

УДК 66.067

Исследование возможности применения в биотехнологии полимерных изделий пространственно-глобулярной структуры. Подкладенко А.М., Чечевичкин В.Н.//Научное приборостроение. Формирование пучков заряженных частиц. Л.: Наука, 1990. - С. 105-110.

Рассматриваются ПГС-полимеры и пористые мембраны на их основе, которые могут быть использованы в качестве сорбентов и носителей при проведении очистки биологических объектов, в данном случае белков. Исследовались структурные и сорбционные свойства трех основных разновидностей ПГС-полимеров: ФЭЛ-8, ФЭЛ-10, ФЭЛ-15. Лит.-11 назв., ил. - 3.

А.М.Подкладенко, В.Н.Чечевичкин (НТО АН СССР)

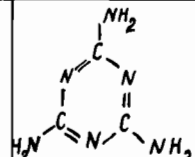
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ
ПОЛИМЕРНЫХ ИЗДЕЛИЙ
ПРОСТРАНСТВЕННО-ГЛОБУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ

В научно-исследовательской практике все более широкое распространение получают полимеры пористой глобулярной структуры (ПГС) и мембраны на их основе. Нацеленное изначально применение этих материалов для промышленной очистки технологических растворов и сточных вод [1-8] в настоящее время все более сдвигается в область препаративных фильтрационно-сорбционных операций очистки биологических объектов (белков, вирусов и т.д.), а также аналитических задач хроматографического разделения биологических и биохимических смесей. Преимущества ПГС-полимеров: регулярная структура и низкое гидродинамическое сопротивление потоку, возможность придания любой формы изделию из полимера без существенного ухудшения сорбционно-фильтрационных свойств, дешевизна и доступность компонентов, исполь-

зуемых при синтезе полимеров, и простота самого синтеза - все это делает указанные материалы перспективными не только в плане развития хромато-сорбционных методов получения и анализа биообъектов, но и как технологические, дешевые пористые конструкционные материалы, которые требуются при решении многих задач в приборостроительной практике.

Классификация ПГС-полимеров, разработанных в государственном научно-исследовательском и проектном институте по обогащению руд цветных металлов "Казмехан-обор" (г.Алма-Ата), представлена в работе [8] и позволяет предварительно выбирать те или иные образцы для преимущественной сорбции различных веществ как по содержанию функциональных групп на единицу массы полимера, так и по гидродинамическому сопротивлению потоку жидкости. В работе исследовались структурные и сорбционные свойства трех основных разновидностей ПГС-полимеров (таблица): ФЭЛ-8,

Структурно-сорбционные свойства различных ПГС-полимеров

Формулы, свойства	ФЭЛ-8	ФЭЛ-10	ФЭЛ-15
1. Мономеры, определяющие ионогенность ¹⁾		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	
2. Содержание функциональных групп ¹⁾ , мг-экв/г	5,32-5,70	13,2-14,2	5,5-5,8
3. Кажущаяся плотность ρ_K ³⁾ , см ³ /г	1,10	1,15	1,13
4. Пикнометрическая плотность, ρ_n , см ³ /г	1,47	1,46	1,61
5. Суммарный объем пор V_{Σ} , см ³ /см ³	0,78	0,70	0,78
6. Предельный объем сорбционного пространства см ³ /см ³ : W_s			
по воде ⁴⁾ , 5)	0,080/0,098	0,118/0,140	0,082/0,280
по бензолу ⁴⁾ , 5)	0,042/0,075	0,056/0,080	0,055/0,070
7. Диаметр глобул полимера D , мкм	4,5(4,6) ²⁾	1,2; 4,8	1,5; 4,5; 10
8. Обменная емкость:			
по NaCl мг-экв/г	pH = 5 0,7	0,0	0,7
	pH = 8 1,5	0,0	0,1
по гемоглобину г/г	pH = 5 6,0	0,0	0,0
	pH = 8 2,5	0,0	0,0
по альбумину г/г	pH = 5 6,0	0,0	0,0
	pH = 8 2,5	0,0	0,4
9. Тип ионообменника	катионооб- менник	нейтральный	анионооб- менник

1) - данные работы [8].

2) - для различных образцов данного типа ПГС-полимера.

3) - для образцов, заполненных водой.

4) - для пористых мембран на основе ПГС-полимеров.

5) - для объемных ПГС-полимеров.

