

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Facultat de Ciències

Departament de Química

Unitat de Química Analítica

**MEMBRANES EN LA SEPARACIÓ ENANTIOMÈRICA DEL FÀRMAC
PROPRANOLOL
DESENVOLUPAMENT I CARACTERITZACIÓ**



Centre Grup de
Tècniques de Separació
en Química

Memòria presentada per
na **Tània Gumí i Caballero**
per a optar al grau de Doctor
en Química. Juliol 2004.



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Química

Unitat de Química Analítica

Centre Grup de Tècniques de Separació en Química (GTS)

Cristina Palet i Ballús, Professora Titular, i **Manuel Valiente Malmagro**, Catedràtic, ambdós de Química Analítica del Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona,

CERTIFIQUEM: Que els estudis descrits en la present memòria sota el títol, "MEMBRANES EN LA SEPARACIÓ ENANTIOMÈRICA DEL FÀRMAC PROPRANOLOL. DESENVOLUPAMENT I CARACTERITZACIÓ " que presenta na Tània Gumí i Caballero, Llicenciada en Química, han estat realitzats sota la nostra direcció per a optar al grau de Doctor en Química.

I perquè així consti, signem la present a Bellaterra, a 30 de Juny de 2004.

Cristina Palet i Ballús

Manuel Valiente Malmagro

Membre de:



XARXA DE CENTRES
DE SUPORT
A LA INNOVACIÓ
TECNOLÒGICA

Edifici C - Campus de la UAB
08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès) - Barcelona, Spain
Tel.: 34 - 93 581 29 03 - 34 - 93 581 21 23 - 34 - 93 581 34 75
Fax: 34 - 93 581 23 79
gts@uab.es - http://gts.uab.es/gts

Els treballs que es recullen en la present memòria formen part dels projectes:

- "Sistema Integrado de Técnicas de Separación Avanzadas. Purificación de Productos Químicos y Valorización de Residuos en Aguas y Suelos Contaminados" (QUI99-0749-C03-01) CICYT 1999-2002.
- "Técnicas de Separación Avanzadas. Procesos Integrados de Purificación de Productos Químicos y Tratamiento de Aguas y Suelos Contaminados" (PPQ2002-04267-C03-01) MCYT, Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 2002-2005.

I han estat possibles gràcies a:

- La concessió d'una beca predoctoral (2001TDOC 00041) per part del DURSI, Programa de beques d'acabament de tesis doctorals de rellevant interès industrial, social o empresarial, TDOC 2001.
- La concessió d'una borsa de viatge de tres mesos per part del DURSI setembre - desembre 2001.
- La concessió d'una acció integrada, per part de DGICT Acciones Integradas entre España y Portugal 2002-2003.
- La concessió d'una beca predoctoral (AP2000-0541) per part del MECD, Beca de postgrado para la formación de profesorado universitario 2002-2004.

ÍNDIX

SUMMARY	3
1. INTRODUCCIO GENERAL	9
1.1 Els enantiòmers	9
1.2 Mètodes per a l'obtenció d'enantiòmers purs	10
1.2.1 Tècniques de separació d'enantiòmers	11
1.3 Les membranes	14
1.3.1 Tipus de membranes	15
1.3.2 Processos de separació amb membranes	20
1.3.3 Quantificació del transport i la selectivitat	22
1.3.4 Caracterització de membranes	25
1.3.5 Principals problemes dels processos de membranes	31
1.4 Separacions enantiomèriques mitjançant membranes	32
1.4.1 L'ús de membranes líquides enantioselectives	32
1.4.2 L'ús de membranes polimèriques enantioselectives	33
1.5 Separació enantiomèrica de Propranolol mitjançant membranes	34
1.5.1 El propranolol	35
1.5.2 La separació enantiomèrica de propranolol mitjançant membranes	35
1.6 Objectius	37
2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	41
2.1 Preparació de membranes	41
2.1.1 Preparació de membranes líquides suportades	41
2.1.2 Preparació de membranes polimèriques poroses (amb transportador i sense)	41
2.1.3 Preparació de membranes polimèriques poroses quirals	42
2.1.4 Preparació de membranes polimèriques denses (amb transportador i sense)	48
2.1.5 Preparació de membranes compòsit	48
2.2 Caracterització de membranes	49
2.2.1 SEM	49
2.2.2 AFM	49
2.2.3 Angle de contacte	50
2.2.4 ESR	50
2.2.5. Rebuig de soluts	51
2.3 Mòduls de membrana i procediment experimental	52

2.3.1 Cel·la UAB	53
2.3.2 Mòdul espiral	54
2.3.3 Mòdul UNL	54
2.3.4 Mòdul de filtració frontal	55
2.3.5 Consideracions generals	55
2.4 Tècniques analítiques de detecció	55
2.4.1 Electroforesi Capil·lar	56
2.4.2 Determinació de S i R-propranolol amb CE	57
2.4.3 Cromatografia Líquida d'Alta Resolució	58
2.4.4 Determinació de S i R-propranolol amb HPLC	59
2.5 Tractament de dades	59
3. DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS	63
3.1 Separació enantiomèrica de propranolol mitjançant membranes líquides suportades, SLM, amb HHP com a selector quirals (annex A)	63
3.2 Caracterització de membranes compòsit activades, ACM, per a la separació enantiomèrica de propranolol (annexos B i C)	69
3.3 Desenvolupament i caracterització de membranes polimèriques, CAM, per a la separació enantiomèrica del fàrmac propranolol (annexos D i E)	73
3.4 Síntesi i caracterització de membranes polimèriques quirals(annexos F i G)	80
4. CONCLUSIONS	87

ANNEX A T. Gumí, M. Valiente, C. Palet, "Characterization of a Supported Liquid Membrane Based System for the Enantioseparation of SR-Propranolol by N-hexadecyl-L-hydroxyproline". Separation Science and Technology 39(2) (2004) 431-447.

ANNEX B T. Gumí, M. Valiente, K.C. Khulbe, C. Palet and T. Matsuura, "Characterization of activated composite membranes by solute transport, contact angle measurements, AFM and ERS". Journal of Membrane Science 212 (2003) 123-134.

ANNEX C T. Gumí, C. Torras, R. Garcia-Valls and C. Palet, "Application of activated composite membranes containing the chiral carrier N-hexadecyl-L-hydroxyproline for filtration purposes". En preparació.

ANNEX D T. Gumí, M. Valiente and C. Palet, "Characterization of chiral activated membranes for the enantioseparation of SR-propranolol by response surface modelling". Enviat.

ANNEX E T. Gumí, Q. Ferreira, R.M.C. Viegas, J.G. Crespo, I.M. Coelho, and C. Palet, "Enantioselective separation of propranolol by chiral activated membranes". Enviat.

ANNEX F B. Gutierrez, T. Gumí, C. Palet and C. Minguillón, "Chiraly derivatized polysulfones for enantioselective membranes: preparation and chracterization". En preparació.

ANNEX G T. Gumí, C. Minguillón and C. Palet, "Characterization of membranes based in chiral derivatized polysulfone. Application to the separation of propranolol enantiomers". Enviat.

SUMMARY

SUMMARY

Membrane systems have been gaining importance, in the last years, as enantioseparation techniques, since they offer several advantages over traditional separation methods, such as low time cost, set-up simplicity and the possibility to be used in continuous mode.

In that sense, various membrane configurations, have already been proposed for the enantioseparation of a broad number of species, including amino acids and its derivatives, and several drugs. Different liquid membrane types, based either in chiral liquids or in dissolutions of chiral molecules (namely chiral carriers), were firstly proposed to resolve racemic mixtures. Crown ethers, polyaminoacids or cyclodextrines are some of the most widely employed chiral molecules in membrane solutions. However, liquid membranes processes, when applied for the separation of enantiomers, exhibit a rapid decrease of selectivity with operating time, due to the diffusion of analytes across the membranes. Additionally, they show low stability and short lifetime when tested under industrial separation conditions. Therefore, solid polymeric membranes based mostly in ultrafiltration membranes or polymer imprinting membranes have also been developed to overcome these drawbacks.

For the case of SR-propranolol, a β -blocking drug used for treating certain cardiovascular anomalies, with the S-enantiomer showing far more blocking activity than the R-enantiomer, different enantioselective carriers have been studied. On one hand, N-n-alkyl-hydroxyprolines, and dialkyl tartrate were used in the literature in liquid membrane configurations. In both cases, the carrier is present in the membrane phase and selectively forms a complex with one of the enantiomers, which is transported across the membrane by an ion pairing mechanism. These transport systems are driven by a proton gradient between both feed and stripping aqueous phases. On the other hand, norbornadiene was considered as chiral polymer. Although all these membrane systems showed promising results, concerning the enantioseparation of SR-propranolol, none of them was investigated in detail. Therefore, the information required to comprehend the behaviour of these systems, and consequently, to optimise their applicability was still lacking.

The purpose of the present work was the characterisation and development of membrane systems for the enantioselective separation of SR-propranolol. In that sense, four different membrane systems, based in supported liquid membranes (SLM), activated composite membranes (ACM), chiral activated membranes (CAM) and chiral polysulfone (CPS) membranes, have been investigated. In most of them, N-hexadecyl-L-hydroxyproline (HHP) was applied as chiral carrier. The study and characterization of each membrane type was principally carried out by using microscopy techniques and transport experiments. The latest were conducted with four different

membrane modules: a dialysis cell, a micro spiral module, a module capable of well-defining hydrodynamics conditions for transport modelling and a dead-end filtration module.

The study of SLM, permitted the elucidation of the two transport mechanisms involved in these separation systems, which are: (a) a facilitated transport mechanism, coupled to a proton antiport, and (b) a non selective transport mechanism, taking place by diffusion. Additionally it allowed discriminating the principal parameters governing the performance of the membrane system, either in terms of flux as in terms of selectivity. Feed phase pH showed to govern both the amount of flux across the SLM as well as the enantioselectivity, due to acid base properties of the principal species participating in the systems (propranolol and the chiral carrier). Carrier concentration inside the membrane was the second most influencing parameter. An increase of carrier amount into the membrane leads to higher enantioselectivity. System conditions were optimised. Under operating conditions showing the best performance results (feed at pH 8, and carrier concentration up to $C/A = 3$) a 5.6% of enantiomeric excess was reached.

Once the chemical system was known, we focused on the development of new solid polymeric membranes. Three different types of polymeric membranes were studied: ACM, CAM and CPS membranes.

