

CA/PEI 膜的制备及对胆红素的吸附性能研究*

陈兆安¹, 贺高红^{1,3}, 邓麦村^{1,2}, 陈勇^{1,2}, 叶震^{1,2}, 吴鸣^{1,2}, 王俊德²

(1 天邦膜技术国家工程研究中心, 大连 116023; 2 中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023;

3 大连理工大学化工学院, 大连 116012)

摘要: 本文以二醋酸纤维素酯 (CA) / 聚乙烯基亚胺 (PEI) 共混制备微孔滤膜, 利用 PEI 所带的正电荷吸附胆红素。实验考察了交联对膜的吸附性能的影响, 表明由孔结构所决定的配基的可及性是影响吸附性能的主要因素。膜吸附剂对胆红素的吸附能力在碱性条件下随 pH 值升高而降低, 在 pH 为 8.3、9.5 及 10.4 时, 膜对胆红素的等温吸附按 Langmuir 模型拟合得最大吸附容量分别为 71.7、48.0 和 25.8 mg/g 膜

关键词: 醋酸纤维素; 聚乙烯基亚胺; 膜吸附剂; 胆红素

中图分类号: TQ028.8

文献标识码: A

Preparation of CA/PEI blend membrane and its application to removal of bilirubin

CHEN Zhao-an^{1,2}, HE Gao-hong^{1,3}, DENG Mai-cun^{1,2}, CHEN Yong^{1,2}, YE Zhen^{1,2}, WU Ming^{1,2},
WANG Jun-de²

(1 National Engineering Research Center of Membrane Technology, Dalian 116023, China; 2 Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China; 3 Dalian University of Technology, College of Chemical Engineering, Dalian 116012, China)

Abstract: The cellulose diacetate (CA) was blended with polyethylencimine (PEI) to prepare a novel adsorptive microfiltration membrane, which can be used as membrane adsorber for removal of bilirubin from aqueous solution by polycationic network. The effect of crosslinking on adsorption capability of membrane was investigated. It shows that the accessibility of ligands, which is mainly attribute to opening level and interconnectivity of pore structure in membranes, is primary factor. The adsorption capacity of bilirubin on membrane decreased with increasing value of pH when the value of pH was more than 7.0. The adsorption isotherm of bilirubin on membrane was fitted by Langmuir model and the maximum adsorption capacity at pH 8.3, 9.5 and 10.4 was 71.7, 48.0, and 25.8 mg/g, respectively.

Key words: cellulose diacetate; polyethyleneimine; membrane adsorber; bilirubin

1 引言

胆红素是一种内源性毒素, 是血红蛋白的降解产物。急性肝损伤时, 体内胆红素的排泄受到阻碍, 会导致血液中游离胆红素含量增高, 人体无法依靠自身代谢排出过高浓度的胆红素。过高浓度的胆红素可以对机体产生严重的神经毒性作用, 使胃肠道、脾、肾、性腺、骨髓和呼吸道粘膜等处出现渐进性坏死, 其中, 未结合胆红素的毒性尤其明显, 梗阻性黄疸患者中, 10%左右发生急性肾功能衰竭, 其死亡率也较高。胆红素分子内含有 4 个吡咯环 (见

基金项目: 国家自然科学基金项目 (29776043)