ФЭЛ-10, ФЭЛ-15, представляющие собой, соответственно, катионит, нейтральный тип и анаонит. Для этих полимеров были определены величины кажущейся ρ_k и пикнометрической ρ_n (по воде) плотностей, а на их основе рассчитаны значения суммарной пористости (суммарный объем пор) V_{Σ} , которые более всего соответствуют регулярно упакованной глобулярной модели с координационным числом $n = 3$ (пористость 0,815). В такой модели [9] каждая сфера структуры имеет точки контакта с тремя близлежащими сферами, что позволяет располагаться частицам по спирали в объеме. Для структур с регулярной упаковкой частиц величина пористости не зависит от диаметра глобул, а однозначно связана с координационным числом n . Экспериментальные данные подтверждают предположение о регулярности структуры ПГС-полимеров: для образцов с сильно различающимся размером глобул (1,5; 4,5 и 10 мкм) величины суммарной пористости были близки друг к другу (размеры глобул определялись микроскопическим методом [10]) и составляли, соответственно, 0,80; 0,79 и 0,77 см³/см³.

В экспериментальных данных по фильтрации воды через образцы ПГС-полимеров цилиндрической формы с площадью основания S и длиной L было установлено, что расход воды Q через образец пропорционален отношению:

$$Q \sim \frac{\Delta P \cdot S}{L}, \quad (1)$$

где ΔP — перепад давления на образце. Это позволило применить для расчета величин верхних значений размеров глобул формулу Дарси, справедливую для тонкого цилиндрического капилляра:

$$r = \sqrt{\frac{8Q\mu_{H_2O}L}{\Delta P \cdot \Pi \cdot S}}, \quad (2)$$

где μ_{H_2O} — кинематическая вязкость воды; Π — пористость (суммарный объем пор).

Учитывая, что на самом деле поры в образцах ПГС-полимеров не цилиндрические, а наиболее близки по конфигурации к синусоиде вращения, радиусы цилиндрических пор в расчетной модели будут находиться в интервале

$$r_{min} < r < r_{max}, \quad (3)$$

где r_{min} и r_{max} — значение радиуса пор в сужении и в расширении соответственно.

Согласно работе [9] радиус сужения R_{min} связан с радиусом глобулы R следующим соотношением:

$$R = \frac{r_{min}}{1.9}. \quad (4)$$

В таблице представлены значения рассчитанных на основе экспериментальных данных значений R , которые практически не отличаются от величин, полученных по микроскопическому методу.

Срезы ионообменника ФЭЛ-8, полученные на электронном микроскопе, имеют рыхлую глобулярную структуру с координационным числом, близким к 3, и поры между глобулами ПГС-полимера имеют неправильную форму, а по размерам (в пересчете на эквивалентный диаметр) не превышают 2–3 диаметров глобул. Количество контактов между глобулами находится в интервале от 2 до 4. Волнистый характер среза внутри глобулы обусловлен ступенчатым движением ножа в образце, что подтверждается параллельностью волн, расположенных перпендикулярно движению ножа, и постоянным их шагом.

Таким образом, внутреннее пространство глобулы является непористым, поскольку крупных пор на электронной фотографии не обнаруживается, а о наличии микропор в объеме глобулы говорить не приходится, так как величины предельного сорбционного пространства W_s , полученные по воде и по бензолу, согласно работе [1] имеют низкие значения (см. таблицу). Весьма вероятным в такой ситуации является наличие пористого слоя на внешней поверхности глобулы. По толщине он не превышает $4000 \text{ \AA}$.

Для изучения расширения возможности использования мембран на основе ПГС-полимеров в область взаимодействия с органическими противоионами был проведен кинетико-динамический анализ сорбции модельных белков (альбумина $pI \sim 4,7$ и гемоглобина $pI \sim 7,2$). Исследования проводились с использованием насосов и детектора от серийно выпускаемого хроматографа "Миллихром" при движении потока элюента сквозь мембрану. В экспериментах использовалась ячейка с общим объемом камеры 100 мкл, в которой находилась мембрана с рабочей площадью $S = 5 \text{ мм}^2$ и толщиной $\ell = 0,3 \text{ мм}$.