Activated composite membranes (ACM) consisted of a porous polysulfone support casted on a non-woven fabric, with a top dense polyamide layer. These membrane types, had been previously developed in our laboratories and applied successfully for other species.

The ACM prepared in this work were characterized by different techniques, such as atomic force microscopy, solute transport, contact angle measurements, electron spin resonance, and scanning electron microscopy. The use of all these complementary techniques provided an extensive and concise description of ACM internal and surface morphology, together with the confirmation of the presence of the chiral carrier inside the membranes. However, when applied to the enantioseparation of propranolol, it was necessary to work under pressure conditions in order to detect transport of propranolol, as ACM show higher resistance than SLM to analyte transport. As a consequence of working under driving forces providing high fluxes, such as transmembrane pressure, enantioselectivity was not observed in that case.

Therefore, we moved to more porous polymeric membranes, having lower resistances against analyte transport, and thus ensuring the possibility to transport propranolol by applying concentration gradients as driving force.

Firstly, CAM were studied. CAM consisted in a porous polysulfone film, also casted on a non-woven fabric. This membrane type permitted the enantioselective transport of propranolol across the membranes. In that case, the influence of carrier concentration in the membrane as well as the stripping phase pH were studied. These studies revealed the relationship between transport rate and

enantioselectivity (the higher transport rate, the lower enantioselectivity), and also contributed to propose the affinity preferences of the carrier by the two enantiomers. The good results obtained, motivated the development of another CAM system containing the chiral carrier didodecyltartrate. The comparison of the two equivalent systems was carried out by conveniently modelling the transport of both propranolol enantiomers. Hence, a properly designed membrane module was used in that case; a module for transport modelling consisting of two rectangular channels separated by the membrane. Results showed that the last system possesses better properties for the enantioseparation of propranolol.

The last type of polymeric membranes assayed were based in chiral polysulfones CPS, containing the chiral carrier covalently bonded to the polysulfone polymeric structure. With the aim to prepare these membranes, raw polysulfone, PS, need to be previously derivatised. PS was chirally derivatised following two different synthetic routes, and two corresponding chiral polysulfones were obtained, namely CPS_A and CPS_B. The first route, intended to benefit from the residual OH group of the polysulfone to bond covalently the chiral carrier to the polymer matrix, while the second route included an extra step to create new OH pending groups, increasing in that way, the number of potential binding sites for the chiral carrier. All intermediates and final products were confirmed by RMN techniques. However when preparing the membranes, only CPS_A was suitable as polymer. Therefore, CPS membranes, obtained from CPS_A were prepared and characterised. The application of these polymeric membranes showed promising results regarding both the transport rate and enantioselectivity, and confirmed the higher affinity of the carrier by the S-propranolol enantiomer.

In that case, with membranes containing the highest CPS_A amount, a separation factor (namely alpha) of 1.1 was encountered at 96h of experiment.

CAPÍTOL 1. INTRODUCCIÓ GENERAL

1. INTRODUCCIÓ GENERAL

El descobriment del fet que els diferents enantiòmers d'una molècula quirals podien posseir diferents activitats biològiques fou el punt de partida d'una cursa d'obstacles que ha arribat fins als nostres dies. Aquesta cursa, protagonitzada per les empreses farmacèutica, agrícola, cosmètica i alimentària, va sorgir amb la finalitat de desenvolupar mètodes d'obtenció i anàlisi de productes enantiomèrics purs, i complir així amb la legislació vigent sobre la comercialització de productes quirals. Però bé, comencem pel començament:

1.1 Els enantiòmers

En química, aquelles substàncies amb la mateixa fórmula molecular, però amb una fórmula desenvolupada (en el pla o en l'espai) distinta són anomenades isòmers. D'isòmers en podem trobar de diversos tipus: els isòmers de cadena (que es diferencien en la seqüència mitjançant la qual els àtoms s'enllacen els uns amb els altres); els isòmers de posició (que es diferencien per tenir en distintes posicions un doble enllaç o un grup funcional); els isòmers geomètrics o cis-trans (que són deguts al fet que els enllaços π entre dos carbonis no poden girar); i, per últim, els isòmers òptics (que són deguts a carbonis que tenen quatre substituents diferents, és a dir, carbonis asimètrics, que poden adoptar posicions espacials diferents). Els dos últims tipus d'isòmers esmentats són compostos amb estructures idèntiques, però amb una disposició distinta dels seus àtoms en l'espai, i s'anomenen també esteroisòmers. La isomeria òptica es presenta, concretament, quan l'estructura geomètrica d'una molècula és tal que aquesta no es pot superposar a la seva imatge especular, és a dir, a la seva imatge en un mirall (*speculum* en llatí). Aquestes molècules s'anomenen quirals, nom que deriva de la paraula grega *kheir*, i que significa mà. Les nostres mans, que són l'una la imatge especular de l'altra, són un dels casos més clars de cossos que no són superposables. Això és el mateix que passa a nivell microscòpic amb les molècules quirals.¹ Els diferents isòmers òptics d'una molècula quirals s'anomenen també enantiòmers.

Els enantiòmers d'una mateixa molècula tenen les mateixes propietats químiques i també les mateixes propietats físiques, excepte una: l'angle cap al qual poden desviar el pla de la llum polaritzada. Mentre un dels enantiòmers desvia la llum polaritzada en el sentit de les agulles del rellotge (cap a la dreta, és dextrògir), l'altre enantiòmer la desvia en sentit contrari (cap a l'esquerra, és levògir).

¹ A. Moyano, M.A. Pericàs, A Riera, "La síntesi asimètrica: l'assoliment d'un repte històric". Revista de la Societat Catalana de Química, 3 (2002) 22-35.

I un cop arribats a aquest punt, poca cosa més caldria explicar si no fos pel notori descobriment que es féu a mitjans segle XX del fet que els enantiòmers també es diferencien entre si en les seves activitats biològiques. Això implica que ens podem trobar amb una molècula quiral un dels enantiòmers de la qual sigui capaç de dur a terme la bioactivitat desitjada, mentre que l'altre manifesti un nivell d'activitat inferior o nul. Fins i tot, en el pitjor dels casos, ens podríem trobar que el segon dels enantiòmers tinguéssim una bioactivitat inversa a la desitjada. Aquesta bioactivitat podria ser nociva a l'ésser humà, si tenim en compte que els productes tradicionalment formats per molècules quirals són emprats, en gran part, com a fàrmacs, adobs, condiments i perfums.^{2,3}

Un cas malauradament conegut és el del fàrmac Talidomida, que se subministrava durant els anys 60 a dones embarassades per pal·liar els malestors propis de la gestació, i que va provocar que els fills de moltes d'aquestes dones naixessin amb membres atrofiats o gairebé inexistents.¹ Aquest fàrmac (Talidomida) era compost d'enantiòmers distints; un d'ells tenia l'activitat biològica de sedant esperada, però l'altre era el responsable de les malformacions dels fetus.⁴

La divulgació d'aquest cas, entre d'altres, va provocar que les agències de regulació de la producció i administració de fàrmacs desenvolupessin mesures legislatives molt estrictes, per tal d'evitar un altre cas similar. Actualment, la legislació obliga a comercialitzar la majoria de productes com a enantiòmers purs o, en alguns casos, com a compostos quirals, sempre i quan els diferents enantiòmers que formen el compost estiguin perfectament caracteritzats.^{5,6}

Tot això ha portat la indústria farmacèutica (principalment) a dedicar-se amb especial èmfasi i celeritat a desenvolupar, en els darrers anys, mètodes tant per a l'obtenció com per a la caracterització i identificació de productes enantiomèrics purs.

1.2 Mètodes per a l'obtenció d'enantiòmers purs

L'obtenció d'enantiòmers purs es pot dur a terme mitjançant dues vies clarament diferenciades: la via quiral i la via racèmica.^{7,8} La primera es basa en el disseny d'una síntesi asimètrica (enantioselectiva) per obtenir l'enantiòmer desitjat. En cas que interessin dos enantiòmers d'una mateixa molècula, per separat, caldrà desenvolupar dues síntesis independents. Aquesta via

² H.M. Krieg, J.C. Bretenbach, K. Keiser, "Chiral resolution by β -cyclodextrin polymer-impregnated ceramic membranes". *J. Membr. Sci.* 164 (2000) 177-185.

³ X. Wang, X.J. Wang, C.B. Ching, "Solubility, Metastable Zone Width, and Racemic Characterization of Propranolol Hydrochloride". *Chirality* 14 (2002) 318-324.

⁴ J. E. Rekoske, "Chiral Separations". *AIChE Journal* 47(1) (2001) 2-5.

⁵ European Medicines Evaluation Agency (EMA), <http://dg3.eudra.org>.

⁶ Food and Drug Administration (FDA), <http://www.fda.gov/cder/guidance.index.htm>.

⁷ S. Ahuja, "Chiral Separations and Technology: An Overview", in S.Ahuja (Ed.), *Chiral Separations. Applications and Technology*, ACS, Washington (USA), 1997, 1-7.

⁸ E.R. Francotte, "Enantioselective chromatography as a powerful alternative for the preparation of drug enantiomers". *J. Chrom. A* 906 (2001) 379-397.

implica l'ús de reactius enantiomèrics purs, generalment cars, enzims o processos catalítics enantioselectius. A més, normalment és necessari un nombre considerable d'etapes amb els corresponents subproductes (de baix interès) i les despeses energètiques associades. També cal invertir-hi una quantitat de temps notable.^{9,10} Tot plegat per produir una quantitat raonable d'un enantiòmer òpticament pur, que satisfaci la legislació vigent sota l'arbitri de les entitats reguladores. La primera d'aquestes vies posseeix, doncs, diversos desavantatges des del punt de vista industrial.

Altrament, la via racèmica es basa en la preparació de la mescla racèmica i la següent separació dels seus enantiòmers, fet que permet obtenir els dos enantiòmers purs simultàniament, i amb bastant menys dificultat que no pas amb la síntesi asimètrica. Segons la tècnica de separació que usem, la separació dels enantiòmers pot ser directa (separació dels propis enantiòmers) o indirecta (formació i separació dels seus diastereòmers, que apareixen en molècules amb varis carbonis asimètrics i tenen distintes propietats físiques i químiques).