第一作者: 陈兆安 (1974-), 男, 大连人, 博士研究生, 研究方向为亲和膜过程

Fig.1), 呈脂溶性, 它可自由透过脂质表面、细胞膜、胎盘及血脑屏障, 干扰细胞的正常代谢而显示其毒性作用。

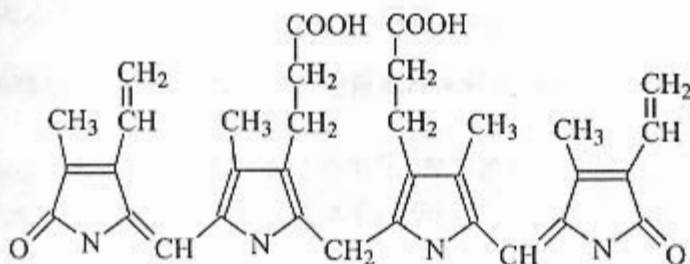


Fig.1 Structure of bilirubin, $C_{32}H_{40}N_4O_6$, $M_r=584.68$

如何能有效地排除高浓度的胆红素, 引起了各国学者的高度重视^[1], 体外循环疗法(如血液灌流技术)是清除血液中高浓度胆红素的一种有效方法, 利用合成的胆红素吸附剂, 通过血液灌流方法, 将浓度过高的胆红素清除掉。活性炭是最早用来吸附胆红素的吸附剂, 但其吸附选择性差, 在血液灌流过程中易发生活性炭颗粒脱落而导致血管栓塞。高分子吸附剂在清除胆红素的过程中起重要作用, 含氨基阳离子的树脂可以通过树脂上的氨基阳离子和胆红素羧基阴离子间的相互作用而吸附胆红素, 文献^[1-3]指出理想的胆红素吸附剂应有较高的阳离子氨基基团密度和适当的疏水空腔, 同时, 也应当有一定的亲水性以提高其血液相容性。

本文在前期制备 CA 微孔滤膜的基础上^[4], 制备了 CA/PEI 共混微孔滤膜, 在制膜液中共混 PEI 后加以交联, 交联有促进致孔的作用, 并使 PEI 固定于膜中, 通过可高度电离的聚阳离子物质 PEI 的共混改性而使膜形成正电荷网络结构, 具备高效吸附胆红素分子的作用。所制备的微滤膜适于以膜色谱方式吸附胆红素分子, 胆红素通过对流方式与配基结合, 在低压下可以快速高效去除溶液中的胆红素, 因而消除了颗粒填充床在质量传递过程中因扩散步骤为控速步而受到的限制。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

CA, Hoechst Celanese (U.S.A), HB-105; PEI, Sigma 公司, $M_n 60000$, 伯、仲、叔胺比为 1:2:1; 胆红素, Sigma 公司; 其余试剂均为分析纯。

JASCO-v550 紫外可见分光光度计; HS30A 恒温水浴摇床(中科院武汉科学仪器厂); 电子天平(日本岛津); Bio-RAD Econo 系统进行动态吸附实验。

2.2 膜的制备

把 CA 溶于 DMF/丙酮混合溶剂中, 加入一定量的 50% PEI 水溶液搅拌均匀, 再滴加一定量 7% 的多异氰酸酯的 DMF/丙酮溶液并快速搅拌, 对混入的 PEI 进行交联, 最后加入甘油作为非溶剂添加剂和塑化剂, 制成铸膜液, 静置脱泡后, 用玻璃棒在平板玻璃上刮涂形成厚度 500 μ m 的薄层, 置于 55 $^{\circ}$ C、相对湿度大于 95% 的环境中, 吸收水蒸气、挥发丙酮一段时间, 使其分相凝胶, 再浸入水中使膜固化, 并浸泡 24h 以便彻底交换出溶剂。

2.3 膜性能评价

(1) 最大孔径测定: 采用泡压法测定膜的最大孔径, 向被水润湿的微滤膜的一侧缓慢施加空气压力, 根据第一个气泡逸出时的压力计算出对应的最大孔径 $d = \frac{4\sigma}{P}$ 。

(2) 水通量的测定: 采用蒸馏水, 在真空度 6.9×10^4 Pa (520 毫米汞柱) 下测定单位时间、单位面积下纯水的透过速度(参照 Millipore 公司所采用的测试条件)^[7]。

(3) 孔隙率测定: 微滤膜孔隙率 $\epsilon = \frac{(W_1 - W_2) / d_{H_2O}}{V} \times 100$

式中, ϵ 为微滤膜孔隙率, W_1 为湿膜重, W_2 为干膜重, d_{H_2O} 为水密度, V 为膜体积。

(4) 扫描电镜观察膜结构: 膜样品脱水后, 用液氮冷冻断裂制样, 以 Hitachi S-3200N 扫描电镜进行观察。

(5) 末端氨基 (C_{NH_2}) 测定: 采用茚三酮法检测^[8]。氨基的物质质量与 PEI 中总氮之比为 4:1, 每个乙烯基胺单元 (分子量 43) 含一个氮原子, PEI 含量可由氨基含量近似估算 (忽略交联消耗的氨基),

$$PEI \text{ wt}\% = 4 \times 43 \times C_{NH_2} \times 100\%, \quad C_{NH_2} \text{ 为氨基含量, mol/g 膜}$$

2.4 溶液配制与分析方法

胆红素溶液的配制: 准确称取一定量的胆红素溶于 0.1N 的 NaOH, 加入 0.2M 的 pH7.4 磷酸缓冲溶液和去离子水, 配成 0.01~0.5g/l 的胆红素溶液。

