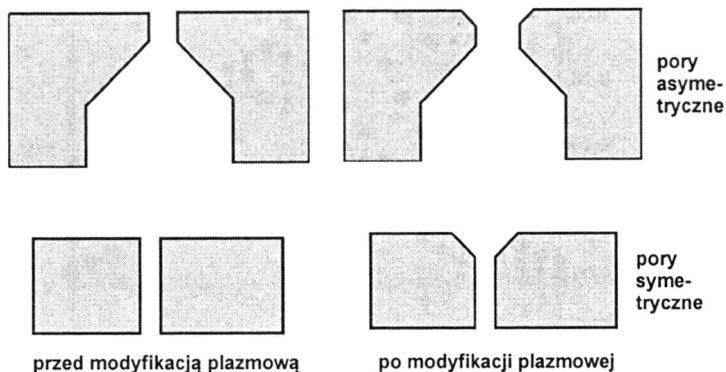
Rys. 7. Zmiana wymiarów porów membran z poliakrylonitrylu poddanych działaniu plazmy powietrznej [20]. PAN oznacza membranę wyjściową, natomiast PAN-12 i PAN-30 membrany modyfikowane w 12 i 30 W plazmie. Sposób obliczania PDD(R) podano w rozdziale 3.3.4.1



Rys. 8. Zmiana wymiarów porów membran polisulfonowych [36]. PSU – membrana wyjściowa, PSU-CO₂ – membrana poddana działaniu plazmy dwutlenku węgla przez 1 min

Autor nie zauważył zwiększania wymiary porów w symetrycznych membranach ultrafiltracyjnych [19]. Nie ma wątpliwości, że w trakcie działania plazmy utleniającej

membrany ulegały trawieniu. Jednak gdy głębokość działania plazmy była wystarczająca na to by „przebić” naskórek w membranach asymetrycznych, była ona zbyt mała, by zwiększyć rozmiar porów dla membran symetrycznych. Efekt trawienia obu typów membran pokazano schematycznie na rys. 9.



Rys. 9. Prawdopodobny przebieg trawienia porów w membranach asymetrycznych i symetrycznych

Funkcje rozkładu wielkości porów PDD(R) przedstawione na rys. 6–8 umożliwiają w miarę dokładne śledzenie zmian wskutek działania plazmy, nanoszenia dodatkowych warstw polimerów, czy nawet wskazywanie czynników procesowych wywołujących zatrucie. Dlatego autor zdecydował się przedstawić założenia tej metody. Jest ona na tyle prosta, że śmiało może ją polecić jako sposób oceny zmian zachodzących w budowie membran.

3.3.4. Określanie właściwości membran porowatych

Możliwość określania zmian właściwości membran na skutek ich modyfikacji umożliwia takie sterowanie procesem, aby otrzymać membrany o pożądanym cechach. Niestety poszukiwania literaturowe prostych metod analitycznych zakończyły się niepowodzeniem. Z tego powodu autor niniejszej monografii sam je opracował. W następnych dwóch rozdziałach przedstawiono podstawy proponowanych metod. Autor ma nadzieję, że zostaną one zaakceptowane i będą stosowane do określania właściwości membran.

3.3.4.1. Metoda szacowania funkcji rozkładu wielkości porów

Metoda szacowania funkcji rozkładu wielkości porów została omówiona szczegółowo w oryginalnej publikacji autora [20]. Oparto się w niej na dwóch założeniach:

- Rozkład wielkości porów, PDD(R), ma postać funkcji logarytmiczno-normalnej

$$\text{PDD}(R) = A \exp\left(-\frac{(\ln R - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (\text{Z1})$$

w której μ oraz σ są odpowiednio średnią wartością i wariancją rozkładu, A natomiast jest czynnikiem przedwykładniczym.

• Prawdopodobieństwo P wnikania cząsteczek w pory jest równe zero, gdy wymiary porów R są mniejsze od wymiaru cząsteczek r oraz jest równe jedności dla porów większych od cząsteczek

$$\begin{aligned} P &= 0, & \text{gdy} & \quad R \leq r \\ P &= 1, & \text{gdy} & \quad R > r \end{aligned} \quad (\text{Z2})$$

Współczynnik przepuszczalności membrany k opisuje wówczas zależność:

$$k = \int_0^{\infty} P \cdot \text{PDD}(R) dR \quad (7)$$

która po uwzględnieniu obu założeń i po normalizacji funkcji $\text{PDD}(R)$ upraszcza się do postaci:

$$k = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^U \exp\left(-\frac{U^2}{2}\right) dU \quad (8)$$

gdzie U jest zmienną znormalizowaną.

Dla substancji wzorcowej o wymiarach cząsteczek r_i oblicza się współczynnik retencji SR_i ,

$$SR_i = 1 - \frac{c_p}{c_0}$$

gdzie c_p i c_0 są stężeniami substancji odpowiednio w permeacie i w retentacie, a następnie współczynnik przepuszczalności

$$SR_i = 1 - k_i \quad (9)$$

Mając zestaw współczynników k_1, k_2, \dots, k_i dla cząsteczek wzorcowych o wymiarach r_1, r_2, \dots, r_i oraz biorąc pod uwagę założenie (Z2) można, posługując się tablicami rozkładu funkcji normalnej, obliczyć wartości U_1, U_2, \dots, U_i . Następnie, korzystając z warunku normalizacji

$$U_i = \frac{\ln r_i - \mu}{\sigma} \quad (10)$$

oblicza się oba parametry rozkładu metodą regresji liniowej.

Założenie o zero-jedynkowej zmienności prawdopodobieństwa wnikania cząsteczek w pory jest oczywiście wielkim uproszczeniem. Intuicyjnie wyczuwa się, iż wartość ta nie może być taka sama dla cząsteczek bardzo małych i prawie tak samo dużych jak wielkość porów. Często przyjmuje się, że prawdopodobieństwo to wynosi [37]

$$P = \left(1 - \frac{r}{R}\right)^3, \text{ gdy } r < R$$

oraz

$$P = 0, \text{ gdy } r \geq R \quad (11)$$

co, po wprowadzeniu do równ. (7), daje zależność (12):

$$k_i = \int_0^{\infty} \left(1 - \frac{r_i}{R}\right)^3 \frac{1}{R\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(\ln R - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) dR \quad (12)$$

Rozwiązanie układu równań całkowych dla wybranych cząsteczek testowych jest możliwe metodami numerycznymi. Metoda ta jest zalecana dla membran o porach innych niż cylindryczne. W takiej sytuacji wykładnik potęgowy pierwszego członu równ. (12) może przyjmować inne wartości.

Omawiając wpływ modyfikacji plazmowej na powierzchnię membrany, wielokrotnie odwoływano się do pomiaru napięcia powierzchniowego, a także jego składowych. Kolejny rozdział monografii jest poświęcony metodom określania postępu modyfikacji powierzchniowej oraz zawiera propozycję autora szacowania powierzchniowego stężenia grup zdolnych do dysocjacji.

3.3.4.2. Charakterystyka powierzchni polimerów

Modyfikacja powierzchni membran czy to chemiczna, czy też plazmowa, prowadzi do pojawienia się w tym obszarze nowych grup funkcyjnych. Wśród nich mogą znajdować się grupy zdolne do dysocjacji jonowej, przy czym w przypadku modyfikacji plazmowej, możliwe jest tworzenie różnego ich typu. Dzięki temu dysocjacja grup powierzchniowych zachodzi w szerokim zakresie wartości pH. Jest jeszcze inny czynnik wpływający na tak znaczne rozszerzenie tego obszaru, czyli specyficzna lokalizacja grup. Whitesides [38], podsumowując swoje wieloletnie badania nad zachowaniem się grup karboksylowych w warstwach powierzchniowych, przedstawił kilka przyczyn „dziwnego” ich zachowania. Rozważania te są na tyle istotne, że warto część z nich omówić:

Powierzchnia polimeru nie jest idealnie gładka. Występują na niej nierówności, wgłębienia i pory. Sam polimer też nie jest jednorodny w swojej masie. Na jego powierzchni mogą występować obszary o zróżnicowanej energii. Rzecz komplikuje się jeszcze, gdy rozważa się powierzchnię kopolimerów lub mieszanin fizycznych. Dla

tych materiałów struktura powierzchniowa ma budowę łątkową, podobną do szachownicy. Nakładając na to nieregularny kształt powierzchni, otrzymuje się bardzo skomplikowane twory topologiczne. Lokalna stała dielektryczna zmienia swą wartość od kilku jednostek dla obszarów znajdujących się w głębi polimeru do kilkudziesięciu w obszarze zajęтым przez wodę. Te same grupy funkcyjne dysocjują zatem w różnym stopniu w zależności od miejsca, w którym się znajdują.

Dysocjacja grup powierzchniowych jest również związana z ich orientacją indukowaną przez elementy powierzchniowej fazy polimerowej. Na to wszystko należy nałożyć jeszcze zróżnicowaną organizację cząsteczek wody w warstwach przypowierzchniowych (kilkucząsteczkowa warstwa wody unieruchomionej). Kolejnym czynnikiem wpływającym na zachowanie się grup powierzchniowych jest ich organizacja przestrzenna. Badane przez Whitesidesa [39] grupy karboksylowe umieszczone na powierzchni samoorganizujących się warstw (łańcuchów merkaptanów alkilowych uporządkowanych na powierzchni złota) nie ulegają dysocjacji w roztworach o pH równym 14. Wiązania wodorowe zlokalizowane w jednej płaszczyźnie są tak silne, że stabilizują grupy $-\text{COOH}$, nie dopuszczając do ich deprotonacji.

Zachowanie powierzchniowych grup jonowych może znacznie obiegać od właściwości roztworów odpowiednich małowcząsteczkowych analogów zawierających takie same grupy. Stałe dysocjacji różnią się np. o kilka jednostek pK. Powierzchnia pozornie „nie widzi” zmian pH otoczenia. Nie znaczy to, że nie ma ona grup jonoczynnych. Są one na niej, lecz dysocjują w zupełnie innych warunkach. Grupy te można wykrywać różnymi metodami: do najpopularniejszych należy analiza w podczerwieni typu ATR-IR czy spektroskopia fotoelektronów – XPS. Metody te mogą dostarczyć informacji o rodzaju grup powierzchniowych, jednak nie o tym, czy w określonych warunkach grupy są zdysocjowane. Wprowadzana ostatnio zmodyfikowana metoda mikroskopii sił atomowych uwzględniająca oddziaływania kwasowo-zasadowe (AB-AFM) umożliwia dość precyzyjne określenie stanu grup powierzchniowych [40]. Metoda AB-AFM jest jednak jeszcze w stadium testowania, a jej zastosowanie będzie znacznie ograniczone wysokimi kosztami wykonywania analiz. W tej sytuacji do śledzenia zmian charakteru powierzchni modyfikowanego polimeru powszechnie stosuje się metodę pomiarów kąta zwilżania. Niezbędna aparatura jest stosunkowo prosta i łatwa do skompletowania, a same pomiary, choć uciążliwe ze względu na konieczność wielokrotnego ich powtarzania, są niezbyt kłopotliwe.

Gdy kropelka cieczy zwilża powierzchnię ciała stałego, zrównoważenie działających w układzie sił prowadzi do znanego równania Younga–Dupre [41]:

$$\gamma (1 + \cos \theta) = W_{12} \quad (13)$$

w którym W_{12} – praca adhezji między cieczą a ciałem stałym, γ – napięcie powierzchniowe cieczy na granicy ciecz–powietrze, θ – kąt zwilżania.

Sposób obliczania pracy adhezji budzi do tej pory najwięcej kontrowersji. Zdaniem Fowkesa [42] dla cieczy niepolarnych jest ona równa średniej geometrycznej składowych dyspersyjnych pochodzących od ciała stałego i od cieczy

$$W^d = 2(\gamma_1^d \gamma_2^d)^{0,5}$$

Inni autorzy [43] próbowali również stosować tę zależność do obliczania składowej polarnej napięcia powierzchniowego i równanie

$$W_{12} = 2(\gamma_1^d \gamma_2^d)^{0,5} + 2(\gamma_1^p \gamma_2^p)^{0,5}$$

zaczęto dość powszechnie stosować jako *rozszerzone równanie Fowkesa*. Budziło to sprzeciw samego Fowkesa, który nie zgadzał się na takie uproszczenie. W ostatnim swoim artykule [44]* pisał on, iż popularność *rozszerzonego równania* wynika głównie z niewystarczającej wiedzy redaktorów wielu czasopism, przyczyniających się do powielania fałszywych informacji.

Aby nie narazić się na zarzuty używania niewłaściwych procedur, autor tej monografii do obliczania składowych dyspersyjnych i polarnych napięcia powierzchniowego stosował uśrednianie harmoniczne zaproponowane przez Wu [45]. Dla kilku cieczy o znanych składowych polarnych (γ^p) i dyspersyjnych (γ^d) mierzy się kąty zwilżania polimeru θ_i i oblicza ich wartości dla powierzchni polimeru:

$$\gamma_i(1 + \cos\theta_i) = 4 \frac{\gamma_i^p \gamma_s^p}{\gamma_i^p + \gamma_s^p} + 4 \frac{\gamma_i^d \gamma_s^d}{\gamma_i^d + \gamma_s^d} \quad (14)$$

W równaniu tym indeksy i oraz s odnoszą się do i -tej cieczy i polimeru.

Przybliżenie to jest dość dobrze poparte badaniami Danna [46], który zauważył, że praca adhezji (W_{12}) między poli(metakrylanem metylu) a wodą i różnymi glikolami jest proporcjonalna do składowej polarnej napięcia powierzchniowego cieczy, nie zaś do pierwiastka kwadratowego tych wartości dla obu związków. Znajomość wartości składowych napięcia powierzchniowego polimeru umożliwia śledzenie zmian charakteru powierzchni pod działaniem plazmy.

Wprowadzone ostatnio pojęcie składowej oddziaływań kwasowo-zasadowych (γ^{AB}), odpowiadającej w przybliżeniu składowej oddziaływań polarnych (γ^p), stworzyło nowe możliwości opisu właściwości powierzchni. Zakłada się, że do oddziaływań dochodzi wtedy, gdy obie stykające się powierzchnie mają grupy zdolne do oddziaływań kwasowo-zasadowych. Przedstawione przez van Ossa [47] równanie opisujące pracę adhezji ma postać

$$W_{12}^{AB} = 2(\gamma_1^+ \gamma_2^-)^{1/2} + 2(\gamma_1^- \gamma_2^+)^{1/2} \quad (15)$$

*Fowkes zmarł w październiku 1990 r. przed ukazaniem się wspomnianej publikacji.

Symbolami + i – oznaczono udziały oddziaływań kwasowych i zasadowych w napięciu powierzchniowym [48, 49].

Za pomocą modelu van Ossa można obliczyć obie składowe oddziaływań kwasowo-zasadowych napięcia powierzchniowego. Podobnie jak w przypadku zastosowania metody Wu (równ. (14)) należy określić kąty zwilżania dla kilku cieczy, dla których znane są wartości γ^+ i γ^- , a następnie rozwiązać układ równań:

$$\begin{aligned}\gamma_1(1 + \cos\theta_1) &= 2\left(\sqrt{\gamma_1^{LW}\gamma_S^{LW}} + \sqrt{\gamma_1^-\gamma_S^+} + \sqrt{\gamma_1^+\gamma_S^-}\right) \\ \gamma_2(1 + \cos\theta_2) &= 2\left(\sqrt{\gamma_2^{LW}\gamma_S^{LW}} + \sqrt{\gamma_2^-\gamma_S^+} + \sqrt{\gamma_2^+\gamma_S^-}\right) \\ \gamma_3(1 + \cos\theta_3) &= 2\left(\sqrt{\gamma_3^{LW}\gamma_S^{LW}} + \sqrt{\gamma_3^-\gamma_S^+} + \sqrt{\gamma_3^+\gamma_S^-}\right)\end{aligned}\quad (16)$$

Poncin-Epaillard [49] zastosowała np. tę procedurę do określania właściwości plazmowo modyfikowanych folii z polipropylenu. Podobnie postąpił autor tego opracowania [50], analizując chemicznie modyfikowane folie teflonowe. Jest zadziwiające, że w obu przypadkach, mimo że modyfikacji dokonywano w zupełnie innych warunkach, stwierdzono, że powierzchnia polimeru niemalże w całości miała zasadowy charakter. Wydaje się, że zbieżność otrzymanych wyników nie jest przypadkowa. Zarówno Poncin-Epaillard, jak i autor tej monografii użyli tych samych cieczy testujących: cieczy dyspersyjnej, wody, glikolu etylenowego, gliceryny i formamidu. O ile ciecz dyspersyjna nie wpływa na oddziaływania kwasowo-zasadowe, a woda oddziałuje jednakowo intensywnie z kwasami i z zasadami (przyjmuje się, że dla wody $\gamma^+ = \gamma^- = 25,5$ mN/m), o tyle pozostałe ciecze – jako kwasy – są zdolne do wykrywania jedynie grup zasadowych na powierzchni polimeru. Przy tak jednostronnym doborze cieczy testujących rozwiązanie układu równań van Ossa musi być obciążone dużym błędem. Do podobnego wniosku doszli DellaValpe i Siboni [51], według których analizowane powierzchnie mają składową zasadową znacznie większą niż składową kwasową i może stąd wynikać błędne przekonanie, że powierzchnia każdego ciała zanurzonego w wodzie powinna mieć zasadowy charakter.

Kolejne nieporozumienie wynika z doboru skali odniesienia, a właściwie ustalenia wartości składowych γ^+ i γ^- dla wody. Van Ossa założył, iż oba współczynniki są sobie równe: $\gamma^- = \gamma^+ = 25,5$ mN/m. Nie znaczy to jednak, że woda jest równie mocnym kwasem jak zasadą. Konsekwencją tego jest oczywista: obliczone dla polimeru wartości współczynników nie przekładają się wprost na jego charakter powierzchniowy. Na przykład, gdy powierzchnia polimeru ma składową zasadową 4,00 mN/m, a kwasową – 0,02 mN/m, nie oznacza to, że powierzchnia ta jest 200 razy bardziej zasadowa niż kwasowa. Obliczone wartości świadczą jedynie o tym, iż powierzchnia polimeru jest 6,4 razy mniej zasadowa i 1275 razy mniej kwasowa niż powierzchnia wody. Niestety i te obliczenia są obarczone błędem wynikającym z przyjętego układu odniesienia. Założenie van Ossa co do równości składowych γ^- i γ^+ dla wody jest również kryty-

kowane [51]. Konsekwencje wynikające z przyjętej skali odniesienia najlepiej zilustruje kilka przykładów zebranych w tabeli 9. Zestawiono w niej wartości γ^- i γ^+ dla wybranych cieczy testujących, gdy jako układ odniesienia przyjmie się wodę z jej składowymi γ^-/γ^+ 25,5/25,5 mN/m (van Ossa) bądź 10,0/65,0 mN/m (Taft).

Tabela 9. Właściwości donorowo-akceptorowe cieczy stosowanych do testowania powierzchni stałych metodą van Ossa [51]. Wartość γ^{AB} obliczono z równania $\gamma^{AB} = (\gamma^+ \gamma^-)^{0,5}$

Ciecz	Skala odniesienia	γ^{AB} mN/m	γ^+ mN/m	γ^- mN/m
Woda	25,5/25,5	51,0	25,5	25,5
	10,0/65,0	51,0	65,0	10,0
Gliceryna	25,5/25,5	23,6	0,67	208
	10,0/65,0	26,1	4,0	48,0
Formamid	25,5/25,5	24,9	3,2	48,0
	10,0/65,0	26,8	1,3	14,3
Bromoform	25,5/25,5	7,1	5,1	9,8
	10,0/65,0	13,9	12,4	3,9

Skoro już same wartości współczynników γ^+ i γ^- dla cieczy testujących budzą tak wiele wątpliwości, nie można się spodziewać, aby obliczone na ich podstawie wartości charakteryzujące powierzchnię polimerów były wiarygodne. W tabeli 10 zestawiono dla przykładu wartości składowych donorowych i akceptorowych dla dwóch polimerów, z których jeden (poli(metakrylan metylu)) uważany jest za zasadowy, drugi zaś (poli(chlorek winylu)) – za kwasowy.

Tabela 10. Obliczone udziały donorowo-akceptorowe na podstawie przyjętej skali odniesienia [51]. Obliczenia oparto na równ. (16), użyto cieczy testujących przedstawionych w tabeli 9

Polimer	Skala odniesienia	γ^{AB} mN/m	γ^+ mN/m	γ^- mN/m
Poli(metakrylan metylu)	25,5/25,5	0,30	0,004	6,3
	10,0/65,0	0,53	0,03	2,35
Poli(chlorek winylu)	25,5/25,5	0,38	0,02	2,0
	10,0/65,0	0,69	0,19	0,62

Jak wynika z tabeli 10, o wartościach liczbowych γ^- oraz γ^+ dla badanej powierzchni decyduje przyjęta skala odniesienia. Pytanie dotyczące wyboru skali (czy ma to być skala van Ossa 25,5/25,5, czy Tafta 10,0/65,0, czy jeszcze inna) nadal pozostaje bez odpowiedzi. Również nierozstrzygnięty jest problem sposobu charakteryzowania powierzchni oraz badania zjawisk na niej zachodzących. W opublikowanej

ostatnio monografii, poświęconej głównie tej tematyce, autorzy wyrażają opinię, że większość wątpliwości powinna być wyjaśniona już w najbliższej przyszłości [52].

Autorowi tej monografii wydawało się więc niezbędne znalezienie sposobu na co najmniej półilościowe określenie charakteru powierzchni modyfikowanego polimeru. Opracowując taką metodę, wykorzystał on oryginalny pomysł Fowkesa [44], dotyczący sorpcji fenolu z roztworów diiodometanu. Fowkes wykazał, że stężenie powierzchniowe Γ fenolu zależy od stężenia objętościowego c :

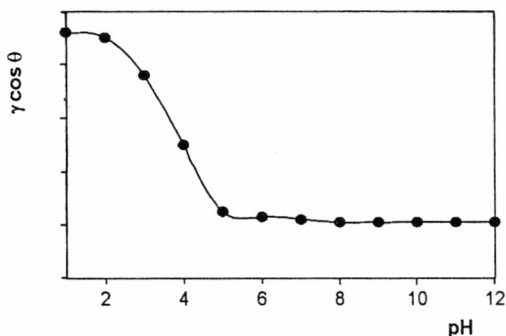
$$\Gamma = \frac{1}{RT} \frac{d\gamma \cos\theta}{d \ln c} \quad (17)$$

Korzystając z wyników badań Shahidzadeh-Ahmasi [53], autor tej monografii zastosował wodne roztwory HCl i NaOH jako ciecze testujące [21]. W takim wypadku równ. (17) przyjmuje postać:

$$\Gamma = \frac{1}{RT} \frac{d(\gamma \cos\theta)}{dpH} \quad (18)$$

Założywszy, podobnie jak Fowkes [44], że zależność $\gamma \cos\theta = f(\text{pH})$ jest dobrze przybliżona przez wielomian trzeciego stopnia, można wyznaczyć jej analityczną postać (rys. 10). Punkt przegięcia na tej krzywej występuje, gdy połowa powierzchniowych grup jonoczynnych jest zdysocjowana. Wyznaczenie wartości $\Gamma_{1/2}$ dla tego punktu jest jednoznaczne ze znalezieniem stężenia powierzchniowego grup zdolnych do dysocjacji. Obliczenia takie opierają się na określeniu wielomianu na podstawie bezpośrednich pomiarów kątów zwilżania

$$\gamma \cos\theta = A + B(\text{pH}) + C(\text{pH})^2 + D(\text{pH})^3$$



Rys. 10. Typowa krzywa zależności $\gamma \cos\theta = f(\text{pH})$ otrzymana metodą pomiaru kątów zwilżalności

Po wyznaczeniu jego pierwszej pochodnej otrzymuje się zależność stężenia powierzchniowego od pH roztworu

$$\Gamma = -\frac{1}{2,303RT} \left[B + 2C(\text{pH}) + 3D(\text{pH})^2 \right] \quad (18a)$$

Biorąc pod uwagę, że w punkcie przegięcia

$$2C + 6D(\text{pH}) = 0$$

wyznacza się pH roztworu, w którym połowa grup powierzchniowych jest zdysocjowana. Umożliwia to obliczenie $\Gamma_{1/2}$ z zależności (18a).

Omówioną procedurę zastosowano do obliczenia powierzchniowego stężenia grup zasadowych i kwasowych powstałych na powierzchni polisulfonu po jego modyfikacji w plazmie dwutlenku węgla, butyloaminy i azotu (tabela 11).