1.2.1 Tècniques de separació d'enantiòmers

Existeixen diverses tècniques de separació d'enantiòmers.^{11,12,13} A continuació se'n descriuen les principals:

- A) La crystal·lització, emprada habitualment per a la purificació de compostos sòlids (separant-los d'impureses i subproductes). Es pot utilitzar també per a la separació d'enantiòmers. De fet, era una de les poques tècniques existents per separar enantiòmers abans del desenvolupament de les tècniques cromatogràfiques. Es tracta d'una tècnica que permet tant la separació directa com indirecta dels enantiòmers. Per tal de dur a terme la separació desitjada, s'introdueixen cristalls d'un enantiòmer pur en la mescla racèmica que es pretén separar, o bé s'usa un solvent o una dissolució quiral. La principal limitació d'aquesta tècnica, aplicable a escala preparativa, és la disponibilitat, sovint escassa, de cristalls d'enantiòmers purs.
- B) Les tècniques cromatogràfiques permeten també la separació tant directa com indirecta dels enantiòmers. La separació d'aquests es produeix com a conseqüència de les afinitats

⁹ J.T.F. Keurentjes, F.J.M. Voermans, "Membrane Separations in the production of optically pure compounds", in A.N. Collins, G.N. Shelldrake, J. Crosby (Eds.), *Chirality in Industry II. Developments in the Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds*, Wiley, Chichester (UK), 1997, 157-182.

¹⁰ Y. Gao, R.M. Hanson, J.M. Klunder, S.Y. Ko, H. Masamune, K.B. Sharpless, "Catalytic asymmetric epoxidation and kinetic resolution: modified procedures including in situ derivatization". *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 5765-5780.

¹¹ P. Franco, C. Minguillón, "Techniques in Preparative Chiral Separations", in G. Subramanian (Ed.), *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (Alemanya), 2001, 1-23.

¹² T.J. Ward, "Chiral Separations". *Anal. Chem.* 72 (2000) 4521-4528.

¹³ N.M. Maier, P. Franco, W. Lindner, "Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives". *J. Chrom. A* 906 (2001) 3-33.

diferenciades que mostren els enantiòmers per les distintes fases (estacionària i mòbil) que es posen en contacte durant el procés. Les tècniques cromatogràfiques es poden dividir en tres subgrups: la cromatografia líquida (I), la cromatografia de fluids sub/supercrítics (II) i la cromatografia de gasos (III).

- I. La cromatografia líquida es pot dur a terme en diferents modes, la majoria dels quals usen un suport quiral per aconseguir la separació dels enantiòmers. Tan sols el mode en contracorrent es basa en una separació líquid-líquid. El mode utilitzat més àmpliament és la cromatografia líquida d'alta resolució (o alta pressió) HPLC. L'ús de fases estacionàries quirals, CSP, permet actualment la separació enantiomèrica de moltes mescles racèmiques. Existeix un nombre força elevat de CSP disponibles. Les més utilitzades són les basades en ciclodextrines i derivats d'aquestes, antibiòtics macrocíclics (*teicoplanin*, *vancomycin*, *ristocetin A*, entre d'altres), polisacàrids (cel·lulosa o amilosa, registrades Chiralcel i Chiralpak, respectivament), èters corona i d'altres (com les de tipus raspall, les basades en poliacrilàmida, les derivades de la dialiltartaramida entrecruada o les basades en polímers d'impressió molecular, MIPs).⁸ La selecció de la fase mòbil és crucial per aconseguir una bona separació, ja que té una influència directa sobre la selectivitat de la separació (especialment en el cas de CSP basades en polisacàrids), el temps de retenció dels soluts (que es pot disminuir introduint en la fase mòbil modificadors polars com el metanol, l'etanol o l'isopropanol), i la solubilitat de la mescla racèmica (les CSP basades en polisacàrids presenten certs graus de solubilitat en varis dissolvents orgànics, cosa que disminueix notablement el rang de fases mòbils que es poden utilitzar). Un dels altres modes de cromatografia líquida és la cromatografia de flaix que es basa en l'ús de suports de sílica gel modificats. El tercer mode es coneix com a llit de moviment simulat, SMB. Consisteix en diverses columnes connectades entre si en sèrie (formant un cercle). L'entrada de l'eluent, l'alimentació del procés i els punts de recollida es mouen al llarg del cercle imitant un moviment a contracorrent entre les fases mòbil i estacionària. El quart mode es troba entremig dels modes HPLC i SMB. En aquest cas, les fraccions pures s'extreuen del sistema, mentre que les fraccions parcialment resoltes són reciclades novament. En cinquè lloc, tenim el mode de cromatografia a contracorrent, que permet la separació dels soluts emprant un sistema líquid-líquid de dues fases sotmès a un camp gravitatori. I finalment, trobem el mode de cromatografia en capa prima, TLC, que es basa en plates de sílica gel, que poden contenir enllaçat o impregnat un agent quiral, o que poden estar constituïdes per MIPs.

- II. La cromatografia de fluids subcrítics i supercrítics consisteix a emprar fases mòbils a pressions i temperatures just per sota o per sobre, respectivament, del punt crític. Permet reduir el consum de dissolvent respecte el mode HPLC (de cromatografia líquida), però el seu ús es limita a compostos solubles en dissolvents no polars.
- III. La cromatografia de gasos també ha estat utilitzada per a separacions enantiomèriques, malgrat la seva aplicació es limita a compostos relativament volàtils.

D'entre les tècniques cromatogràfiques descrites, algunes tenen aplicacions tan sols analítiques, mentre que altres permeten ser utilitzades a nivell preparatiu. Tanmateix, el seu cost eminent les fa poc atractives des del punt de vista industrial.

- C) Les tècniques electroforètiques també s'han començat a utilitzar recentment per a separacions enantiomèriques, amb finalitats analítiques. En concret, la tècnica d'electroforesi capil·lar, CE, en zona, ha experimentat un desenvolupament especialment ràpid durant els últims 20 anys. Les separacions enantiomèriques mitjançant tècniques electroforètiques es basen en la formació d'entitats diastereomèriques. Aquestes poden formar-se prèviament com a resultat d'una reacció química entre els enantiòmers d'estudi i un reactiu quiral derivatitzador, o bé simultàniament al procés de separació electroforètic. En aquest cas té lloc la formació de complexos diastereomèrics reversibles entre els enantiòmers d'estudi i un selector quiral que s'incorpora al medi de separació.¹⁴ El primer mètode indicat té moltes similituds amb els mètodes generals de separacions electroforètiques, ja que el que s'introdueix dins el sistema són compostos amb distintes velocitats de migració inicial. El segon mètode té encara moltes possibilitats d'evolució i millora. En aquest cas intervenen dos factors que condicionaran la separació dels enantiòmers entre si: les diferències entre la força d'atracció que experimenta cada un dels enantiòmers pel selector quiral que hi ha en el medi de separació, i la diferència de velocitat de migració dels diferents complexos formats. La suma d'aquests dos factors donarà lloc a la discriminació dels enantiòmers i en determinarà l'ordre de migració. Els principals selectors quirals emprats en CE són les ciclodextrines i els seus derivats, els èters corona, els antibiòtics macrocíclics, les proteïnes, els oligo i polisacàrids lineals, els intercanviadors de lligands (com els α -aminoàcids amb Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} o Co^{2+}), o les miscel·les quirals (basades en l'ús de surfactants quirals). En aquest tipus de separacions caldrà prestar especial atenció a la concentració de selector en el medi de separació (la concentració adequada per aconseguir la millor separació depèn de la constant de

¹⁴ A. Rizzi, "Fundamental aspects of chiral separation by capillary electrophoresis". Electrophoresis 22 (2001) 3079-3106.

complexació), i al pH d'aquest medi (que afecta la velocitat efectiva dels complexos i del medi en si). Per últim, cal esmentar que la tècnica de CE resulta adequada per a l'anàlisi d'enantiòmers purs, però no és aplicable a nivells preparatius, degut al seu cost elevat.⁸ L'electroforesi en gel, sí que ha estat emprada recentment amb finalitats semipreparatives.

- D) L'extracció líquid-líquid, per contra, és una tècnica senzilla que no necessita dispositius massa sofisticats. En aquest cas, un selector quirals és introduït en una de les fases líquides i la separació dels enantiòmers es produirà per la diferent afinitat dels enantiòmers vers cada una de les fases líquides. El principal desavantatge d'aquesta tècnica és la necessitat d'una etapa posterior de separació de l'enantiòmer retingut del selector quirals.

Tenint en compte tot el que s'ha exposat fins ara sobre les distintes tècniques de separació d'enantiòmers, els processos de separació mitjançant membranes ofereixen tot un reguitzell d'avantatges respecte els mètodes de separació tradicionals. Són mètodes de muntatge i manipulació fàcil, ràpids, i usen una tecnologia relativament barata i coneguda a nivell industrial, vist que actualment ja s'apliquen amb altres finalitats (dessalinització d'aigua de mar i recuperació d'aigües residuals, entre d'altres). A més, la majoria dels processos de membranes poden treballar a temperatura ambient i en forma contínua.⁹ Aquests processos poden aplicar-se tant per a finalitats analítiques (com seria el cas d'alguns sensors), com amb objectius preparatius.

1.3 Les membranes

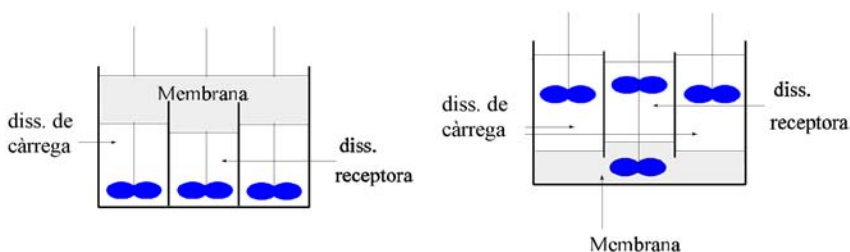
Les membranes es poden definir, a grans trets, com barreres semipermeables, és a dir, barreres que deixen passar a través seu només certes substàncies.¹⁵ La separació mitjançant membranes és un procés relativament nou: fa tan sols 30 anys que la filtració a través de membranes es considera un procés tècnicament important. Avui dia s'utilitza una gran varietat de processos de membrana per a moltes i diverses aplicacions, i el nombre d'aplicacions es troba encara creixent. Les membranes les podem classificar en biològiques (naturals) o sintètiques. Les últimes, al seu torn, poden ser orgàniques (líquides o sòlides polimèriques) o inorgàniques. Normalment, les trobem separant dues fases que són immiscibles amb la membrana: la fase anomenada de càrrega (*feed*), que és la fase que conté inicialment els analits que volem separar, i la fase receptora (*stripping*) o filtrat (*permeate*), que inicialment està lliure d'analits.

