



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00139

(22) Data de depozit: 08.02.2013

(41) Data publicării cererii:
29.08.2014 BOPI nr. 8/2014

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• SARBU ANDREI, STR. VALEA OLTULUI
NR. 16, BL. A28, SC. C, ET. 2, AP. 37,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

• SANDU TEODOR, STR. PARANGULUI
NR. 43A, ET. 1, AP. 4, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• SARBU LILIANA, STR. VALEA OLTULUI
NR. 16, BL. A28, SC. C, ET. 2, AP. 37,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• LUNGU ANAMARIA,
STR. STÂNJENEILOR NR. 8, BL. 1A, SC. A,
AP. 9, ET. 2, SINAIA, PH, RO

(54) MEMBRANE ACRILICE BICOMPONENTE
MULTIFUNCȚIONALE ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A
ACESTORA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o membrană acrilică multicomponentă, cu aplicații în filtrarea apelor uzate, și la un procedeu pentru obținerea acesteia. Membrana conform invenției constă din 75...90% copolimer acrilic și în rest alcool polivinilic. Procedeu conform invenției constă în aceea că o soluție, cu concentrația gravimetrică de 8...10% amestec de polimeri format din 75...90% copolimer binar acrilonitril și acetat de vinil, în dimetil-sulfoxid, și, în rest, alcool polivinilic, se dizolvă timp de 2...10 h la o temperatură de 80...95°C, până la dizol-

varea completă a polimerilor, după care soluția polimerică este turnată pe o placă de sticlă, formând un film continuu de lichid, care este imersat într-o baie de inversie de fază, formată din alcool izopropilic și apă distilată, timp de 1...2 h la temperatura camerei, după care membrana obținută este funcționalizată uzual în vederea utilizării.

Revendicări: 5



MEMBRANE ACRILICE BICOMPONENTE MULTIFUNCȚIONALE ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA

Prezenta invenție se referă la obținerea unor membrane acrilice bicomponente multifuncționale, cu funcție de micro sau ultrafiltrare, cu bune proprietăți mecanice și pe care sunt immobilizate covalent enzime, cu aplicații în filtrarea apelor uzate și în biotehnologie precum și la procedeul de obținere a acestora.

Pentru obținerea de membrane polimerice de ultra și microfiltrare conținând enzime immobilizate covalent se pot utiliza membrane pe bază de poliacrilonitril sau pe bază de copolimeri ai acrilonitrilului.

Se cunosc mai multe metode de obținere a suporturilor pe bază de poliacrilonitril sau copolimeri ai acrilonitrilului pentru immobilizarea covalenta a enzimelor.

1. O posibilitate de obținere de suporturi pe bază de poliacrilonitril pentru immobilizarea covalentă a enzimelor o reprezintă modificarea grupelor cian de pe suprafața polimerică la grupări amidice sau de tip clorură acidă și a fost aplicată pe granule de homopolimer sau de copolimeri de acrilonitril. Metoda are dezavantajul că nu este indicată a se aplica pentru obținerea membranelor, deoarece poate afecta structura acestora, cu efecte negative asupra proprietăților membranelor. Metoda este dificil de controlat și nu permite evitarea efectului negativ al microvecinătății enzimei cu suprafața polimerului [1].

2. O metodă pentru obținerea de membrane de micro și ultrafiltrare conținând enzime immobilizate covalent o reprezintă activarea suprafeței membranei de poliacrilonitril în vederea formării de grupe funcționale de tip amină de care să se lege covalent enzima prin intermediul unei carbodiimide[2]. Metoda are dezavantajul că aminarea membranei este greu de realizat și o mare parte din grupele active sunt cuprinse în interiorul membranei și deci enzima, care este voluminoasă, nu are acces spre acestea, pentru a reacționa. În plus, se utilizează ca activator o carbodiimidă, care este un produs scump.

3. O altă metodă cunoscută pentru obținerea de membrane de ultrafiltrare conținând enzime immobilizate covalent constă în utilizarea unui copolimer al acrilonitrilului cu glicidil metacrilat, urmată de tratarea membranei cu amoniac gazos sau soluție de amoniac, în vederea transformării grupelor epoxi ale glicidil metacrilatului în grupări aminice [3]. Metoda are dezavantajul că necesită utilizarea unui comonomer de mic tonaj, scump (glicidil metacrilatul),

iar enzima legată ulterior de grupările aminice se află prea aproape de suprafața hidrofobă a membranei și prin urmare nu-și poate adopta conformația optimă a centrului activ.