胆红素浓度的测定^[12]: 用分光光度计测定 (检测波长为 440nm)。

静态吸附量: 称取干重约 15mg 膜, 置于 4ml 胆红素溶液中, 在摇床上以 200rpm 室温避光振荡 4h^[2], 测定溶液中胆红素浓度, 通过吸附前后胆红素浓度变化计算吸附量

$$q = \frac{(C_0 - C)V_{aq}}{W}$$

式中, C_0 、 C 分别为吸附前后的胆红素浓度, V_{aq} 为溶液体积, W 为膜的重量。静态吸附数据

以 Langmuir 模型 $q = \frac{q_m C}{C + K_d}$ 进行拟合, 式中, q 、 C 分别为达到吸附平衡时的饱和吸附量和

溶液中胆红素浓度, q_m 为最大吸附容量, K_d 为解离平衡常数。

动态吸附: 以 6 片直径 13mm 的膜装器, 于 Bio-RAD Econo 系统上样, 流速为 1ml/min, 在线检测 (280 nm) 得突破曲线。

3 结果与讨论

3.1 膜的结构

本文在前期工作^[9]的基础上, 采用制备的 CA/PEI 共混微孔滤膜 (共混比 0.15, 交联剂/PEI 为 0.5, 在 69kPa 下纯水通量 37ml/cm².min, 氨基含量约 180 μ mol/g 膜, 孔隙率 73%, 孔径约 0.5 μ m 的膜), 进行对胆红素的吸附研究, SEM 分析对膜孔结构的表征如图 2 所示, 膜的上下表面开孔均匀, 膜孔具有高度的连通性, 孔径分布较窄, 整体为对称的海绵状结构。

3.2 静态吸附

3.2.1 交联剂用量的影响

测定不同交联剂/PEI 重量比的膜约 17 mg 在 4ml 胆红素浓度 90mg/l 的溶液中平衡后的吸附量, 如图 3 所示, 其中氨基含量可近似反映出 PEI 的含量, 随交联剂量增加氨基含量增加, 即固定的 PEI 量增加, 在交联剂/PEI 重量比高于 1.0 后变化不大。膜对胆红素吸附量随 PEI 含量增加而呈现先增加后减小的变化趋势, 交联剂/PEI 重量比在 0.25~1.0 这一范围内吸附量变化较小, 高于 1.0 后逐渐降低。以纯 CA 膜进行实验表明纯 CA 膜对胆红素无吸附作用, 因而共混膜对胆红素的吸附应取决于配基 PEI 的含量, 但实验结果并未明显显示出这种效应, 因此吸附量的决定因素可能是空间位阻的影响, 其中在无交联时孔的连通性较差, 而在交联剂用量较高时, 会使孔径减小, 干燥过程的不可逆的收缩也会造成孔的堵塞, 因而使得胆红素不易与配基进行有效接触, 即配基的可及性较差, 使得吸附量值较低。这一结果与以透量进行优化所得的结果一致, 因而采用共混比 0.15, 交联剂/PEI 为 0.5 制膜, 从综合性能考虑