¹⁵ M. Mulder, *Basic Principles of Membrane Technology*, second edition, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (The Netherlands), 2000.

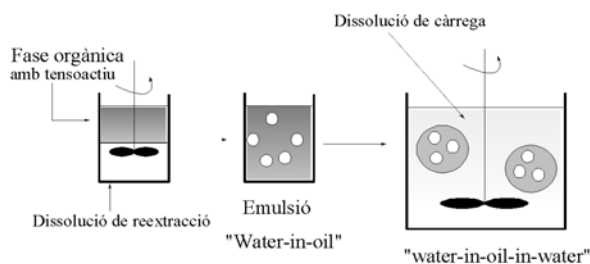
1.3.1 Tipus de membranes

A) Les membranes líquides poden adoptar distintes configuracions:¹⁶ de volum (un volum considerable de líquid es posa en contacte amb les solucions de càrrega i receptora, que poden ser més o menys denses que la membrana); d'emulsió (s'obté dispersant en la solució de càrrega l'emulsió inversa preparada a partir de la mescla de solució receptora i el líquid que farà de membrana, en presència d'un tensoactiu); i suportades (consisteix a impregnar el líquid que actua com a membrana en un suport porós).

a)



b)



c)

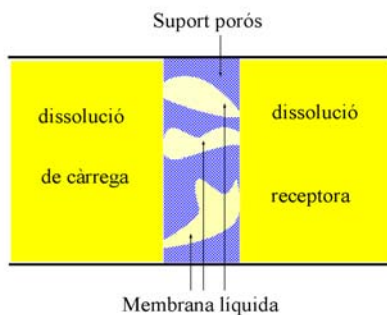


Figura 1.1. Representació esquemàtica de membranes líquides: a) de volum, b) d'emulsió i c) suportada.

¹⁶ T. Araki, H. Sukube, *Liquid Membranes: Chemical Applications*, CRC Press Inc., Florida (USA), 1990.

El transport a través de membranes líquides pot tenir lloc mitjançant dos mecanismes diferents:

- I. El transport no facilitat és el mecanisme pel qual el transport de les espècies entre les solucions de càrrega i receptora ve determinat per la diferència de concentració d'aquestes entre les dues solucions. Equival al transport per difusió.
- II. El transport facilitat es basa en la incorporació d'un agent transportador a la membrana que interaccionarà amb l'analit/s de la fase de càrrega i els transportarà de manera preferent fins a la solució receptora. Segons si l'analit en qüestió es transporta conjuntament amb una altra espècie o no, tindrem transport facilitat acoblat o no acoblat, respectivament. Finalment podem distingir entre transport acoblat amb cotransport (les dues espècies es transporten en el mateix sentit) o amb contratransport (les dues espècies es transporten en sentit contrari).

Seguidament, es pot observar una representació esquemàtica dels dos mecanismes de transport definits.

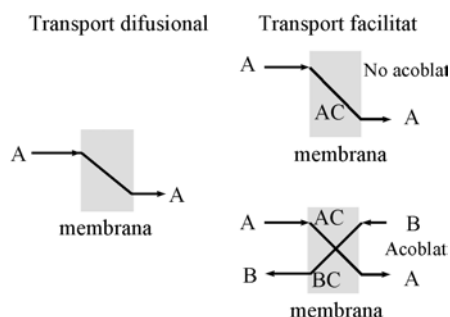


Figura 1.2. Representació esquemàtica dels diferents tipus de transport.

Les membranes líquides, tot i tenir bones característiques per a la enantioseparació, no són atractives des del punt de vista de la indústria pel fet de tenir un temps de vida molt curt, degut a la seva inestabilitat mecànica.^{17,18}

- B) Les membranes polimèriques estan formades per polímers, que són components d'elevat pes molecular, formats per repeticions d'unitats bàsiques que s'anomenen monòmers. De

¹⁷ A.M. Neplenbroek, D. Bargeman, C.A. Smolders, "Supported liquid membranes: instability effects". J. Membr. Sci. 67 (1992) 121-132.

¹⁸ A.J.B. Kemperman, D. Bargeman, Th. Van den Boomgaard, H. Strathmann, "Stability of Supported Liquid Membranes: State of the Art". Sep. Sci. Tech. 31 (1996) 2733-2762.

polímers, n'hi ha de molts tipus i la majoria són aptes per a base de membranes; l'únic que cal és que siguin estables químicament i tèrmicament, i que permetin el pas de certes espècies a través seu. Les membranes polimèriques es poden classificar, en funció de la seva morfologia, en membranes poroses, membranes no poroses i membranes amb transportador.¹⁵ En les membranes poroses, el transport de les espècies té lloc a través dels porus; per tant, la naturalesa del polímer en si no és el que pren importància, sinó que és la mida dels porus de la membrana el que discriminarà quines partícules passaran a través d'aquesta i quines no. Contràriament, en el cas de les membranes no poroses o denses, el transport de les espècies ocorre mitjançant la seva dissolució i difusió en el polímer; per això, la naturalesa del polímer esdevé en aquest cas fonamental. Les membranes amb transportador es diferencien de les anteriors únicament en el fet que contenen en el seu interior un agent transportador selectiu, capaç de facilitar el transport de l'espècie d'interès. L'agent transportador pot estar fixat a la membrana o bé pot ser mòbil (en aquest últim cas, acostuma a estar dissolt en un líquid, i la dissolució està continguda en els porus de la membrana o en la pròpia matriu polimèrica).¹⁵ A continuació s'han llistat els principals polímers usats per a la preparació de membranes polimèriques:

Taula 1.1. Polímers més usats per a la preparació de membranes polimèriques.

Membranes polimèriques poroses	Policarbonat (PC)
	Politetrafluoroetilè (PTFE, Tefló)
	Florur de polivinilidè (PVDF)
	Polipropilè (PP)
	Poliàmida (PA)
	Èsters de cel·lulosa
	Polisulfona/Polietersulfona (PS/PES)
	Poliacrilnitril (PAN)
	Poliimida/Polieterimida (PI/PEI)
	Polieteretercetona (PEEK)
Membranes polimèriques denses	Politrimetilsililpropí (PTMSP)
	Òxid de polifenilè (PPO)
	Polidimetilsilixà (PDMS)
	Poliestirè
	PA
	Clorur de polivinil (PVC)
	PC
	PS/PES
	Poliètilèterftalat
	Acetat de cel·lulosa/Etilcel·lulosa
	Polimetilpentè
	PP
	Policloroprè
	Polietilè
PI/PEI	

La tria del polímer es fa en funció de les seves característiques estructurals (pes molecular, flexibilitat i interaccions de cadena) i de les seves propietats (estabilitat química i tèrmica, cristal·linitat i propietats mecàniques). Segons l'aplicació concreta que tingui la membrana resultant, interessin unes propietats o unes altres. A continuació, es poden observar les estructures d'alguns dels polímers més utilitzats de la taula 1.1:

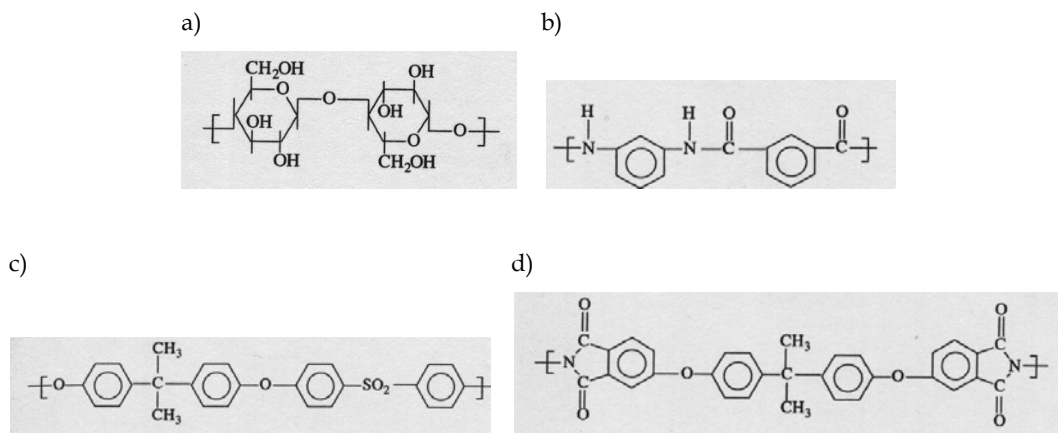


Figura 1.3. Estructures polimèriques de: a) cel·lulosa, b) PA, c) PS i d) PEI.

En el treball present s'ha usat, en la majoria dels casos, la PS, per la seva eminent estabilitat (tant química com tèrmica) i per tractar-se d'un polímer àmpliament conegut i utilitzat.

Per a la preparació de membranes polimèriques existeixen diverses tècniques: la sinterització, l'estirament, el gravat de porus, la lixiviació templada, la inversió de fase i el recobriments. Entre aquestes, destaquen les tècniques d'inversió de fase, per ser les més emprades, i la tècnica de recobriments, degut a la seva versatilitat. La primera es basa en la precipitació controlada d'un polímer inicialment en estat líquid. La precipitació per inversió de fase pot generar-se per evaporació del dissolvent, per evaporació controlada, amb vapor, tèrmicament i per immersió. La inversió de fase per immersió és la més utilitzada i consisteix a submergir una solució de polímer, prèviament pel·liculada sobre un suport adequat, en un bany de coagulació que conté un no solvent. L'intercanvi del solvent i el no solvent provoca la precipitació de la pel·lícula de polímer o membrana polimèrica. Les propietats d'aquesta vindran condicionades per la transferència de massa i la separació de fases del procés d'inversió. Així doncs, generalitzant, podem afirmar que transferències de massa i separacions de fase lentes donaran lloc a membranes denses i

simètriques, mentre que transferències de massa i separacions de fase ràpides permeten obtenir membranes polimèriques poroses i asimètriques (en certs casos, amb espais microscòpics buits, anomenats *macrovoids*).¹⁵ En la taula 1.2 es recullen els parells de solvents/no solvents més utilitzats per a la preparació de membranes polimèriques, amb la tècnica d'inversió de fase per immersió, i s'hi indiquen els tipus de membrana que s'obtenen en cada cas:

Taula 1.2. Classificació de parells de solvent/ no solvent.