4. O altă metodă de obținere a membranelor conținând enzime imobilizate covalent se bazează pe utilizarea unei membrane comerciale de poliacrilonitril, pe care se depune un strat de alcool polivinilic care este parțial acetalizat cu glutardialdehidă, prin cataliză cu acid clorhidric [4]. Metoda are dezavantajul că depunerea stratului de alcool polivinilic obturează porii membranei suport de poliacrilonitril, schimbând necontrolat caracteristicile de curgere prin membrană și că se ridică probleme de aderență între cele 2 straturi de polimeri.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unor membrane de micro și ultrafiltrare bicomponente, cu bune proprietăți mecanice și cu activitate enzimatică, preparate din amestec de copolimeri acrilonitril-co-acetat de vinil cu alcool polivinilic, dintr-o soluție într-un solvent comun al celor 2 polimeri, prin coagulare într-o baie de inversie de fază formată din doi componenți, ambii nesolvenți pentru copolimerul acrilic, dar unul solvent pentru alcoolul polivinilic, urmată de activarea grupurilor OH ale alcoolului polivinilic prin reacție polimer analogă cu glutardialdehida, astfel încât, pe de o parte, să se realizeze stabilizarea structurii membranei prin reticularea alcoolului polivinilic, iar pe de altă parte, să rămână grupări aldehidice nereacționate care să poată lega covalent grupările aminice ale enzimelor, fazele tehnologice și parametrii de lucru fiind astfel aleși încât se obțin caracteristicile compoziționale și structurale dorite, corespunzătoare domeniilor de utilizare ale membranelor acrilice de micro și ultrafiltrare bicomponente, conținând enzime legate covalent.

Procedeul conform invenției înlătură dezavantajele procedeelelor menționate anterior prin aceea că se produc membrane acrilice bicomponente de micro și ultrafiltrare pe bază de amestec de copolimeri acrilonitril-co-acetat de vinil și alcool polivinilic, conținând enzime imobilizate covalent, care se prepară pornind de la o soluție cu concentrația de 8-12 % (gravimetric) amestec de polimeri în dimetilsulfoxid, amestecul de polimeri fiind format din 75- 90 % (gravimetric) copolimer statistic binar cu raportul masic: 70-90 acrilonitril (AN): 30-10 acetat de vinil (AV), restul de 10-25% (gravimetric) din amestecul de polimeri fiind format din alcool polivinilic (APV) cu gradul de polimerizare 1000-1500 și gradul de hidroliză de peste 99%, dizolvarea având loc la 80-95 °C, timp de 2- 10 ore, până la dizolvarea completă a polimerilor, soluția polimerică astfel obținută fiind turnată pe o placă de sticlă și trasă cu un cuțit cu fantă de 200-300

μm , astfel încât să se formeze un film continuu de lichid, placa cu filmul de lichid fiind imediat imersată într-o baie de inversie de fază formată din amestec de 50-70% (volumetric) alcool izopropilic și restul apă distilată, unde se lasă timp de 1-2 ore, la temperatura camerei, după care membrana obținută se desprinde de pe placa de sticlă, se clătește cu apă distilată timp de 1-2 minute și se introduce într-un balon, în care se află o soluție apoasă conținând 10-20 % (volumetric) soluție apoasă de glutardialdehidă 50% (gravimetric) și 1-2 % (volumetric) H_2SO_4 concentrat 98%, raportul între membrana și soluția băii de funcționalizare fiind de 1:100- 1:200 (masă: volum), soluția de funcționalizare având temperatura de 70-80 °C, membrana menținându-se în soluția de funcționalizare, sub o agitare lentă, timp de 20-40 minute, după care balonul cu membrana și soluția de funcționalizare se lasă să se răcească în aer liber timp de 10-15 minute și apoi se scoate membrana din balon, se spală în 3 reprize cu apă demineralizată, fiecare repriză având o cantitate de apă aproximativ egală cu cantitatea de baie de funcționalizare, apoi membrana obținută este introdusă într-o baie de imobilizare formată din soluție tampon fosfat 0,1 M cu pH 7 conținând 0,3-1,0 % una din enzimele: lipază, tirozinază sau peroxidaza hreanului, unde se menține la temperatura camerei (20 °C), sub agitare, timp de 1-2 ore, raportul între membrană și baia de imobilizare fiind de 1: 50- 1: 70 (masă: volum), după care membrana se spală cu apă demineralizată în 3 reprize, fiecare repriză utilizând o cantitate de apă aproximativ egală cu cantitatea de soluție tampon folosită la prepararea băii de imobilizare, membrana spalată fiind apoi trecută într-o pungă de plastic, care se videază și se sigiliează, și care este menținută în frigider, la temperatura de +4 - +8 °C, până la utilizare.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- membranele multifuncționale prezintă în același timp proprietăți de micro sau ultrafiltrare și proprietăți mecanice și de cataliză enzimatică superioare, datorită compoziției copolimerului acrilic și datorită amestecului acestuia cu alcoolul polivinilic.