会获得性能最佳的共混膜。

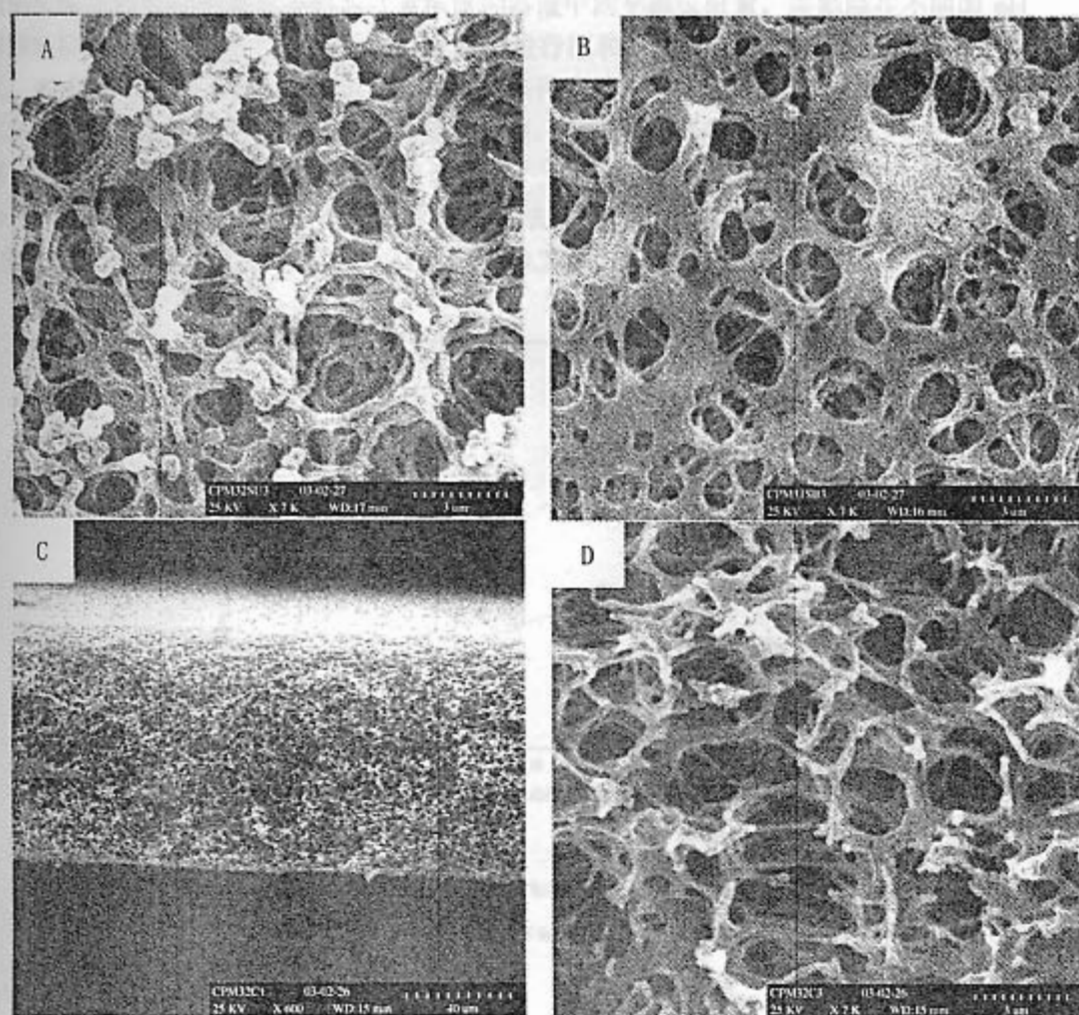


Fig. 2 SEM of blend membrane (A. Air surface, B. Glass surface, C. Cross section, D. Magnitude of cross section)

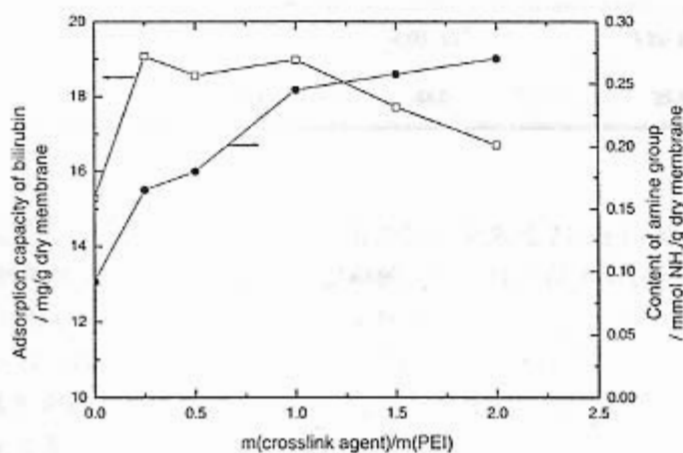


Fig. 3 Effect of amount of crosslinking agent on adsorption at 20°C, pH 8.3

(Blend ratio of 0.15).

3.2.2 等温吸附线

测定共混比为 0.15 的膜在不同胆红素浓度的溶液中的平衡吸附量, 绘制膜在不同的 pH 值下对胆红素的等温吸附线, 并按 Langmuir 模型进行拟合, 得出最大吸附量 q_m 和解离平衡常数 K_d , 如 Fig.4 和 Tab.1 所示, 可以看出在碱性条件下随 pH 值的升高, 胆红素的吸附量下降, 这是由于在高 pH 条件下, PEI 的电离受到抑制, 所产生的电荷位点减少所致。与文献^[2]的结果 42.2mg/g (pH7.4) 相比要高。报道显示^[5,6]重症肝炎病人血清胆红素约在 300~500 μ mol/l (约 180~300mg/l), 一般需达到 90% 的去除率, 由表中的拟合和数据可计算出在中性 pH 值条件下处理 1 升血清约需要共混膜 5~6g(0.2m², 膜约为 30g/m²)。