Solvent	No solvent	Tipus de membrana
Dimetilsulfòxid (DMSO)	Aigua	Porosa
Dimetilformamida (DMF)	Aigua	Porosa
Dimetilacetamida (DMAc)	Aigua	Porosa
N-metilpirrolidona (NMP)	Aigua	Porosa
DMAc	n-Propanol	Densa
DMAc	i-Propanol	Densa
DMAc	n-Butanol	Densa
Tricloroetilè	Metanol/Etanol/Propanol	Densa
Cloroform	Metanol/Etanol/Propanol	Densa
Diclorometà	Metanol/Etanol/Propanol	Densa

En el treball present, s'han preparat majoritàriament membranes polimèriques poroses i, en un gran nombre dels casos, s'ha utilitzat el parell DMF/aigua.

Per altra banda, la tècnica de recobriment permet obtenir una capa densa i prima a la superfície d'una membrana porosa, i així s'aconsegueix una membrana compòsit (en la qual cada una de les capes que la forma, pot optimitzar-se individualment).¹⁹ El procés més utilitzat a l'hora de preparar membranes polimèriques per recobriment és la polimerització interfacial, que consisteix a dur a terme una reacció de polimerització entre dos monòmers o precursors, altament reactius, en la interfase de dos dissolvents immiscibles.²⁰

Les membranes polimèriques es poden preparar per adoptar dues configuracions: la configuració plana i la configuració tubular. La configuració plana equival a un full i es pot utilitzar en mòduls de membrana plana o bé en mòduls espirals, un cop enrotllada sobre ella mateixa, similar amb un pergamí. La configuració tubular equival a un cilindre i, segons el seu diàmetre intern, tenim membranes de fibra buida ($d_i < 0,5$ mm), membranes capil·lars ($0,5$ mm $\geq d_i \leq 5$ mm) o membranes tubulars ($d_i > 5$ mm). Aquestes es poden utilitzar, respectivament, en mòduls de membrana de fibra buida, capil·lar i tubular.¹⁵

¹⁹ R. Kesting, *Synthetic Polymeric Membranes*, McGraw Hill, Nova York (USA), 1971.

²⁰ *Reverse Osmosis and Synthetic Membranes*, S. Sourirajan (Ed.), NRCC Publ. No. 15627, Ottawa (Canada), 1977.

- C) Les membranes inorgàniques posseeixen una estabilitat química i tèrmica superior a les membranes polimèriques. Podem distingir diferents materials inorgànics, que donaran lloc a quatre tipus distints de membranes: les membranes ceràmiques, les membranes de vidre, les membranes metàl·liques (inclouen les de carbó) i les membranes zeolites. Les membranes ceràmiques, que estan formades per la combinació d'un metall (alumini, titani, zirconi o silici) amb un no metall en forma d'òxid, nitrur o carbur, són el tipus més important de membranes inorgàniques (fent referència a la seva aplicació). Aquestes es preparen generalment per la via de la sinterització o per la via de processos de sol-gel. La sinterització consisteix a aplicar pressió sobre una pols formada per partícules d'una mida determinada, de manera que aquestes quedaran enganxades les unes amb les altres, deixant espais buits entre elles (que constituïran els porus de la membrana). El procés sol-gel ens porta a l'obtenció d'un gel a partir d'una suspensió col·loidal de partícules en un líquid (sol), mitjançant dues rutes: la ruta de la suspensió col·loidal i la ruta del gel polimèric. Ambdues rutes parteixen d'un precursor (generalment un alcòxid) que pot ser hidrolitzat addicionant aigua, i que un cop parcialment hidrolitzat, polimeritzarà. Les membranes de vidre consten normalment de SiO_2 , B_2O_3 i Na_2O , i es preparen majoritàriament mitjançant tècniques basades en lixiviació (retirada de certs components del polímer, donant lloc a espais buits, porus) i separació de mesclures de vidres. Les membranes metàl·liques s'obtenen per sinterització de metalls en pols (acer inoxidable, tungstè, o molibdè). Les zeolites són un tipus relativament nou de membranes que posseeixen porus de mida molt petita i estan formades per silicats d'alúmina cristal·lins microporosos.

1.3.2 Processos de separació amb membranes

Tots els processos de separació amb membranes tenen en comú que la separació s'aconsegueix mitjançant una membrana. Ara bé, perquè es doni el transport (sigui del tipus que sigui) a través de la membrana, és necessari aplicar algun tipus de força a la fase de càrrega que impulsi els seus components a travessar la membrana. Les principals forces impulsores d'aquests processos són les diferències de pressió o de concentració entre ambdós costats de la membrana. En menor nombre de casos, trobem també processos regits per diferències de temperatura o de càrrega elèctrica. Sols es descriuran els dos primers tipus de processos:

- A) Els processos impulsats per diferència de pressió s'utilitzen per concentrar o purificar solucions (aquoses o orgàniques) diluïdes. En aquest cas, el solvent i alguns dels components de la fase de càrrega flueixen a través de la membrana, mentre que altres components són retinguts per la membrana. Dependent de les propietats químiques i de la

mida de les partícules de la fase de càrrega que es volen separar, s'utilitzen membranes amb unes o altres mides i distribucions de porus. Segons la mida mitjana de porus de la membrana o els components que pretenem separar, tenim els següents processos associats (taula 1.3):

Taula 1.3. Característiques dels principals processos impulsats per diferència de pressió

Nom del procés	Tipus de membrana	Mida de porus	Pressió aplicada	Permet separar:
Microfiltració	Porosa asimètrica	0,05-10 µm	< 2 bar	Partícules Bacteris
Ultrafiltració	Porosa asimètrica	1-100 nm	1-10 bar	Virus Proteïnes
Nanofiltració	Compòsit	< 2 nm	10-25 bar	Ions bivalents Microsoluts
Osmosi inversa	Compòsit o asimètrica	< 2 nm	15-80 bar	Microsoluts Ions monovalents

Al llarg d'aquesta memòria es consideren els processos d'ultrafiltració i d'osmosi inversa.

- B) Els diversos processos impulsats per diferència de concentració són molt distints entre ells. L'única cosa que tenen en comú és l'ús de membranes denses. Dintre d'aquests processos trobem: la separació de gasos, la pervaporació, la diàlisi i el transport mitjançant agents selectors (o transport facilitat). L'últim d'aquests processos es diferencia de la resta pel fet que incorpora en la membrana un agent transportador selectiu que incrementarà el transport d'un o més dels components de la fase de càrrega, de manera específica. Aquest agent transportador o bé pot estar lliure, dissolt en un líquid que constitueix pròpiament una membrana (membrana líquida) o contingut en els porus o en la matriu d'un polímer; o bé pot estar lligat físicament o químicament (amb enllaç covalent) a un polímer. En el primer dels casos (quan l'agent transportador està lliure), tal com hem vist anteriorment, el complex analit-transportador es difon a través de la membrana, mentre que en el segon cas, l'analit salta d'una posició selectiva a l'altra. És obvi que en el primer cas, la velocitat del transport és notablement major. Els processos de transport mitjançant selectors (processos de transport facilitat) tenen lloc en dues etapes: la formació del complex de l'analit amb el transportador i la difusió del complex a través de la membrana. En la majoria dels casos, l'última etapa esmentada és la que determina la velocitat del transport. El valor del número de *Damköhler*, que és el quocient entre la velocitat de formació i la velocitat de difusió del complex, determina la possibilitat o no d'eliminar la contribució d'una o altra etapa en l'expressió del transport global de l'analit d'estudi.¹⁵ Per altra banda, no podem oblidar que la funció del selector és incrementar el transport de l'analit d'interès, però que aquest transport també pot tenir lloc, normalment, per difusió. Això

vol dir que el transport total de l'analit en qüestió és una contribució dels dos mecanismes (difusió i transport facilitat). Un altre cop ens trobem que la velocitat del transport pot estar limitada per dues etapes distintes. Quan la difusió lliure és l'etapa determinant de la velocitat, l'analit es transporta amb més celeritat en presència del selector que en absència d'aquest. En canvi, si el pas limitant és el transport facilitat del complex, l'analit es transportarà més lentament en presència del selector.

1.3.3 Quantificació del transport i la selectivitat

Els dos factors principals que governen la funció i l'eficàcia de les membranes, sigui quina sigui la seva naturalesa, són el flux (velocitat del transport) i la selectivitat a través d'aquestes.¹⁵

De manera global, podem definir el flux, J , com la disminució de matèria de la solució de càrrega en funció del temps, t , i per unitat d'àrea, A :

$$J = - (V dC_f) / (A dt) \quad (1-1)$$

essent V i C_f el volum i la concentració de la solució de càrrega, respectivament. Per altra banda, també podem establir que el flux serà directament proporcional a la força impulsora del procés, F :

$$J = \text{Factor de proporcionalitat} * F \quad (1-2)$$

Generalitzant, podem afirmar que les forces impulsores que acostumen a aparèixer en els processos de separació mitjançant membranes són la conseqüència de l'existència d'un gradient, ó bé de pressió (en el cas de les membranes poroses), o bé de potencial electroquímic (en el cas de les membranes denses) entre ambdós costats de la membrana.¹⁵

Així doncs, el flux a través de membranes poroses es pot descriure a partir de l'equació de *Hagen-Poiseuille*,¹⁵ si considerem una membrana porosa com un determinat nombre de porus cilíndrics perpendiculars o oblics respecte la superfície de la membrana:

$$J = [(\varepsilon r^2) / (8 \eta \tau \Delta x)] * \Delta P \quad (1-3)$$

on ΔP és el gradient de pressió entre els dos costats de la membrana i el factor de proporcionalitat està format per la porositat superficial, ε , el radi dels porus, r , la viscositat, η , la tortuositat, τ , i el gruix de la membrana, Δx . Per altra banda, si considerem la membrana porosa com un sistema d'esferes compactes i empaquetades, partirem de l'equació de *Kozeny-Carman*:¹⁵

$$J = [(\epsilon^3)/(K \eta S^2 (1-\epsilon)^2 \Delta x)] * \Delta P \quad (1-4)$$

on S és l'àrea superficial interna, i K és la constant de *Kozeny-Carman* que depèn de la forma i la tortuositat dels porus.

Pel que fa a les membranes no poroses, el transport (permeabilitat) a través seu es pot descriure en termes d'un mecanisme de dissolució-difusió. La manera més senzilla d'expressar el flux, en aquest cas, és partint de la primera llei de *Fick*:¹⁵

$$J = -D*(dC/dx) \quad (1-5)$$

En aquest cas, el flux és directament proporcional al coeficient de difusió, D, i al gradient de concentració (dC/dx), que també es pot expressar com Δc .