- utilizează un copolimer acrilic format din doi comonomeri de mare tonaj, ceea ce asigură un preț de cost redus al copolimerului acrilic și implicit membranei, introducerea drept comonomer a acetatului de vinil având ca efect creșterea modulului de elasticitate al membranei;

- obținerea membranei dintr-o soluție a doi polimeri: copolimerul acrilic și alcoolul polivinilic asigură o mai bună omogenitate compozițională decât membranele dublu strat, fără ca alcoolul polivinilic să înfunde porii membranei;

- membrana prezintă o hidrofilie mărită, datorită conținutului de alcool polivinilic, ceea ce asigură o mai bună compatibilitate între enzima și membrană;

- funcționalizarea membranei se realizează foarte ușor, prin reacția componentei de alcool polivinilic cu glutardialdehidă, care concomitent asigură și stabilizarea morfologiei membranei, prin reticulare;

- utilizează o baie de inversie de faze bicomponentă, ceea ce asigură posibilitatea dirijării porozității membranei;

- prin varierea compoziției unităților structurale de acrilonitril și acetat de vinil ale copolimerului și a cantității de alcool polivinilic se pot dirija atât proprietățile de curgere ale membranelor de micro sau ultrafiltrare cât și cantitatea de enzimă imobilizată;

- deoarece imobilizarea se realizează pe grupările aldehidice nereacționate ale glutardialdehidei, enzima imobilizată se află la o distanță destul de mare de suprafața polimerului, ceea ce permite enzimei să-și aranjeze optim centrul activ și să aibă o activitate enzimatică ridicată;

- utilizează pentru funcționalizare o substanță de uz industrial, relativ ieftină, precum soluția apoasă 50% de glutardialdehidă;

- permite dirijarea activității enzimaticice a membranelor, în funcție de gradul de funcționalizare al suprafeței acestora și în funcție de condițiile de lucru din etapa de imobilizare covalentă;

- asigură prin legăturile covalente o imobilizare permanentă a enzimei pe polimer ceea ce evită eluția enzimei în mediul de reacție.

Se dau în continuare exemple de realizare a invenției:

Exemplul 1

Într-un balon de sticlă cu 3 gâturi, cu capacitatea de 100 ml se introduce cantitatea de 41,8 ml (cca 46 g) dimetil sulfoxid și cantitatea de 1 g de alcool polivinilic, având gradul de polimerizare 1500 și gradul de hidroliză 99,00 %. Balonul se introduce într-o calotă electrică cu încălzire reglabilă. La gâtul central al balonului se montează un agitator de sticla tip elice, la unul din gâturile laterale se introduce un termometru, iar la celălalt gât lateral se introduce un dop. Se pornește agitarea și încălzirea, astfel încât în balon să se mențină temperatura de 95 °C, urmărind momentul în care toată cantitatea de alcool polivinilic s-a dizolvat. În acel moment, se scoate

dopul rodat și prin gâtul lateral respectiv al balonului se introduce cantitatea de 3 g copolimer acrilonitril: acetat de vinil cu raportul masic AN:AV 90:10 și cu viscozitatea relativă (în soluție 0,3 % în dimetilformamidă la 25 °C) de 1,74. Se continuă agitarea până la dizolvarea completă a copolimerului acrilic, durata totală de dizolvare fiind de circa 6 ore. Se obține astfel o soluție cu concentrația totală de polimer de circa 8% (gravimetric) și cu compoziția amestecului de polimeri de 75% (gravimetric) copolimer acrilic și 25% (gravimetric) APV.