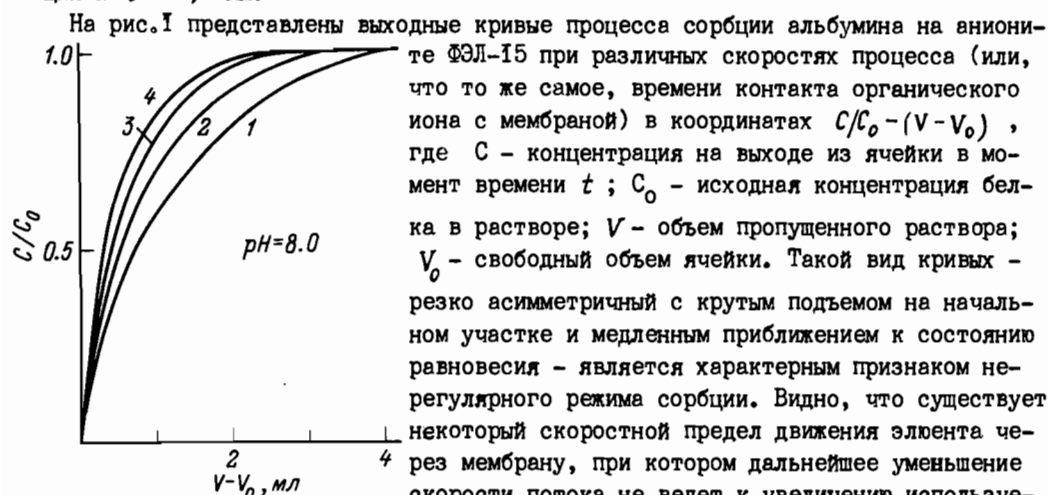


Рис. 1. Динамика сорбции альбумина анионообменной мембраной ФЭЛ-15 при различных временах контакта ($C_0 = 0,2 \text{ г/л}$):

1 – 1 с; 2 – 2 с; 3 – 4 с; 4 – 8 с

Эти скорости приблизительно одинаковы для различных типов мембран на основе ПГС-полимеров и соответствуют временам контакта биомолекулы с мембраной порядка 5–7 с. Результаты серии экспериментов по сорбции двух модельных белков с разными изоэлектрическими точками при разной кислотности среды на ПГС-мембранах рассматриваемых типов представлены, соответственно, для гемоглобина – на рис. 2 и альбумина – на рис. 3.

Обращает на себя внимание тождественность кривых 1 и 2 во всех условиях эксперимента. Что подтверждает предыдущие данные об инертности мембран ФЭЛ-10 и открывает широкие возможности по иммобилизации на их поверхность специфических активных центров с целью очистки биопрепаратов и проведению аффинной хроматографии.

Пологий наклон кинетической кривой сорбции 4 для мембран типа ФЭЛ-8 связан с ее большей емкостью (абсолютные значения представлены в таблице) по отношению к органическим противоионам, увеличивающейся со смещением в кислую область. Од-

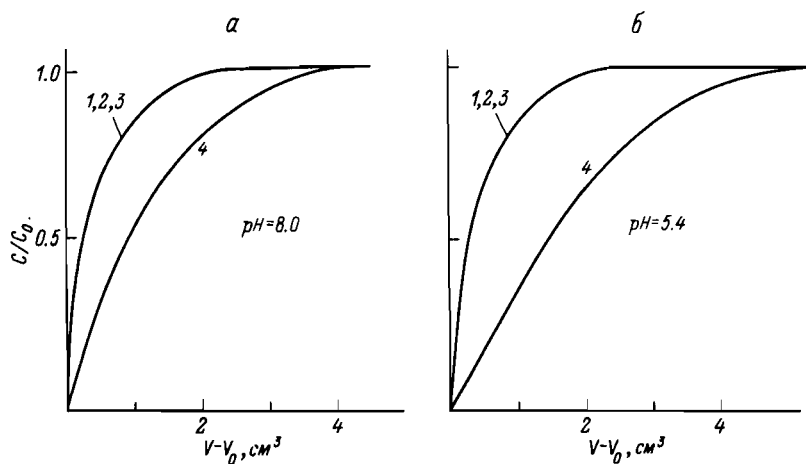


Рис.2. Динамика сорбции гемоглобина различными типами ПГС-мембран ($C_0 = 0,2$ г/л): 1 - бумажный фильтр; 2 - ФЭЛ-10; 3 - ФЭЛ-15; 4 - ФЭЛ-8