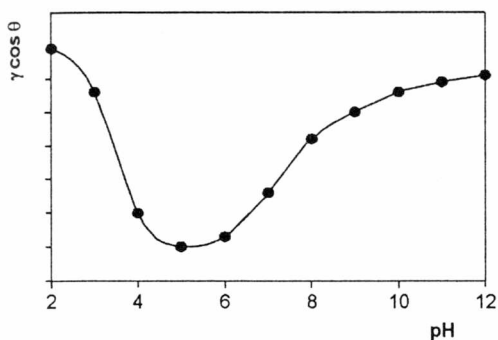
Tabela 11. Stężenie grup jonoczynnych (kwasowych lub zasadowych) na powierzchni polisulfonu modyfikowanego w plazmie CO₂, ButNH₂ i N₂ [21]

Plazma	Rodzaj grup	Stężenie, $\mu\text{mol}/\text{m}^2$
CO ₂	kwasowe	0,15
ButNH ₂	zasadowe	2,50
N ₂	kwasowe	0,06
	zasadowe	0,38

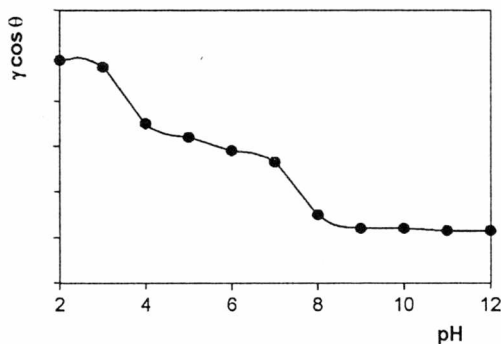
Jak widać, po zastosowaniu plazmy azotu otrzymuje się powierzchnię obojnaczą, na której obok grup kwasowych występują grupy zasadowe. Prawdopodobnie z tego powodu membrany z polisulfonu modyfikowane w plazmie N₂ nie zarastają tak łatwo w szerokim zakresie pH [177]. Z krzywej zależności $\gamma \cos \theta = f(\text{pH})$ (rys. 11) można również określić odpowiednik punktu izoelektrycznego membrany. W omawianym przypadku wartość pH w punkcie izoelektrycznym wynosi 5,4.

Szeroki przedział pH, w jakim zachodzi dysocjacja grup powierzchniowych, wynika z charakteru powierzchni oraz z różnorodności grup wprowadzonych na powierzchnię w wyniku modyfikacji plazmowej. Z tego powodu autor tego opracowania nie sądzi, by było możliwe obserwowanie wielu stopni dysocjacji grup znajdujących się na powierzchni polimerów modyfikowanych plazmowo. Jednak nie jest wykluczone, że w niektórych przypadkach będzie możliwe obserwowanie takiego zjawiska. Spodziewany przebieg krzywej miareczkowania powierzchniowego przedstawiono na rys. 12.

Opracowana procedura obliczania stężeń powierzchniowych grup zdolnych do dysocjacji może okazać się przydatna również w takim przypadku. Jeżeli przyjmie się, że zależność Γ od pH opisuje się za pomocą innej znanej funkcji, to równanie $\gamma \cos \theta = f(\text{pH})$ może być stosowane do wyznaczania wartości pH w punktach przegięcia. Obliczenie wartości Γ nie powinno wtedy nastęrczać większych kłopotów.



Rys. 11. Zwilżalność powierzchni polimeru modyfikowanego w plazmie N_2 [21]



Rys. 12. Krzywa zależności $\gamma \cos \theta = f(\text{pH})$ dla dwóch stopni dysocjacji grup powierzchniowych

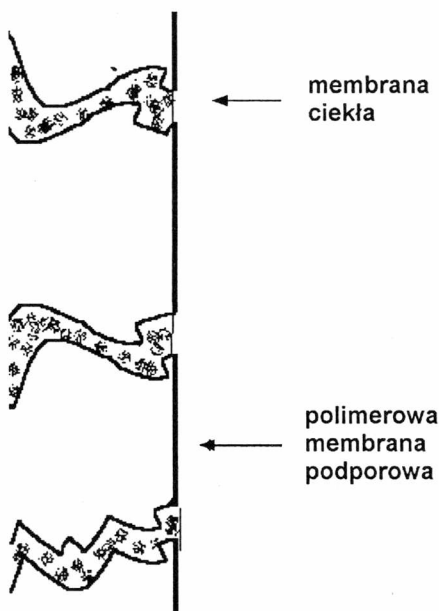
Kończąc ten rozdział należy jeszcze raz podkreślić, że modyfikacja powierzchniowa membran porowatych zarówno chemiczna, jak i plazmowa może na tyle zmienić ich charakter, że otrzymany materiał będzie zachowywał się zupełnie inaczej niż przed modyfikacją. Membrany będą w mniejszym stopniu zarastały, a ich zdolność do zatrzymywania filtrowanych związków poprawi się. Najważniejsze zaś jest to, że można modyfikować istniejące już membrany. Dzięki temu z dostępnych i tanich materiałów można otrzymać membrany o żądanych właściwościach. Na szczególną uwagę zasługuje tu modyfikacja plazmowa. Metodą tą otrzymuje się nowe membrany w stosunkowo krótkim czasie, nie wytwarzając przy tym większych ilości szkodliwych odpadów.

3.4. Membrany lite

Membran polimerowych używa się nie tylko w procesach filtracyjnych. Jako faza ciągła rozdzielająca dwa obszary membrany mogą różnicować szybkości przenoszenia różnych związków. Działają jak swoiste separatory. Analogia do zjawiska transportu występującego w membranach biologicznych jest na tyle duża, że skłania do głębszej refleksji. Procesy separacji membranowej zachodzące w przyrodzie są tak specyficzne i wydajne, że osiągnięcie podobnej sprawności na długo jeszcze pozostanie nieosiągalne dla współczesnych inżynierów. Wydajność rozdzielu zależy głównie od szybkości transportu w fazie membranowej. W transporcie biernym, gdy w procesie nie uczestniczą substancje ułatwiające przenoszenie, o szybkości separacji decyduje współczynnik dyfuzji związku w membranie. W polimerach jest on o jeden do kilku rzędów mniejszy niż w cieczach. Staje się zatem zrozumiałe zainteresowanie membranami ciekłymi jako potencjalnymi separatorami. Łatwość zmian ich właściwości

przez wprowadzenie związków uczestniczących w transporcie tylko jednej substancji, nazywanych dalej nośnikami, jest dodatkowym atutem przemawiającym za takim zastosowaniem membran. Membrany tego typu mogłyby śmiało zdominować technologie separacji, gdyby nie jedna ich wada: technicznie nie jest łatwo utrzymać fazę ciekłą w postaci membrany, a jeszcze trudniej nią manipulować. Emulsyjne membrany ciekłe, w których pokładano tyle nadziei w latach 80., powoli przechodzą do historii. Zdecydowały o tym trudności z prowadzeniem procesu w dużej skali. W tej chwili wiadomo, że pracuje tylko jedna taka instalacja przemysłowa, służąca do usuwania cynku z roztworu po koagulacji włókien syntetycznych [54]. Jednak, mając na uwadze potencjalne korzyści płynące z zastosowania membran emulsyjnych, trudno od razu z nich rezygnować. Membrany te nadal są przedmiotem badań studyjnych. Dokumentują to publikowane ostatnio prace przeglądowe [55, 56], czy też liczne opracowania szczegółowe [57–63].

3.4.1. Membrany unieruchomione



Rys. 13. Schemat budowy ciekłej membrany unieruchomionej

Podobny los spotkał membrany unieruchomione*, w których faza organiczna wypełnia pory membrany polimerowej. Ze względu na krótki czas życia nie znalazły one zastosowania w separacji prowadzonej w dużej skali. Stanowią natomiast doskonale narzędzie badawcze, służące do obserwacji i modelowania wybranych zjawisk transportu. Aby wyjaśnić Czytelnikowi istotę budowy takiej membrany, przedstawiono ją schematycznie na rys. 13.

Membrany unieruchomione są stosowane w wielu laboratoriach, w których się bada zjawisko transportu, lecz również po to narzędzie często sięgają biolodzy badający szybkość przenikania związków przez błony komórkowe oraz chemicy analitycy, stosujący ciekłe membrany unieruchomione do wstępnego zagęszczania analizowanych próbek. Stosunkowo krótka żywotność membran, szacowana na kilka godzin lub dni, nie rokuje im zastosowania w prze-

*Polska nazwa tego typu membran wywołuje wiele polemik. Autor, będąc zwolennikiem nazwy *ciekłe membrany podparte*, stosuje jednak w tym opracowaniu zalecaną nazwę *membrany unieruchomione*, by uniknąć niepotrzebnych sporów nomenklaturowych.

myśle [64, 65]. Doniesienia o membranach pracujących bezawaryjnie do kilkuset godzin nadal nie brzmią nazbyt optymistycznie [66]. Wiele prac zapoczątkowanych w zespole Strathmana poświęcono możliwości pokrywania powierzchni membrany unieruchomionej warstwą polimeru. Zabieg miał na celu uniemożliwienie wypłukiwania fazy organicznej [67–71]. Prace nad „zagęszczeniem” fazy membranowej przez stosowanie roztworu polimerowego w miejsce cieczy są alternatywnym sposobem zwiększania trwałości membran unieruchomionych [72]. Pewne nadzieje budzą prace nad zastosowaniem „uplastycznionych” membran polimerowych [73], w których lita membrana polimerowa jest „rozrzedzana” przez plastyfikator. Jednak i w tym przypadku nie należy się spodziewać większego zainteresowania tego typu membranami. Przyczyna jest banalna. Liczba układów polimer–plastyfikator, których można użyć do budowy takich membran, jest więcej niż skromna.

Jakościowo inny układ otrzymuje się, gdy do fazy organicznej membrany unieruchomionej wprowadza się nośnik. Sam dobór takiego związku nastrocza sporo kłopotów. Nie dość, że powinien on charakteryzować się odpowiednimi właściwościami kinetycznymi (kompleks z substancją rozdzielaną, tj. po stronie wnikania do membrany musi tworzyć się odpowiednio szybko i równie szybko rozpadać się po stronie przeciwnej [54]), to związek taki nie powinien:

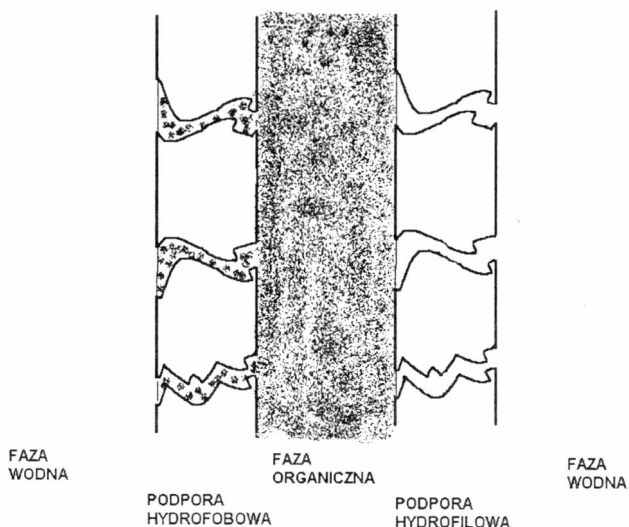
- wchodzić w reakcje uboczne,
- sprzyjać emulgowaniu fazy membranowej,
- wymywać się z membrany,
- być toksyczny.

Wśród ważnych cech dobrego nośnika wymienia się małą rozpuszczalność w zewnętrznych fazach wodnych. W skrajnym przypadku, gdy nośnik jest nazbyt hydrofobowy, jego cząsteczki nie będą się zbliżały do powierzchni kontaktu membrany z fazą wodną. Nie będą się zatem tworzyły kompleksy nośnika z przenoszoną substancją i transport nie będzie możliwy. W takiej sytuacji układ membranowy wzbogaca się w związek odgrywający rolę pośrednika. Zlokalizowany na granicy faz, ułatwia on wnikanie substancji do membrany z jednej strony i wynoszenie jej ze strony przeciwnej. Działanie takiego układu opisał ostatnio Kocherginsky [74].

Jeżeli nie realizuje się procesu w większej skali, mimo że dobrze są znane jego podstawy teoretyczne, to można sobie wyobrazić, jakie ogromne trudności techniczne są tego przyczyną. Główne powody to mała stabilność membran ciekłych połączona z wymywaniem z nich nośnika. Pewnym rozwiązaniem jest wykorzystanie litych membran polimerowych, w których cząsteczki nośnika są przyłączane chemicznie do łańcuchów polimerowych. Nośnik nie jest wtedy usuwany z membrany w trakcie procesu. Przykładem mogą być układy membranowe z modyfikowaną β -cyklodekstryną [75] czy też membrany zawierające immobilizowane etery koronowe [76]. Jednak w tych przypadkach, zyskując na trwałości membran, traci się na ich jednostkowej wydajności; transport w lepkiem środowisku membran polimerowych zachodzi nieporównywalnie wolniej niż w membranach ciekłych.

3.4.2. Kontaktory

Problem wypłukiwania membrany czy nośnika dość dobrze jest rozwiązywany w układzie kontaktorów z mobilną fazą membranową. Budowę takiej membrany przedstawiono schematycznie na rys. 14.



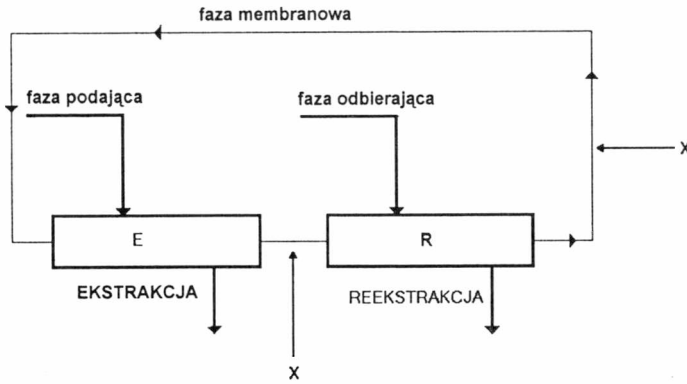
Rys. 14. Schemat budowy kontaktora

Porowata membrana polimerowa rozdziela dwie poruszające się fazy w ten sposób, by kontakt między nimi następował poprzez jej pory. W miejscach kontaktu zachodzi proces ekstrakcji. Substancja jest przenoszona z fazy zewnętrznej (zwykle wodnej) do fazy membranowej (zwykle organicznej), a następnie unoszona poza układ. Taka budowa membrany umożliwia ciągłą kontrolę jej właściwości: można uzupełniać wypłukaną fazę organiczną i regulować stężenie nośnika. Przez odpowiedni dobór materiału, z którego wykonano porowatą membranę podporową, można sterować miejscem kontaktu obu faz. Podpora hydrofilowa umożliwia wnikanie wody w pory – do kontaktu z fazą organiczną dochodzi po stronie fazy organicznej. W podporze hydrofobowej faza membranowa wypełnia pory i kontakt międzyfazowy następuje po stronie fazy wodnej.

Wymuszenie przepływu fazy membranowej stwarza warunki ciągłej jej regeneracji oraz umożliwia precyzyjne sterowanie właściwościami separacyjnymi. Schemat rozwiązania technicznego układu dwóch kontaktorów przedstawiono na rys. 15.

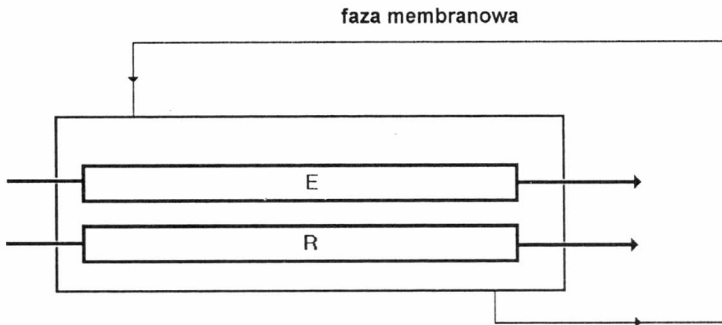
Faza membranowa, przepompowywana przez kapilary w kontaktorze E, styka się z surowcem (fazą podającą) przez pory membrany polimerowej. Zachodzi proces ekstrakcji substancji z fazy wodnej do organicznej. Następnie faza membranowa jest

przenoszona do kontaktora R, w którym odbywa się proces w kierunku odwrotnym, reekstrakcja substancji do fazy wodnej (odbierającej) i wynoszenie jej poza układ. Faza membranowa jest ponownie zawracana do jednostki E.



Rys. 15. Schemat kontaktora z mobilną fazą membranową

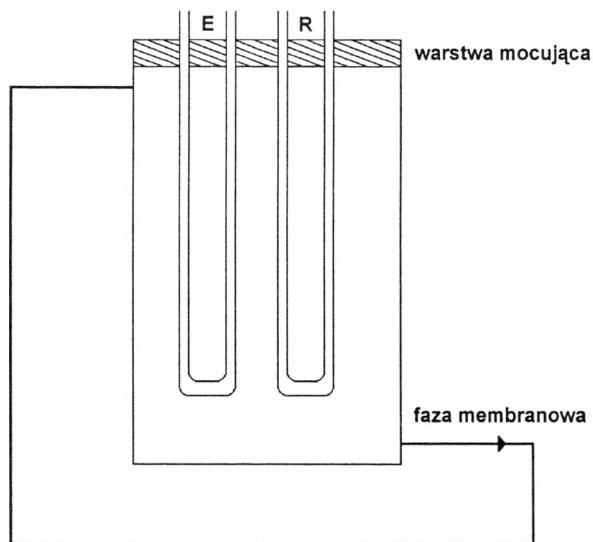
W takim układzie możliwa jest analiza fazy membranowej w najważniejszych miejscach: po opuszczeniu kontaktorów E oraz R (punkty zaznaczone symbolem X na schemacie). W punktach tych można również przeprowadzić korektę stężenia nośnika czy też ilości fazy mobilnej. Najczęściej jako kontaktorów używa się modułów kapilarnych. Badania takich układów prowadzono początkowo w laboratoriach Sirkara [77, 78] i Cusslera [79]. W ich wyniku zaproponowano konstrukcję kontaktora zawierającego obie jednostki (E i R) w jednej obudowie. Schematycznie przedstawiono to na rys. 16.



Rys. 16. Schemat kontaktora typu „dwa w jednym”

Istotnym elementem tej konstrukcji były dwie równoległe wiązki kapilar, przez które przepompowywano fazy podającą i odbierającą. Z zewnątrz obie wiązki były obmywane fazą membranową [80].

Omówione układy kontaktorów membranowych wydają się doskonale w fazie projektowej czy w badaniach laboratoryjnych. Niestety zastosowanie ich na skalę techniczną napotyka wiele trudności. Przekonała się o tym firma Hoechst Celanese, która próbowała wprowadzić na rynek kontaktory kapilarne pod nazwą Liqui Cel. Po pewnym czasie musiała wstrzymać ich sprzedaż ze względu na powtarzające się reklamacje użytkowników. Powód jak zwykle był błahy – do budowy modułów dobrano niewłaściwe materiały. W rozprowadzanych kontaktorach hydrofobowe membrany, wykonane z polipropylenu, były mocowane żywicami epoksydowymi. Uszczelnienia takie nie wytrzymały dłuższego kontaktu z fazą organiczną (zwykle cięższymi frakcjami benzyn); pęczniały i moduły traciły hermetyczność. W dostępnych obecnie kontaktorach problem ten został przez producenta rozwiązany. Dobrano inne, chemoodporne uszczelnienia. Nie udało się jednak usunąć kolejnej wady układu – pęcznienia membran. Membrany hydrofobowe zanurzone w fazie organicznej zmieniają swoją objętość [81]. Zamocowane z obu stron modułu zaczynają się skręcać. Doprowadza to zwykle do przewężenia lub wręcz zaślepienia prześwitu kapilar. Blokowanie przepływu fazy membranowej może spowodować zaburzenia w pracy instalacji, a zalecane stosowanie przepływów pulsujących powoduje mechaniczne uszkodzenia kapilar [82]. Rozwiązując ten problem, Schlosser [82] skonstruował kontaktor, w którym membrany zwisają w kształcie litery U (rys. 17).



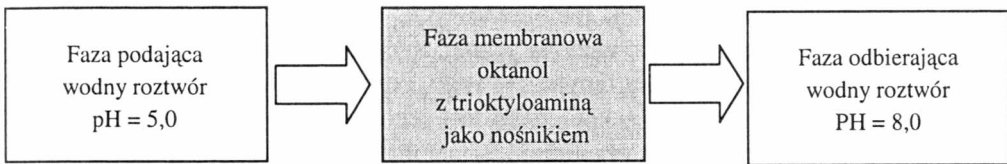
Rys. 17. Schemat kontaktora z membranami w kształcie litery U

W testowanym obecnie kontaktorze o dużej powierzchni wymiany Schlosser wrócił do koncepcji „wiszących kapilar” [83]. Opisane trudności nie zniechęciły badaczy do poszukiwań układów z odtwarzalną membraną ciekłą [84, 85].

3.4.3. Próby stosowania kontaktorów do wydzielania wybranych związków

Wśród kontaktorów kapilarnych można znaleźć ciekawe rozwiązania do separacji substancji aktywnych biologicznie. Kontaktory takie zastosowano m.in. do separacji penicyliny G (PG) z brzezki pochodowlanej. W brzezce oprócz PG pojawiają się kwasy fenylooctowy (PhAA) oraz 6-aminopenicylanowy (6-APA). Powstawanie PhAA powoduje dodatkowe zakwaszenie środowiska i zwiększenie stopnia hydrolizy penicyliny. W skali przemysłowej proces wydzielania PG prowadzi się przez okresową ekstrakcję antybiotyku. Niestety w tych warunkach straty penicyliny są duże, prawie 20%. Można temu zapobiec, jeśli ekstrakcję prowadzi się w sposób ciągły. Zastosowanie kontaktorów w tym celu może przynieść odczuwalne efekty.

Podjęte przez autora próby rozdzielania mieszaniny PG i PhAA, wskazały, że w układzie:



ekstrakcja PhAA zachodziła o wiele wolniej niż ekstrakcja PG [86]. Stosunek szybkości przeniesienia antybiotyku do kwasu w zależności od stężenia nośnika (trioktyloamina, TOA) w fazie membranowej (oktanol), przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12. Zmiana selektywności separacji PG i PhAA w kontaktorze kapilarnym [86]

Stężenie TOA, mM	Stosunek szybkości transportu PG/PhAA
0	1,12
50	1,15
100	1,75
300	2,57
500	2,72

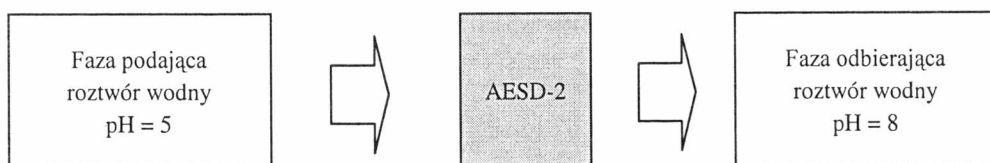
Widoczne zwiększenie selektywności separacji wraz ze zwiększeniem stężenia nośnika w fazie membranowej było skutkiem zmian współczynników podziału po stronie wnikanía substancji (tabela 13).

Tabela 13. Współczynniki podziału PG i PhAA między fazą wodną a membranową w zależności od pH i od stężenia nośnika w membranie [86]

Stężenie TOA, mM	Penicylina G		Kwas fenyllooctowy	
	pH = 5	pH = 8	pH = 5	pH = 8
0	1,89	0,03	1,23	0,03
50	2,15	0,05	1,48	0,09
100	3,21	0,09	1,98	0,21
300	6,58	0,13	3,02	0,38
500	12,05	0,22	4,95	0,62

Podobne rezultaty otrzymał Miesiąc [84], który badał wydzielanie kwasu fenyllooctowego w konaktorach zawierających mieszaniny cięższych frakcji benzyny z wyższymi alkoholami.

Inne problemy związane z produkcją antybiotyków mogą być również rozwiązywane przez zastosowanie technik membranowych. Produkcja półsyntetycznych odmian penicyliny opiera się na enzymatycznej hydrolizie penicyliny G do kwasu 6-aminopenicylanowego i kwasu fenyllooctowego. Powstający kwas PhAA jest na tyle mocnym inhibitorem reakcji, że konieczne jest jego usuwanie z reaktora w sposób ciągły. Badane kontaktry z unieruchomioną membraną ciekłą nie spełniają pokładanych w nich nadziei. Co więcej, w przypadku ich stosowania, produkt mógłby być zanieczyszczony rozpuszczoną w wodzie fazą membranową. W tej sytuacji dość dobrym wyjściem byłoby zastosowanie polimerowych membran zdolnych do przenoszenia kwasu fenyllooctowego. Schemat układu separacyjnego z zastosowaną przez autora anionowymienną membraną AESD2 [86] przedstawiono poniżej.



Wstępne testy wykazały, że stosunek strumieni PhAA i PG wynosi 2:1 [86]. Oznacza to, że mniejsze cząsteczki kwasu fenyllooctowego są przenoszone szybciej niż znacznie od nich większe cząsteczki antybiotyku. Duża liczba dostępnych dziś membran anionowymiennych daje nadzieję na znalezienie separatora o jeszcze większej selektywności, którego użycie umożliwi ciągle wydzielanie PhAA z mieszaniny reakcyjnej. Nie jest to stwierdzenie odkrywcze, bo na temat separacji kwasów organicznych za pomocą polimerowych membran jonowymiennych istnieją już doniesienia literaturowe [87–90].