Igualant l'expressió de la definició del flux (1-1) amb les equacions (1-3), (1-4) o (1-5), segons el cas concret d'interès, i introduint les simplificacions o modificacions necessàries, arribem a les equacions matemàtiques necessàries per determinar el flux, i la resta de les característiques del sistema.

Per últim, també és possible escriure una expressió del flux que permeti incloure tots els processos, si tenim en compte la contribució de dos tipus de flux: el flux convectiu (u), que descriu el flux a través de membranes poroses, i el flux difusiu (v), que descriu el flux a través de membranes no poroses. Així, l'equació del flux esdevé:

$$J = k (v+u) \quad (1-6)$$

Aquesta equació del flux se simplifica notablement quan l'apliquem a sistemes de membranes clarament poroses ($v = 0$) o clarament no poroses ($u = 0$). Tanmateix, existeix un nombre elevat de sistemes en els quals podem trobar una contribució notable dels dos tipus de flux.

Addicionalment, quan s'escaigui, caldrà considerar la contribució extra dels mecanismes de transport facilitat, que es poden donar en qualsevol dels dos tipus de membrana, i que variaran la força impulsora del procés de separació. Alguns sistemes, doncs, esdevenen francament difícils de quantificar.

Per això, una altra manera d'avaluar genèricament el grau o la velocitat del transport d'espècies a través de les membranes, i especialment útil en el cas de sistemes on intervenen diferents mecanismes de transport, és en funció de la seva capacitat de reextracció (és a dir, de la capacitat

d'extracció dels analits de la fase de membrana a la fase receptora, posteriorment a l'extracció dels analits de la fase de càrrega a la fase de membrana). El percentatge de reextracció, R, s'expressa:

$$R = (C_{S_{t,i}}/C_{f_{0,i}})*100 \quad (1-7)$$

$C_{S_{t,i}}$ i $C_{f_{0,i}}$ equivalen, respectivament, a la concentració de l'analit i en la solució receptora (o *stripping*) en el temps t, i a la concentració inicial (en el temps 0) de l'analit i en la solució de càrrega (o *feed*). Ocasionalment (per a membranes poroses que treballen sota pressió), la $C_{S_{t,i}}$ se substitueix per la concentració d'analit i, en el temps t, en la solució de filtrat ($C_{p_{t,i}}$).

La selectivitat d'un procés de membranes s'expressa sovint en funció de la retenció (en els processos impulsats per diferència de pressió), R_t , o bé en funció del factor de separació, α . La retenció ve donada per:

$$R_t = (C_f - C_p) / C_f = 1 - (C_p / C_f) \quad (1-8)$$

on C_f i C_p són les concentracions de l'analit i en les solucions de càrrega i de filtrat en règim estacionari, respectivament. Pel que fa al factor de separació:

$$\alpha_{A/B} = [(C_{S_{t,A}}/C_{S_{t,B}})/(C_{f_{0,A}}/C_{f_{0,B}})] \quad (1-9)$$

A i B són els analits que pretenem separar. El quocient del numerador pot correspondre a concentracions tant en la solució receptora (com s'indica en l'equació), com en la solució de filtrat ($C_{p_{t,A}}/C_{p_{t,B}}$).

Per últim, i en el cas concret de les separacions enantiomèriques, la separació també pot expressar-se en funció de l'excés enantiomèric, ee:²¹

$$ee = [(C_{S_{t,A}} - C_{S_{t,B}})/(C_{S_{t,A}} + C_{S_{t,B}})]*100 \quad (1-10)$$

En aquest cas, A i B són els enantiòmers que volem separar, i es mostra l'expressió corresponent a la dissolució receptora.

²¹ A.B. de Haan, B. Simandi, "Extraction Technology for the Separation of Optical Isomers". Ion Exchange and Solvent Extraction 15 (2002) 255-294.

Sovint, caldrà arribar a un compromís entre ambdós paràmetres descrits en aquest punt, flux i selectivitat, ja que els fluxos elevats donen lloc a disminucions de la selectivitat dels processos. A fluxos elevats, el temps durant el qual poden tenir lloc les interaccions específiques i/o selectives entre els analits i la membrana, és menor.^{22,23}

1.3.4 Caracterització de membranes

Per tal d'ampliar i millorar les aplicacions de les membranes, és imprescindible conèixer la relació entre la seva morfologia i el seu comportament.²⁴ Actualment, existeixen moltes tècniques i molt variades, a partir de les quals es pot obtenir informació, tant de la morfologia de les membranes com del seu comportament i, conseqüentment, es poden relacionar les dues característiques entre si. Tot i això, cap d'aquestes tècniques permet obtenir informació decisiva si s'empren de manera individual, mentre que la combinació de vàries d'elles aporta, sovint, molt bons resultats. A continuació es descriuen les principals tècniques de caracterització de membranes:

- A) La microscòpia electrònica, EM, permet l'obtenció d'imatges superficials i transversals de membranes, mitjançant el bombardeig de la mostra amb electrons d'energia elevada (electrons primaris), que ocasionen una gran quantitat d'interaccions entre la mostra i el feix electrònic. Aquestes interaccions ens permetran identificar els diferents materials presents en la mostra. Aquesta tècnica es pot utilitzar en dos modes: la microscòpia electrònica de transmissió, TEM, que es basa en la diferència de la dispersió del feix d'electrons en travessar zones de la mostra amb diferent composició química o configuració física; i la microscòpia electrònica d'escombratge, SEM, que utilitza els electrons de baixa energia (electrons secundaris) alliberats pels àtoms superficials de la mostra. Per procedir a la caracterització de la membrana d'interès amb la tècnica EM, cal un tractament previ de la mostra per tal de fer-la conductora. Normalment, el pretractament consisteix a dipositar una capa d'or a la superfície de la membrana en condicions de buit.^{15,25} Les imatges obtingudes permeten determinar l'estructura superficial i interna de les membranes i estimar-ne la porositat i distribució de mides de porus. Aquesta estimació es pot dur a terme utilitzant programes de tractament estadístic de les imatges, desenvolupats per a aquestes finalitats.

²² M. Yoshikawa, K. Yonetani, "Molecularly imprinted polymeric membranes with oligopeptide tweezers for optical resolution". *Desalination*, 149 (2002) 287-292.

²³ S.B. Lee, D.T. Mitchell, L. Trofin, T.K. Nevanen, H. Söderlund, C.R. Martin, "Antibody-Based Bio-Nanotube Membranes for Enantiomeric Drug Separations". *Science*, 296 (2002) 2198-2200.

²⁴ R.E. Kesting, "The Four Tiers of Structure in Integrally Skinned Phase Inversion Membranes and Their Relevance to the Various Separation Regimes". *J. Appl. Polym. Sci.* 41 (1990) 2739-2752.

²⁵ J.I. Golstein, A.D. Jr. Romig, D.E. Newbury, C.E. Lyman, P. Echlin, C. Fiori, D.C. Joy, E. Lifshin (Eds.), *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, Plenum Press, New York (USA), 1992.

B) La microscòpia de força atòmica, AFM, permet l'estudi de materials (tant conductors com no conductors) en condicions atmosfèriques,¹⁵ arribant fins a l'escala nanomètrica.^{26,27} Fou desenvolupada per *Binnig et al.*²⁸ i el seu principal avantatge és que la mostra no necessita cap pretractament per ser analitzada. Malgrat que es tracta d'una tècnica molt nova, la seva aplicació al camp de les membranes s'està estenent amb gran celeritat.^{29,30} Es tracta d'una tècnica no destructiva, proporciona informació topogràfica i permet determinar la distribució de mides de porus. Es basa en una punta petita i afilada (que anomenem *tip*) que actua com a sensor de la geometria superficial. El *tip* recorre la superfície d'estudi i, simultàniament, oscil·la verticalment segons les interaccions amb la mostra. El *tip* es troba situat a l'extrem d'un braç flexible (el *cantilever*), la oscil·lació del qual (deguda a les interaccions intermoleculares) és detectada per la reflexió d'un raig làser, degudament focalitzat, que incideix sobre un fotodetector (com es veu en la figura 1.4).

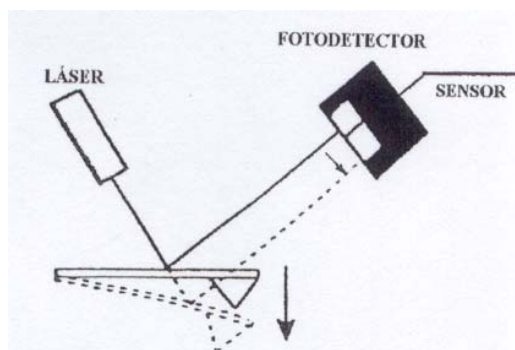


Figura 1.4. Representació dels components i del funcionament del microscopi de força atòmica.

La sonda (*tip*) i la mostra acostumen a estar a distàncies d'entre 0,1 i 100 nm. En aquest interval coexisteixen tipus de forces distints, el balanç final de les quals definirà la interacció resultant entre la mostra i el *tip* com a atractiva o repulsiva. La força més comuna és la força de *Van der Waals*. L'AFM pot operar en tres modes: mode de contacte

²⁶ S. Singh, K.C. Khulbe, T. Matsuura, P. Ramamurthy, "Membrane characterization by solute transport and atomic force microscopy". *J. Membr. Sci* 142 (1998) 111-127.

²⁷ J.I. Calvo, P. Prádanos, A. Hernández, W.R. Bowen, N. Hilal, R.W. Lovitt, P.M. Williams, "Bulk and surface characterization of composite UF membranes Atomic force microscopy, gas adsorption-desorption and liquid displacements techniques". *J. Membr. Sci* 128 (1997) 7-21.

²⁸ G. Binnig, C.F. Quate, Ch. Gerber, "Atomic force microscope". *Phys. Rev. Lett.* 12 (1986) 930.

²⁹ W.R. Bowen, N. Hilal, R.W. Lovitt, P.M. Williams, "Visualisation of an ultrafiltration membrane by non-contact atomic force microscopy at single pore resolution". *J. Membr. Sci.* 110 (1996) 229-232.

³⁰ K.C. Khulbe, T. Matsuura, "Characterization of synthetic membranes by Raman spectroscopy, electron spin resonance, and atomic force microscopy; a review". *Polym.* 41 (2000) 1917-1935.