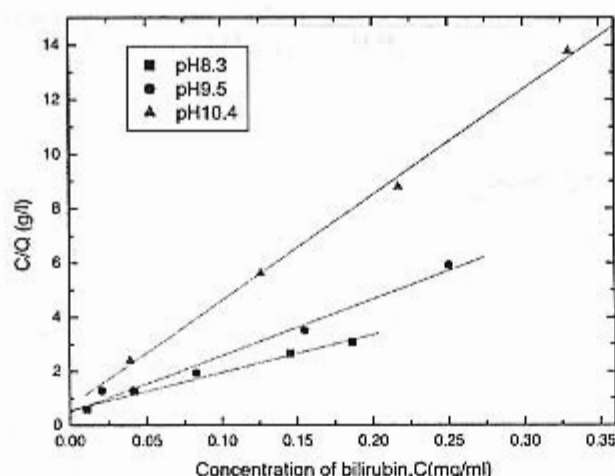


Fig. 4 Plot analysis derived from adsorption data of bilirubin on blend membrane at 20°C
(Blend ratio is 0.15 and crosslink agent/PEI is 0.5)

Table 1 The equilibrium adsorption parameters of bilirubin on the membranes

pH 8.3	Parameters	pH 9.5	pH 10.4
$6.89 \cdot 10^{-5}$	K_d (mol/l)	$4.03 \cdot 10^{-5}$	$3.22 \cdot 10^{-5}$
71.7	q_m (mg/g dry membrane)	48.0	25.8

3.3 动态吸附

以直径 13mm 的共混膜 (约 20mg) 装器, 样品溶液胆红素浓度 21mg/l, 流速为 1ml/min, 如 Fig.5 所示分别为在线测定 CA 膜和 CA/PEI 共混膜的突破曲线 (图中垂线指示胆红素溶液开始流过膜的时间), 对曲线 (2) 积分求得其饱和吸附量约为 12.6 mg/g 膜, 与按 Langmuir 模型求得值 13.6mg/g 膜相比基本一致。曲线 (1)、(2) 比较, 可以看出纯 CA 膜对胆红素没有吸附效果, 共混膜在突破前可以高效地去除溶液中的游离胆红素, 突破曲线较陡, 适于以膜色谱的方式去除胆红素。

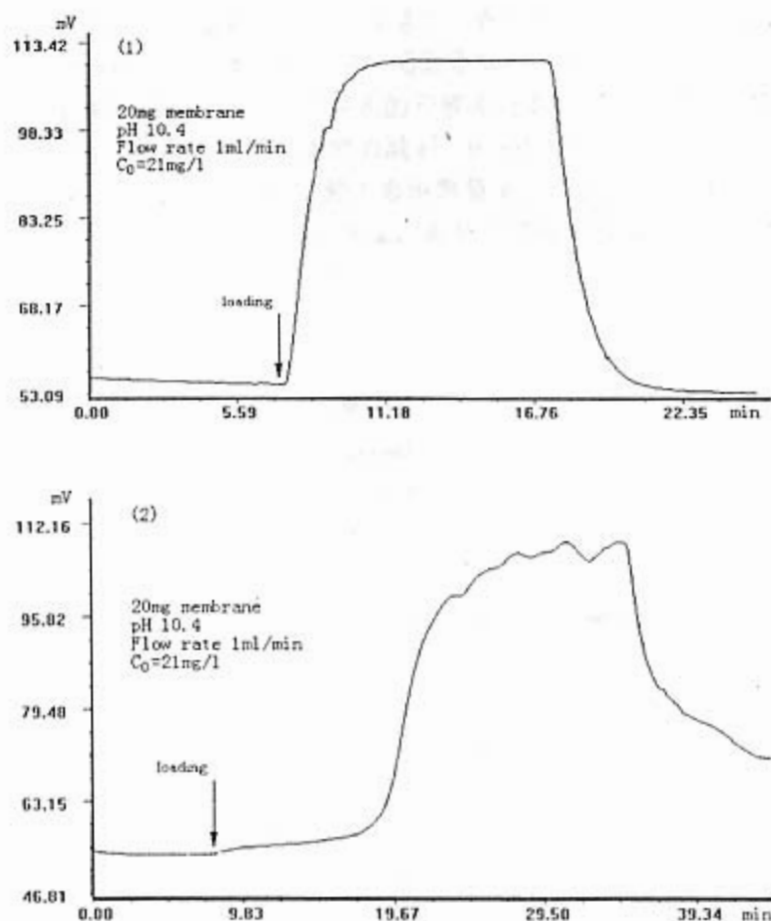


Fig. 5 Breakthrough curve of membrane at 20°C

(1) CA membrane; (2) CA/PEI blend membrane (Blend ratio of 0.15, Crosslink agent/PEI of 0.5).