3.4.4. Membrany w separacji związków optycznie czynnych

Rozdział antypodów optycznych jest kolejnym przykładem zastosowania procesów membranowych. Nie dziwi to, gdyż procesy rozpoznawania i separacji substancji optycznie czynnych są jedną z ważniejszych funkcji błon komórkowych organizmów żywych. W skali technicznej enancjomery są rozdzielane głównie przez frakcjonującą krystalizację technikami wykorzystującymi różnice w stereospecyficzności enzymatycznej czy też w wyniku tworzenia adduktów z cyklodekstrynami lub mocznikiem [91]. Często separacji dokonuje się przez współkrystalizację z alkaloidami z rodziny cynchonin [92]. Rozwój metod chromatograficznych z nowymi chiralnymi fazami stacjonarnymi stanowił kolejny krok w dziedzinie rozdziału związków optycznie czynnych. Fazy stacjonarne otrzymane przez Davankova [93, 94] czy Pirkla [95–97] to obecnie podstawowe wypełnienie chromatograficzne. Powlekanie wypełnienia chromatograficznego warstwą białka [98] stanowi kolejny wariant rozwiązania tego problemu.

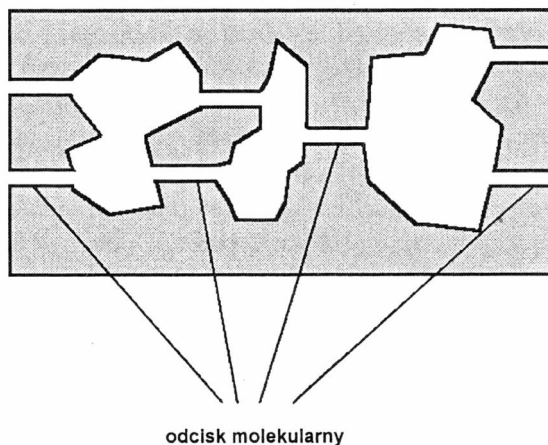
Ideę rozdziału związków optycznie czynnych można sprowadzić do znanego wielu chemikom prawa: *podobne lubi podobne*. Aby zatem wydzielić izomery optycznie czynne, niezbędne jest użycie związków chiralnych. Jedną z pierwszych prac [78] dotyczących rozdziału membranowego mieszaniny racemicznej aminokwasów powstała na podstawie doświadczeń z rozdziałem ekstrakcyjnym, w którym wykorzystano N-dodecylo-L-hydroksyprolinę [99]. Do rozdziału izomerów leucyny posłużono się tam kontaktem membranowym z oktaniem jako fazą membranową. Autorzy późniejszych prac skupili się na poszukiwaniach nowych nośników chiralnych [100–103]. W większości stosowano ciekłe membrany unieruchomione. Membranami takimi posługiwał się autor niniejszej monografii [104, 105]. Po raz pierwszy jako separatora użył on optycznie czynnej ciekłej fazy membranowej [105]. Ciecżą wypełniającą pory membrany był (1R)-(+)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.1]heptenoetanol-2, alkohol o nazwie handlowej nopol. Autor stwierdził, że stereoselektywność separacji zależy od hydrofobowości, polarności oraz od chiralności rozdzielanych aminokwasów. W odniesieniu do dwóch pierwszych parametrów nie budzi to wątpliwości, ale zależność stereoselektywności separacji od chiralności wymaga pewnego komentarza. W rodzinie α -aminokwasów atom chiralnego węgla jest połączony z grupą aminową, grupą karboksylową, atomem wodoru oraz z podstawnikiem funkcyjnym. Asymetria cząsteczki aminokwasu wynika właśnie z wielkości podstawnika. Nie można więc przypisywać wszystkim chiralnym cząsteczkom aminokwasów jednej miary asymetrii. Założenie o dychotomii chiralności, gdy związki były rozpatrywane jako chiralne (z miarą 1) i achiralne (z miarą 0), stanowi zbyt duże uproszczenie. Zwrócili na to uwagę Buda i Mislów [106], którzy zaproponowali, by asymetrię cząsteczek, nazwaną dalej stopniem chiralności, wyrażać jako znormalizowaną wartość wymiaru struktury powstałej po maksymalnym nałożeniu izomerów. W ten sposób cząsteczki bardziej asymetryczne mają automatycznie większy stopień chiralności.

Przyjmując ten tok rozumowania, autor niniejszej pracy podjął próbę korelacji enancjoselektywności transportu izomerów optycznych α -aminokwasów z ich stopniem chiralności. Aby uprościć obliczenia, przyjął on, że stopień chiralności jest proporcjonalny do wymiaru liniowego cząsteczki. Korzystając z wartości liczbowych zestawionych przez El Taylor [107], autor stwierdził, że stereoselektywność strumieni izomerów aminokwasów zależy od ich asymetrii. Im bardziej chiralny (asymetryczny) jest aminokwas, tym bardziej różnicują się strumienie obu izomerów i stereoselektywność separacji jest większa. Gdy zamiast nopolu autor użył innego chiralnego alkoholu, (2S)-(-)-2-metylo-1-butanolu, nie zauważył już tak wyraźnego różnicowania strumieni. Skłoniło to autora do uznania, że asymetria selektora odgrywa ważną rolę w separacji izomerów optycznych. Jest to zrozumiałe w świetle reguły wzajemności. Jeżeli bowiem asymetria aminokwasów jest istotna w ich rozdziale, to dla czegóż rozdział nie ma zależeć od asymetrii selektora? Można zatem przyjąć, że rozdział mieszanin racemicznych powinno się prowadzić za pomocą membran zawierających centra optycznie czynne, a jego selektywność powinna zależeć od iloczynu stopnia chiralności substancji rozdzielanej oraz stopnia chiralności czynnika powodującego rozdział. Mniejsza asymetria oddzielanego składnika wymusza stosowanie bardziej asymetrycznego separatora. Autor przyjął dla prostoty, że pozostałe właściwości układu separującego (hydrofobowość, polarność) nie zmieniają się, choć w rzeczywistych układach membranowych enancjoselektywność należy oczywiście skorelować i z tymi właściwościami selektora. Jest to ogromna praca, a problem nadal czeka na pełne rozwiązanie.

Przedstawione rozumowanie jest zgodne z wynikami badań separacji aminokwasów przeprowadzonych za pomocą membran otrzymanych z usieciowanego białka [108]. Membrany tego typu otrzymywał autor przez aktywowanie tkaniny jedwabnej aldehydem glutarowym. Następnie tkaninę umieszczał w roztworze albuminy z krwi wołowej, wyjmował, i ponownie aktywował aldehydem glutarowym. Operację tę powtarzał wielokrotnie do chwili „zamknięcia” porów tkaniny przez żel białkowy. Otrzymane w ten sposób membrany białkowe zawierały chiralną fazę membranową, spełniającą rolę fazy ciekłej w membranach unieruchomionych. W omawianym przypadku faza membranowa była dodatkowo związana z membraną podporową. Stereoselektywność separacji, tj. stosunek strumieni izomeru L do D leucyny wynosiła 0,93, treoniny zaś – 0,85. Niewiele większe wartości dla fenyloalaniny i leucyny otrzymał Higuchi [109], który badał enancjoselektywność procesu na membranach ultrafiltracyjnych pokrytych warstwą żelową albuminy. Ten typ membran, w których selektorem jest polimeryczny związek aktywny optycznie, pod względem mechanizmu działania przypomina membrany z modyfikowanych poliaminokwasów badane przez Maruyamę [110]. Separował on enancjomery tyrozyny ze znaczną selektywnością – stosunek strumieni obu izomerów wynosił od 3 do 7. Są to jedne z większych wartości stereoselektywności procesów membranowych opisanych w literaturze.

Separacja enancjomerów może być również oparta na wykorzystaniu stereospecyficzności enzymów. Ten sposób segregowania cząsteczek ma również bogatą literatu-

rę fachową. Zainteresowanym można polecić pracę przeglądową Ceynowy [111], w której znajdują się liczne przykłady tego procesu. Omawiając separację membranową izomerów optycznych aminokwasów, nie sposób nie wspomnieć o jednej z ciekawszych metod otrzymywania stereoselektywnych membran, polegającej na „wdrukowywaniu” w nie określonych cech, na przykład kształtu. Omawia to Piletsky [112] w ostatnio publikowanej pracy przeglądowej. Pomysł przygotowania takich membran wywodzi się z prac Wulffa [113, 114] i Mosbacha [115–117]. W matrycy polimeru tworzy się wolne (puste) miejsca, będące replikami trójwymiarowych struktur substancji, które chce się rozdzielać. W miejsca te wpasowują się tylko cząsteczki tego związku, który służył uprzednio do tworzenia odcisków molekularnych. Dzięki takiemu zabiegowi membrana będzie przenosiła tę właśnie substancję. Można już mówić o pozytywnych wynikach pierwszych prób. Otrzymano membrany selektywne dla związków optycznie czynnych. Membrany te wykonano metodą inwersji faz [118, 119] lub przez odparowanie rozpuszczalnika z roztworu polimeru [120, 121]. W obu przypadkach roztwór polimeru zawierał cząsteczki odciskające swój kształt w polimerze. Po zapełnieniu przez polimer przestrzeni wokół nich, były one usuwane, a powstałe odciski molekularne służyły dalej jako selektywne centra. Utworzony w membranie system „bramek” umożliwia prowadzenie precyzyjnej separacji (rys. 18)



Rys. 18. Schemat membrany z odciskami molekularnymi [112]

Autor niniejszej pracy nie zajmował się otrzymywaniem tego typu membran. Syntetyzował natomiast sorbenty chromatograficzne*.

*Szczegółowe omówienie techniki tworzenia polimerów z odciskami molekularnymi przedstawiono w p. 4.4. *Polimery z odciskami molekularnymi*.

Podsumowując, można z dużym prawdopodobieństwem przewidywać, że w najbliższej przyszłości powinna się zwiększyć liczba doniesień na temat otrzymywania i działania membran zawierających odciski molekularne. Można się również spodziewać pojawienia się większej liczby publikacji na temat wykorzystania polimerowych membran litych oraz układów kontaktorowych. Membrany unieruchomione – podobnie jak dotychczas – będą prawdopodobnie stosowane jedynie w warunkach laboratoryjnych oraz w badaniach testowych.

4. Chromatografia

4.1. Historia chromatografii

Odkrycie chromatografii dość powszechnie przypisuje się Cwietowi. Jednak, na co zwrócił uwagę Touchstone [122], pierwszy rozdział chromatograficzny przeprowadzono już pół wieku przed ukazaniem się prac Cwieta. Rozdział barwników na papierze (chromatografia bibułowa?) dokonany przez Rungego w 1855 r., a następnie adsorpcja niektórych związków na bibule, opisana w 1861 r. przez Schonbeina, mogą, zdaniem Touchstone'a, uchodzić za pierwsze próby praktycznego wykorzystania separacji chromatograficznej. Pierwszeństwo odkrycia procesu zostało również odebrane Cwietowi w chromatografii kolumnowej. Opierając się na własnych poszukiwaniach literaturowych, Touchstone pierwsze próby użycia kolumn datuje na 1897 r., gdy zastosowano ten typ chromatografii do frakcjonowania ropy naftowej. Cwiet prowadził badania nad rozdziałem barwników roślinnych w pierwszych latach XX w. Wyniki opublikował w 1906 r. i właśnie te prace uważa się za pierwsze w dziedzinie rozdziału chromatograficznego [123]. Taka chronologia zdarzeń jest szczególnie bliska Polakom, gdyż Cwiet prowadził swoje badania w Instytucie Fizjologii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

Następne 30–35 lat to okres, w którym o chromatografii praktycznie zapomniano. Oczywiście chemików nadal interesowały możliwości izolacji wybranych związków, ale, chcąc otrzymać grupy związków w większej ilości, stosowali oni głównie ekstrakcję i krystalizację. Chromatografią zaczęto się ponownie interesować w latach trzydziestych. Historycy zgodnie przypisują Ledererowi (1931 r.) ponowne odkrycie procesu. Prace, które prowadził w laboratorium Kuhna w Heidelbergu, miały na celu wyizolowanie izomerycznych karotenoidów z żółtka jaja kurzego. Separację prowadzoną początkowo z użyciem kolumny wypełnionej węglanem wapnia (pomysł zaczerpnięty z prac Cwieta) kontynuowano, posługując się złożem tlenku glinu. Zakończone sukcesem prace Lederera spowodowały wzrost zainteresowania tą techniką również i w innych laboratoriach.

Lata czterdzieste to okres, w którym pojawiła się fundamentalna praca dotycząca cieczonej chromatografii podziałowej. Pomysł Martina, zajmującego się ekstrakcją i rozdziałem związków zawartych w owczej wełnie, sprowadzał się do tego, by unieruchomić jedną z cieczy na porowatym wypełnieniu kolumn, drugą ciecz natomiast stosować jako fazę mobilną. Nasącał on wodą porowatą krzemionkę, a chloroformu używał jako fazy ruchomej. Za prace w tej dziedzinie Martin i Synge zostali uhonorowani Nagrodą Nobla w 1952 r.

Lata sześćdziesiąte to czas opracowywania podstaw wysokosprawnej chromatografii cieczonej. Ważniejsze daty i wydarzenia z historii chromatografii zestawiono w tabeli 14.

Tabela 14. Ważniejsze wydarzenia w historii chromatografii cieczonej [122, 123]

Wydarzenie	Przypisywane osobom	Uwagi
1855–1897. Początki chromatografii, pierwsze próby rozdziału	F.F. Runge, C.F. Schonbein, D.T. Day	nadal sporna jest data wykonania pierwszej chromatografii
1906. Rozdział barwników roślinnych metodą chromatografii kolumnowej	M.S.Cwiert	Instytut Fizjologii Roślin, Uniwersytet Warszawski
1931. Rozdział karotenoidów z żółtka jaja kurzego i z soku marchwiowego	E. Lederer	Kaiser Wilhelm Instytut, Heidelberg, Niemcy
1941. Chromatografia podziałowa, rozdział związków zawartych w wełnie	A.J.P. Martin, R.L.M. Synge	Lab. Wood Ind., Leeds, Anglia
1966. Wysokociśnieniowa chromatografia cieczonej	C. Horvath, S.R. Lipsky	Med. School, Yale University, New Haven, Stany Zjednoczone

Późniejsze prace koncentrowały się na bardziej wyspecjalizowanych metodach separacji, konstruowaniu coraz dokładniejszych aparatów oraz opracowaniu metod analizy chromatogramów. Obecnie terminem „chromatografia” określa się te metody separacji, w których wykorzystuje się zjawisko podziału substancji między dwie fazy: jedną – stacjonarną, a drugą – mobilną [124]. Autor tego opracowania, nie chcąc powtarzać tego, co można znaleźć w wielu monografiach poświęconych chromatografii, zakłada, iż sam proces separacji kolumnowej jest dość dobrze znany Czytelnikowi.

W zależności od oddziaływań występujących w układzie wyróżnia się wiele typów chromatografii. Część z nich zestawiono w tabeli 15. O typie chromatografii decydują zarówno kształt i wielkość cząsteczek, jak i ich oddziaływania z wypełnieniem chromatograficznym. Nie oznacza to wcale, że w konkretnej metodzie chromatograficznej wykorzystuje się tylko oddziaływania jednego rodzaju. Dla przykładu w chromatografii jonowymiennej nie tylko ładunek może powodować różnicowanie substancji. Oprócz rozdziału spowodowanego oddziaływaniami między ładunkami może zachodzić separacja oparta na

wylączeniu objętości czy też na oddziaływaniach hydrofobowych. W stwierdzeniu tym nie ma nic niezwykłego, a jednak często skutki rozdziału chromatograficznego są błędnie przypisywane tylko jednemu mechanizmowi separacji. Podkreśla to Horvath [125], jeden z twórców współczesnych metod chromatograficznych.

Tabela 15. Rodzaje chromatografii oraz czynniki powodujące rozdział cząsteczek [124]

Nazwa chromatografii	Czynniki odpowiedzialne za rozdział związków
Chromatografia żelowa (SEC)	wielkość i kształt cząsteczek
Chromatografia jonowymienna (IEC)	ładunek
Chromatografia oddziaływań hydrofobowych (HIC)	hydrofobowość
Chromatografia odwróconej fazy (RPC)	hydrofobowość
Chromatografia powinowactwa (AFC)	specyficzne powinowactwo związków (ligandów)
Chromatografia kowalencyjna	tworzenie „słabych” wiązań kowalencyjnych (dotyczy głównie merkaptanów)
Chromatografia wykorzystująca odciski molekularne	powinowactwo substancji do jej odcisku „zamrożonego” w polimerze
Chromatografia wymiany ligandów (LEC)	powinowactwo ligandów wymuszane przez inne związki (np. unieruchomione jony)

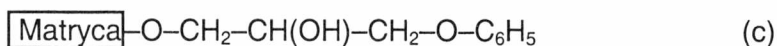
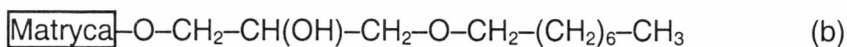
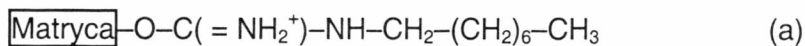
Autor niniejszego opracowania koncentruje się na trzech typach chromatografii: oddziaływań hydrofobowych, powinowactwa oraz chromatografii wykorzystującej polimery zawierające odciski molekularne rozdzielanych cząsteczek, wszystkie te trzy metody wymagają bowiem szczególnie starannego doboru matryc polimerowych. Nie bez znaczenia jest również duża zachowawczość wybranych przez autora metod separacji. Rozdzielone związki zachowują swoją biologiczną aktywność; co decyduje o atrakcyjności tych metod dla współczesnych biotechnologów.

4.2. Chromatografia oddziaływań hydrofobowych

Chromatografia oddziaływań hydrofobowych (*Hydrophobic Interaction Chromatography*, *HIC*) jest niekiedy uważana za jedną z odmian chromatografii powinowactwa [126, 127]. Odkrył ją przypadkowo Hjerten [128], prowadząc badania nad chromatografią powinowactwa. Zauważył on bowiem, że retencja badanych przez niego związków zależała od długości ramienia przestrzennego, tzn. długości łańcucha alkilowego łączącego ligand z powierzchnią nośnika. Te obserwacje doprowadziły do wniosku, że oddziaływania hydrofobowe mogą być wykorzystane do separacji cząsteczek. Zaproponowana nazwa, HIC, przyjęła się, a sama metoda została zaakceptowa-

na. Separacja, w której wykorzystuje się oddziaływania hydrofobowe, opiera się na pracy Tiseliusa [126]. Badał on zachowanie się białek w roztworach o różnej sile jonowej i zauważył, że substancje te wytrącają się z roztworu, gdy stężenie soli jest duże, sorbuja się na nośnikach, gdy siła jonowa jest znacznie mniejsza, a zupełnie nie wiążą się z nośnikami pod nieobecność elektrolitów. Oddziaływania van der Waalsowskie wykorzystał Martin [129] do rozdzielania wyższych kwasów tłuszczowych. Jednak właściwy rozwój separacji opartej na oddziaływaniach hydrofobowych można datować na lata 70. i 80. [126].

Jako złoża chromatograficzne używano sorbentów hydrofobowo-jonowych lub hydrofobowo-obojętnych. Pierwsze z nich otrzymywano zwykle po aktywacji żeli agarozowych bromocyjanem. Następowo wówczas sprzęganie matrycy z alkilami. Drugi typ sorbentów powstawał natomiast w wyniku reakcji eterów glicydowych z matrycą. Sposób wiązania ligandów oktylowych i fenyloowych stosowanych zwykle w chromatografii HIC przedstawiono schematycznie na rys. 19.



Rys. 19. Wiązania typowych ligandów hydrofobowych z matrycą: a) wiązanie ligandu po aktywacji bromocyjanem, b) i c) wiązanie ligandu przez eter glicydyłu

W tabeli 16 zestawiono dostępne handlowo sorbenty stosowane do chromatografii oddziaływań hydrofobowych.

Tabela 16. Dostępne sorbenty do chromatografii oddziaływań hydrofobowych [124,126,130,131]

Dostawca	Nazwa złoża	Grupy funkcyjne	Materiał matrycy
LKB Pharmacia	Phenyl-Sepharose CL-4B	fenylova	agaroza
LKB-Pharmacia	Octyl-Sepharose CL-4B	oktylova	agaroza
Tosoh Corp.	Fractogel TSK Butyl-650	butylova	polimery winylowe
Merck	OctylCelufine	oktylova	celuloza
Tessek	PhenylSeparon	fenylova	polimery akrylowe
Tosoh Corp	PhenylToyopearl	fenylova	polimery winylowe
J.T. Baker	Bakerbond WP HI-Propyl	propylova	krzemionka
Beckman	Sherogel CAA-HIC	metylopolieter	krzemionka
Brownlee Labs	Polybore Phenyl HIC	fenylova	żywica polimerowa

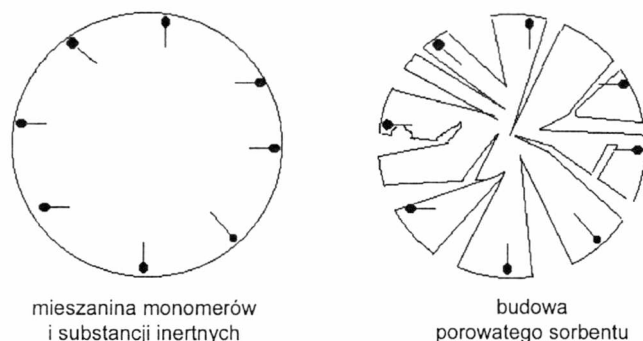
Właściwie wszystkie te sorbenty otrzymuje się przez modyfikację powierzchniową istniejących matryc hydrofilowych. Autor niniejszego opracowania nie zetknął się z opisem metody, która by w jednostopniowej reakcji doprowadziła do otrzymania sorbentów przydatnych do chromatografii oddziaływań hydrofobowych. Jest oczywiste, że brak doniesień literaturowych na temat takich prób nie świadczy o tym, że ich nie podejmowano. Jeżeli nawet takie badania były prowadzone, to starano się nie nadawać im zbyt wielkiego rozgłosu. Obecnie nawet ustalenie rodzaju matrycy polimerowej niektórych sorbentów, gdy utajnianie wiadomości o materiałach jest na porządku dziennym, nie jest rzeczą prostą. Dostępne informacje o „polimerach winylo-owych” tworzących szkielet Toyopearl nie są np. nazbyt precyzyjne, gdyż nazwa ta obejmuje grupę kilkudziesięciu związków (nie licząc kopolimerów czy mieszanin polimerowych). Motywy takiego działania są zrozumiałe. Jeżeli w przemyśle farmaceutycznym czy w biotechnologii separacja zachowawcza wiąże się z krociowymi zyskami, to wiedzą o materiałach używanych w tych procesach nie należy się dzielić.

Autor niniejszego opracowania współuczestniczył w próbach otrzymania sorbentów do HIC w wyniku kopolimeryzacji suspensyjnej monomerów (meta)akrylowych hydrofilowych i hydrofobowych. Otrzymano złoża z następujących mieszanin monomerów: metakrylanu 2-hydroksyetylowego (*hydroxyethyl methacrylate*, HEMA), metakrylanu dodecyłu (*dodecyl methacrylate*, DMA), akrylanu butylu (*butyl acrylate*, BA) oraz dimetakrylanu glikolu etylowego (*ethylene glycol dimethacrylate* EGDMA) [132]. W omawianych badaniach sorbent formowano w postaci ziarnistej, lecz nic nie stoi na przeszkodzie, by, w razie potrzeby, polimer kształtować inaczej. Istnieje możliwość tworzenia sztywnych ziaren z olbrzymimi porami (*gigaporous packings*), które niekiedy wypełnione są żelem o luźnej strukturze (*gel-in-a-shell structures*) [133]. Wypełnienia takie charakteryzują się stosunkowo małym oporem przepływu i dużym rozwinięciem powierzchni kontaktu. Równie dobrze z mieszaniny monomerów można budować wypełnienia monolityczne [134], będące właściwie realizacją struktur gigaporowatych w przestrzeni całej kolumny.

Jak już wspomniano (por. p. 3.3.4.2), o zachowaniu się materiału w danym procesie separacyjnym często decyduje stan jego powierzchni. Jeżeli na powierzchnię hydrofilową wprowadzi się niewielkie ilości ligandu hydrofobowego, to białko będzie sorbowane zgodnie z procedurą HIC. Przeprowadzenie polimeryzacji suspensyjnej monomerów hydrofilowych i hydrofobowych, gdy faza organiczna (mieszanina monomerów i substancji inertnych) jest zdyspergowana w fazie wodnej, umożliwia lokalizację cząsteczek amfifilowych w warstwach przypowierzchniowych. Cząsteczki monomerów po wbudowaniu w rosnący łańcuch polimeru zostają w tych miejscach unieruchomione. W rezultacie otrzymuje się sorbenty zawierające powierzchniowe grupy hydrofobowe. Schematycznie proces ten przedstawiono na rys. 20.

Podaną procedurę zastosowano podczas syntezy sorbentów z (met)akrylanów dodecyłu, butylu, hydroksypropylu i glikolu etylenowego [132]. W obecności różnych

ilości monomerów hydrofobowych otrzymuje się matryce o różnej budowie. Strukturę takich matryc określał autor, badając funkcje rozkładu wielkości porów.



Rys. 20. Schemat jednoetapowej syntezy sorbentów do HIC. Polimeryzacja suspensyjna

Obliczenia wykonał, stosując opracowaną przez siebie metodę porozymetrii chromatograficznej [135]. W tabeli 17 zestawiono właściwości sorbentów otrzymanych przez polimeryzację suspensyjną mieszanin DMA + HEMA + EGDMA, lub BA + HEMA + EGDMA. Zamiast pełnej postaci funkcji rozkładu wielkości porów podano średnią ich wielkość.