Circa 5 ml din soluția proaspăt preparată se toarnă caldă pe o placă de sticlă cu dimensiunile: 400x500x4 mm și se întinde rapid cu un cuțit de tragere cu lungimea de 300 mm și fanta de 300 μm. Placa de sticlă cu filmul de lichid se imersează rapid într-o baie de inversie de fază, având temperatura camerei (circa + 20 °C), formată din 70% (volumetric) alcool izopropilic și restul apă distilată și conținută într-o cadidă de material plastic. Placa se lasă în baia din cadidă timp de 2 ore. Apoi, membrana, cântărind circa 0,4 g, se desprinde de pe placa de sticlă, se clătește timp de 1 minut cu un jet de apă distilată și se introduce într-un balon cu fund plat de 200 ml, cu 2 gâturi, amplasat într-o calotă cu încălzire electrică reglabilă, în care se află 80 ml soluție de funcționalizare, preparată prin adăugarea în apa distilată a 8 ml soluție apoasă 50% de glutardialdehidă și a 0,8 ml acid sulfuric 98% și baia de funcționalizare având temperatura de 70 °C, indicată de termometrul amplasat pe gâtul lateral al balonului. Raportul între membrană și baia de funcționalizare este de circa 1: 200 (masă: volum). La gâtul central se montează un agitator de sticlă, tip elice și se pornește o agitare lentă, astfel încât să nu fie distrusă membrana. Se menține agitarea și încălzirea la temperatura de 70 °C timp de 40 minute. La finalul funcționalizării se scoate balonul de funcționalizare din calota de încălzire și se lasă să se răcească în aer timp de 10 minute. Apoi membrana, se scoate din balonul de funcționalizare și se trece într-un pahar Berzelius cu capacitatea de 200 ml, în care este spălată cu 3 porții de apă demineralizată, fiecare porție având cantitatea de 40 ml. Membrana spălată este introdusă într-un alt pahar Berzelius cu capacitatea de 200 ml și care conține 20 ml soluție 0,3 % de lipază în tampon fosfat 0,1 M cu pH 7 unde se menține la temperatura camerei (20 °C), sub agitare orbitală lentă, timp de 2 ore, raportul între membrană și baia de imobilizare fiind de 1: 50 (masă: volum), după care membrana se spală viguros cu apă demineralizată în 3 reprize, fiecare repriză utilizând o cantitate de apă de câte 20 ml. Membrana spălată este apoi trecută într-o pungă de plastic, care se vedează și se sigiliează, și care este menținută în frigider, la temperatura de +4 - +8 °C, până la utilizare. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 276 nm, un modul de elasticitate

de 352 MPa și un conținut de lipază de 7,6 % și care scade la 7,2 % după 3 spălări cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplul 2

Într-un balon de sticlă cu 3 gâturi, cu capacitatea de 100 ml se introduce cantitatea de 40,0 ml (cca 44 g) dimetil sulfoxid și cantitatea de 0,6 g de alcool polivinilic, având gradul de polimerizare 1000 și gradul de hidroliză 99,30 %. Balonul se introduce într-o calotă electrică cu încălzire reglabilă. La gâtul central al balonului se montează un agitator de sticlă tip elice, în unul din gâturile laterale se introduce un termometru, iar la celălalt gât lateral se introduce un dop. Se pornește agitarea și încălzirea, astfel încât în balon să se mențină temperatura de 80 °C, urmărind momentul în care toată cantitatea de alcool polivinilic s-a dizolvat. În acel moment, se scoate dopul rodat și prin gâtul lateral respectiv al balonului se introduce cantitatea de 5,4 g copolimer acrilonitril: acetat de vinil cu raportul masic AN:AV 70:30 și cu viscozitatea relativă (în soluție 0,3 % în dimetilformamida la 25 °C) de 1,50. Se continuă agitarea până la dizolvarea completă a copolimerului acrilic, durata totală de dizolvare fiind de circa 2 ore. Se obține astfel o soluție cu concentrația totală de polimer de circa 12% (gravimetric) și cu compoziția amestecului de polimeri de 90% (gravimetric) copolimer acrilic și 10% (gravimetric) APV.