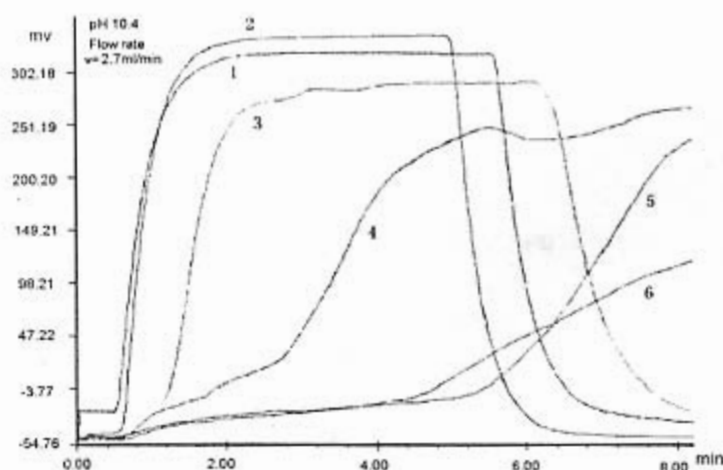


Fig. 6 Breakthrough curves of membrane stacks with different thickness at 20°C

1—without membrane; 2—five CA membranes; 3—one blend membrane;

4—four blend membranes; 5—seven blend membranes; 6—ten blend membranes

以 CA 膜和不同厚度的共混膜吸附胆红素的突破曲线在图 6 进行了比较,可以看出随膜厚度的增加,膜的突破点后移,有效处理量基本与膜厚成正比,当膜的厚度较高(10 张膜)时,突破曲线变得比较平缓,不利于分离操作,其原因是由于在较高流速、较高膜厚下,压差变得较大,使得膜的边缘的密封处变形导致一定的渗漏或提前突破。

4 结语

以 CA 与 PEI 共混或共混交联制备了高度孔连通性、孔隙分布均匀的微孔滤膜,膜上的 PEI 可以有效地吸附水溶液中的胆红素。对交联剂用量影响的考察表明,膜上的配基密度并非吸附量的决定因素,配基的可及性(主要是膜孔的开放或连通程度)则是更强的影响因素。在碱性条件下随 pH 值升高膜对胆红素的吸附能力减弱,在 pH 为 8.3、9.5 和 10.4 时,膜对胆红素的等温吸附基本符合 Langmuir 型吸附,最大吸附容量 q_m 分别为 71.7、48.0 和 25.8mg/g 膜。动态吸附表明纯 CA 膜对胆红素没有吸附效果,而共混膜在突破前可以高效地去除溶液中的游离胆红素,适于以膜色谱法去除胆红素。

参考文献

- [1] 袁直,魏斌,何炳林等, [J]. 高等学校化学学报, 1999, 20(6):903-905
- [2] 张跃华,张彦,何炳林, [J]. 高等学校化学学报, 1995, 16(4): 643-647
- [3] 张克柱,孙君坦,何炳林, [J]. 高等学校化学学报, 1999, 20(6): 965-968
- [4] 陈兆安,叶震,陈勇等, [J]. 膜科学与技术, 2003, 23(3):11-15
- [5] 杨春林,兰孟东,李兴旺, [J]. 临床肝胆病杂志, 1999, 3:169-171
- [6] WRATTEN ML, SERENI L, TETTA C, [J]. Hemolipodialysis attenuates oxidative stress and removes hydrophobic toxins, *Artif. Organs*, 2000, 24: 685
- [7] 黄策,夏其昌, [M]. 微孔滤膜及其应用, 上海, 上海科技文献出版社, 1980, 207-208
- [8] KUGEL K, MOSELEY A, HARDING GB, *et al.* [J]. Microporous poly(caprolactam) hollow fibers for therapeutic affinity adsorption, *J. Membr. Sci.*, 1992, 74:115-129
- [9] CHEN Z, DENG M, CHEN Y, *et al.* Preparation and performance of cellulose acetate/polyethylencimine blend microfiltration membranes and their applications, submitted to *Journal of membrane science*