Tabela 17. Charakterystyka otrzymanych sorbentów [135]*

Nazwa sorbentu**	Udział monomeru hydrofobowego*** mmol/g	Średnica porów nm	Udział porów w sorbencie %	Chłonność wody g/g
DMA003/1	0,03	57,7	44,5	2,21
DMA009/1	0,09	37,1	28,4	2,23
DMA027/1	0,27	20,7	14,2	2,41
DMA081/1	0,81	~5	9,4	1,91
DMA162/1	1,62	0	0	0,98
BA003/1	0,03	20,6	36,6	—
BA006/1	0,06	20,9	35,9	—
BA012/1	0,12	22,4	40,1	—
BA024/1	0,24	16,9	38,3	—

*Podczas syntezy wszystkich sorbentów stosowano te same ilości związków inertych.

** DMA – metakrylan dodecyli, BA – akrylan butylu.

***Podano w przeliczeniu na masę wszystkich monomerów.

Wraz ze zwiększaniem stężenia metakrylanu dodecyli w otrzymanym sorbencie zmniejszają się wymiary porów. Prawie stała chłonność wody natomiast wskazuje na

zwiększający się udział nieporowatych struktur żelowych. Autor tłumaczy obserwowane zjawisko następująco: dodanie metakrylanu dodecyłu do mieszaniny reakcyjnej powodowało zmiany charakteru powstającego kopolimeru, który był lepiej solwowany przez stosowane w syntezie rozpuszczalniki. Skutkiem tego proces synerezy był wolniejszy, a w powstałej matrycy polimerowej dominowały struktury żelowe. W przypadku stosowania akrylanu butylu autor nie zauważył, aby stężenie monomeru hydrofobowego miało wpływ na budowę sorbentu.

4.2.1. Metody określania hydrofobowości sorbentów stosowanych w HIC

O przydatności sorbentu stosowanego w chromatografii typu HIC oprócz jego budowy porowatej decyduje hydrofobowość powierzchni. W literaturze nie jest łatwo znaleźć sposób na jednoznaczne określenie tej właściwości. Pasechnik [136] opisał metodę opartą na określaniu czasu retencji alkoholi alifatycznych rozpuszczonych w wodzie. Procedura ta umożliwia określenie hydrofobowości sorbentów w jednostkach energetycznych (kJ/mol ugrupowań $-\text{CH}_2-$ z łańcucha alifatycznego alkoholi). Niestety jej stosowanie napotyka spore ograniczenia praktyczne. Wynika to z bardzo małej rozpuszczalności wyższych alkoholi w wodzie (utrudniona detekcja), a także sorpcji cząsteczek na powierzchni fazy stacjonarnej (znaczące spłaszczenie piku). W praktyce w oznaczeniach można posługiwać się trzema lub czterema związkami C_2 – C_5 i to tylko wtedy, gdy sorbenty nie są zbyt hydrofobowe. Z tego powodu wiarygodność otrzymanych wyników często nie jest zadowalająca.

Powyzsze obserwacje zmusily autora monografii do poszukiwania metod bardziej jednoznacznego okreslania hydrofobowosci sorbentow. W badaniach chromatograficznych jako substancje testujace zastosowal on serie aminokwasow o zblizonych wartosciach punktu izoelektrycznego [137]. Zalozył przy tym, ze logarytm wspolczynnika retencji k aminokwasu jest proporcjonalny do iloczynu hydrofobowosci fazy stacjonarnej B i aminokwasu π :

$$\ln k = A + B\pi \quad (19)$$

gdzie A i B są stałymi, współczynnik retencji natomiast oblicza się z równania

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

w którym t_R jest czasem retencji badanego związku, a t_0 – czasem retencji związku wzorcowego nie oddziałującego z fazą stacjonarną.

Autor określił hydrofobowość badanych matryc dla dwunastu aminokwasów i stwierdził, że dość dobrze korelowały one z wielkością określoną za pomocą standardowej metody Pasechnika [136].

Dalsze próby określenia hydrofobowości sorbentów uwzględniały warunki procesu HIC [132]. W swoich obliczeniach autor zastosował model Melandera [138], uwzględniający możliwość występowania zarówno oddziaływań jonowych, jak i hydrofobowych między cząsteczkami a fazą stacjonarną. Oddziaływania te, a właściwie ich zasięg i wielkość, zależą od stężenia soli w fazie mobilnej. Melander [138] stwierdził, że retencję związku k można opisać za pomocą równania:

$$\ln k = A' + B' \ln c + C'c \quad (20)$$

w którym: B' i C' są współczynnikami określanymi jako parametry oddziaływań jonowych i hydrofobowych, natomiast c jest stężeniem soli.

W miarę zwiększania stężenia soli wartość $\ln k$ początkowo maleje, by następnie wzrastać. Wskazuje to na stopniowy zanik oddziaływań jonowych zastępowanych przez coraz silniejsze oddziaływania hydrofobowe. W swojej publikacji autor niniejszej monografii przyjął krytyczne stężenie soli, tj. stężenie, dla którego zaczyna dominować tryb HIC, jako parametr charakteryzujący układ sorbent-sorbant [132]. W obszarze występowania krytycznego stężenia soli można oszacować analitycznie jego wartość. Wyrażając współczynnik retencji za pomocą czasu retencji t_R oraz rozwijając $\ln c$ w szereg potęgowy, równ. (20) można sprowadzić do postaci równania kwadratowego:

$$t_R \cong D + Ec + Fc^2 \quad (21)$$

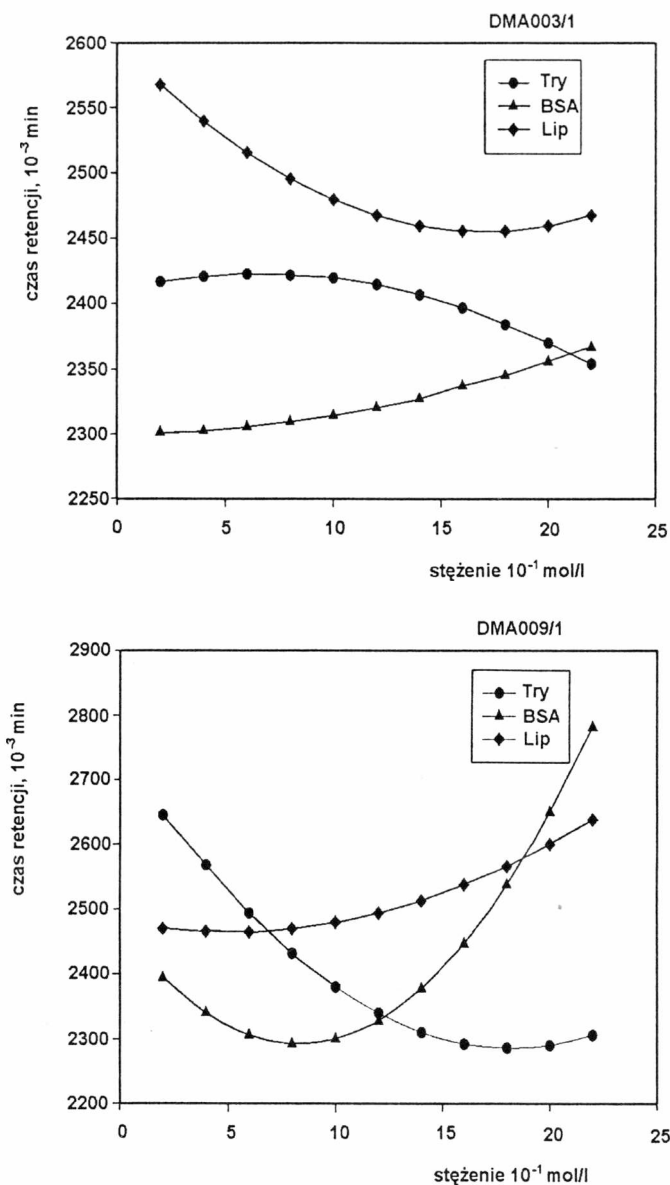
w którym D , E oraz F są stałymi, m zaś stężeniem soli.

Obliczenie minimum zależności, tj. takiego stężenia soli, powyżej którego w układzie dominują oddziaływania hydrofobowe (tryb HIC), nie jest zbyt skomplikowane:

$$c = -\frac{E}{2F} \quad (22)$$

Wartość stężenia krytycznego soli w pewien sposób charakteryzuje testowany sorbent. Nie przypisuje mu się jednak jednej miary hydrofobowości, a raczej relatywizuje ją w zależności od charakteru rozdzielanej substancji. Autorowi opracowania wydaje się, że takie podejście do określania hydrofobowości ma znaczenie praktyczne. Umożliwia ono stwierdzenie, czy dany sorbent będzie mógł być użyty do chromatograficznej separacji konkretnego związku. Aby przybliżyć to rozumowanie, poniżej przedstawiono zmiany czasu retencji trzech białek: trypsyny (Try), albuminy z krwi wołowej (BSA) i lipazy (Lip) w zależności od stężenia siarczanu amonu [132].

Widoczne jest, że białka w różny sposób oddziałują z sorbentem. W przypadku hydrofobowego sorbentu trypsyna jako białko najbardziej hydrofilowe zaczyna oddziaływać z sorbentem DMA009, gdy stężenie soli jest duże. Albumina z krwi wołowej, białko o umiarkowanej hydrofobowości, zaczyna się sorbować w trybie HIC na tym samym sorbencie już dla umiarkowanych stężeń soli. Najbardziej hydrofobowa lipaza natomiast wykazuje już sorpcję hydrofobową, gdy stężenie siarczanu amonu jest niewielkie.



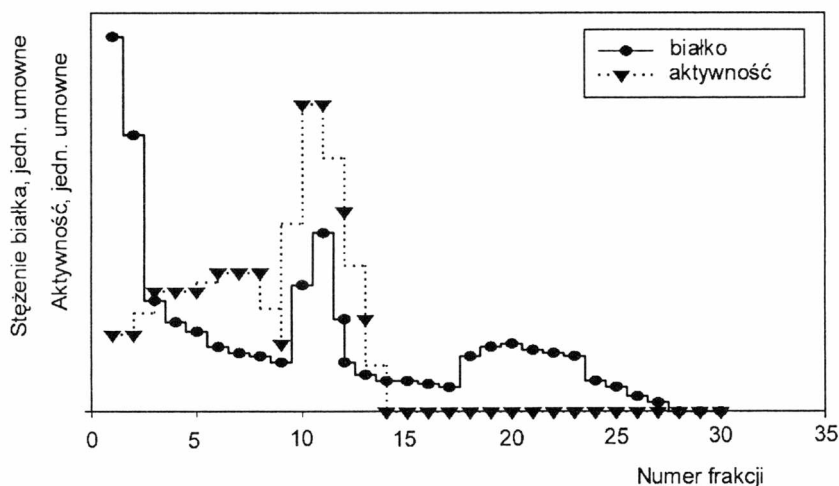
Rys. 21. Zmiana retencji białek na różnych sorbentach w zależności od stężenia siarczanu amonu [132]

Co ciekawsze, białko to sorbuje się w trybie HIC również na bardziej hydrofilowym sorbencie (DMA003). Pozostałe białka nie wykazują takiej właściwości. Z przeprowadzonych badań wynika, że sorbentu DMA009 można używać do frakcjonowania mieszaniny białek. Różne białka będą stopniowo desorbowane z wypełnienia kolumny wraz ze

zmniejszaniem się siły jonowej roztworu. Częsteczki hydrofilowe desorbują wcześniej, natomiast im cząsteczka jest bardziej liofilowa, tym później zostanie odmyta. Autor stwierdził, że krytyczne stężenie siarczanu amonu wynosiło 1,8 M dla trypsyny, 0,8 M dla albuminy i 0,5 M dla lipazy [132].

4.2.2. Zastosowanie sorbentów w oczyszczaniu preparatów białkowych

Testowania sorbentów przeznaczonych do chromatografii oddziaływań hydrofobowych nie można zakończyć na określeniu ich struktury porowatej czy hydrofobowości. Dla potencjalnego użytkownika najważniejszą informacją jest zachowanie się materiału w wielokrotnie powtarzanym procesie. Z tego powodu sorbenty powinny być dokładnie testowane w skali laboratoryjnej. Omawiane kopolimery metakrylanu 2-hydroksyetylu, metakrylanu dodecylu i akrylanu butylu sieciowane dimetakrylanem glikolu etylenowego posłużyły autorowi do separacji lipazy otrzymanej z *Candida rugosa* typ VII (Sigma) [139]. Krzywą elucji dla skokowych zmian stężenia soli przedstawiono na rys. 22.



Rys. 22. Stężenie białka oraz aktywność lipolityczna preparatów podczas chromatograficznego oczyszczania lipazy (*Candida rugosa*, typ VII, Sigma) [139]

W badaniach tych autor stwierdził, że preparat lipazowy podczas jednostopniowej chromatografii na złożach zawierających metakrylan dodecylu zostaje oczyszczony kilkakrotnie. Niestety taki dobór sorbentu jest związany ze stosunkowo małą wydajnością separacji (tabela 18).

Część enzymu zostaje zaadsorbowana na sorbentach zawierających długie łańcuchy alkilowe i nie jest wymywana ze złoża. Sorbenty zawierające akrylan butylu,

o krótszym łańcuchu alkilowym, sorbują mniej enzymu, lecz nie są tak dobrymi separatorami jak matryce z merami DMA. Mają natomiast jedną zaletę: mogą pracować cyklicznie. Autor określił selektywność sorbentów po wykonaniu 10 separacji preparatu enzymatycznego. Nie zauważył większych zmian właściwości separacyjnych testowanych materiałów chromatograficznych [140].

Tabela 18. Oczyszczające frakcjonowanie lipazy w trybie HIC na sorbentach akrylowych [139]*

Nazwa sorbentu	Wydajność procesu, %	Przyrost aktywności preparatu, %
DMA003/1	26	980
DMA009/1	38	520
DMA027/1	60	810
BA006/1	97	720
BA012/1	98	260
BA024/1	86	190

*Wydajność procesu i przyrost aktywności obliczano z bilansu masy i bilansu aktywności preparatu enzymatycznego. Charakterystykę sorbentów podano w tabeli 17.

Przedstawiony cykl badań umożliwił wybór wypełnienia chromatograficznego, które można zastosować w oczyszczaniu lipazy z *Candida rugosa*. Cykl taki musi być powtarzany dla każdego nowego enzymu. Sorbent przydatny do oczyszczania jednego preparatu enzymatycznego niekoniecznie musi być dobry w przypadku innej mieszaniny białek. Autor przekonał się o tym, próbując zastosować omawiane sorbenty do oczyszczania technicznego preparatu acylazy penicylinowej [141]. Używając tych samych sorbentów, nie uzyskał zadowalającego stopnia oczyszczenia preparatu.

Otrzymanie matryc polimerowych z grupami funkcyjnymi niezbędnymi do dalszej modyfikacji jest jednym z najważniejszych powodów powszechnego stosowania polimerów w chromatografii. Duże firmy produkujące sorbenty dawno to już zauważyły. Na rynku dostępny jest preparat Sepharose 4B lub 6B, stosowany jako sorbent do chromatografii SEC. Gdy na jego powierzchnię wprowadzi się grupy karboksylowe lub aminowe, otrzymuje się wymiennicze jonowe (IEC). Gdy zakotwiczone zostaną na niej ligandy hydrofobowe (zazwyczaj ugrupowania oktylowe czy fenyłowe), otrzymuje się sorbenty do HIC. Wprowadzenie ugrupowań kompleksujących metale daje sorbenty przeznaczone do wychwytywania jonów (żywice chelatujące) lub do chromatografii wymiany ligandów (LEC). Ta sama matryca może również służyć do immobilizacji ligandów stosowanych w chromatografii powinowactwa. Dla ułatwienia wiązania odpowiedniego związku obecnie oferowane są wstępnie aktywowane matryce polimerowe (zazwyczaj cyjanobromowane lub aktywowane diwinylosulfo-

nem). Autor niniejszego opracowania, zainteresowany możliwością stosowania tych samych matryc polimerowych w chromatografii różnego typu, współuczestniczył w pracach nad chromatograficzną separacją inhibitorów trypsyny występujących w ziarnach soi (STI) [142]. Wychodząc z dwóch matryc polimerowych, zbudowano złoża do HIC, IEC i AFC oraz badano ich efektywność w separacji STI. Niemodyfikowanych matryc użyto w trybie HIC. Matryce poddane aminolizie etylenodiaminą zastosowano w IEC, a modyfikowane aminą i aktywowane aldehydem glutarowym po immobilizacji trypsyny posłużyły jako sorbenty typu AFC. Otrzymane wyniki separacji zestawiono w tabeli 19.

Tabela 19. Oczyszczanie inhibitorów trypsyny metodami chromatograficznymi [142]

Matryca polimerowa *	Modyfikacja	Rodzaj stosowanej chromatografii	Przyrost aktywności preparatu, %
BA-EGDMA	bez modyfikacji	HIC	170
	etylenodiamina	IEC	230
	trypsyna **	AFC	180
AN-BA-DVB	bez modyfikacji	HIC	140
	etylenodiamina	IEC	230
	trypsyna	AFC	170

* BA-EGDMA – matryca otrzymana z akrylanu butylu i dimetakrylanu glikolu etylenowego, AN-BA-DVB – matryca otrzymana z akrylonitrylu, akrylanu butylu i diwinylobenzenu.

** Trypsynę immobilizowano na matrycy modyfikowanej etylenodiaminą.

Dane przedstawione w tabeli 19 wskazują, że badane inhibitory najlepiej są rozdzielane w chromatografii typu IEC. Równie dobry rozdział uzyska się, gdy matrycę polimerową zastosuje się w chromatografii oddziaływań hydrofobowych. Mimo że chromatografia powinowactwa wydaje się najbardziej odpowiednia dla układu enzym – inhibitor, okazała się ona niewystarczająco efektywna. Jak widać, dysponując nawet jednym typem matrycy polimerowej, stosunkowo łatwo można konstruować różnego rodzaju złoża chromatograficzne. Nie zawsze konieczne jest otrzymywanie kosztownych sorbentów z immobilizowanymi enzymami. W przypadku trypsyny jest to bardzo ważne, gdyż enzym jest bardzo wrażliwy i łatwo ulega inaktywacji w trakcie immobilizowania [143]. Na omówionym przykładzie doskonale widać, że odpowiedni dobór zarówno matrycy polimerowej, jak i warunków procesu daje gwarancje skutecznej separacji.

4.3. Chromatografia powinowactwa

Istota wszystkich procesów przebiegających w świecie ożywionym opiera się na specyficzności oddziaływań między wybranymi cząsteczkami. Bez tej specyficzności

nie byłoby możliwe komunikowanie się organizmów ze światem zewnętrznym, odbieranie sygnałów, rozpoznawanie bodźców, przesyłanie informacji, depolimeryzacja substancji wielkocząsteczkowych i tworzenie nowych struktur, takich jak choćby całe organizmy. Wymienione procesy mogą zachodzić jedynie wtedy, gdy możliwe są oddziaływania między odpowiednimi cząsteczkami, które wzajemnie się rozpoznają. Właśnie na tak pojętej specyficzności i komplementarności opiera się chromatografia powinowactwa (*Affinity Chromatography, AFC*). Gdy jedna z oddziałujących cząsteczek, nazywana dalej ligandem, zostaje związana kowalencyjnie z cząsteczką polimeru, powstaje preparat o specyficznych właściwościach. Wiąże on selektywnie cząsteczki tylko jednego typu, nazywane zwykle przeciwligandami, a powstający związek zawierający kompleks ligandu z przeciwligandem, łatwo jest oddzielić i poddać dalszej obróbce. Rozszerzając pojęcie chromatografii powinowactwa na inne niż biologiczne układy, łatwo dochodzi się do paradoksalnego stwierdzenia, że... właściwie wszystkie rodzaje chromatografii można zaliczyć do chromatografii powinowactwa. Wystarczy tylko odpowiednio zdefiniować „oddziaływania specyficzne”. Przecież takimi oddziaływaniami w chromatografii HIC czy RPC są oddziaływania hydrofobowe. O specyficzności chromatografii kowalencyjnej świadczy możliwość wystąpienia odpowiednich wiązań. Nawet w chromatografii żelowej, w której z założenia nie powinny występować żadne oddziaływania, możemy mówić o specyficznej roli wymiarów cząsteczek względem wielkości porów. Gdy cząsteczki są mniejsze niż pory, są zatrzymywane w fazie stacjonarnej i wymywane później niż cząsteczki duże. W takim przypadku wypełnienie chromatograficzne jest specyficzne dla cząsteczek, które mają wymiary mniejsze od wielkości porów. Większe cząsteczki przechodzą przez wypełnienie kolumny bez zakłóceń – nie jest ono dla nich „specyficzne”. Pewne wątpliwości pojawiają się przy próbie klasyfikacji chromatografii jonowymiennej. Ze względu na mechanizm wymiany jonów, który powinien odbywać się w ilościach stechiometrycznych, Carlsson [144] nie zaliczył tej chromatografii do szeroko pojmowanej chromatografii powinowactwa. Jednak, gdy dochodzi do sorpcji związków jonowych, powyższe zastrzeżenie traci sens. Można zatem termin „chromatografia powinowactwa” zastosować i do chromatografii jonowymiennej.

Zwyczajowo chromatografią powinowactwa przyjęło się nazywać te procesy, w których ma się do czynienia z parami ligand–przeciwligand występującymi w naturze. Pojęcie to niekiedy rozszerza się, aby uwzględnić substancje syntetyczne naśladujące funkcje ligandów naturalnych [144]. Z czysto praktycznego punktu widzenia takie właśnie rozumienie chromatografii powinowactwa jest bliskie autorowi tego opracowania i w takim kontekście będzie tej nazwy używał w następnych rozdziałach. Pary typowych układów ligand–przeciwligand zestawiono w tabeli 20.

Oczywiście matrycą, do której przyłączono ligandy, nie zawsze musi być polimer w fazie stałej. Dość dobrze nadają się do tego duże, zwykle rozpuszczalne w wodzie, makrocząsteczki polielektrolitów lub polimerów niejonowych [145]. W tym przypadku proces separacji powinien być sprzężony z ultrafiltracją. Utworzone kompleksy

ligandu z odpowiednimi przeciwliganami, zakotwiczone na makrocząsteczkach, zostają zatrzymane na membranach porowatych. Reszta składników mieszaniny zostaje usunięta z układu w procesie diafiltracji.

Tabela 20. Przykłady związków tworzących pary komplementarne w układach biologicznych, przydatnych w chromatografii powinowactwa [144]

Ligand	Przeciwligand
Przeciwciało	antygen, wirus, komórka
Enzym	substrat, produkt, inhibitor, co-faktor, co-enzym
Lektyna	glikoproteiny, polocukry
Hormony	białka receptorowe, przekaźniki
Witaminy	przenośniki białkowe

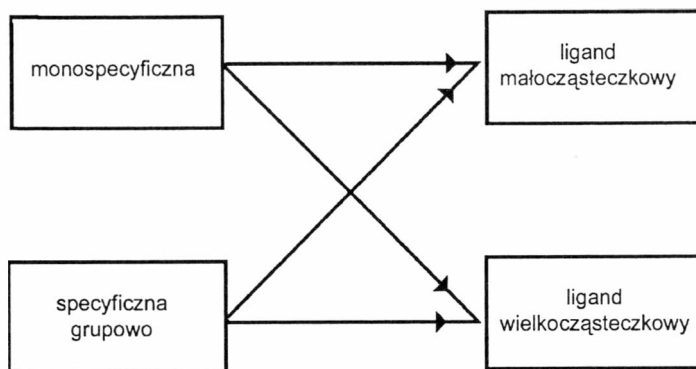
Niekiedy proces ten nazywa się membranową chromatografią powinowactwa, ale czy sama nazwa zmienia istotę procesu? Czy dążenie do nadawania każdemu zjawisku jego własnej nazwy nie prowadzi do niepotrzebnego chaosu? Jak nazwać separację membranową prowadzoną z użyciem polimerów termoczulych [146] – *termoczulą membranową chromatografią powinowactwa*? W procesie tym w niższej temperaturze polimery ze związanym ligandem są całkowicie rozpuszczalne w wodzie. W takich warunkach zachodzi kompleksowanie przeciwliganów. Po ogrzaniu termoczule polimery wytrącają się z roztworu, a wraz z nimi wytrącają się związane z nimi przeciwliganami. Oddzielenie roztworu od wytrąconych polimerów nie stanowi już technicznie większego problemu. Zwykle stosuje się filtrowanie, wirowanie czy sedymentację. Prosty sposób prowadzenia separacji w żaden sposób nie znajduje odbicia w jego nazwie.

Ligandy stosowane w separacji powinny wykazywać stosunkowo dużą zdolność do kompleksowania, by wyłapywanie przeciwliganu przebiegało z odpowiednią selektywnością. Jednak trwałość kompleksów nie może być zbyt duża, gdyż w drugim etapie separacji konieczne jest jego rozbicie i odzyskanie związanej substancji. Proces rozpadu powinien być prowadzony w miarę łagodnych warunkach, by zarówno substancja, jak i ligand nie traciły swoich właściwości.