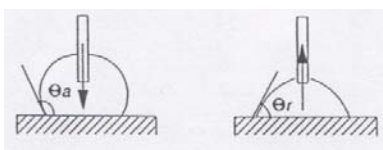
(el *tip* toca la mostra, és a dir, la distància entre *tip* i mostra es redueix a alguns angstroms); el mode de no contacte (el *tip* i la mostra no es toquen; estem doncs en el rang de les forces atractives); i, finalment, el mode intermitent (el *tip* toca la mostra sols durant les oscil·lacions). A partir de les imatges registrades amb la tècnica AFM, podem obtenir la densitat superficial de porus, la porositat, la mida de porus i nòduls (agregacions de molècules de polímer), la distribució de mides de porus i la rugositat superficial.

- C) Les tècniques de punt de bombolla són tècniques molt simples, que serveixen per a mesurar la mida del porus més gran d'una membrana. L'essència del mètode és la mesura de la pressió necessària per bombollejar aire a través d'una membrana porosa impregnada de líquid. El radi dels porus està relacionat matemàticament amb la pressió d'aire aplicada i amb la tensió superficial del líquid impregnat en els porus de la membrana. El principal desavantatge d'aquest mètode és la dependència dels resultats amb el líquid emprat. L'increment de la pressió d'aire en etapes regulades fa possible la determinació de la distribució de mides de porus. Per obtenir més informació, es compara la mesura del bombolleig d'aire a través de la membrana prèviament a la seva impregnació. La porosimetria de mercuri és una variació d'aquestes tècniques. Consisteix a forçar l'entrada de mercuri en membranes seques fins a omplir-ne tots les porus, mesurant el volum de mercuri a cada pressió aplicada. Si anem augmentant la pressió, el mercuri omplirà porus de mida més petita, fins arribar a un valor màxim de mercuri introduït. Es pot calcular, tant la mida de porus com la seva distribució, però l'aparell necessari per realitzar la porosimetria de mercuri és força car, i l'elevada pressió que cal aplicar per omplir els porus de diàmetres petits pot fer malbé la membrana.
- D) Al seu torn, les tècniques de permeabilitat es basen en la mesura del flux de certs líquids o gasos a través de les membranes a pressions conegudes. La proporcionalitat entre el flux i la pressió aplicada depèn, com s'ha vist anteriorment i entre altres coses, del radi del porus (en el cas de membranes poroses) o de la naturalesa del polímer que forma la membrana (en el cas de membranes denses).
- E) La mesura de l'angle de contacte ens permet obtenir informació sobre el caràcter hidrofílic o hidrofòbic de la superfície de la membrana. La hidrofilitat o hidrofobicitat superficial de les membranes està relacionada amb el grau d'inflament per humitat que admet la membrana i, per tant, condicionarà el comportament d'aquestes en un nombre important d'aplicacions.³¹ La mesura de l'angle de contacte es pot dur a terme mitjançant tres mètodes diferents: la bombolla captiva, la tècnica de la plata de *Wilhelmy* i la gota sèssil

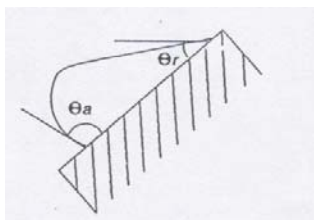
³¹ I. Noda, *Contact angle studies of surface-hydrophilic elastomer films, Contact Angle, Wettability and Adhesion*, Ed. K.L.Mittal, The Netherlands, 1993, 373-381.

(com es mostra en la figura 1.5).³² El primer dels mètodes esmentats (utilitzat en aquest treball) consisteix a dipositar una gota d'un líquid, degudament purificat, en la superfície sòlida que es pretén estudiar i augmentar-ne cautelosament el volum fins a forçar el desplaçament del límit de les tres fases (líquid, sòlid i aire). La gota s'observa amb un microscopi de pocs augments; i els angles d'avançament i de retrocés, que corresponen als angles que es formen entre la gota i la superfície sòlida quan la gota conté el màxim i el mínim volum de líquid (abans del desplaçament del límit de les tres fases), respectivament, es mesuren amb l'ajuda d'un goniòmetre.

a)



b)



c)

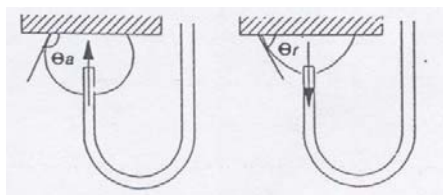


Figura 1.5. Representació esquemàtica dels diferents mètodes de mesura de l'angle de contacte: a) la bombolla captiva, b) la placa de Wilhelmy i c) la gota sèssil.

³² F. Garbassi, M. Morra, E. Occhiello, *Polymer Surfaces. From Physics to Technology.*, Wiley, New York (USA), 1994, 161-199.

- F) La porosimetria d'adsorció i desorció de gasos consisteix en la determinació de la isoterma d'adsorció i de desorció d'un gas inert (generalment N₂), en funció de la pressió relativa (quocient entre la pressió aplicada i la pressió de saturació). És una tècnica coneguda àmpliament per determinar mides de porus i la seva distribució en materials porosos. El principal desavantatge d'aquesta tècnica rau en el fet que els porus tancats que no travessen la membrana i que no intervenen en les processos de transport o separació, també són mesurats.³³
- G) La termporosimetria es basa en la dependència del punt de fusió o solidificació d'un fluid, introduït dins els porus d'una membrana, respecte la curvatura superficial que aquest fluid agafa, pel fet d'estar immers en un porus de radi determinat. Malauradament, en aquest cas, també es mesuren els porus tancats.
- H) La permporosimetria és una tècnica basada en els principis de la condensació capil·lar d'un gas dintre els porus d'una membrana, i en la mesura de la permeabilitat d'un altre gas (que no sigui capaç de condensar-se) a través d'aquests. Quan la pressió relativa és 1, el primer gas està condensat dintre els porus, aquests es troben bloquejats i no s'observa permeabilitat del segon gas. Si es redueix la pressió relativa, el líquid contingut (en els porus més grans) comença a vaporitzar-se i el flux del segon gas, no condensable, pot ser mesurat. Aquesta tècnica permet la discriminació entre porus tancats i oberts.
- I) Les tècniques de desplaçament de líquids guarden moltes similituds amb les tècniques de punt de bombolla, excepte que en aquest cas, el responsable del desplaçament del líquid impregnat en la membrana és un altre líquid. Aquesta tècnica, que permet determinar la distribució de mides de porus, detecta tan sols els porus oberts. Per altra banda, el muntatge experimental necessari es bastant complicat.
- J) La ressonància electrònica d'espí, ESR, és actualment una tècnica ben establerta per a la caracterització de membranes sintètiques. La tècnica ESR es basa en la capacitat que tenen els radicals lliures (degut al seu moment magnètic) per interaccionar amb un camp magnètic extern.³⁴ Aquesta tècnica ens proporciona informació de l'estructura de la membrana, mitjançant l'anàlisi de les distorsions del senyal d'ESR d'una substància de referència (radical lliure, que té una senyal d'ESR coneguda), que ha estat incorporada en la membrana. Les esmentades distorsions del senyal es poden relacionar amb l'entorn en el qual es troba situada la substància de referència.^{35,36}

³³ P. Prádanos, M.L. Rodríguez, J.I. Calvo, A. Hernández, F. Tejerían, J.A. de Saja, "Structural characterization of an UF membrane by gas adsorption-desorption and AFM measurements". *J. Membr. Sci.* 117 (1996) 291-302.

³⁴ K.A. McLauchlan, *Magnetic Resonance*, Clarendon Press, Oxford (UK), 1972.

³⁵ K.C. Khulbe, T. Matsuura, G. Lamarche, A.-M. Lamarche, C. Choi, S.H. Noh, "Study of the structure of asymmetric cellulose acetate membranes for reverse osmosis using electron spin resonance (ESR) method". *Polymer* 42 (2001) 6479-6484.

- K) La tècnica de rebuig de soluts és la més emprada per determinar el pes molecular de tall (*molecular weight cut-off*, MWCO) de les membranes. El MWCO és el pes molecular del solut que és rebutjat en un 90% per la membrana.¹⁵ A partir d'aquest valor es pot determinar també la mida i la distribució de porus de la membrana³⁷ i, per tant, la densitat de porus i la porositat superficial. Es tracta d'una tècnica senzilla que consisteix a dur a terme experiments de separació/transport de soluts de diferents mides, en les condicions habituals d'operació de la membrana que es pretén analitzar. Addicionalment, l'ús de soluts iònics permet detectar la presència de càrregues superficials en la membrana.³⁸
- L) Els mètodes físics són aquells que ens permeten determinar propietats físiques importants relacionades amb els polímers que componen les membranes, com ara la temperatura de transició vítria (temperatura a la qual un polímer amorf, no cristal·lí, passa d'un estat vítri a un estat fos o goma), la cristal·linitat o la densitat.
- M) La tècnica de gravat per plasma ens dóna informació del gruix de la capa superficial en membranes compòsit, mitjançant la reacció d'un plasma amb la superfície de la membrana (eliminant-la progressivament). Podem determinar-ne el gruix relacionant les consegüents propietats de transport de gasos a través de les membranes d'estudi, en funció del temps de reacció amb el plasma. El valor del flux de gas que es detecta quan la capa superficial ha estat totalment eliminada ens informa de la resistència corresponent a la subcapa.³⁹
- N) Finalment, trobem els mètodes d'anàlisi de superfície, que es basen en l'excitació de la superfície de la membrana, ja sigui amb radiació o amb bombardeig de partícules, i la detecció i identificació de les emissions corresponents. Aquestes emissions ens proporcionaran informació de la presència de grups específics, àtoms o tipus d'enllaços en la superfície de la membrana. Les tècniques usades amb més freqüència són l'espectroscòpia electrònica per a l'anàlisi química, ESCA; l'espectroscòpia fotoelectrònica de raigs X, XPS;⁴⁰ l'espectroscòpia de masses de ions secundaris, SIMS; l'espectroscòpia d'electrons Auger, AES; i l'espectroscòpia d'infraroig amb transformada de *Fourier*, FTIR.

³⁶ S. A. Raymond (Ed.), *Electron Paramagnetic Resonance: Techniques and Applications*, Interscience Publishers, Jonh Wiley and Sons, Inc., New York (USA), 1968.

³⁷ A.S. Michaels, "Analysis and prediction of sieving curves for ultrafiltration membranes: A universal correlation?". *Sep. Sci. Technol.* 15 (1980) 1305-1322.