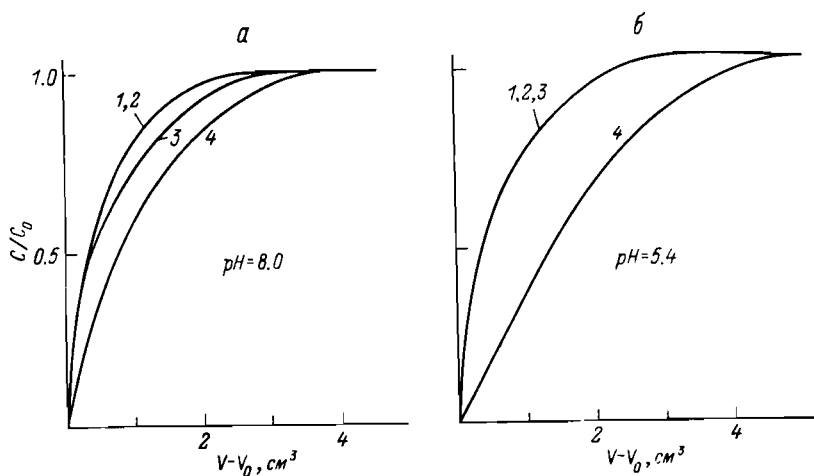


Рис.3. Динамика сорбции альбумина различными типами ПГС-мембран ($C_0 = 0,2$ г/л): 1 - бумажный фильтр; 2 - ФЭЛ-10; 3 - ФЭЛ-15; 4 - ФЭЛ-8

нако отличная от нуля сорбционная способность данного типа мембран при $pH = 8,0$ (т.е. области, где оба белка выступают в качестве анионов) позволяет предположить, что в данном случае имеет место не только ионообменный характер сорбции белков. Данный тип мембран может быть рекомендован для использования в установках по очистке растворов от органических ионов.

Кривые сорбции 3 альбумина и гемоглобина на мембранах типа ФЭЛ-15 (анионообменник) свидетельствуют о слабом ионном взаимодействии их с заряженными молекулами белков по ионообменному механизму.

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что ПГС-полимеры и пористые мембраны на их основе могут быть использованы в качестве сорбентов и носителей при проведении процессов очистки биологических объектов, таких, например, как белки. Вместе с тем необходимо дальнейшее всестороннее изучение особенностей процесса массообмена различных биотехнологических объектов на ПГС-полимерах и мембранах на их основе, что позволит перейти к широкому практическому применению этих доступных носителей в аналитической и препаративной хроматографии, фильтрации и сорбционной очистке.

В заключение авторы благодарят сотрудников института "Казмеханобр" (г.Алма-Ата) Н.Я.Любман и Г.К.Имангазиеву за предоставленные для исследований образцы ПГС-полимеров и мембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Любман Н.Я. и др./ Новые полимерные ионообменные фильтрующие изделия// Цветная металлургия. 1981. - № 9. - С. 36-39.
2. Любман Н.Я., Имангазиева Г.К./Очистка промывных кислот от мышьяка с помощью ионообменных фильтрующих изделий//Цветные металлы. 1981. - № 9. - С. 29-31.
3. Любман Н.Я., Имангазиева Г.К./Применение полимерных фильтрующих элементов для очистки промывных растворов УК СЦК//Цветные металлы. 1983. - № 4. - С. 34-36.
4. Любман Н.Я. и др./Разделение суспензий методом динамического фильтрования с использованием полимерных фильтрующих элементов//Цветные металлы. 1983. - № 6. - С. 43-45.
5. Любман Н.Я. и др./Полимерные ионообменные фильтрующие элементы для очистки сточных и оборотных вод//Цветные металлы. 1986. - № 6. - С. 42-46.
6. Любман Н.Я., Усков А.И./Фильтрующе-сорбционные установки для очистки растворов//Цветные металлы. 1987.-№ 4. - С. 42-45.
7. Любман Н.Я. и др./Умягчение воды с использованием ионообменных фильтрующих элементов//ЖПХ. 1987. - № 8. - С. 1740-1746.
8. Любман Н.Я. и др./Полимерные и ионообменные фильтрующие элементы для очистки сточных и оборотных вод//Проблемы очистки сточных и кондиционирования оборотных вод, эксплуатация водохранилищ: Сб.научн.тр. Алма-Ата: ГНИИ и ПИ. "Казмеханобр", 1986. - С. 5-12.
9. Карнаухов А.П./Глобулярная модель пористых тел корпускулярного строения. I. Характеристика модели//Кинетика и катализ. 1971. - Т. 12. - № 4. - С. 1025-1033.
10. Градус Л.Я. Руководство по дисперсионному анализу методом микроскопии. - М.: Химия, 1979. - 232 с.
11. Кельцев Н.В. Основы адсорбционной техники. - М.: Химия, 1984. - 592 с.