Dalsza klasyfikacja chromatografii powinowactwa opiera się na specyficzności i wielkości cząsteczek stosowanego ligandu. Wyróżnia się typy chromatografii oparte na ligandach monospecyficznych (względem jednego związku) lub grupowo specyficznych (względem całej ich grupy). Ligandy mogą być z kolei mało- lub wielkocząsteczkowe. Schematycznie przedstawiono to na rys. 23.

Właściwie w tym etapie klasyfikacja chromatografii powinowactwa powinna zostać zakończona, choć można jeszcze podejmować pewne próby wyróżnienia typów AFC, uwzględniając rodzaje grup funkcyjnych biorących udział w łączeniu ligandu z polimerem. Zarówno ze strony ligandu, jak i polimeru w wiązaniu mogą brać udział

grupy hydroksylowe, karboksylowe i aminowe. Inne grupy wykorzystywane są raczej sporadycznie i w wyjątkowych okazjach. Sposobów wiązania ligandu z polimerem za pośrednictwem wymienionych grup jest na tyle dużo, że praktycznie nie poddają się one dalszej klasyfikacji. Nie ma zresztą takiej potrzeby. W większości przypadków o wyborze metody immobilizacji decyduje doświadczenie eksperymentatora. Mechanizm wiązania trypsyny z matrycami akrylowymi, np. wykorzystywany w celu otrzymania złoża do oczyszczania inhibitorów trypsyny [142], może stanowić przedmiot oddzielnego opracowania [143].



Rys. 23. Możliwe typy ligandów stosowanych w chromatografii powinowactwa

Nie jest bowiem łatwo określić metody immobilizacji, tak by dla zadanej matrycy polimerowej otrzymać preparat enzymatyczny o największej aktywności. Jednak nie świadczy to o tym, że procedury immobilizacji enzymów wymagają wyłącznie intuicji. Obowiązują w nich pewne ustalone reguły. Od matrycy polimerowej wymaga się by:

- miała grupy funkcyjne, do których możliwe jest przyłączanie cząsteczki ligandu,
- była makroporowata, tak by nie zachodziła separacja typu SEC,
- była hydrofilowa i neutralna (brak możliwości chromatografii HIC i IEC),
- polimer był odporny chemicznie i łatwo dostępny.

Ligand nie powinien zmieniać właściwości po immobilizacji, a miejsce przyłączenia do matrycy polimerowej musi znajdować się daleko od centrum aktywnego (lub regionu występowania specyficznych oddziaływań). Czasami w celu odsunięcia ligandu od powierzchni sorbentu polimerowego* stosowane są tzw. wysięgniki (ramiona przestrzenne). Ich wpływ na zjawisko separacji też powinien być określony. Zwrócił na to uwagę Hjerten [128], wiążąc retencję związków z długością alkilowego wysięgnika.

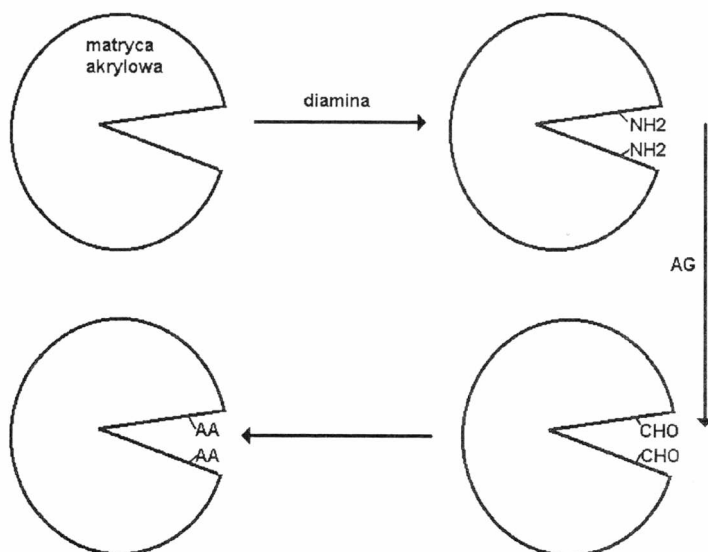
Opracowano wiele metod [147] aktywacji złożów przeznaczonych do chromatografii powinowactwa. Szczegółowy ich opis znajdzie Czytelnik w literaturze źródłowej.

* Wpływ powierzchni na zachowanie się grup funkcyjnych omówiono w p. 3.3.4.2.

Jeśli rozpatrzyć procesy prowadzone na skalę przemysłową, to zaskakuje jedna, powtarzająca się prawidłowość. Jako matryce polimerowe stosowane są polimery naturalne. Wydaje się, że ma to dwie przyczyny: po pierwsze jest nią przyzwyczajenie; materiały naturalne wprowadzono do sprzedaży jako pierwsze i odbiorcy nauczyli się z nimi postępować, a po drugie – obawa przed nieznanym. Tworzywa sztuczne jako materiały nie cieszą się zbyt dobrą sławą. Nie ma pewności, czy pewna ich część nie przedostanie się do produktu i nie wpłynie na jakość końcowego wyrobu. Z tego powodu w procesach AFC stosowanych w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym czy w biotechnologii zazwyczaj używa się matryc polocukrowych. Jedną z takich metod immobilizacji autor niniejszego opracowania starał się zastosować do wydzielania cystatyny z mieszaniny białek [148].

Przypuszcza się, że cystatyna może być preparatem hamującym wzrost komórek nowotworowych [149]. Bogatym źródłem tego inhibitora jest białko jaja kurzego. Ze względu na obfitość surowca zrozumiałe jest poszukiwanie metod pozyskiwania z niego inhibitora. Duże powinowactwo cystatyny do papainy [150], proteazy otrzymywanej z owoców drzewa papaya, może być z powodzeniem wykorzystane do otrzymywania selektywnego złoża stosowanego w AFC. Obiekt badań jest tym bardziej interesujący, że papaina jest tanim i dostępnym enzymem. Próby otrzymania złóż z immobilizowaną papainą przeprowadzono, stosując mikrokryształiczą celulozę jako matrycę. Złoże celulozowe poddano łagodnemu utlenieniu w roztworze nadjodanu potasowego. Otrzymane grupy aldehydowe łączono ze wstępnie aktywowaną papainą (aktywacja polegała na rozbijaniu mostków disiarczkowych w dimerycznej cząsteczce proteazy za pomocą cysteiny). Immobilizowany preparat odmywano dużą ilością wody, zmieniając siłę jonową i pH roztworu. Otrzymano w ten sposób sorbent z immobilizowaną papainą, który użyto do wydzielania cystatyny z białka jaja kurzego. Reakcja tworzenia kompleksu jest na tyle specyficzna, że cząsteczki inhibitora są selektywnie wyłapywane z mieszaniny białek. Niestety dysocjacja kompleksu musi być prowadzona w ostrych warunkach [151], w których papaina ulega denaturacji, część enzymu odłącza się od podłoża celulozowego, a sama matryca polimerowa ulega degradacji. Otrzymany preparat cystatynowy jest co prawda nieco oczyszczony (pięciokrotne zwiększenie aktywności właściwej), ale sorbent nie nadaje się do ponownego użycia. Na tym przykładzie widać wyraźnie, jak niepożądana może okazać się zbyt duża specyficzność ligandu. Jednak specyficzność wiązania można w pewien sposób „osłabić”. Autor współuczestniczył w badaniach, w których zastosowano dość ciekawy sposób realizacji tego pomysłu [148]. Podjęto w nich próby otrzymania sztucznego centrum aktywnego papainy, które z racji samych zabiegów syntetycznych nie będzie aż tak specyficzne względem cystatyny. Z literatury wiadomo, że wiązanie inhibitora z enzymem odbywa się przez wnikanie fragmentu cystatyny w kieszeń enzymatyczną papainy. Fragment ten, przyjmujący kształt klina, ma odpowiedni zestaw aminokwasów na swoim wierzchołku. Są to fenyloalanina, tryptofan, cysteina i walina. Gdyby zatem cząsteczkami tych aminokwasów obsadzić powierzchnie po-

rów, wówczas można by otrzymać syntetyczne analogi centrum aktywnego papainy. Idąc dalej tym tropem, gdyby zmodyfikować aminokwasami powierzchnie porów w sorbencie o dużym zróżnicowaniu ich wymiarów, istnieje szansa, że część z nich będzie spełniała funkcje syntetycznego analogu kieszeni enzymatycznej. Schematycznie proces przygotowania takich analogów przedstawiono na rys. 24.



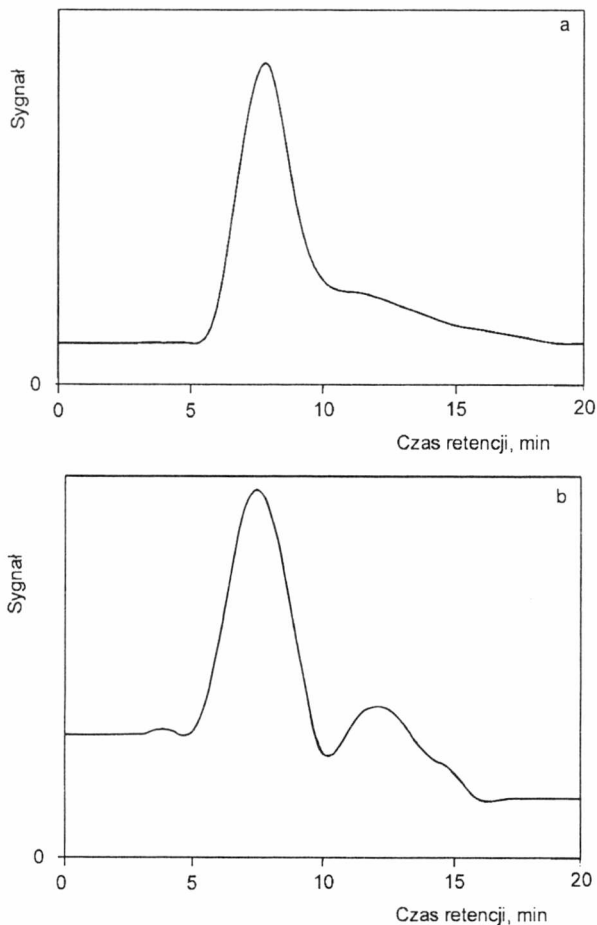
Rys. 24. Schemat syntezy analogów papainy:
AG – aldehyd glutarowy, AA– aminokwasy [148]

Testowanie otrzymanych sorbentów prowadził autor w warunkach chromatografii izokratycznej. Po przepuszczeniu przez kolumnę roztworu białek i dokładnym odmyciu ich nadmiaru z kolumny eluowano zaadsorbowane białka przez wprowadzenie małych ilości etanolu. Zmiany właściwości fazy mobilnej wystarczyły na rozbicie słabego kompleksu sorbent (a właściwie analog centrum aktywnego) – inhibitor. Otrzymane chromatogramy przedstawiono na rys. 25.

Mimo że aminokwasy są przypadkowo rozłożone na powierzchni porów, a przez to niezbyt idealnie wpasowują się w kształt „kлина” cystatyny, to proces przebiega z dobrą efektywnością. Otrzymano frakcję o aktywności właściwej 200 razy większej niż preparatu wyjściowego, podczas gdy w chromatografii powinowactwa z papainą immobilizowaną na nośniku celulozowym współczynnik oczyszczenia wynosił zaledwie 5.

Jeszcze jedna wielkość charakteryzuje otrzymany sorbent – jego trwałość. Matryca akrylowa, która posłużyła do stworzenia syntetycznego analogu centrum aktywnego, może być używana wiele razy. Sorbent celulozowy natomiast można wykorzystać tylko jeden raz. Ze względu na ekonomikę procesu wybór materiału nie powinien podlegać dyskusji. Niestety pozostaje jeszcze drugi czynnik – obawa potencjalnych

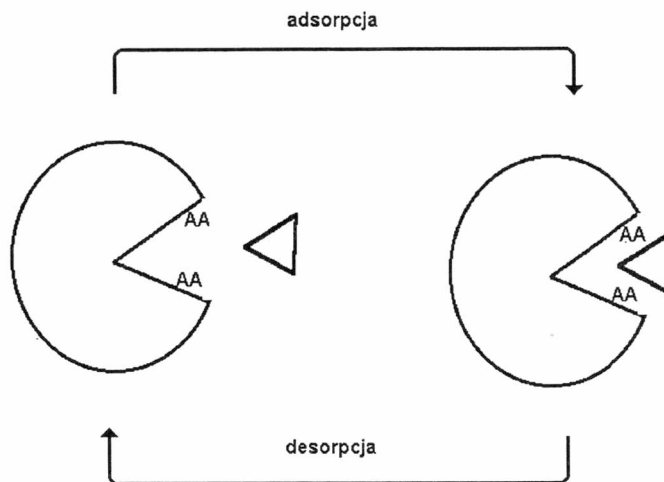
użytkowników przed polimerami syntetycznymi. Przełamanie tej bariery nie będzie łatwe. Sama niechęć do stosowania polimerów syntetycznych wydaje się autorowi dość zaskakująca w czasach, gdy powszechnie stosowane soczewki kontaktowe i wypełnienia dentystyczne wykonuje się z polimetakrylanów i poliakrylanów.



Rys. 25. Chromatogramy otrzymane podczas separacji cystatyny z zastosowaniem sorbentów z syntetycznymi analogami centrum papainowego: a) odmywanie kolumny, b) desorpcja etanolem; druga z wymywanych frakcji to oczyszczona cystatyna [148]

Na rysunku 26 przedstawiono schemat działania otrzymanych sorbentów. Trwałość kompleksu sorbent–cystatyna jest na tyle mała, że w prosty sposób można go rozłożyć. Jednak specyficzność sorbentu jest na tyle duża, że z mieszaniny wychwytywany jest tylko jeden typ białka.

Przedstawioną metodę tworzenia syntetycznych analogów cząsteczek odpowiedzialnych za specyficzne oddziaływania z przeciwliganem można zaliczyć do jedne-



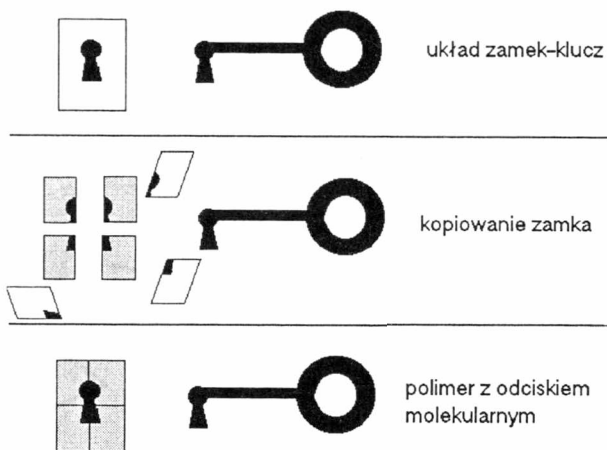
Rys. 26. Schemat działania sorbentu z syntetycznym analogiem centrum aktywnego

go z ciekawszych sposobów wykorzystywania polimerów we współczesnych technologiach. Metody takie są znane od ponad dwudziestu lat, a otrzymane złoża nazywa się polimerami z odciskami molekularnymi (*Molecularly Imprinted Polymers, MIP*).

4.4. Polimery z odciskami molekularnymi

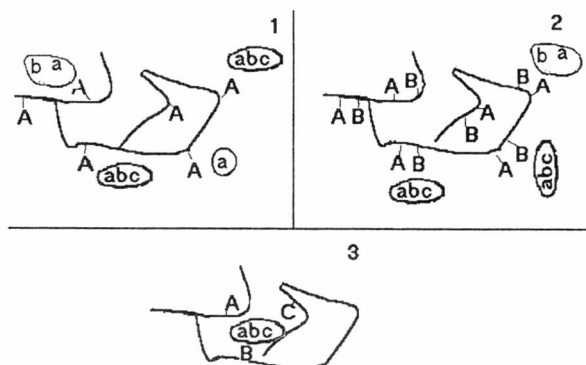
Jeżeli specyficzność układu ligand–przeciwligan przyrówna się do zestawu zamek–klucz, to tworzenie struktur typu MIP przypomina przygotowanie kopii zamka, jeśli dysponuje się pasującym do niego kluczem. Kopie te są otrzymywane metodą „na pasówkę”, jeżeli nie razi Czytelnika ten złodziejski żargon. Schematycznie proces ten pokazano na rys. 27.

Wulff, jeden z pionierów syntezy materiałów typu MIP [152] opisuje rozumowanie, które doprowadziło do powstania polimerów z odciskami molekularnymi. Wydaje się ono warte przytoczenia. Dla nikogo nie jest tajemnicą, że za selektywność w chromatografii powinowactwa odpowiedzialne są oddziaływania między grupami funkcyjnymi ligandu i przeciwliganu. Chcąc otrzymać selektywne sorbenty, należy jedynie rozmieścić w odpowiednich miejscach przestrzeni właściwe ugrupowania, i to tak, by nie mogły one się przemieścić. Jednym ze sposobów realizacji tej idei jest użycie polimerów. Niestety typowe polimery zwykle mają jeden rodzaj grup funkcyjnych usytuowanych wzdłuż łańcucha.



Rys. 27. Schemat tworzenia polimeru z odciskiem molekularnym

Można oczywiście budować polimery, które mają dwie lub więcej grup rozmieszczonych w określony sposób (polimery naprzemienne lub blokowe). Jednak taka geometria polimeru może okazać się niewystarczająca do otrzymania sorbentu o odpowiedniej lokalizacji grup funkcyjnych. Tym bardziej że zazwyczaj wymagane jest właściwe rozmieszczenie ugrupowań w przestrzeni trójwymiarowej. Takie uporządkowanie można osiągnąć, używając cząsteczek wzorcowych (kluczy) i zabudować polimerem przestrzeń wokół nich (tworzyć zamek). Rozumowanie Wulffa można przedstawić schematycznie w sposób pokazany na rys. 28.



Rys. 28. Schemat sorpcji w zależności od typu grup funkcyjnych polimeru.

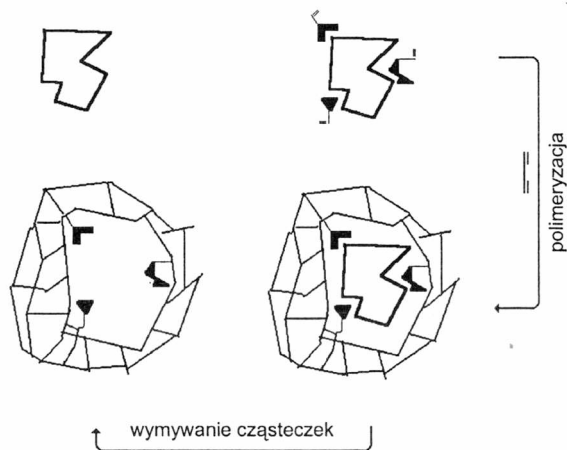
Małymi literami oznaczono rozmieszczenie grup funkcyjnych w rozdzielanym związku, dużymi – komplementarne grupy znajdujące się w polimerze.

Przypadek 1 – oddziaływania a–A, możliwość separowania związków a, ab i abc.

Przypadek 2 – oddziaływania a–A i b–B, możliwość separowania związków ab i abc.

Przypadek 3 – oddziaływania a–A, b–B i c–C, separowanie związków abc [152]

Cząsteczki substancji rozdzielanej mają zwykle wiele grup funkcyjnych. Dotyczy to głównie związków aktywnych biologicznie. Wokół nich układają się (agregują) inne molekuly, a ich lokalizacja przestrzenna jest wymuszana usytuowaniem grup funkcyjnych wzorca. Gdy komplementarne grupy znajdują się na monomerach, na skutek polimeryzacji zostają unieruchomione w odpowiednich miejscach przestrzeni. Powstaje przestrzenna replika cząsteczki wzorca, a matryca polimerowa przypomina jej negatyw. Z chwilą, gdy z matrycy usunie się cząsteczki-wzorce, utworzone wolne przestrzenie staną się dostępne dla cząsteczek podobnych (lub wręcz takich samych) jak te, które zostawiły swój ślad. Właśnie ta pusta wnęka, ten odcisk molekularny ma powinowactwo do jednego rodzaju struktur. MIP może się zachowywać jak swoisty sorbent w chromatografii powinowactwa. Zaletą metody tworzenia matryc z odciskami molekularnymi jest to, że w tym samym polimerze można „zapisać” różne struktury przestrzenne, a przez to otrzymać wiele specyficznych sorbentów. Schemat otrzymywania sorbentów typu MIP przedstawiono na rys. 29. Wyjaśnia on mechanizm tworzenia struktur przestrzennych – analogów specyficznych ligandów.



Rys. 29. Schemat powstawania struktur typu MIP

Syntezę matryc zawierających odciski molekularne można podzielić na trzy etapy.

W pierwszym z nich na skutek różnych oddziaływań dochodzi do swoistego organizowania się cząsteczek. Czasami taka organizacja jest dodatkowo wymuszana. Addukty tworzone między cząsteczkami wzorca a monomerami wykorzystują słabe wiązania kowalencyjne. Addukt polimeryzuje, a po jej zakończeniu można go rozłożyć przez zerwanie tworzących go wiązań. Metoda ta ma jednak ograniczenia. Odwracalne addukty mogą tworzyć się jedynie z udziałem nielicznej grupy wzorców. Ogranicza to znacznie możliwości stosowania tej procedury do tworzenia matryc z cząsteczkami, które spełniają określone warunki. Z tego powodu coraz częściej prowadzi się badania nad syntezą MIPów z mieszanin monomerów i wzorców bez

konieczności tworzenia przejściowych adduktów. Przyjmuje się, że oddziaływania między grupami funkcyjnymi monomerów a cząsteczką wzorca są na tyle silne, że determinują rozmieszczenie monomerów w przestrzeni.

W drugim etapie syntezy prowadzi się polimeryzację mieszaniny reakcyjnej, złożonej z monomerów mono- i wielofunkcyjnych. Cząsteczki wzorca są „obudowywane” przez usieciowaną matrycę polimerową, która, zaciskając się wokół wzorca, uniemożliwia przemieszczanie się grup funkcyjnych. Matryca polimerowa nie może być jednak za sztywna. Cząsteczki „wzorca” powinny mieć możliwość opuszczenia jej, a w przypadku stosowania polimeru jako sorbentu – wnikania do powstałych wolnych przestrzeni.

W trzecim etapie syntezy cząsteczki „wzorców” są usuwane z matrycy polimerowej. W przypadku tworzenia struktur wykorzystujących wiązania niekowalencyjne stosuje się ekstrakcję, gdy natomiast „wdrukowywanie” prowadzono za pomocą adduktów, matrycę poddaje się obróbce chemicznej powodującej zrywanie odpowiednich wiązań (może być nią np. hydroliza).

W swoich pierwszych pracach Wulff twierdził, że głównym czynnikiem wywołującym selektywność sorbentu typu MIP jest kształt powstałych odcisków. Zadaniem grup funkcyjnych w polimerze było przestrzenne ustawienie cząsteczki, tak by mogła się dopasować do odpowiedniej wnęki. Rozdział związków optycznie czynnych, którymi przede wszystkim Wulff się interesował [113], wynikał z asymetrycznej budowy cząsteczek. Powstające odciski powinny mieć asymetryczną budowę. Wulffowi udało się ją zmierzyć. Późniejsze badania separacji innych grup związków, prowadzone głównie przez Mosbacha [115], dowiodły, że nie tylko kształt odcisków molekularnych w matrycy polimerowej, ale i obecność w nich odpowiednich ugrupowań, wpływa na selektywność separacji. W przypadku współuczestniczenia oddziaływań jonowych w separacji optycznie czynnych aminokwasów selektywność sorbentów MIP była kilkakrotnie większa niż wtedy, gdy opierała się jedynie na geometrii odcisków. Stwierdzono również, że orientacja grup funkcyjnych we wnękach matrycy polimerowej umożliwia separację struktur innych niż „wzorzec” [153]. Warunkiem było, aby rozdzielane związki miały podobne elementy budowy. Tak więc stosując L-feniloalaninę jako „wzorzec”, otrzymano sorbent selektywny do fenyloglicyny, tyrozyny lub amidu feniloalaniny. Obecnie przyjmuje się, że selektywność sorpcji na polimerze typu MIP determinują zarówno geometria, jak i oddziaływania między grupami funkcyjnymi. Piletsky [112] podjął próbę opisu termodynamiki sorpcji i podał następujący warunek energetyczny tworzenia kompleksów odcisk–cząsteczka:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta G_{t+r} + \Delta G_h + \Delta G_{\text{vib}} + \Delta G_p + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{vdW}} < 0 \quad (23)$$

gdzie ΔG_{bind} – zmiana swobodnej energii Gibbsa na skutek tworzenia kompleksu, ΔG_{t+r} – zmiana energii translacyjnej i rotacyjnej na skutek ograniczenia ruchliwości cząsteczki we wnęce, ΔG_h – zmiana energii na skutek oddziaływań hydrofobowych w kompleksie, ΔG_{vib} – zmiana energii wibracyjnej cząsteczki, ΔG_p – zmiana energii na

skutek oddziaływań grup polarnych w kompleksie, ΔG_{conf} – zmiana energii wynikająca ze zmian konformacji cząsteczki we wnętrzu, ΔG_{vdw} – zmiana energii oddziaływań van der Waalsa.

