

Barbara KRAJEWSKA¹

WŁAŚCIWOŚCI TRANSPORTOWE ŻELOWYCH MEMBRAN CHITOZANOWYCH WOBEC JONÓW METALI I NIEELEKTROLITÓW

Streszczenie. Zmierzono współczynniki przenikalności dyfuzyjnej jonów metali przez żelowe membrany chitozanowe o różnej zawartości wody i porównano je ze współczynnikami nieelektrolitów przy użyciu 'modelu objętości swobodnej' membran żelowych. Odstępstwa w zachowaniu jonów metali przejściowych od modelu przypisano chelatowaniu tych jonów przez chitozan.

TRANSPORT PROPERTIES OF GEL CHITOSAN MEMBRANES TOWARDS METAL IONS AND NONELECTROLYTES

Summary. Diffusive permeability coefficients of metal ions were measured for gel chitosan membranes of different water content and compared to those of nonelectrolytes with use of the free volume model of solute diffusion through gel membranes. The deviation in behaviour of transition metal ions from the model was ascribed to chelation of these ions by chitosan.

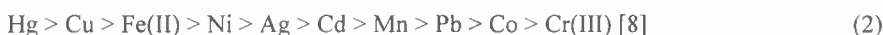
1. Wstęp

Chitozan, (1→4)-2-amino-2-deoksy-β-D-glukan, jest biopolimerem otrzymywanym z chityny przez jej deacetylację [1,2]. Chityna, (1→4)-2-acetamido-2-deoksy-β-D-glukan, główny składnik strukturalny pancerzy skorupiaków i insektów oraz ścian komórkowych grzybów i drożdży, jest drugim co do rozpowszechnienia w przyrodzie polimerem po celulozie. Jest produktem tanim, otrzymywanym najczęściej z przetwórstwa skorupiaków morskich.

¹ Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków,
e-mail: krajewsk@chemia.uj.edu.pl

Dzięki obecności grup aminowych w swoich cząsteczkach chitozan: 1) jest polielektroli-tem kationowym rozpuszczalnym w roztworach kwaśnych [1], 2) tworzy kompleksy z polielektrolitami anionowymi [3] oraz 3) chelatuje jony metali [4]. Pierwsze dwie z tych właściwości pozwalają na przetwarzanie chitozanu w postać żeli o różnych konfiguracjach geometrycznych, takich jak granulaty, warstwy pokrywające, membrany, włókna czy pianki. Ponadto chitozan ma szczególne właściwości, które stanowią jego potencjał do szerokiego zastosowania praktycznego: jest hydrofilowy, biogodny, biodegradowalny i posiada właściwości antybakteryjne. Jest biologicznie obojętny, całkowicie bezpieczny dla ludzi i środowiska naturalnego [3, 5-7]. Nadaje się więc dobrze do zastosowania w medycynie, w przemyśle farmaceutycznym i spożywczym oraz w rolnictwie.

Literatura podaje [1, 4], że chitozan dobrze kompleksuje jony metali przejściowych, a nie kompleksuje jonów metali alkalicznych i ziem alkalicznych. Ligandami kompleksującymi są grupy aminowe chitozanu, wobec tego efektywność kompleksowania jest przede wszystkim zależna od stężenia tych grup, tj. od stopnia deacetylacji chitozanu, ale również od ich dostępności, tj. od formy geometrycznej matrycy chitozanowej i od szybkości dyfuzji jonów w matrycy. Szybkość dyfuzji jonów zależy z kolei od zawartości wody w matrycy. Powinowactwo chitozanu do jonów metali przejściowych, wyrażone następującymi przykładowymi szeregami:



jest wg wielu autorów [1, 4, 9] zgodne z szeregiem Irvinga-Williamsa stałych trwałości kompleksów metali [10]. Najczęstsze doniesienia na temat chelatowania jonów metali przez chitozan dotyczą chitozanowych proszków i granulatów, rzadko membran [11].

W niniejszej pracy przebadano dyfuzję jonów metali alkalicznych, ziem alkalicznych i metali przejściowych przez żelowe membrany chitozanowe o różnej zawartości wody i dla porównania przez handlową membranę kuprofanową. Wyniki porównano z dyfuzją nieelektrolitów przez te membrany przy użyciu 'modelu objętości swobodnej' membran żelowych.