Circa 5 ml din soluția proaspăt preparată se toarnă caldă pe o placă de sticlă cu dimensiunile: 400x500x4 mm și se întinde rapid cu un cuțit de tragere cu lungimea de 300 mm și fanta de 200 μm. Placa de sticlă cu filmul de lichid se imersează rapid într-o baie de inversie de fază, având temperatura camerei, formată din 50% (volumetric) alcool izopropilic și restul apă distilată și conținută într-o cadidă de material plastic. Placa se lasă în baia din cadidă timp de o oră. Apoi, membrana, cântărind circa 0,4 g, se desprinde de pe placa de sticlă, se clătește timp de 2 minute cu un jet de apă distilată și se introduce într-un balon cu fund plat de 200 ml, cu 2 gâturi, amplasat într-o calotă cu încălzire electrică reglabilă, în care se află 40 ml soluție de funcționalizare, preparată prin adăugarea în apă distilată a 8 ml soluție apoasă 50% de glutardialdehidă și a 0,4 ml acid sulfuric 98% și baia de funcționalizare având temperatura de 80 °C, indicată de termometrul amplasat pe gâtul lateral al balonului. Raportul între membrană și baia de funcționalizare este de circa 1: 100 (masă:volum). La gâtul central se montează un agitator de sticlă, tip elice și se pornește o agitare lentă, astfel încât să nu fie distrusă membrana. Se menține agitarea și încălzirea la temperatura de 80 °C timp de 20 minute. La finalul

funcționalizării se scoate balonul de funcționalizare din calota de încălzire și se lasă să se răcească în aer timp de 15 minute. Apoi membrana, se scoate din balonul de funcționalizare și se trece într-un pahar Berzelius cu capacitatea de 200 ml, în care este spălată cu 3 porții de apă demineralizată, fiecare porție având cantitatea de 80 ml. Membrana spălată este introdusă într-un alt pahar Berzelius cu capacitatea de 200 ml și care conține 28 ml soluție 1,0 % de lipază în tampon fosfat 0,1 M cu pH 7 unde se menține la temperatura camerei (20 °C), sub agitare orbitală lentă, timp de o oră, raportul între membrană și baia de imobilizare fiind de 1: 70 (masă: volum), după care membrana se spală viguros cu apă demineralizată în 3 reprize, fiecare repriză utilizând o cantitate de apă de câte 28 ml. Membrana spalată este apoi trecută într-o pungă de plastic, care se vedează și se sigiliează, și care este menținută în frigider, la temperatura de +4 - +8 °C, până la utilizare. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 98 nm, un modul de elasticitate de 366 MPa și un conținut de lipază de 4,8 % și care scade la 4,4 % după 3 spălări cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplul 3

Într-un balon de sticlă cu 3 gâturi, cu capacitatea de 100 ml se introduce cantitatea de 40,9 ml (cca 45 g) dimetil sulfoxid și cantitatea de 0,75 g de alcool polivinilic, având gradul de polimerizare 1200 și gradul de hidroliză 99,40 %. Balonul se introduce într-o calotă electrică cu încălzire reglabilă. La gâtul central al balonului se montează un agitator de sticlă tip elice, la unul din gâturile laterale se introduce un termometru, iar la celălalt gât lateral se introduce un dop. Se pornește agitare și încălzirea, astfel încât în balon să se mențină temperatura de 85 °C, urmărind momentul în care toată cantitatea de alcool polivinilic s-a dizolvat. În acel moment, se scoate dopul rodat și prin gâtul lateral respectiv al balonului se introduce cantitatea de 4,25 g copolimer acrilonitril: acetat de vinil cu raportul masic AN:AV 80:20 și cu viscozitatea relativă (în soluție 0,3 % în dimetilformamidă la 25 °C) de 2,20. Se continuă agitare până la dizolvarea completă a copolimerului acrilic, durata totală de dizolvare fiind de circa 10 ore. Se obține astfel o soluție cu concentrația totală de polimer de circa 10% (gravimetric) și cu compoziția amestecului de polimeri de 85% (gravimetric) copolimer acrilic și 15% (gravimetric) APV.