Postać tego równania wskazuje na bardzo skomplikowany mechanizm procesu selektywnej sorpcji we wnękach molekularnych. Zależy ona od tak wielu czynników, że systematyczne ich badanie zajmie jeszcze sporo czasu. Ustalono już pewne generalne reguły dotyczące syntezy polimerów typu MIP [112, 154]:

- Cząsteczka stosowana jako wzorzec powinna być dostatecznie sztywna. Nie powinno się stosować cząsteczek mogących przyjmować wiele konformacji przestrzennych. Dotyczy to również wszelkich form ich izomerii.

- Im więcej oddziaływań występuje między monomerami a cząsteczką wzorca i im większa jest ich energia, tym utworzony MIP będzie bardziej selektywny. Wiązania między cząsteczką a utworzonym odciskiem powinny być odwracalne. W selektywnym „rozpoznanianiu” cząsteczki powinny uczestniczyć oddziaływania różnego typu.

- Polimer powinien być gęsto usieciowany, gdyż utworzona wnęka nie może zmieniać swej budowy z upływem czasu. Sieć jednak nie może być zbyt sztywna. Musi dochodzić do wymywania cząsteczek „wzorca”, a molekuly separowanego związku powinny mieć możliwość wnikania do wnęk.

- Proces tworzenia sorbentu powinno się prowadzić w warunkach zbliżonych do tych, w jakich sorbent będzie używany. Omija się w ten sposób problem przebudowy odcisku spowodowany różnicami w pęcznieniu (solwatacji) polimeru.

Do wręcz zaskakujących wniosków doszli Katz i Davis [155]. Badali oni stopień agregacji monomerów wokół cząsteczki wzorca. Dla klasycznego już układu kwas metakrylowy (monomer)–dimetakrylan glikolu etylenowego (środek sieciujący)–anilid L-fenylalaniny (wzorzec) stwierdzili oni powstawanie kompleksu typu 1:1, tj. jedna cząsteczka monomeru kompleksuje jedną cząsteczkę wzorca. Autorzy ci nie zauważyli wyższych stopni agregacji. Biorąc dodatkowo pod uwagę zachowanie się MIP-ów w zależności od temperatury, Katz i Davis doszli do wniosku, że za rozdział enancjomerów (a zatem za stereoselektywność sorbentu) są odpowiedzialne cząsteczki wzorca zaokludowane w matrycy polimerowej. Otrzymany MIP jest podobny do chiralnych faz stacjonarnych (*Chiral Stationary Phase, CSP*) zawierających chiralne selektory. Zapewne uwaga ta nie dziwi osób zajmujących się chromatograficznym rozdziałem związków optycznie czynnych. W literaturze znane są przypadki stosowania achiralnych faz stacjonarnych do separacji antypodów optycznych [156]. Tajemnica działania tego typu układów tkwi w sorpcji. Jedną z form izomerycznych sorbowana jest selektywnie na powierzchni wypełnienia. Po sorpcji, chiralna (już!) faza stacjonarna zdolna jest do różnicowania izomerów optycznych.

Prócz tych dość odosobnionych głosów wskazujących na możliwość popętnienia błędów i przestrzegających przed wpadaniem w zbyt wielką euforię dominuje pogląd, że stosowanie polimerów z odciskami molekularnymi może okazać się przydatne w separacji wielu związków. W styczniu 2000 r., po wprowadzeniu do bazy *Medline*

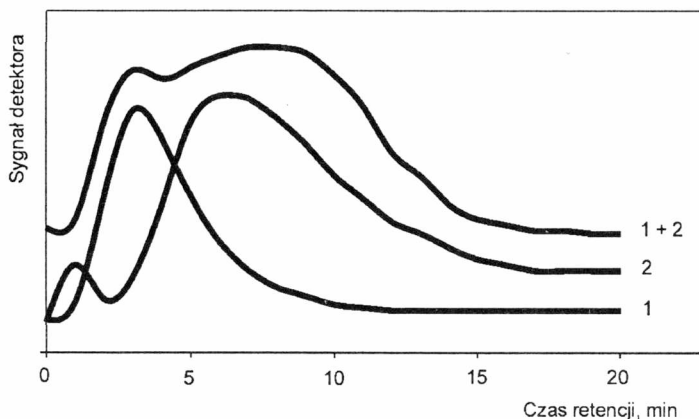
hasła *molecularly imprinted polymer*, autor otrzymał dziesiątki informacji o opracowaniach dotyczących zastosowania MIP. Dotyczyły one nie tylko sorbentów stosowanych do rozdzielania związków optycznie czynnych. Część publikacji była związana z tworzeniem selektywnych czujników lub rozdzielaniem typu *solid phase extraction*. Duża grupa prac dotyczyła badań nad selektywnymi odciskami działającymi jak swoiste katalizatory.

Mimo wielu prób tworzenia matryc typu MIP zgodnie z omówionymi procedurami stwierdzono, że jedynie niewielka frakcja odcisków jest wystarczająco selektywna [152]. Większość charakteryzuje się stosunkowo małym powinowactwem do rozdzielanych związków. Wskazuje to na znaczną przypadkowość prowadzonych badań. Wulff [152] twierdzi, że nie więcej niż 25% grup funkcyjnych zostaje właściwie rozmieszczonych w odcisku i bierze udział w separacji. Reszta zostaje wbudowana w obszary niewiążące sorbentu lub też, znajdując się nawet na powierzchni wnęki, jest ustawiona w niewłaściwym kierunku. Otrzymuje się zatem sorbenty z szerokim zakresem wartości stałej kompleksowania. Czasami mogą się one różnić o kilka rzędów [157, 158]. Jednak nie zawsze duże powinowactwo sorbentu do rozdzielanego związku jest pożądane. Przykładem niech będzie omawiana w poprzednim rozdziale separacja cystatyny. Ze zbyt dużej stałej kompleksowania wynikała konieczność stosowania brutalnych metod rozbijania kompleksów, co było przyczyną utraty części aktywności biologicznej (zniszczenia struktury) wydzielanego związku.

W przypadku MIP-ów stosowanych do separacji izomerów optycznych, szczególną uwagę należy zwrócić na właściwy dobór warunków chromatografii. Zmieniając skład fazy mobilnej, wpływa się na energię oddziaływań między grupami funkcyjnymi sorbentu i sorbatu. Dotyczy to również miejsc biorących udział w separacji – odcisków molekularnych. Może dochodzić do złamania jednej z reguł syntezy MIP-ów, gdy sorbent jest używany w innym środowisku niż był otrzymywany. W takim przypadku odpowiednio dobrane warunki procesu na równi z właściwościami samego sorbentu zapewniają powodzenie separacji. Świadczą o tym np. uzyskane przez autora wyniki badań optycznie czynnych alkaloidów [159]. Otrzymał on sorbent zawierający odciski molekularne cynchoniny, jednego z izomerów optycznych alkaloidów z grupy *Cinchonia*. Do syntezy zastosował typową procedurę polimeryzacji suspensyjnej kwasu metakrylowego (monomer) i dimetakrylanu glikolu etylenowego (środek sieciujący). Sprawność separacji badał chromatograficznie, wprowadzając na kolumnę cynchoninę, jej antypodę optyczną, cynchonidynę oraz mieszaninę obu alkaloidów. Autor zauważył, iż separacja zachodzi wyłącznie wtedy, gdy faza mobilna zawiera 20% wody i 80% acetonitrylu (rys. 30).

Obserwowane zjawisko dość dobrze tłumaczy „efekt trzech palców”, stosowany przez Davankova [160] do wyjaśnienia rozdzielania związków optycznie czynnych. Badacz ten, rozważając separację na złożach CSP, podaje, że czynnikiem determinującym rozdział jest występowanie oddziaływań w kilku kierunkach między chiralnym selektorem a jednym z izomerów. Różnicowanie cząsteczek ze względu na ich asy-

metrię zachodzi wtedy, gdy pojawiają się trzy niewspółosiowe oddziaływania, przy czym energia tych oddziaływań powinna być porównywalna. Dobierając skład fazy mobilnej, reguluje się energię oddziaływań. W przypadku omawianej chromatografii alkaloidów prawdopodobnie dochodzi do takiego wyrównania energii oddziaływań w mieszaninie woda–acetonitryl w stosunku 20:80. Tworzą się warunki, w jakich mogą się ujawnić właściwości sorbentu. Nie tylko zatem wpasowywanie kształtu w odcisk molekularny czy nawet odpowiednie rozmieszczenie przestrzenne grup, ale i właściwie dobrane warunki procesu przyczyniają się do segregowania cząsteczek. Omówiony przykład to jeszcze jedna ilustracja głównej tezy tego opracowania: o efektywności separacji decydują zarówno materiał w niej użyty, jak i warunki procesu.

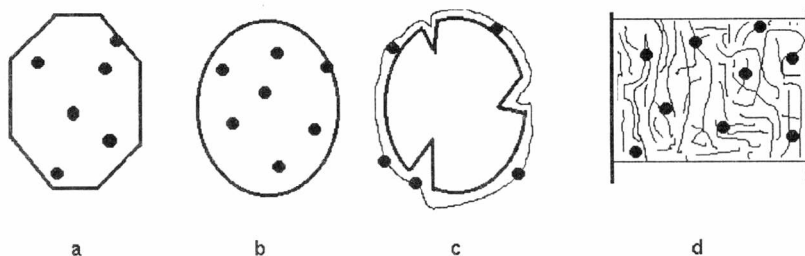


Rys. 30. Chromatogramy cynchoniny (1), cynchonidyny (2) oraz ich mieszaniny (1+2) wykonane na kolumnie wypełnionej MIP-em. Skład fazy mobilnej: woda:acetonitryl w stosunku 20:80; detekcja przy 254 nm [159]

W świetle tych faktów nadspodziewanie dobrze brzmią doniesienia o otrzymaniu MIP-ów o dużej selektywności. Po „wdrukowaniu” struktury L-Phe-L-Trp w kopolimer kwasu metakrylowego i dimetakrylanu glikolu etylenowego stwierdzono, że separacja dipeptydu (L–L) zachodzi odpowiednio z 18, 14 i 5-krotnie większą wydajnością, niż dla pozostałych izomerów (D–D), (D–L) oraz (L–D) [161]. Kempe [162] dokonała przeglądu układów MIP stosowanych do separacji izomerów optycznych. Na prawie czterdzieści przykładów antypodów optycznych osiem odznaczało się współczynnikami stereoselektywności większymi niż 3. Dla reszty sorbentów selektywność nie przekraczała wartości 2.

Polimery tworzące MIPy to najczęściej substancje hydrofilowe. Jako monomery stosuje się: kwas metakrylowy lub akrylowy, akrylamid czy winylopirydynę, jako środek sieciujący natomiast dimetakrylan glikolu etylenowego [152, 162]. Czasami używa się trimetakrylanu trimetylopropanu [163]. Polimery z odciskami molekularnymi są otrzymywane najczęściej przez polimeryzację blokową. Spolimeryzowany materiał jest mielony i przesiewany, aby otrzymać frakcję o odpowiedniej granulacji. Metodą polimeryzacji

suspensyjnej możliwe jest tworzenie wypełnień ziarnistych [159]. Mieszaniny monomerów, wzorców cząsteczkowych i substancji inertnych dysperguje się w fazie wodnej i prowadzi polimeryzację. Otrzymane ziarno sorbentu ma odciski molekularne rozmieszczone w całej swojej objętości. W wyniku polimeryzacji monomerów osadzonych na powierzchni makroporowatego wypełnienia otrzymuje się powierzchniowo modyfikowane MIP-y [163–165]. Ciekawą metodę otrzymywania sorbentów przedstawił Sellergen [166], polegającą na polimeryzacji mieszaniny monomerów w roztworze rozpuszczalników inertnych i wzorców wypełniających całą objętość kolumny. Po polimeryzacji rozpuszczalniki i wzorce usuwał z układu, a w kolumnie zostawało makroporowate złoże monolityczne, zawierające odciski molekularne wzorców. Złoża o tej konfiguracji są badane również przez Frecheta [134, 167]. Istotę pomysłu stworzenia polimerowych monolitów można sprowadzić do utworzenia porowatej struktury rozciągniętej w całej przestrzeni kolumny. W tej konfiguracji nie występują duże, nieefektywne w chromatografii, przestrzenie między ziarnami, a struktura monolitu przypomina bardziej porowatą membranę niż złoże chromatograficzne. Skoro jednostka objętości wypełnienia jest sprawniejsza niż w złożu ziarnistym, kolumna chromatograficzna nie musi być tak wysoka. Może przyjmować postać krążków o dużej powierzchni i małej grubości. Przy takiej konfiguracji złoża poprawie ulega ekonomika separacji – przy tym samym gradiencie ciśnienia przez wypełnienie monolityczne przepompowuje się znacznie więcej cieczy niż przez klasyczną kolumnę. Omówione konfiguracje MIP-ów przedstawiono na rys. 31.

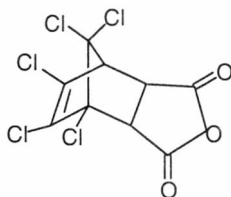


Rys. 31. Schematyczna prezentacja możliwych do otrzymania struktur MIP.

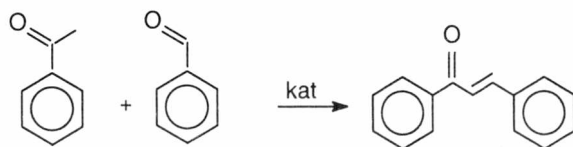
- Czarne kropki – odciski; a) ziarno mielone – odciski w całej objętości ziarna,
 b) ziarno otrzymane w wyniku polimeryzacji suspensyjnej – odciski w całej objętości,
 c) ziarno złoża makroporowatego z modyfikowaną powierzchnią – odciski na powierzchni,
 d) złoże typu monolit – odciski w całej objętości

Jak już wspomniano, koncepcja wykorzystania MIP-ów do budowy syntetycznych katalizatorów nadal absorbuje uwagę badaczy [168–176]. Przygotowanie katalizatorów typu MIP jest realizowane na jeden z trzech sposobów. Odciski molekularne mogą być tworzone przez analogi substratów, stanu przejściowego czy też produktów. W każdej z tych metod jest wymuszane położenie przestrzenne reagujących cząsteczek. Mosbach [171] podaje, że po odcisnięciu struktury indolu w polimerze (strategia wdrukowywania analogów substratu) izomeryzacja benzyloizooksazolu katalizowana

przez MIP była 40 tysięcy razy szybsza, niż proces izomeryzacji termicznej. W przypadku sposobu opartego na tworzeniu odcisku analogów produktu zwykle stosowane są analogi niestabilnych produktów pośrednich. Stosowanie analogów produktów końcowych może doprowadzić do zablokowania wnęki i do inhibicji reakcji. Jako przykład Mosbach [172] podaje reakcję Dielsa–Aldera między bezwodnikiem maleinowym a dwutlenkiem czterochlorotiofenonu. Jako centrum katalityczne zastosowano w niej odcisk molekularny pochodnej bezwodnika o strukturze:



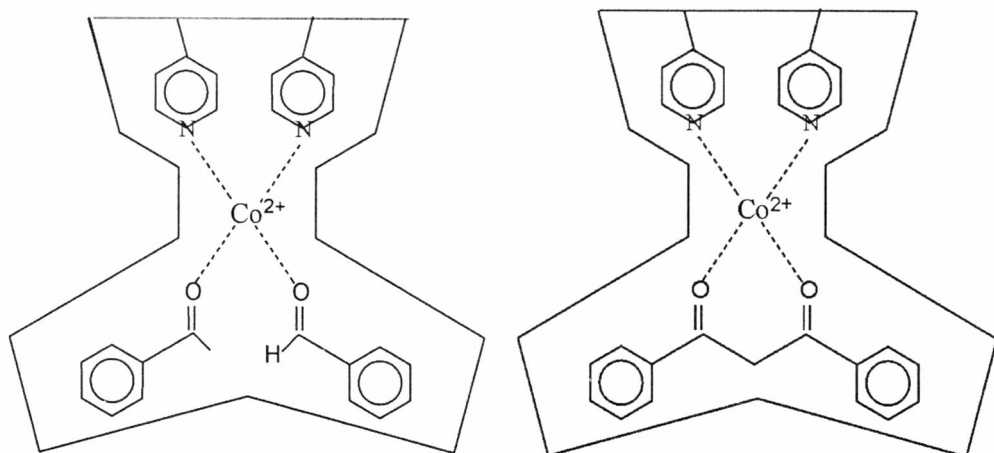
Stwierdzono, że reakcja kondensacji zostaje przyspieszona 270 razy w przypadku użycia otrzymanego katalizatora. Jednak najczęściej w reakcjach korzysta się z odcisków analogów stanu przejściowego. W tym przypadku strukturę odcisku tak się projektuje, by stabilizował on stan przejściowy. Zredukowana zostaje energia potrzebna do jego utworzenia, co powoduje zwiększenie szybkości reakcji. Ideę tej metody najlepiej prześledzić na przykładzie reakcji kondensacji aldolowej między acetofenonem a benzaldehydem [175]:



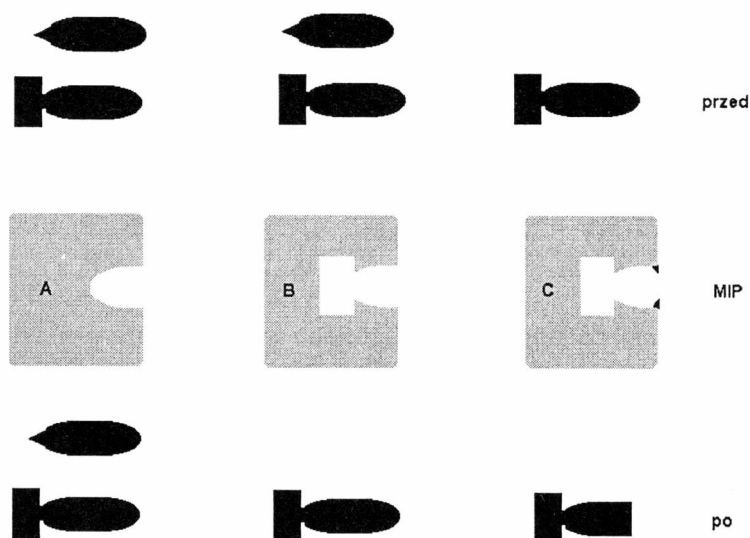
Tworząc odcisk molekularny dibenzoilometanu w kopolimerze 4-winylopirydyny, styrenu i diwinylobenzenu, otrzymano analog stanu pośredniego. Dodatkowo, gdy reakcję tworzenia katalizatora prowadzono w obecności jonów kobaltu, otrzymano reaktywny odcisk. Na rysunku 32 przedstawiono wyidealizowany obraz tworzenia i działania takiego odcisku.

Reagenty zostają odpowiednio umieszczone we wnętrzu odcisku molekularnego. Dodatkowo jon kobaltu, koordynowany przez azot winylopirydyny, katalizuje reakcję kondensacji. Reakcja przebiega osiem razy szybciej w obecności katalizatora niż w samym roztworze.

Opierając się na własnych doświadczeniach oraz postrzegając możliwości aplikacyjne dla sorbentów typu MIP, Mosbach [170] przewiduje następujący kierunek ich syntezy: od grupowo specyficznych poprzez wykazujące duże powinowactwo względem poszczególnych związków aż po reaktywne sorbenty obdarzone zdolnością przebudowywania związków zamkniętych we wnęce. Schemat działania omawianych sorbentów przedstawiono na rys. 33.



Rys. 32. Model działania odcisku będącego analogiem stanu przejściowego



Rys. 33. Schemat rozwoju sorbentów typu MIP: A – mało selektywne sorbenty o specyficzności grupowej, B – specyficzne sorbenty o dużym powinowactwie do wybranych cząsteczek, C – katalizatory MIP nie tylko rozpoznające, ale i przekształcające wybrane cząsteczki. Schematycznie przedstawiono w nich tzw. zęby – grupy funkcyjne odpowiedzialne za aktywność katalityczną odcisku molekularnego.

Na górze rysunku zestawiono skład mieszaniny przed, a na dole po procesie separacji

Przewidywania Mosbacha poszły nawet jeszcze dalej. Sądzi on, iż kolejnym etapem rozwoju MIP-ów będą matryce polimerowe, zdolne do przekształcania się

w katalizatory pod wpływem bodźca zewnętrznego (promieniowania, pH, siły jono-
wej czy temperatury). W odpowiednich warunkach sorbent będzie przyjmował postać
katalizatora (przypadek C na rys. 33), natomiast w innych odcisk molekularny będzie
się przebudowywał, tracąc zdolność do sorpcji i katalizy. Powstaną sorbenty z rucho-
mymi odciskami molekularnymi. Prawdopodobnie najbliższa przyszłość pokaże, czy
przewidywania te można zaliczyć do fantastyki naukowej, czy rzeczywiście tego typu
struktury zostaną zbudowane. W tej chwili opracowanie reaktywnych sorbentów,
nawet bez możliwości sterowania ich reaktywnością, wydaje się sporym osiągnię-
ciem. Stosunkowo prosty sposób ich otrzymywania oraz dobre właściwości użytkowe,
odporność chemiczna i mechaniczna, mogłyby wskazywać na polimerowe matryce
z odciskami molekularnymi jako na materiały przyszłości. W otrzymanych obecnie
materiałach dominują wnęki o dość słabych właściwościach katalitycznych w porów-
naniu z katalizatorami występującymi w naturze [176].

Podsumowanie

Przedstawione przykłady zastosowania polimerów w procesach separacyjnych dowodzą, jak potężnym narzędziem mogą okazać się te materiały, gdy zostaną właściwie wykorzystane. Autor przedstawił jedynie te zastosowania, z którymi zetknął się w praktyce, i na temat których wyrobił sobie własne zdanie. Pomiął inne możliwości stosowania polimerów, nie chcąc opierać się wyłącznie na cudzych opiniach. Ten sposób postępowania nie świadczy o niechęci autora do poznawania nowych możliwości wykorzystania polimerów, lecz raczej o ich olbrzymiej liczbie.

W monografii omówiono zaledwie dwa procesy membranowe oraz stosowane w nich materiały. W przypadku procesów filtracyjnych, gdy membrany spełniają rolę sita, istotne wydaje się skonstruowanie membran nie ulegających intensywnemu zarastaniu. Uzyskuje się to przez hydrofilizację ich powierzchni [13, 18–21, 30]. Wprowadzenie grup zdolnych do dysocjacji elektrolitycznej nie tylko ogranicza zarastanie, ale znacznie poprawia zdolności separacyjne membran [18]. Porowate membrany jonowymienne można otrzymać z wstępnie zmodyfikowanego polimeru [28]. Bardziej efektywne wydaje się jednak modyfikowanie powierzchni uformowanych już membran porowatych [24, 30]. Wydaje się, iż modyfikację chemiczną powierzchni membran można z powodzeniem zastąpić modyfikacją plazmową [19, 33, 34, 36, 177, 178]. Otrzymuje się w ten sposób membrany różnego typu, przeznaczone nie tylko do procesów filtracyjnych [33, 34]. Wiedząc, jakie membrany są przydatne w określonym procesie separacyjnym, można, mając do dyspozycji jeden rodzaj membrany porowatej, tak ją modyfikować, by nadać jej pożądane właściwości. Powiększanie lub pomniejszanie wymiaru porów [33, 34, 36], zmiana charakteru powierzchniowego membran [19–21, 36] czy tworzenie membran litych [33, 34] to tylko wybrane możliwości, jakie stwarza obróbka plazmowa membran. Wydaje się, że również w tym tkwi przyszłość membran porowatych – możliwość wykorzystania ich jako bazy surowcowej do otrzymywania specyficznych materiałów membranowych.

Stosowanie polimerów do otrzymywania membran litych sprowadza się właściwie do projektowania konkretnych procesów. Polimery stosowane jako podpory dla ciekłych membran unieruchomionych lub kontaktorów przechodzą nadal pewną ewolucję. Poszukiwane są materiały wytrzymałe mechanicznie, odporne chemicznie i nie

pęczniejące w rozpuszczalnikach organicznych. W skali przemysłowej powszechne zastosowanie mogą znaleźć układy kontaktorowe, membrany unieruchomione natomiast będą stosowane do prac analitycznych (wstępne zagęszczanie substancji) czy w modelowaniu zjawisk transportowych zachodzących w błonach komórkowych. W obu typach membran ciekłych o selektywności procesu separacji decyduje rodzaj stosowanej membrany oraz warunki, w jakich przebiega proces. Imobilizowanie nośnika w membranie może znacznie poprawić proces separacji pod warunkiem, że nie będzie on wymywany z fazy organicznej. Osiąga się to, wiążąc nośnik kowalencyjnie do ścian membrany podporowej lub też stosując nośniki polimeryczne. Przewiduje się, że dalszy rozwój membran litych będzie ukierunkowany na poszukiwania materiałów zdolnych do separowania związków organicznych w roztworach [86].