1.1. 'Model objętości swobodnej' membran żelowych

W 'modelu objętości swobodnej' [12, 13] membranę żelową rozpatruje się jako nieporowatą, homogeniczną strukturę polimerową, która, gdy spęczniała wodą, posiada wolne przestrzenie wypełnione rozpuszczalnikiem, przez które następuje dyfuzja cząsteczek. Przestrzenie te nie mają określonych wymiarów ani lokalizacji. Dyfuzja cząsteczek substancji rozpuszczonej przez tak zdefiniowaną membranę zależy od stopnia hydratacji membrany i wielkości cząsteczek dyfundujących. Zgodnie z tym modelem:

$$\frac{P}{D} = K\varphi(q_2) \exp\left[\left(-\frac{Bq_2}{V_f}\right)\left(\frac{1}{H} - 1\right)\right] \quad (4)$$

gdzie: P , D i K oznaczają dla danej substancji odpowiednio jej współczynnik przenikalności dyfuzyjnej przez membranę [cm^2/s], współczynnik dyfuzji w wodzie [cm^2/s] i współczynnik rozpuszczalności w membranie, q_2 jest powierzchnią przekroju cząsteczki dyfundującej (πa^2 , gdzie a jest promieniem cząsteczki), V_f jest objętością swobodną w membranie, H ułamkiem objętościowym wody w membranie, B stałą, a $\varphi(q_2)$ współczynnikiem odsiewania cząsteczek przez membranę (przyjmowanym za równy 1 dla małych cząsteczek).

Zgodnie z równaniem (4) zależności: $\ln(P/D)=f(a^2)$ i $\ln P=f(1/H)$ są prostoliniowe o współczynnikach kierunkowych ujemnych, dla pierwszej z nich odwrotnie proporcjonalnym do hydratacji membrany H , a dla drugiej wprost proporcjonalnym do wielkości cząsteczek dyfundujących q_2 . Wszelkie oddziaływania cząsteczek substancji dyfundujących z membraną objawiają się odstępstwami od tych zależności.

2. Część doświadczalna

Chitozan (chityna pancerzyków kryła antarktycznego) otrzymano z Morskiego Instytutu Rybackiego w Gdyni. Membrany chitozanowe przygotowano wg następującego przepisu [14]: membrany wzmocnione włóknem szklanym odlewano z roztworu chitozanu (1% w 0.8% kwasie octowym), suszono i neutralizowano roztworem NaOH. Membrany kondycjonowano w wodzie i poddano działaniu aldehydu glutarowego w wodzie o stężeniach 0.01, 0.1, 0.5 i 1 % przez 1.5 godziny w temperaturze pokojowej. Usieciowane membrany powlecano białkiem (BSA) przez zanurzenie w 0.05% roztworze białka w buforze fosforanowym o $\text{pH}=5.3$ przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej i przez noc w 4°C . Grubość tak otrzymanych membran wynosiła 0.009-0.01 cm. Membrana kuprofanowa była produkcji Enka, Niemcy. Jej grubość w stanie mokrym wynosiła 0.0025 cm. Zawartość wody w membranie H (g wody/g membrany) oznaczano przez ważenie membrany mokrej osuszonej powierzchniowo bibułą i membrany wysuszonej do stałej masy. Wartości H przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Zawartość wody w badanych membranach

Zawartość wody	Membrana kuprofanowa	Membrany chitozanowe				
		Sieciowanie aldehydem glutarowym				
		0	0.01 %	0.1%	0.5 %	1%
H	0.43	0.42	0.45	0.35	0.28	0.24
$1/H$	2.32	2.38	2.22	2.86	3.57	4.17

Współczynniki przenikalności dyfuzyjnej P jonów metali wyznaczono w układzie zamkniętym w 25°C wg procedury opisanej w pracy [14]. Współczynniki przenikalności dyfuzyjnej nieelektrolitów przez badane membrany pochodzą z pracy [14].

Sole: KCl, NH₄Cl, NaCl, LiCl, BaCl₂·2H₂O, CaCl₂, MgCl₂·6H₂O, AgNO₃, Pb(NO₃)₂, NiCl₂·6H₂O, CuCl₂·2H₂O, CoSO₄·7H₂O, CdCl₂·2.5H₂O, Zn(NO₃)₂·6H₂O i MnCl₂·4H₂O były produkcji POCh, Gliwice. Stałe charakteryzujące badane jony metali, tj. promienie zhydratowanych jonów, a [15], i ich sole, tj. współczynniki dyfuzji soli w wodzie, D , zebrano w tabeli 2. Za współczynniki D przyjęto wartości tych współczynników odpowiadające rozcieńczeniu nieskończonemu, obliczone z wartości D i D_+ jonów składowych o ładunkach z_+ i z_- w roztworach o rozcieńczeniu nieskończonym wg zależności [16]:

$$D = \frac{(z_+ + |z_-|)D_+D_-}{z_+D_+ + |z_-|D_-} \quad (5)$$

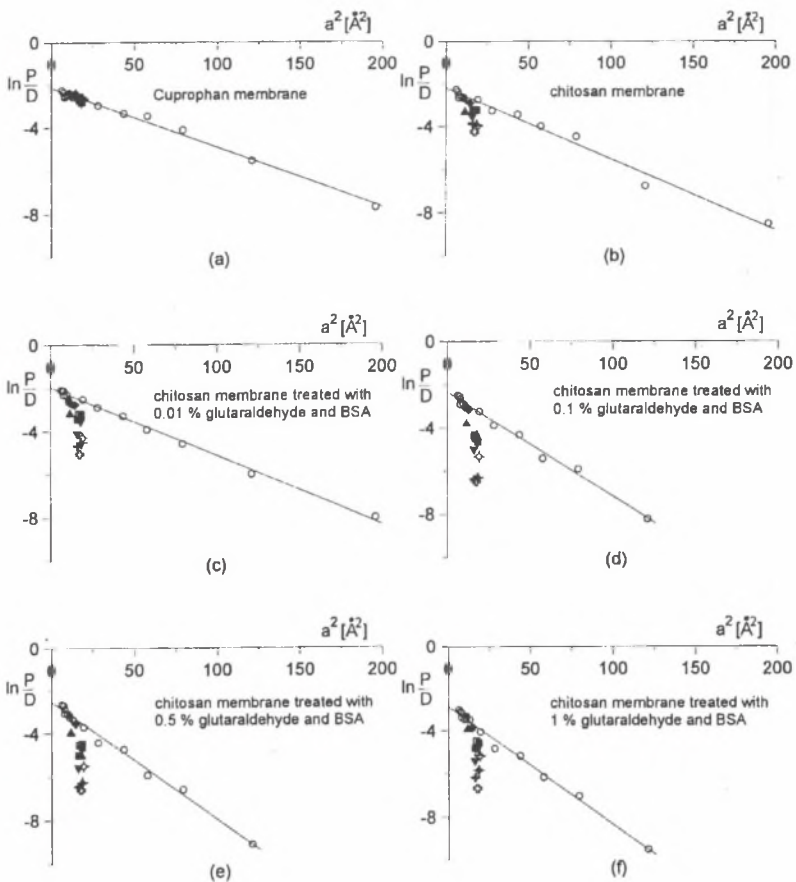
Tabela 2

Promienie zhydratowanych jonów metali a i współczynniki dyfuzji ich soli w wodzie D

Jon	a [Å]	Sól	$D \times 10^5$ [cm ² /s]
K ⁺	3.31	KCl	1.99
NH ₄ ⁺	3.31	NH ₄ Cl	1.99
Ag ⁺	3.41	AgNO ₃	1.76
Na ⁺	3.58	NaCl	1.61
Li ⁺	3.82	LiCl	1.36
Pb ²⁺	4.01	Pb(NO ₃) ₂	1.42
Ni ²⁺	4.04	NiCl ₂	1.20
Ba ²⁺	4.04	BaCl ₂	1.38
Ca ²⁺	4.12	CaCl ₂	1.33
Cu ²⁺	4.19	CuCl ₂	1.26
Co ²⁺	4.23	CoSO ₄	0.87
Cd ²⁺	4.26	CdCl ₂	1.26
Mg ²⁺	4.28	MgCl ₂	1.25
Zn ²⁺	4.30	Zn(NO ₃) ₂	1.21
Mn ²⁺	4.38	MnCl ₂	1.25