Circa 5 ml din soluția proaspăt preparată se toarnă caldă pe o placă de sticlă cu dimensiunile: 400x500x4 mm și se întinde rapid cu un cuțit de tragere cu lungimea de 300 mm și fanta de 250 μm. Placa de sticlă cu filmul de lichid se imersează rapid într-o baie de inversie de

fază, având temperatura camerei (circa + 20 °C), formată din 60% (volumetric) alcool izopropilic și restul apă distilată și conținută într-o cadită de material plastic. Placa se lasă în baia cîn cadită timp de 1,5 ore. Apoi, membrana, cântărind circa 0,35 g, se desprinde de pe placa de sticlă, se clătește timp de 1 minut cu un jet de apă distilată și se introduce într-un balon cu fund plat, de 200 ml, cu 2 gaturi, amplasat într-o calotă cu încălzire electrică reglabilă, în care se află 60 ml soluție de funcționalizare, preparată prin adaugarea în apă distilată a 9 ml soluție apoasă 50% de glutardialdehidă și a 0,9 ml acid sulfuric 98% și baia de funcționalizare având temperatura de 75 °C, indicată de termometrul amplasat pe gâtul lateral al balonului. Raportul între membrană și baia de funcționalizare este de circa 1: 171 (masa: volum). La gâtul central se montează un agitator de sticlă, tip elice și se porneste o agitare lentă, astfel încât să nu fie distrusă membrana. Se menține agitarea și încălzirea la temperatura de 75 °C timp de 30 minute. La finalul funcționalizării se scoate balonul de funcționalizare din calota de încălzire și se lasă să se răcească în aer timp de 12 minute. Apoi membrana, se scoate din balonul de funcționalizare și se trece într-un pahar Berzelius cu capacitatea de 200 ml, în care este spălată cu 3 porții de apă demineralizată, fiecare porție având cantitatea de 60 ml. Membrana spălată este introdusă într-un alt pahar Berzelius cu capacitatea de 200 ml și care conține 21 ml soluție 0,5 % de lipază în tampon fosfat 0,1 M cu pH 7 unde se menține la temperatura camerei (20 °C), sub agitare orbitală lentă, timp de 1,5 ore, raportul între membrană și baia de imobilizare fiind de 1: 60 (masă: volum), după care membrana se spală viguros cu apă demineralizată în 3 reprize, fiecare repriză utilizând o cantitate de apă de câte 21 ml. Membrana spălată este apoi trecută într-o punga de plastic, care se videază și se sigiliează, și care este menținută în frigider, la temperatura de +4 - +8 °C, până la utilizare. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 325 nm, un modul de elasticitate de 358 MPa și un conținut de lipază de 6,4 % și care scade la 5,9 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalenta a enzimei.

Exemplu 4

Se procedează ca în exemplul 1, cu excepția faptului ca în loc de lipază se folosește tirozinază. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 288 nm, un modul de elasticitate de 347 MPa și un conținut de tirozinază de 6,8 % și care scade la 6,5 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplu 5

Se procedează ca în exemplul 2, cu excepția faptului că în loc de lipază se folosește tirozinază. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 88 nm, un modul de elasticitate de 377 MPa și un conținut de tirozinază de 5,8 % și care scade la 5,5 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplu 6

Se procedează ca în exemplul 3, cu excepția faptului că în loc de lipază se folosește tirozinază. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 318 nm, un modul de elasticitate de 357 MPa și un conținut de tirozinază de 7,0 % și care scade la 6,6 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplu 7

Se procedează ca în exemplul 1, cu excepția faptului că în loc de lipază se folosește peroxidaza hreanului. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 263 nm, un modul de elasticitate de 355 MPa și un conținut de peroxidază de 4,8 % și care scade la 4,5 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplu 8

Se procedează ca în exemplul 2, cu excepția faptului că în loc de lipază se folosește peroxidaza hreanului. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 92 nm, un modul de elasticitate de 362 MPa și un conținut de peroxidază de 6,5 % și care scade la 6,2 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

Exemplu 9

Se procedează ca în exemplul 3, cu excepția faptului că în loc de lipază se folosește peroxidaza hreanului. Membrana a prezentat un diametru mediu al porilor de 296 nm, un modul de elasticitate de 369 MPa și un conținut de peroxidază de 6,7 % și care scade la 6,2 % după 3 spălari cu câte 40 ml tampon fosfat 0,1 M, dovedind imobilizarea covalentă a enzimei.