O ile organiczne kwasy czy zasady mogą być efektywnie rozdzielane za pomocą polimerowych membran jonowymiennych, o tyle membranowy rozdział związków optycznie czynnych stanowi nadal wyzwanie [108]. Wydaje się, że stosowanie membran litych z chiralnym selektorem jest jedną z możliwości realizacji takiego procesu. Im selektor ten jest bardziej asymetryczny, tym rozdział antypodów optycznych jest efektywniejszy [105]. Jako selektorów wygodnie jest używać związków występujących w naturze. Membrany zbudowane z usieciowanych białek mogą stanowić dość ciekawą propozycją realizacji takiego procesu [108]. Autor tego opracowania z dużą ostrożnością podchodzi do informacji o możliwościach stosowania membran z odciskami molekularnymi. Do końca nie jest przekonany, czy budowanie ciągu selektywnych bramek jest technicznie możliwe. O ile wykorzystanie odcisków molekularnych w sorbentach polimerowych wydaje się prawdopodobne, o tyle w przypadku membran trudno jest tak zorganizować materię, by wszystkie pory kończyły się odciskiem molekularnym. Nadchodzące lata pokażą, czy autor nie był zbyt sceptyczny w tym względzie.

W dziedzinie wyrafinowanych technik separacji chromatograficznej polimery syntetyczne są nadal niezastąpionymi materiałami. Łatwość otrzymania matryc polimerowych i formowania z nich odpowiednich złożów chromatograficznych gwarantuje, że polimery długo jeszcze będą przedmiotem licznych badań [132]. Możliwości syntezy, a następnie modyfikacji matryc powinny doprowadzić do sytuacji, gdy do konkretnego procesu dostępne będą odpowiednie złoża [139–141, 148]. Przewiduje się, że w przypadku złożów chromatograficznych nie będą się pojawiały nowe rodzaje polimerów, lecz raczej zmodyfikowane formy polimerów już istniejących [135, 137, 142]. Złoża monolityczne, przypominające strukturę porowatej membrany czy też zamrożonej piany, stanowią interesujące próby poszukiwania nowych rozwiązań. Autor tego opracowania jest przekonany, że wcześniej czy później złoża monolityczne zostaną docenione, a liczba publikacji na temat ich zastosowania gwałtownie się zwiększy. Podobne zjawisko obserwowano w przypadku matryc polimerowych zawierających odciski molekularne. Przez wiele lat MIP-y były postrzegane jako swoiste ciekawostki. Od kilku lat obserwuje się wzrastające zainteresowanie tymi obiektami.

Jest to zrozumiałe, gdyż stosując tylko jedną metodę syntezy oraz jeden typ polimeru, można otrzymać selektywne sorbenty przeznaczone do separacji różnego typu związków [159]. Otrzymane tą metodą matryce mogą być z powodzeniem stosowane również jako selektywne katalizatory czy sensory. Oznacza to, iż możliwe jest już otrzymywanie syntetycznych materiałów spełniających funkcje zarezerwowane do tej pory dla polimerów naturalnych.

Zebrane w tej pracy przykłady dość dobrze ilustrują tezę, iż polimery syntetyczne stanowią doskonałe narzędzie separacyjne. Czasami, wykonując proste ich modyfikacje, otrzymuje się sprawne i selektywne separatory, umożliwiające rozdział różnych mieszanin. Autor ma nadzieję, że udało mu się przekonać Czytelnika, by przestał traktować polimery syntetyczne jedynie jako materiały konstrukcyjne czy służące do produkcji opakowań. Materia o takich właściwościach z dobrym skutkiem może być wykorzystywana do bardziej wyrafinowanych celów.

Piśmiennictwo cytowane

- [1] TANABE Y., *Molecular science and technology*, Springer, Heidelberg, 1999.
- [2] ULRICH H., *Introduction to industrial polymers*, C. Hansen Verlag, Monachium, 1993, str.13.
- [3] ULTRACKI L.A., *History of commercial polymer alloys and blends*, Polym. Eng. Sci., 35, 1995, 2–17.
- [4] DE MILTON R.C., MILTON C.S.M., KEBT S.B.H., *Total chemical synthesis of D-enzyme: the enantiomers of HIV-1 protease show demonstration of reciprocal chiral substrate specificity*, Science, 1992, 256, 1445–1448.
- [5] SCHACHTER B., *New twist of chirality in drug development*, The Alchemist Spotlights, Styczeń 2000 (http://chemweb.com/alchem/2000/spotlight/sp_000121_peptides.html).
- [6] NILLSON J.L., *Protein fouling of ultrafiltration membranes: causes and consequences*, J. Membr. Sci., 1990, 52, 121–129.
- [7] FYLES T.M., LYCON D.S., *Fouling reduction using centrifugal membrane separation*, J. Membr. Sci., 2000, 176, 267–276.
- [8] KNOELL T., SAFARIK J., CORMACK T., RILEY R., LIN S.W., RIDGWAY H., *Biofouling potentials of microporous polysulfone membranes containing a sulfonated polyether-ethersulfone/polyethersulfone block copolymer: correlation of membrane surface properties with bacterial attachment*, J. Membr. Sci., 1999, 157, 127–138.
- [9] MOCKEL D., STAUDE E., GUIVER M.D., *Static protein adsorption, ultrafiltration behaviour and cleanability of hydrophilized polysulfone membranes*, J. Membr. Sci., 1999, 158, 63–75.
- [10] KESZLER B., KENNEDY J. P., ZIATS N. P., BRUNSTADT M. R., STACH S., YUN J. K., ANDERSON J. H., *Amphiphilic networks. V. Polar/nonpolar surface characteristics, protein adsorption from human plasma and cell adhesion*, Polym. Bull., 1992, 29, 681–688.
- [11] RUCKENSTEIN E., LESIENE V., *Protein separation by potential barrier chromatography*, Biotechnol. Bioengn., 1986, 28, 432–445.
- [12] ISRAELACHVILI J. N., *Intermolecular and surface forces*, Academic Press, London, 1989, rozdz. 11–13.
- [13] BRYJAK M., TROCHIMCZUK W., *Porous ion exchange membranes as potential antifoulants*, Angew. Makromol. Chem., 1993, 208, 173–181.
- [14] FIELD R. W., AIMAR P., *Ideal limiting fluxes in ultrafiltration: comparison of various theoretical relationships*, J. Membr. Sci., 1993, 80, 107–115.
- [15] JITSUHARA I., KIMURA S., *Rejection of inorganic salts by charged ultrafiltration membranes made of sulfonated polysulfone*, J. Chem. Eng. Jap., 1983, 16, 394–399.
- [16] HIGUCHI A., IWATA N., NAKAGAWA T., *Surface modified polysulfone hollow fibers. II. Fibers having $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$ segments and immersed in HCl solution*, J. Appl. Polym. Sci., 1990, 40, 709–717.
- [17] HIGUCHI A., NAKAGAWA T., *Surface modified polysulfone hollow fibers. III. Fibers having hydroxide groups*, J. Appl. Polym. Sci., 1990, 41, 1973–1979.
- [18] BRYJAK M., POŹNIAK G., TROCHIMCZUK W., *Synthesis and properties of porous ion-exchange membranes*, Angew. Makromol. Chem., 1992, 200, 93–99.

- [19] BRYJAK M., GANCARZ I., *Plasma treatment of PE ultrafiltration membranes*, Angew. Makromol. Chem., 1994, 219, 117–121.
- [20] BRYJAK M., GANCARZ I., KRAJCIEWICZ A., PIGLOWSKI J., *Air plasma treatment of PAN porous membrane*, Angew. Makromol. Chem., 1996, 234, 21–29.
- [21] BRYJAK M., GANCARZ I., POŹNIAK G., *Surface evaluation of plasma modified polysulfone film*, Langmuir, 1999, 15, 6400–6404.
- [22] KOLARZ B., *Właściwości a struktura układu IPN poli(metakrylowy kwas-co-dwuwinylo-benzen-poli(styren-co-dwuwinylobenzen)*, Prace Naukowe Instytutu Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych Vol. 32, Seria: Monografie No 6, Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 1980.
- [23] RYBNIKAR F., *Interactions in the system polyethylene-solid filler*, J. Macromol. Sci., 1981, Phys. B19, 1–11.
- [24] BRYJAK M., TROCHIMCZUK W., *Preparation of porous ion-exchange membranes from sulfonated polyethylene/poly(styrene-co-divinylbenzene)*, Angew. Makromol. Chem., 1993, 207, 111–119.
- [25] MIZUTANI Y., KUSUMOTO K., NISHIMURA M., ASADA E., *Preparation of microporous membranes from cation exchange membranes*, J. Membr. Sci., 1989, 42, 233–242.
- [26] VILKER V. L., COLTON C. K., SMITH K. A., *Concentration polarization in protein ultrafiltration. Part II. Theoretical and experimental study of albumin ultrafiltered in an unstirred cell*, J. Colloid Interface Sci., 1981, 791, 548–555.
- [27] LINDAU J., JONSSON A. S., *Adsorptive fouling of modified and unmodified commercial polymeric ultrafiltration membranes*, J. Membr. Sci., 1999, 160, 67–76.
- [28] POŹNIAK G., BRYJAK M., TROCHIMCZUK W., *Sulfonated polysulfone membranes with antifouling activity*, Angew. Makromol. Chem., 1995, 233, 23–31.
- [29] SCHWARZ H. H., KUDELA V., LUKAS J., VACIK J., GRABE V., *Effect of the membrane potential on the performance of ultrafiltration membrane*, Coll. Czechoslovak Chem. Commun., 1986, 51, 539–544.
- [30] BRYJAK M., HODGE H., DACH B., *Modification of porous polyacrylonitrile membrane*, Angew. Makromol. Chem., 1998, 260, 25–29.
- [31] YASUDA H., *Plasma polymerization*, Academic Press, New York, 1985, s. 175.
- [32] STEINHAUSER H., ELLINGHORST G., *Materiały Sympozjum Progress in Membrane Science and Technology*, Enschede, 1991, s. 50.
- [33] BRYJAK M., GANCARZ I., J. Pigłowski, *Plasma modification of PAN porous membrane*, Envir. Prot. Eng., 1993, 19, 113–119.
- [34] GANCARZ I., POŹNIAK G., BRYJAK M., FRANKIEWICZ A., *Modification of polysulfone membranes. 2. Plasma grafting and plasma polymerization of acrylic acid*, Acta Polym., 1999, 50, 317–326.
- [35] POŹNIAK G., GANCARZ I., *Euromembrane '99*, Materiały Międzynarodowej Konferencji, Leuven, 1999, t. 2, s. 389.
- [36] GANCARZ I., POŹNIAK G., BRYJAK M., *Modification of polysulfone membranes. 2. CO₂ plasma treatment*, Eur. Polym. J., 1999, 35, 1419–1428.
- [37] AIMAR P., MEIRELES M., SANCHEZ V., *A contribution to the translation of retention curves into pore size distributions for sieving membranes*, J. Membr. Sci., 1990, 54321–338.
- [38] WHITESIDES M., BIEBOUYCK H. A., FOLKERS J. P., PRIME E. L., *Acid-base interactions in wetting*, [w:] *Acid Base Interactions*, K. L. Mittal, H. R. Anderson (Eds.), VSP, Utrecht 1991, s. 229.
- [39] BAIN C. D., WHITESIDES G. M., *A study of contact angle of the acid-base behaviour of monolayers containing ω -mercapticarboxylic acids adsorbed on gold. An example of reactive spreading*, Langmuir, 1989, 5, 1370–1378.
- [40] HE H. X., HUANG W., ZHANG H., LI Q. G., LI S. F. Y., LIU Z. F., *Demonstration of high resolution capability of chemical force titration via study of acid/base properties of a patterned self-assembled monolayer*, Langmuir, 2000, 16, 517–521.
- [41] ISRAELACHVILI J. N., *Intermolecular and surface forces*, Academic Press, London, 1989 s. 220.

- [42] FOWKES F., *Chemistry and physics of interfaces*, American Chemical Society, Washington DC, 1970, s. 154.
- [43] OWENS D. K., WENDT R. C., *Estimation of the surface free energy of polymers*, J. Appl. Polym. Sci., 1969, 13, 1741–1747.
- [44] FOWKES F. M., KACZINSKI M. B., DWIGHT D. W., *Characterization of polymer surface sites with contact angles of test solutions*, Langmuir, 1991, 7, 2464–2470.
- [45] WU S., *Polymer Interface and Adhesion*, M. Dekker, New York, 1982, s. 178.
- [46] DANN J. R., *Forces involved in the adhesive process. II. Critical surface tensions of polymeric solids as determined with polar liquids*, J. Colloid Interface Sci., 1970, 32, 302–320.
- [47] VAN OSS C. J., GOOD R. J., CHAUDHURY M. K., *Additive and nonadditive surface tension components and the interpretation of contact angles*, Langmuir, 1988, 4, 884–891.
- [48] GOOD R. J., SPIRVASTE N. M., ISLAM M., HUANG H. T. L., VAN OSS C. J., *Theory of the acid base hydrogen binding interactions, contact angles, and the hysteresis of wetting*, [w:] *Acid-base interactions*, K. L. Mittal, H. R. Anderson (Eds.), VSP, Utrecht, 1991, s. 79.
- [49] PONCIN-EPAILLARD F., BROSS J. C., FALKER T., *Reactivity of surface groups formed onto a plasma treated PP films*, Macromol. Chem. Phys., 1999, 200, 986–994.
- [50] BRYJAK M., *Modyfikacja powierzchniowa polimerów*, Materiały II Kongresu Technologii Chemicznej, Wrocław, 1997 t. 3, s. 111.
- [51] DELLAVALPE C., SIBONI S., *Some reflections on acid-base solid surface free energy theories*, J. Colloid Inter. Sci., 1997, 195, 121–136.
- [52] GARBESSI F., MORRA M., OCCHIELLA E., *Polymer surfaces. from physics to technology. Revised and supplemented edition*, J. Wiley, Chichester, 1998, s. 201.
- [53] SHAHIDZADEH-AHMASI N., AREFI-KONSARI F., AMOUROX J., *Characterization of the acid-base properties of NH₃ or O₂ plasma-treated PP films and the effects of ageing*, J. Mater. Chem., 1995, 5, 229–238.
- [54] SCHLOSSER S., *Pertraction through liquid and polymer membranes*, Summer School of Membrane and Membrane Processes, Veszprem, 1999.
- [55] SCHLOSSER S., *Pertraction through liquid membranes, II. Emulsion liquid membranes*, Regional Course in Membrane Processes, Module 2, Bratislava, 1995, s. 13.
- [56] HO W. S. W., LI N. N., *Recent Advances in Emulsion Liquid Membranes*, ACS Symp. Ser., 642, 1996, 208.
- [57] HABAKI H., ISOBE S., EGASHIRA R., KAWASAKI J., *Permeation and concentration of erythromycin by supported and emulsion liquid membranes*, J. Chem. Eng. Japan, 31, 1998, 47–59.
- [58] SAHOO G. C., DUTTA N. N., *Studies on emulsion liquid membrane extraction of cephalixin*, J. Membr. Sci., 145, 1998, 15–26.
- [59] BANDYOPADHYAYA R., BHOWAL A., DATTA S., SANYAL S. K., *A new model of batch-extraction in emulsion liquid membrane: Simulation of globule-globule interaction and leakage*, Chem. Eng. Sci., 53, 1998, 2799–2807.
- [60] SKELLAND A. H. P., MENG X. M., *Non-Newtonian conversion solves problems of stability, permeability, and swelling in emulsion liquid membranes*, J. Membr. Sci., 158, 1999, 1–15.
- [61] SASTRE A. M., KUMAR A., SHUKLA J. P., SINGH K R., *Improved techniques in liquid separation. An overview*, Sep. Purif. Meth., 27, 1998, 213–226.
- [62] DEVULAPALLI R., JONES F., *Separation of aniline from aqueous solutions using emulsion liquid membranes*, J. Hazard. Mat., 70, 1999, 157–170.
- [63] DŻYGIEL P., WIECZOREK P., *Extraction of amino acids with emulsion liquid membranes using industrial surfactants and lecithin as stabilisers*, J. Membr. Sci., 172, 2000, 223–232.
- [64] KEMPERMAN A. J. B., BARGEMAN D., VAN DEN BOOMGAARD T., STRATHMAN H., *Stability of supported liquid membranes. State-of-the-art.*, Sep. Sci. Technol., 31, 1996, 2733–2746.

- [65] DANESI P. R., REICHLER-YINGER L., RICKERT P. G., *Lifetime of supported liquid membranes. The influence of interfacial properties, chemical composition and water transport on the long term stability of the membranes*, J. Membr. Sci., 31, 1987, 117–129.
- [66] TAKEUCHI H., TAKAHASHI K., NAKANO M., *Separation of heavy metals from aqueous solutions by hollow-fiber type supported membranes in a continuous regeneration mode*, Water Treatment, 5, 1990, 222–236.
- [67] KEMPERMAN A. J. B., ROLEVINK H. H. M., BARGEMAN D., VAN DEN BOOMGAARD T., STRATHMANN H., *Stabilization of supported liquid membranes by interfacial polymerization of top layers*, J. Membr. Sci., 138, 1998, 43–55.
- [68] WIJERS M. C., JIN M., WESSLING M., STRATHMANN H., *Supported liquid membranes modification with sulphonated poly(ether ketone) – Permeability, selectivity and stability*, J. Membr. Sci., 147, 1998, 117–130.
- [69] WANG Y. C., THIO Y. S., DOYLE F. M., *Formation of semipermeable polyamide skin layers on the surface of supported liquid membranes*, J. Membr. Sci., 147, 1998, 109–116.
- [70] WANG Y. C., DOYLE F. M., *Formation of epoxy skin layers on the surface of supported membranes containing polyamines*, J. Membr. Sci., 159, 1999, 167–175.
- [71] WIJERS M. C., WESSLING M., STRATHMANN H., *Limitation of the lifetime stabilization of supported liquid membrane by polyamides layers*, Sep. Pur. Technol., 17, 1999, 147–159.
- [72] BROMBERG L., LEVIN G., KEDEM O., *Transport of metals through gelled supported liquid membranes containing carrier*, J. Membr. Sci., 71, 1992, 41–50.
- [73] WANG L., PAIMIN R., CATTRALL R. W., SHEN W., KOLEV S. D., *The extraction of cadmium(II) and copper(II) from hydrochloric acid solutions using Aliquat 336/PVC membrane*, J. Membr. Sci., 176, 2000, 105–111.
- [74] KOCHERGINSKY N. M., MOGUTOV A. V., *Biomimetic way to improve liquid membranes. Facilitated transport with a mobile carrier and mediator*, J. Membr. Sci., 148, 1998, 37–43.
- [75] KRIEG H. M., BREYTENBACH J. C., KEIZER K., *Chiral resolution by β -cyclodextrin polymer-impregnated ceramic membranes*, J. Membr. Sci., 164, 2000, 177–185.
- [76] BARBOIU M., LUCA C., GUIZARD C., *Hybrid organic-inorganic fixed site dibenzo18-crown-6 complexant membranes.*, J. Membr. Sci., 129, 1997, 197–207.
- [77] SENGUPA A., BASU R., SIRKAR K. K., *Separation of solutes from aqueous-solutions by contained liquid membranes*, AIChE J., 34, 1988, 1698–1715.
- [78] SENGUPA A., BASU R., PRASAD R., SIRKAR K. K., *Separation of liquid solutions by contained liquid membranes hollow fiber*, Separat. Sci. Technol., 23, 1988, 1735–1742.
- [79] DING H. B., CARR P. W., CUSSLER E. L., *Racemic lecithine separation by hollow fiber extraction*, AIChE J., 38, 1992, 1493–1499.
- [80] MAJUMDER S., SIRKAR K. K., *Hollow fiber contained liquid membranes*, w *Membrane handbook*, W. S. W. Ho, K. K. Sirkar, Reinhold von Nostrand (Eds.), New York, 1992, s. 764.
- [81] KAMO J., HIRAI T., KAMADA K., *Solvent induced morphological change of hollow fiber membranes*, J. Membr. Sci., 70, 1992, 217–223.
- [82] SCHLOSSER S., ROTHOVA I., FIAROVA H., *Hollow fiber pertractor with bulk liquid membrane*, J. Membr. Sci., 80, 1993, 99–109.
- [83] SCHLOSSER S., informacja prywatna.
- [84] MIESIĄC I., SZYMANOWSKI J., *Pertraction of penicillin G in hollow fiber contained liquid membranes*, J. Radioanal. Nuclear Chem., 228, 1998, 77–81.
- [85] MONDEL D. K., GUKA A. K., SIRKAR K. K., *Isomer separation by hollow fiber contained liquid membrane pertractor*, J. Membr. Sci., 144, 1998, 13–24.
- [86] GAŁĘSKA I., *Separacja membranowa kwasów organicznych*, praca dyplomowa, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Politechnika Wroclawska, 1996, opiekun M. BRYJAK.

- [87] NOVALIC S., KONGBANGKERD T., KULBE K. D., *Recovery of organic acids with high molecular weight using a combined electro-dialytic process*, J. Membr. Sci., 166, 2000, 99–104.
- [88] ALONSO K., *The transport of amino acids, amino acid derivatives and ions across ion-exchange membranes*, Biochim. Biophys. Acta, 860, 1986, 484–490.
- [89] WÓDZKI R., NOWACZYK J., *Membrane transport of organics. II. Permeation of some carboxylic acids through strongly basic polymer membrane*, J. Appl. Polym. Sci., 71, 1999, 2179–2190.
- [90] YOKISHAWA M., SUZUKI M., SANUI K., OGATA N., *Transport of amino acids through synthetic polymer membranes containing pyridinium cation charge sites*, J. Membr. Sci., 32, 1987, 235–249.
- [91] ADDADI L., WEINSTEIN S., GATI E., WEISSBUCH I., LAHAV M., *Resolution of conglomerates with the assistance of tailor-made impurities. Generality and mechanistic aspects of the 'rule of reversal'. A new method for assignment of absolute configuration*, J. Am. Chem. Soc., 104, 1982, 4610–4611, 7.
- [92] SALVADORI P., PINI D., ROSINI C., BERTUCCI C., UCCELLO-BARRETTA G., *Chiral discriminations with chinchona alkaloids*, Chirality 4, 1992, 42–51.
- [93] DAVANKOV V. A., ROGOZHIN S. V., STEMACHIN A. V., SACHOVA T. P., *Ligand exchange chromatography of racemates. Influence of the degree of saturation of the asymmetric resin by metal ions on ligand exchange*, J. Chromatogr., 82, 1973, 359–365.
- [94] DAVANKOV A. V., ZOLOTAREV Y., *Ligand exchange chromatography of racemates. Separation of optical isomers of amino acids on polystyrene resin containing L-hydroxyproline*, J. Chromatogr., 155, 1978, 285–293.
- [95] PIRKL W. H., READNOUR R. S., *The influence of end-capping on the enantioselectivity of a chiral phase*, Chromatographia, 31, 1991, 129–138.
- [96] PIRKL W. H., WELCH C. J., *An investigation into the role of solvation in a well characterized chiral recognition system*, J. Liq. Chromatogr., 14, 1991, 2027–2035.
- [97] LIPKOWITZ K. B., *Theoretical studies of type II-V chiral stationary phases*, J. Chromatogr., A 694, 1995, 15–37.
- [98] ALLENMARK S., ANDERSSON S., *Some mechanistic aspects on chiral discrimination of organic acids by immobilized bovine serum albumin (BSA)*, Chirality 4, 1992, 24–32.
- [99] TAKEUCHI T., HORIKAWAS R., TANIMURA T., *Enantioselective solvent extraction of neutral DL-amino acids in two phase system containing N-n-alkyl-proline derivatives and copper(II) ion*, Anal. Chem., 56, 1984, 1152–1163.
- [100] MARUYAMA K., TSUKABE H., ARAKI T., *Carrier mediated transport of amino acids and simple anions by lipolytic metal complexes*, J. Am. Chem. Soc., 104, 1982, 5197–5203.
- [101] YAMAGUCHI T., NISHIMURA K., SHIMBO T., SUIGIURA M., *Chiral crown ether mediated transport of phenylglycine through an immobilized liquid membrane*, Membrane, 10, 1985, 178–183.
- [102] LAMB J. D., CHRISTENSON M. D., *Macrocyclic ligands in separations*, J. Incl. Phenom. Mol. Recogn. Chem., 32, 1998, 107–119.
- [103] ZIELENKIEWICZ W., PIERASZKIEWICZ O., WSZELAKA-RYLIK M., PIEREASZKIEWICZ M., ROUX-DESRANGES G., ROUX A. H., GROLIER J. P. E., *Molecular interactions of macrocycles with dipeptides in aqueous solutions. Partial molar volumes and heat capacities of transfer of a chiral 18-crown-6 and a calix[4]resorcinolate derivative from water to aqueous dipeptide solutions at 25 degree C*, J. Sol. Chem., 27, 1998, 120–134.
- [104] BRYJAK M., WIECZOREK P., KAFARSKI P., LEJZAK B., *Transport of amino acids and their phosphonic acid analogues through supported liquid membranes containing macrocyclic carriers*, J. Membr. Sci., 56, 1991, 167–172.
- [105] BRYJAK M., KOZLOWSKI J., WIECZOREK P., KAFARSKI P. P., *Enantioselective transport of amino acid through supported chiral liquid membranes*, J. Membr. Sci., 85, 1993, 221–226.