3. Wyniki i dyskusja

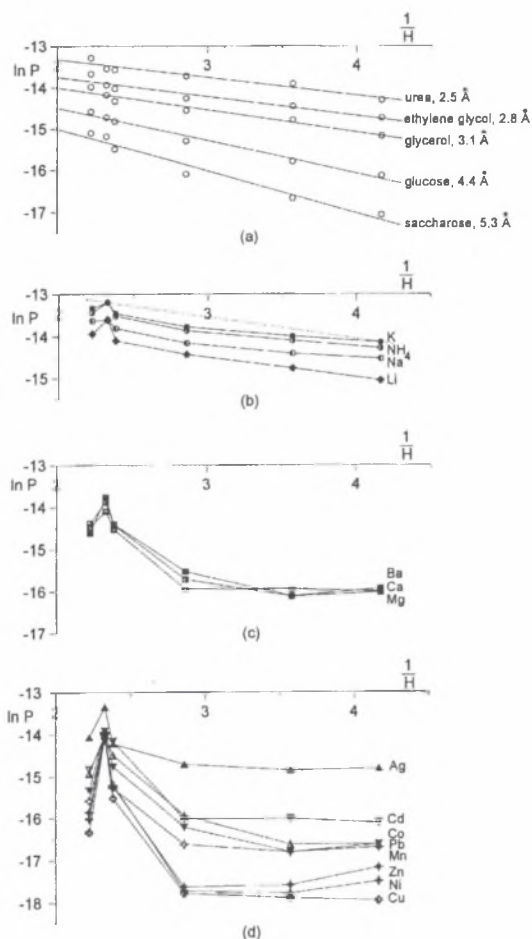
Zmierzone wartości współczynników P badanych soli przedstawiono w postaci zależności: $\ln(P/D)=f(a^2)$ i $\ln P=f(1/H)$ na rys. 1 i 2 razem z danymi dla nieelektrolitów [14].



Rys. 1. Zależność $\ln(P/D)=f(a^2)$ dla badanych membran (\circ - nieelektrolity, \bullet - K, \circ - NH_4 , \circ - Na, \blacklozenge - Li, \blacksquare - Ba, \square - Ca, \square - Mg, \blacktriangle - Ag, \blacktriangledown - Pb, \blackplus - Ni, \blackcross - Cu, \blacktriangleleft - Co, \blacktriangledown - Cd, \blacklozenge - Zn, \blacklozenge - Mn)

Fig. 1. Plot of $\ln(P/D)=f(a^2)$ for the studied membranes (\circ - nonelectrolytes, \bullet - K, \circ - NH_4 , \circ - Na, \blacklozenge - Li, \blacksquare - Ba, \square - Ca, \square - Mg, \blacktriangle - Ag, \blacktriangledown - Pb, \blackplus - Ni, \blackcross - Cu, \blacktriangleleft - Co, \blacktriangledown - Cd, \blacklozenge - Zn, \blacklozenge - Mn)

Rys. 1 i 2 pokazują, że 'model objętości swobodnej' dobrze opisuje dyfuzję nieelektrolitów przez wszystkie badane membrany. Punkty doświadczalne wyznaczają proste, których ujemne współczynniki nachylenia rosną w pierwszym przypadku (rys. 1), gdy maleje hydratacja membrany, a w drugim (rys. 2a), gdy rośnie promień dyfundujących cząstek.



Rys. 2. Zależność $\ln P=f(1/H)$ dla badanych membran: (a) nieelektrolity, (b) jony metali alkalicznych, (c) jony metali ziem alkalicznych, (d) jony metali przejściowych

Fig. 2. Plot of $\ln P=f(1/H)$: (a) nonelectrolytes, (b) alkali metal ions, (c) alkali earth metal ions, (d) transition metal ions

Położenie punktów doświadczalnych na rys. 1a dla membrany kuprofanowej wskazuje, że dyfuzja jonów metali przez tę membranę jest zgodna z założonym modelem, tj. nie występują żadne specyficzne oddziaływania kuprofan-jony metali. W odróżnieniu od membrany kuprofanowej, dla wszystkich membran chitozanowych (rys. 1b – 1f) zaobserwowano, że jony metali z wyjątkiem metali alkalicznych nie stosują się do modelu. Oznacza to, że jony metali alkalicznych nie oddziałują chemicznie z chitozanem, a jony metali ziem alkalicznych i przejściowych wykazują takie oddziaływania.

Rys. 2a pokazuje prostoliniowe zależności $\ln P=f(1/H)$ dla nieelektrolitów o cząsteczkach rozmiarami podobnych do badanych jonów metali. Te same zależności wykreślone dla jonów metali (rys. 2b-2d) nie wykazują charakteru prostoliniowego, wskazując, że wszystkie badane jony metali w mniejszym (jony metali alkalicznych), średnim (jony metali ziem alkalicznych) lub dużym stopniu (jony metali przejściowych) wchodzi w oddziaływanie z membranami chitozanowymi. Dla jonów metali alkalicznych są to małe odstępstwa od modelu, wskazujące na słabe oddziaływanie, być może tylko elektrostatyczne, między ładunkami jonów a dodatnio naładowanymi grupami aminowymi chitozanu. Natomiast dla jonów metali ziem alkalicznych i przejściowych współczynniki P są odpowiednio mniejsze lub dużo mniejsze niż przewidziane przez model. Wielkość rosnących współczynników P jonów metali przejściowych układa te jony w szereg:



odpowiadający szeregom powinowactwa chitozan-jony metali, podawanym w literaturze (szeregi (1)-(3)). Dowodzi to, że odpowiedzialne za obserwowaną dyfuzję jonów metali przejściowych przez membrany chitozanowe, niezgodną z 'modelem objętości swobodnej', jest chelatowanie tych jonów przez chitozan. Mianowicie, jony te w kontakcie z membraną chitozanową, zanim rozpocznie się ich dyfuzja, ulegają skompleksowaniu przez chitozan, co powoduje usieciowanie membrany, a więc zagęszczenie jej struktury. Obserwowana wielkość dyfuzji odpowiada membranom zmodyfikowanym przez jony metali, a więc o mniejszej hydratacji, stąd mniejsze lub znacznie mniejsze ich współczynniki przenikalności dyfuzyjnej.

Otrzymane wyniki wskazują, że żele chitozanowe mogą być zastosowane jako bariery chroniące układy przeznaczone do pracy w środowisku biologicznym, przed niszczącym działaniem jonów metali ciężkich.

Literatura

1. Roberts G.A.F.: Chitin Chemistry. Macmillan, Houndmills 1992.
2. Hudson S.M., Smith C.: Polysaccharides: chitin and chitosan: chemistry and technology of their use as structural materials, w: Kaplan D.L. (Red.) Biopolymers from Renewable Resources, Springer, Berlin 1998, s. 96-118.
3. Kubota N., Kikuchi Y.: Macromolecular complexes of chitosan, w: Polysaccharides, Dumitriu S. (Red.) Dekker, New York 1998, s. 595-628.
4. Muzzarelli R.A.A.: Natural Chelating Polymers, Pergamon Press, Oxford 1973.
5. Li Q., Dunn E.T., Grandmaison E.W., Goosen M.F.A.: J. Bioact. Compat. Polym., 1992, 7, 370-397.
6. Hirano S.: Ind. Biotechnol. Polym., 1995, 189-203.

7. Felt O., Buri P., Gurny R.: *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1998, 24, 979-993.
8. Koshijima T., Muraki E, Yamada A., Fumiko Y.: *Cellul. Chem. Technol.*, 1973, 7, 197-208.
9. Mitani T., Moriyama A., Ishii H.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1992, 56, 985.
10. Irving H., Williams R.J.P.: *Nature*, 1948, 162, 746-747.
11. Blair H.S., Ho T.-C.: *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1980, 31, 6-10.
12. Yasuda H., Peterlin H., Colton C.K., Smith K.A., Merrill E.W.: *Makromol. Chem.*, 1969, 126, 177-186.
13. Yasuda H., Lamaze C.E.: *J. Macromol. Sci.-Phys.*, 1971, B5, 111-134.
14. Krajewska B., Olech A.: *Polym. Gels Networks*, 1996, 4, 33-43.
15. Nightingale E.R., Jr.: *J. Phys. Chem.*, 1959, 63, 1381-1387.
16. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, D.R. Lide, H.P.R. Frederikse (Red.), CRC Press, Boca Raton, 1997, s. 5-93-5-94.

Abstract

Diffusive permeability coefficients of 15 metal ions (alkali, alkali earth and transition) were measured for water-swollen gel chitosan membranes: for an untreated chitosan membrane and four chitosan membranes crosslinked with glutaraldehyde of concentrations between 0.01 and 1% and coated with a protein, and also for comparison for a commercial Cuprophan membrane. The results were compared with those of nonelectrolytes in terms of the free volume model of solute diffusion through gel membranes. While for Cuprophan the permeability coefficients of the metal ions obeyed the model (Fig. 1a), those for chitosan membranes were found lower than predicted, the largest deviation being for the transition metal ions (Fig. 1b-1f, Fig. 2b-2d). The order of their permeability coefficients: $\text{Cu} < \text{Ni} < \text{Zn} < \text{Mn} < \text{Pb} < \text{Co} < \text{Cd} < \text{Ag}$ (Fig. 2d) corresponds to the metal ion-chitosan affinity series (series (1)-(3)), which proves that responsible for the deviation is chelation of these ions by chitosan. Mg, Ca and Ba ions were also found to be retained by chitosan membranes (Fig. 2c), though to a lesser degree, whereas K, NH_4 , Na and Li ions exhibited minor deviations from the models (Fig. 2b), attributed to electrostatic interactions. The diffusive properties of chitosan membranes towards metal ions offer potential for protection of chitosan-based biological systems against destructive effects of heavy metal ions.