REVENDICĂRI

1. Membrană acrilică bicomponentă multifuncțională, caracterizată prin aceea că posedă concomitent caracteristici de micro sau ultrafiltrare, bune proprietăți mecanice și enzime immobilizate covalent.

2. Membrană conform revendicării 1, caracterizată prin aceea că se obține dintr-un amestec format din 75-90 % copolimer acrilic și restul de 10-25 % alcool polivinilic.

3. Membrană conform revendicării 1, caracterizată prin aceea că copolimerul acrilic este un copolimer statistic binar acrilonitril: acetat de vinil cu raportul AN:AV de 70:30- 90:10 și viscozitatea relativă (în soluție 0,3 % în dimetilformamida la 25 °C) de 1,50-2,20, iar alcoolul polivinilic are gradul de polimerizare 1000- 1500 și gradul de hidroliză de peste 99%.

4. Membrană conform revendicării 1, caracterizată prin aceea că enzimele immobilizate covalent sunt lipaza, tirozinaza sau peroxidaza hreanului

5. Procedeu de obținere a membranelor acrilice bicomponente multifuncționale, conținând enzime immobilizate covalent, conform revendicării 1-4, caracterizat prin aceea că se prepară pornind de la o soluție cu concentrația de 8-12 % (gravimetric) amestec de polimeri în dimetilsulfoxid, amestecul de polimeri fiind format din 75- 90 % (gravimetric) copolimer statistic binar cu raportul masic: 70-90 acrilonitril (AN): 30-10 acetat de vinil (AV), restul de 10-25% (gravimetric) din amestecul de polimeri fiind format din alcool polivinilic (APV) cu gradul de polimerizare 1000-1500 și gradul de hidroliză de peste 99%, dizolvarea având loc la 80-95 °C, timp de 2- 10 ore, până la dizolvarea completă a polimerilor, soluția polimerică astfel obținută fiind turnată pe o placă de sticlă și trasă cu un cuțit cu fanta de 200-300 μm, astfel încât să se formeze un film continuu de lichid, placa cu filmul de lichid fiind imediat imersată într-o baie de inversie de fază formată din amestec de 50-70% (volumetric) alcool izopropilic și restul apă distilată, unde se lasă timp de 1-2 ore, la temperatura camerei, după care membrana obținută se desprinde de pe placa de sticlă, se clatește cu apă distilată timp de 1-2 minute și se introduce într-un balon, în care se află o soluție apoasă conținând 10-20 % (volumetric) soluție apoasă de glutardialdehidă 50% (gravimetric) și 1-2 % (volumetric) H₂SO₄ concentrat 98%, raportul între membrană și soluția băii de funcționalizare fiind de 1:100- 1:200 (masă: volum), soluția de

funcționalizare având temperatura de 70-80 °C și membrana se menține în soluția de funcționalizare, sub o agitare lentă, timp de 20-40 minute, după care balonul cu membrana și soluția de funcționalizare se lasă să se răcească în aer liber timp de 10-15 minute și apoi se scoate membrana din balon, se spală în 3 reprize cu apă demineralizată, fiecare repriză având o cantitate de apă aproximativ egală cu cantitatea de baie de funcționalizare, apoi membrana obținută este introdusă într-o baie de imobilizare formată din soluție tampon fosfat 0,1 M cu pH 7 conținând 0,3-1,0 % una din enzimele: lipază, tirozinază sau peroxidaza hreanului unde se menține la temperatura camerei (20 °C), sub agitare, timp de 1-2 ore, raportul între membrană și baia de imobilizare fiind de 1: 50-1: 70 (masă: volum), după care membrana se spală cu apă demineralizată în 3 reprize, fiecare repriză utilizând o cantitate de apă aproximativ egală cu cantitatea de soluție tampon folosită la prepararea băii de imobilizare, membrana spălată fiind apoi trecută într-o pungă de plastic, care se videază și se sigiliează și care este menținută în frigider, în intervalul de temperatură de +4 °C - +8 °C, până la utilizare.