- [106] BUDA A., MISLOW K., *A Hausdorff chirality measure*, J. Amer. Chem. Soc., 114, 1992, 79–85.
- [107] EL TAYLAR N., TSAI R. S., CARRUPT P. A., TESA B., *Octanol-1-water partition coefficients of zwitterionic α -amino acids. Determination by centrifugal partition chromatography and factorization into steric/hydrophobic and polar components*, J. Chem. Soc. Perkin Trans., 2, 1992, 79–88.
- [108] KOZŁOWSKI J., *Rozdzielanie izomerów optycznych aminokwasów przy użyciu membran*, praca dyplomowa, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Politechniki Wrocławskiej, 1992, opiekun M. BRYJAK.
- [109] HIGUCHI A., HARA M., HORIUCHI T., NAKAGAWA T., *Optical resolution of amino acids by ultrafiltration membranes containing serum albumin*, J. Membr. Sci., 93, 1994, 157–164.
- [110] MARUYAMA A., ADACHI N., T. TAKATSUKI, TORII M., SANUI K., OGATA N., *Enantioselective permeation of α -amino acids through poly(amino acid)-derived membranes*, Macromolecules, 23, 1990, 2748–2752.
- [111] CEYNOWA J., *Separation of racemic mixtures by membrane method*, Chem. Analit., 43, 1998, 917–933.
- [112] PILETSKY S. A., PANASYUK T. L., PILETSKAYA E. V., NICHOLS I. A., ULBRICHT M., *Receptor and transport properties of imprinted polymer membranes – a review*, J. Membr. Sci., 157, 1999, 263–278.
- [113] WULFF G., SARHAN A., *Use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates*, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 11, 1972, 341–355.
- [114] WULFF G., *Biorecognition in molecularly imprinted polymers. Concept, chemistry and applications*, w *Molecular interactions in bioseparations*, Ed. T. T. Ngo, Plenum Press, New York, 1993, s. 363.
- [115] ANDERSON L. I., EKBERG B., MOSBACH K., *Bioseparation and catalysis in molecularly imprinted polymers*, w *Molecular interactions in bioseparations*, T. T. Ngo (Ed.), Plenum Press, New York, 1993, s. 383.
- [116] MOSBACH K., RAMSTROM O., *The emerging technique of molecular imprinting and its future impact in biotechnology*, Biotechnology 14, 1996, 163–172.
- [117] KEMPE M., MOSBACH K., *Binding studies on substrate and enantioselective molecularly imprinted polymers*, Anal. Lett., 24, 1991, 1137–1145.
- [118] WANG H. Y., KOBAYASHI T., FUJI N., *Molecular imprint membranes prepared by the phase inversion technique*, Langmuir, 12, 1996, 4850–4855.
- [119] WANG H. Y., KOBAYASHI T., FUKAYA T., FUJI N., *Molecular imprint membranes prepared by the phase inversion technique. 2. Influence of coagulation temperature in the phase inversion process on the encoding in polymeric membrane*, Langmuir 13, 1997, 5396–5401.
- [120] YOSHIKAWA M., IZUMI J., KITAO T., KOYA S., SAKAMOTO S., *Molecular imprint membranes prepared by the phase inversion technique*, *Molecularly imprinted polymeric membranes for optical resolution*, J. Membr. Sci., 108, 1995, 171–179.
- [121] YOSHIKAWA M., IZUMI J., KITAO T., SAKAMOTO S., *Molecularly imprinted polymeric membranes containing DIDE derivatives for optical resolution of amino acids*, Macromolecules, 29, 1996, 8197–8203.
- [122] TOUCHSTONE J. C., *History of chromatography*, J. Liq. Chrom., 16, 1993, 1647–1658.
- [123] ETTRE L. S., *1991 – A year of anniversaries in chromatography*, Internat. Lab., 13, 1991, 18–32.
- [124] JANSON J. C., JONSSON J. A., *Introduction to chromatography*, [w:] *Protein purification*, J. C. Janson, L. Ryden (Eds.), VCH Pub. Inc., New York, 1989, s. 35.
- [125] STAHLBERG J., JONSSON B., HORVATH C., *Combined effect of coulombic and van der Waals interactions in the chromatography of proteins*, Anal. Chem., 64, 1992, 3118–3124.
- [126] HUBERT P., DELLACHERIE E., *Molecular interactions in hydrophobic chromatography*, w *Molecular interactions in bioseparations*, Ed. T. T. Ngo, Plenum Press, New York, 1993, s. 333.

- [127] ERIKSSON K. O., *Hydrophobic interaction chromatography*, w *Protein purification*, J. C. Janson, L. Ryden (Eds.), VSH Publish. Inc., New York, 1989, s. 207.
- [128] HJERTEN S., *Some general aspects of hydrophobic interaction chromatography*, J. Chromatogr., 87, 1973, 325–332.
- [129] HOWARD G. A., MARTIN A. J. P., *Separation of C12-C18 fatty acids by reverse phase partition chromatography*, Biochem. J., 46, 1950, 532–538 (CA 44:10444).
- [130] SZEPEŠY L., RIPPEL G., *Effect of the characteristics of the phase system on the retention of proteins in hydrophobic interaction chromatography*, J. Chromatogr., A668, 1994, 337–342.
- [131] BOSCHETTI E., *Advances sorbents for preparative protein separation purpose*, J. Chromatogr., A658, 1994, 207–236.
- [132] BRYJAK M., TROCHIMCZUK A., BRYJAK J., *Evaluation of terpolymers of 2-hydroxyethyl methacrylate, dodecyl methacrylate, and ethylene glycol dimethacrylate as matrices for hydrophobic interaction chromatography*, Angew. Makromol. Chem., 242, 1996, 147–154.
- [133] CHE H., HORVATH C., *High speed high performance liquid chromatography of peptides and proteins*, J. Chromatogr., A705, 1995, 3–12.
- [134] PETERS E. C., SVEC F., FRECHET J. M. J., *Preparation of large diameter molded porous polymer monoliths and the control of pore structure homogeneity*, Chem. Mat., 9, 1997, 1898–1900.
- [135] BRYJAK M., TROCHIMCZUK A., *New chromatographic materials for enzyme separation*, Envir. Prot. Engn., 20, 1994, 43–49.
- [136] PASECHNIK V. A., SOLOVYOVA L. Y., GORBUNOV A. A., MITROFANOV Y. V., KARABANOVA Y. A., *A chromatographic method for hydrophobicity investigations of sorbents*, Chromatographia 28, 1989, 258–262.
- [137] BRYJAK M., *Evaluation of poly(butyl acrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) sorbents for chromatographic separation of biomolecules*, Angew. Makromol. Chem., 215, 1994, 129–138.
- [138] MELANDER W., ELRASSI Z., HORVATH C., *Interplay of hydrophobic and electrostatic interactions in biopolymer chromatography. Effect of salt on the retention of proteins*, J. Chromatogr., 498, 1989, 3–27.
- [139] KOMPALA A., *Chromatograficzne oczyszczanie lipazy praca dyplomowa*, Inst. Chem. Org. Biochem. Biotech., Wrocław 1996, opiekun M. BRYJAK.
- [140] BRYJAK M., dane niepublikowane, materiał zebrany w raporcie końcowym grantu KBN nr 7 S205 026 04 „Wpływ modyfikacji powierzchniowej sorbentów akrylowych na ich zdolność do sorpcji hydrofobowej”, Wrocław 1996.
- [141] WALKOWIAK R., *Chromatograficzne oczyszczanie acylazy penicylinowej*, praca dyplomowa, Inst. Chem. Org. Biochem. Biotechnol., Wrocław 1996, opiekun M. BRYJAK.
- [142] BRYJAK M., BRYJAK J., *Purification of soybean trypsin inhibitors by means of chromatographic methods*, Angew. Makromol. Chem., 226, 1995, 197–211.
- [143] BRYJAK J., KOLARZ B. N., *Immobilization of trypsin on acrylic copolymers*, Process Biochem., 33, 1998, 409–417.
- [144] CARLSSON J., JANSON J. C., SPARRMAN M., *Affinity chromatography*, w *Protein purification*, J. C. Janson, L. Ryden (Eds.), VCH Publish., New York, 1989, s. 275.
- [145] KAUL R., MATTIASSON B., *Affinity ultrafiltration for protein purification*, w *Molecular interactions in bioseparations*, T. T. Ngo (Ed.), Plenum Press, New York, 1993, s. 487.
- [146] DURAND A., HOUVDET D., *Synthesis and thermoassociative properties in aqueous solution of graft copolymers containing poly(N-isopropylacrylamide) side chains*, Polymer 40, 1999, 4941–4951.
- [147] PEPPER D. S., *Some alternative coupling chemistries for affinity chromatography*, w *Practical protein chromatography*, A. Kenney, S. Fowell (Ed.), Humanna Press, Totawa 1992, s. 135.
- [148] SKOTARCZYK J., *Separacja cystatyn metodą chromatografii powinowactwa*, praca dyplomowa, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Wrocław 1997, opiekun M. BRYJAK.

- [149] SIEWIŃSKI M., GUTOWICZ J., ZARZYCKI A., MIKULEWICZ W., *Role of cysteine endopeptidases in cancerogenesis*, *Cancer Biotherapy Radiopharma.*, 11, 1996, 169–176.
- [150] BJORK I., BRIEDITIS I., RAUB-SEGALL E., POL E., HAKANSSON K., ABRAHAMSON M., *The importance of the second hairpin loop of cystatin C for proteinase binding. Characterization of the interaction of Try-106 variants of the inhibitor with cysteine proteinase*, *Biochemistry*, 35, 1996, 10720–10726.
- [151] SIEWIŃSKI M., BERDOWSKA I., JARMUŁOWICZ R., *Sposób otrzymania inhibitorów cysteinowych z roślin i białka jaj*, patent polski nr 303949, 1994.
- [152] WULFF G., KIRSTEN G., *Enzyme analog polymer. Measuring the optical activity of chiral imprints in insoluble highly crosslinked polymers*, *Angew. Chem.*, 102, 1990, 706–708.
- [153] LIN J. M., NAKAGAMA T., *Enantioseparation of D, L-Phe by molecularly imprinted polymer particles filled capillary electrochromatography*, *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.*, 20, 1997, 1489–1495.
- [154] NICHOLLS I. A., *Thermodynamic consideration for the design of a ligand recognition by molecularly imprinted polymers*, *Chem. Lett.*, 1995, 1035–1041.
- [155] KATZ A., DAVIS M. E., *Investigation into the mechanisms of molecular recognition with imprinted polymers*, *Macromolecules* 32, 1999, 4113–4118.
- [156] MARTENS J., BHUSHAN R., *Resolution of enantiomers with achiral phase chromatography*, *J. Liq. Chromatogr.*, 15, 1992, 1–27.
- [157] ZHOU J., X. W.HE, LI Y. J., *An acrylamide-based molecularly imprinted polymer for the efficient recognition of optical aminoacid hydantoin*, *Analyt. Comm.*, 36, 1999, 243–249.
- [158] ZHOU J., HE X. W., Y. J.LI, *Binding study on 5, 5'- diphenylhydantoin imprinted polymer constructed by utilizing amide functional group*, *Anal. Chim. Acta*, 394, 1999, 353–359.
- [159] BRYJAK M., GANCARZ I., *Nowe chiralne fazy stacjonarne*, Raport SPR34, Instytutu Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych, Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1993.
- [160] DAVANKOV V. A., *Chiral selectors with chelating properties in liquid chromatography: fundamental reflections and selective review of recent developments*, *J. Chromatogr.*, A, 666, 1994, 55–76.
- [161] RAMSTROM O., NICHOLLS I. A., MOSBACH K., *Synthetic peptide receptor mimics: highly stereoselective recognition in non-covalent molecularly imprinted polymers*, *Tetrahedron Assymetry*, 5, 1995, 649–658.
- [162] KEMPE M., MOSBACH K., *Molecular imprinting used for chiral separations*, *J. Chromatogr.*, A, 694, 1995, 3–13.
- [163] GLAD M., REINHOLDSSON P., MOSBACH K., *Molecularly imprinted composite polymers based on trimethylopropane trimethacrylate particles for efficient enantiomeric separations*, *React. Polym.*, 25, 1995, 47–54.
- [164] PLUNKETT S. D., ARNOLD F. H., *Molecularly imprinted polymers on silica: selective supports for high-performance ligand-exchange chromatography*, *J. Chromatogr.*, 708, 1995, 19–29.
- [165] DHAL P. K., VIDYASANKAR S., ARNOLD G. H., *Surface grafting of functional polymers to macroporous poly(trimethylopropane trimethactylate)*, *Chem. Mat.*, 7, 1995, 154–162.
- [166] SELLERGEN B., *Imprinted dispersion polymers. a new class of easily accessible affinity stationary phases*, *J. Chromatogr.*, A, 673, 1994, 133–142.
- [167] WANG Q. C., SVEC F., FRECHET J. M. J., *Macroporous polymeric stationary-phase rod as continuous separation medium for reverse phase chromatography*, *Anal. Chem.*, 65, 1993, 2243–2255.
- [168] VIDYASANKER S., ARNOLD F. H., *Molecular imprinting: materials for separations, sensors and catalysis*, *Cur. Opin. Biotechnol.*, 6, 1995, 218–227.
- [169] RAMSTROM O., MOSBACH K., *Synthesis and catalysis by molecularly imprinted materials*, *Cur. Opin. Chem. Biol.*, 3, 1999, 759–764.

- [170] ANSELL R. J., KRIZ D., MOSBACH K., *Molecularly imprinted polymers for bioanalysis, chromatography, binding assays and biomimetic sensors*, Cur. Opin. Biotechnol., 7, 1996, 89–94.
- [171] LIU X. C., MOSBACH K., *Catalysis of benzisoxazole isomerization by molecularly imprinted polymers*, Macromol. Rapid Commun., 19, 1999, 671–674.
- [172] LIU X. C., MOSBACH K., *Studies towards a tailor made catalyst for the Diels-Alder reaction using the technique of molecular imprinting*, Macromol. Rapid Commun., 18, 1997, 609–615.
- [173] KARMALKER R. N., M. G. KULHARNI, R. A. MASHELKAR, *Molecularly imprinted hydrogels exhibit chymotrypsin-like activity*, Macromolecules 29, 1996, 1366–1368.
- [174] BEACH J. V., SHEA K. J., *Designated catalysts. A synthetic network polymer that catalyses the dehydrofluorination of 4-fluoro-4-(p-nitrophenyl)-butane-2-one*, J. Am. Chem. Soc., 116, 1994, 379–380.
- [175] MATSUI J., NICHOLLS I. A., KARUBE I., MOSBACH K., *Carbon-carbon bond formation using substrate selective catalytic polymers prepared by molecular imprinting: an artificial class II aldolase*, J. Org. Chem, 61, 1996, 5414–5417.
- [176] ROWAN S. J., SANDERS J. K. M., *Enzyme models: design and selection*, Cur. Opin. Chem. Biol., 1, 1997, 483–490.
- [177] GANCARZ I., POŹNIAK G., BRYJAK M., *Modification of polysulfone membranes. 3. Effect of nitrogen plasma*, Eur. Polym. J., 36, 2000, 1563–1569.
- [178] BRYJAK M., GANCARZ I., POŹNIAK G., *Plasma modified porous membrane*. Chem. Papers, 54, 2000, 496–501.

Dorobek naukowy autora wykorzystany w monografii*

Prace publikowane

- [13] BRYJAK M., TROCHIMCZUK W., *Porous ion exchange membranes as potential antifoulants*, Angew. Makromol. Chem., 1993, 208, 173–181.
- [18] BRYJAK M., POŹNIAK G., TROCHIMCZUK W., *Synthesis and properties of porous ion-exchange membranes*, Angew. Makromol. Chem., 1992, 200, 93–99.
- [19] BRYJAK M., GANCARZ I., *Plasma treatment of PE ultrafiltration membranes*, Angew. Makromol. Chem., 1994, 219, 117–121.
- [20] BRYJAK M., GANCARZ I., KRAJCIEWICZ A., PIĞŁOWSKI J., *Air plasma treatment of PAN porous membrane*, Angew. Makromol. Chem., 1996, 234, 21–29.
- [21] BRYJAK M., GANCARZ I., POŹNIAK G., *Surface evaluation of plasma modified polysulfone film*, Langmuir, 1999, 15, 6400–6404.
- [24] BRYJAK M., TROCHIMCZUK W., *Preparation of porous ion-exchange membranes from sulfonated polyethylene/poly[styrene-co-divinylbenzene]*, Angew. Makromol. Chem., 207, 1993, 111–119.
- [28] POŹNIAK G., BRYJAK M., TROCHIMCZUK W., *Sulfonated polysulfone membranes with antifouling activity*, Angew. Makromol. Chem., 233, 1995, 23–31.
- [30] BRYJAK M., HODGE H., DACH B., *Modification of porous polyacrlonitrile membrane*, Angew. Makromol. Chem., 260, 1998, 25–29.
- [33] BRYJAK M., GANCARZ I., PIĞŁOWSKI J., *Plasma modification of PAN porous membrane*, Envir. Prot. Eng., 19, 1993, 113–119.
- [34] GANCARZ I., POŹNIAK G., BRYJAK M., FRANKIEWICZ A., *Modification of polysulfone membranes. 2. Plasma grafting and plasma polymerization of acrylic acid*, Acta Polym., 50, 1999, 317–326.
- [36] GANCARZ I., POŹNIAK G., BRYJAK M., *Modification of polysulfone membranes. 2. CO₂ plasma treatment*, Eur. Polym. J., 35, 1999, 1419–1428.
- [50] BRYJAK M., *Modyfikacja powierzchniowa polimerów*, Materiały II Kongresu Technologii Chemicznej, Wrocław 1997 tom 3, str. 111–115.
- [104] BRYJAK M., WIECZOREK P., KAFARSKI P., LEJ CZAK B., *Transport of amino acids and their phosphonic acid analogues through supported liquid membranes containing macrocyclic carriers*, J. Membr. Sci., 56, 1991, 167.

*W nawiasach podano numer odnośnika ze spisu literatury cytowanej w monografii.

- [105] BRYJAK M, KOZŁOWSKI J., WIECZOREK P., KAFARSKI P., *Enantioselective transport of amino acid through supported chiral liquid membranes*, J. Membr. Sci., 85, 1993, 221.
- [132] BRYJAK M, TROCHIMCZUK A., BRYJAK J., *Evaluation of terpolymers of 2-hydroxyethyl methacrylate, dodecyl methacrylate, and ethylene glycol dimethacrylate as matrices for hydrophobic interaction chromatography*, Angew. Makromol. Chem., 242, 1996, 147–156.
- [135] BRYJAK M, TROCHIMCZUK A., *New chromatographic materials for enzyme separation*, Envir. Prot. Engn., 20, 1994, 43–52.
- [137] BRYJAK M, *Evaluation of poly[butyl acrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate] sorbents for chromatographic separation of biomolecules*, Angew. Makromol. Chem., 215, 1994, 129–138.
- [142] BRYJAK M, BRYJAK J., *Purification of soybean trypsin inhibitors by means of chromatographic methods*, Angew. Makromol. Chem., 226, 1995, 197–204.
- [177] GANCARZ I., POŹNIAK G., BRYJAK M, *Modification of polysulfone membranes. 3. Effect of nitrogen plasma*, Eur. Polym. J., 36, 2000, 1563–1569.
- [178] BRYJAK M, GANCARZ I., POŹNIAK G., *Plasma modified porous membranes*, Chem. Papers, 54, 2000, 496–501.

Prace niepublikowane

- [86] GAŁĘSKA I., praca dyplomowa, *Separacja membranowa kwasów organicznych*, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Wrocław 1996, opiekun M. BRYJAK.
- [108] KOZŁOWSKI J., praca dyplomowa, *Rozdzielanie izomerów optycznych aminokwasów przy użyciu membran*, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Wrocław 1992, opiekun M. BRYJAK.
- [139] KOMPALA A., praca dyplomowa *Chromatograficzne oczyszczanie lipazy*, Inst. Chem. Org. Biochem. Biotech., Wrocław 1996, opiekun M. BRYJAK.
- [141] WALKOWIAK R., praca dyplomowa *Chromatograficzne oczyszczanie acylazy penicylinowej* Inst. Chem. Org. Biochem. Biotechnol., Wrocław 1996, opiekun M. BRYJAK.
- [148] SKOTARCZYK J., praca dyplomowa, *Separacja cystatyn metodą chromatografii powinowactwa*, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Wrocław 1997, opiekun M. BRYJAK.
- [159] BRYJAK M., GANCARZ I., *Nowe chiralne fazy stacjonarne*, Raport SPR34, Inst. Technol. Org. Tw. Sztucz., Wrocław 1993

Separation processes and polymers. On the possibilities of extraordinary use of artificial polymers

Summary

Some possible ways of polymers use in separation processes are presented. Two main areas are explored in details: membranology and chromatography. The author shows his attainments on modification of porous and solid membranes. He also discusses the effects of alteration some properties of chromatographic packaging.

In the case of ultrafilters, the author shows that attachment of ionogenic groups onto the membrane surface virtually improves the filtration phenomenon. The membranes become less prone for fouling and the acid-base washing protocol leads to their complete regeneration. Additionally, the membrane separation property is usually improved. The dissertation shows several methods to achieve that goal, among them chemical and plasma modifications are well illustrated. Analytical methods for evaluations of pore size distribution and surface concentration for ionizable groups actively supplement this part of the review.

The discussion on the use of modified solid membranes is conducted in several paths. When polymer surface is modified contactors and supported liquid membranes may alter their separation properties. The modified solid and gel-like membranes can be effectively used as the permselective separators. Some backgrounds for separation of optically active isomers by means of chiral liquid membranes are given within.

In the case of some polymers applied in chromatographic packaging business, a method for preparation of sorbents for hydrophobic interaction chromatography (HIC) is shown. It allows obtaining HIC materials in one copolymerization step. An outline of the author's original methods for evaluation of sorbent hydrophobicity is presented also. Additionally, effectiveness of such methods as affinity chromatography and ion exchange chromatography in separation of bioactive proteins is discussed.

The last chapter of the dissertation is focussed on some chances to apply molecularly imprinted polymers (MIP) for separation and catalytic purposes. Some author's results on separation of optically active alkaloids as well as selected proteins enrich this part. It is the author's belief that these materials are worthy to be studied more intensively.

Spis rzeczy

1. Wstęp.....	4
2. Polimery	7
3. Membrany.....	11
3.1. Historia separacji membranowej	11
3.2. Membrany porowate.....	12
3.2.1. Modyfikacja membran porowatych	16
3.3. Otrzymywanie i charakterystyka porowatych membran jonowymiennych.....	16
3.3.1. Otrzymywanie PMJ z mieszanin polimerowych.....	16
3.3.2. Otrzymywanie PMJ przez modyfikację powierzchniową wstępnie uformowanych membran	21
3.3.3. Otrzymywanie PMJ przez plazmową modyfikację powierzchni.....	23
3.3.4. Określanie właściwości membran porowatych	28
3.3.4.1. Metoda szacowania funkcji rozkładu wielkości porów	28
3.3.4.2. Charakterystyka powierzchni polimerów	30
3.4. Membrany lite	37
3.4.1. Membrany unieruchomione	38
3.4.2. Kontaktory	40
3.4.3. Próby stosowania kontaktorów do wydzielania wybranych związków.....	43
3.4.4. Membrany w separacji związków optycznie czynnych.....	45
4. Chromatografia.....	49
4.1. Historia chromatografii	49
4.2. Chromatografia oddziaływań hydrofobowych.....	51
4.2.1. Metody określania hydrofobowości sorbentów stosowanych w HIC	55
4.2.2. Zastosowanie sorbentów w oczyszczaniu preparatów białkowych.....	58
4.3. Chromatografia powinowactwa.....	60
4.4. Polimery z odciskami molekularnymi	67
Podsumowanie.....	79
Piśmiennictwo cytowane	83
Dorobek naukowy autora.....	93
Summary.....	95

Contents

1. Introduction	4
2. Polymers	7
3. Membranes	11
3.1. History of membrane separation.....	11
3.2. Porous membranes	12
3.2.1. Modification of porous membranes	16
3.3. Preparation and characteristics of ion-exchanger porous membranes	16
3.3.1. Preparation of PMJ from polymer blends	16
3.3.2. Preparation of PMJ by surface modification of prior-formed membranes	21
3.3.3. Preparation of PMJ by plasma surface modification.....	23
3.3.4. Properties of porous membranes.....	28
3.3.4.1. Evaluation of pore-size distribution function.....	28
3.3.4.2. Characteristic of the polymer surface.....	30
3.4. Solid membranes	37
3.4.1. Supported liquid membranes	38
3.4.2. Contactors.....	40
3.4.3. Trials of using contactors to separation of selected compounds	43
3.4.4. Membranes in separation of optical isomers.....	45
4. Chromatography	49
4.1. History of chromatography.....	49
4.2. Chromatography of hydrophobic interactions	51
4.2.1. Methods of determination of hydrophobicity of sorbents used in HIC.....	55
4.2.2. Application of sorbents to enzyme purification	58
4.3. Affinity chromatography	60
4.4. Polymers with molecular imprints.....	67
Conclusions	79
References	83
References to the author's papers	93
Summary.....	95





BIBLIOTEKA GŁÓWNA

307426L/1

Wydawnictwa Politechniki Wrocławskiej
są do nabycia w następujących księgarniach:
„Politechnika”

Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
budynek A-1 PWr., tel. (0-71) 320 25 34;

„Tech”

plac Grunwaldzki 13, 50-377 Wrocław
budynek D-1 PWr., tel. (0-71) 320 32 52

Prowadzimy sprzedaż wysyłkową

ISSN 0239-5495