³⁸ W.R. Bowen, A.W. Mohammad, N. Hilal, "Characterisation of nanofiltration membranes for predictive purposes-use of salts, uncharged solutes and atomic force microscopy". *J. Membr. Sci.* 126 (1997) 91-105.

³⁹ K.C. Kulbe, T. Matsuura, "Characterization of PPO membranes by oxygen plasma etching, gas separation and atomic force microscopy". *J. Membr. Sci.* 171 (2000) 273-284.

⁴⁰ M.J. Ariza, E. Rodríguez-Castellón, R. Rico, J. Benavente, M. Muñoz, M. Oleinikova, "X-Ray Photoelectron Spectroscopy Analysis of Di-(2-ethylhexyl) Phosphoric Acid Activated Membranes". *J. Colloid and Interface Sci.* 226 (2000) 151-158.

1.3.5 Principals problemes dels processos de membranes¹⁵

Sovint, durant els processos de separació mitjançant membranes, s'observa una disminució del flux i , a voltes, també de la selectivitat, en funció del temps, fet que disminueix l'eficiència del procés. Els dos fenòmens causants de l'empitjorament del funcionament de les membranes són la polarització de la concentració en les solucions adjacents a la membrana i l'embrutiment d'aquesta.

La polarització de la concentració afecta sobretot els processos regits per gradients de pressió, i és deguda a la distribució heterogènia dels components de la solució de càrrega en l'interior d'aquesta, causada pel propi funcionament del procés de separació. Així, la concentració dels components que no travessaran la membrana és molt més elevada en la porció de solució de càrrega en contacte amb la membrana (acumulació del soluts retinguts), que no pas en el si de la solució de càrrega. Com a conseqüència, es crea una capa adjacent a la superfície de la membrana, d'amplada δ , en la qual té lloc un gradient de concentració, que aporta una resistència extra al transport. La rapidesa amb la qual els soluts aconseguiran arribar a la superfície de la membrana, dependrà directament del seu coeficient de transferència de massa, K , que és el quocient entre el seu coeficient de difusió i l'amplada, δ , de la capa existent. S'expressa:

$$K = D/\delta \quad (1-11)$$

K depèn de les condicions hidrodinàmiques del procés i , per tant, podrà ser optimitzat. K es relaciona amb el número de *Sherwood*, que és funció del número de *Reynolds* i aquest, al seu torn, és directament proporcional al cabal aplicat, i al diàmetre hidràulic (en altres paraules, és proporcional al disseny del mòdul de membrana utilitzat).

Fent referència ara als processos regits pel gradient de concentració, contràriament al cas anterior, aquí es veu afectat el solut que es transporta selectivament. Així, la concentració del solut que es transporta amb més facilitat és més baixa en la porció de solució en contacte amb la membrana que no pas en el si de la solució de càrrega. Com a resposta es crea també una capa adjacent a la membrana que presenta resistència al transport. Igual que en el cas anterior, el flux dels analits a través de la capa dependrà també de K .

L'embrutiment de la membrana és conseqüència directa de la deposició irreversible de partícules a la superfície de la membrana, incloent fenòmens d'adsorció, bloqueig de porus, precipitació i formació de gels o crostes. Un altre cop, es genera una resistència extra al flux de les espècies. Per tal de disminuir o eliminar el problema de l'embrutiment de les membranes, es pot pretractar la solució de càrrega, modificar les propietats de la membrana, optimitzar el disseny del mòdul i/o

del procés i, per últim, dur a terme neteges de tipus hidràulic (inversions intermitents del sentit del flux del procés), mecànic (amb boletes d'esponja), químic (ús d'àcids, bases, detergents etc.) i elèctric (aplicant camps elèctrics a ambdós costats de la membrana).

1.4 Separacions enantiomèriques mitjançant membranes

Les membranes que s'utilitzen per a la separació d'enantiòmers són generalment membranes sintètiques líquides o sòlides polimèriques.⁴¹ Per a la separació de mescles racèmiques, podem distingir dos processos distints: la separació indirecta, per la qual una membrana no enantioselectiva contribueix a un procés enantioselectiu; o bé, la separació directa utilitzant membranes quirals enantioselectives. En els processos de separació indirecta, la solució de càrrega conté alhora la mescla racèmica que cal separar i agents quirals (que permetran la separació dels enantiòmers). Es poden emprar tant membranes líquides (que treballaran, bàsicament, en tres modes: extracció líquid-líquid, fraccionament líquid-membrana, i ultrafiltració millorada de miscel·les), com membranes polimèriques. Alguns exemples són la separació de mescles racèmiques de fàrmacs, emprant derivats de l'àcid tartàric com a agents quirals;⁴² o la separació enantioselectiva d'ibuprofen o triptòfan, usant com a selector quiral l'albumina del sèrum boví (BSA).^{43,44} El segon d'aquests processos, és a dir, la separació directa, es basa en l'aplicació de membranes quirals, que permeten el pas selectiu d'un enantiòmer d'una mescla racèmica.

1.4.1 L'ús de membranes líquides enantioselectives

Per a la separació de mescles enantiomèriques, les membranes líquides s'usen en qualsevol de les seves tres configuracions. I tant pot ser que es basin en un líquid que sigui ell mateix quiral, -com és el cas d'alguns alcohols quirals: nopol i S(-)-2-metilbutanol (emprats per a la separació d'alguns hidroclorets d'aminoàcids)-, com que es tracti d'un líquid que contingui un additiu quiral.⁹ D'entre les substàncies emprades com a selectors quirals destaquen, per la seva utilització, els èters corona. El primer cas reportat de transport enantioselectiu a través d'una membrana líquida descriu l'extracció enantioselectiva de benzilamines α -substituídes usant èters corona quirals.⁴⁵ Posteriorment, s'han emprat també molts altres èters corona quirals, amb estructures cada cop més

⁴¹ M.F. Kemmere, J.T.F. Keurentjes, Membranes in Chiral Separation, in G. Subramanian (Ed.), *Chiral Separation Techniques*, WILEY-VCH, Weinheim (Germany), 2001, 127-150.

⁴² J.T.F. Keurentjes, L.J.M. Nabuurs, E.A. Vegter, "Liquid membrane technology for the separation of racemic mixtures". *J. Membr. Sci.* 113 (1996) 351-360.

⁴³ W.R. Bowen, R.R. Nigmatullin, "Membrane-assisted chiral resolution of pharmaceuticals: ibuprofen separation by ultrafiltration using bovine serum albumin as chiral selector". *Sep. Sci. Tech.* 37(14) (2002) 3227-3244.

⁴⁴ S Poncet, J. Randon, J.L. Rocca, "Enantiomeric Separation of Tryptophan by Ultrafiltration Using the BSA Solution System". *Sep. Sci. Tech.* 32(12) (1997) 2029-2038.

⁴⁵ L.J. Brice, W.H. Pirkle, "Enantioselective Transport through Liquid Membranes", in S.Ahuja (Ed.), *Chiral Separations. Applications and Technology*, ACS, Washington (USA), 1997, 309-334.

complexes per a la separació enantiomèrica d'hidroclorurs d'amines.⁴⁵ Altres agents transportadors utilitzats han estat el ionòfor natural lasolàcid A, que va permetre la separació enantiomèrica d'una sèrie d'èsters d'aminoàcids;⁴⁵ alguns poliaminoàcids; les ciclodextrines (en solucions aquoses), per al transport selectiu de compostos cíclics i heterocíclics;^{46,47} la cinconidina, per a la separació dels enantiòmers de l'àcid mandèlic;⁴⁸ diversos derivats d'aminoàcids, per a separació d'aminoàcids i derivats d'aquests⁴⁹ o d'alguns fàrmacs (com el propranolol o el bupranolol);⁵⁰ i els fosfats i fosfonats, per a la separació de diversos aminoàcids.⁵¹

Un dels principals avantatges del transport enantioselectiu amb membranes líquides, respecte membranes polimèriques, és el fet que el coeficient de difusió d'un solut a través d'un líquid és diversos ordres de magnitud superior al coeficient de difusió del mateix solut a través d'un sòlid. Per tant, el flux a través de membranes líquides serà superior.

Els desavantatges principals d'aquest tipus de membranes són dos. D'una banda, trobem una pèrdua ràpida de selectivitat en la solució receptora, degut al gradient de potencial químic que s'estableix quan la solució de càrrega s'enriqueix en un dels dos enantiòmers. Aquest fet es podria combatre minimitzant el transport no selectiu a través del líquid o treballant amb solucions de càrrega que fossin sempre racèmiques. Per altra banda, la seva aplicació a nivell preparatiu o industrial és molt difícil.

1.4.2 L'ús de membranes polimèriques enantioselectives

Les membranes polimèriques enantioselectives que s'utilitzen per a les separacions d'enantiòmers consisteixen, típicament, en un suport porós no selectiu on s'ha dipositat una capa prima d'un polímer enantioselectiu. Els polímers quirals més emprats per a aquesta finalitat són els polímers basats en fases estacionàries quirals: els polisacàrids,^{52,53,54,55} els polímers acrílics, els polímers

⁴⁶ D.W. Armstrong, H.L. Jin, "Enrichment of enantiomers and Other Isomers with Aqueous Liquid Membranes Containing Cyclodextrin Carrier". *Anal. Chem.* 59 (1987) 2237-2241.

⁴⁷ H.M. Krieg, J. Lotter, K. Keizer, J.C. Breytenbach, "Enrichment of chlorthalidone enantiomers by an aqueous bulk liquid membrane containing β -cyclodextrin". *J. Membr. Sci.* 167 (2000) 33-45.

⁴⁸ D. Stella, J.A. Calzado, A.M. Girelli, S. Canepari, R. Bucci, C. Palet, M. Valiente, "Liquid membranes for chiral separations. Application of cinchonidine as a chiral carrier". *J. Sep. Sci.* 25 (2002) 229-238.

⁴⁹ W.H. Pirkle, W.E. Bowen, "Preparative Separation of Enantiomers Using Hollow-Fiber Membrane Technology". *Tetrahedron Asymmetry* 5 (1994) 773-776.

⁵⁰ Heard, C.M.; Hadgraft, J.; Brain, K.R. "Differential facilitated transfer across a solid-supported liquid membrane". *Bioseparation* 4 (1994), 111-116.

⁵¹ P. Dzygiel, P. Wiecezorek, J.A. Jonsson, M. Milewska, P. Kafarski, "Separation of Amino Acid Enantiomers using Supported Liquid Membrane Extraction with Chiral Phosphates and Phosphonates". *Tetrahedron* 55 (1999) 9923-9932.

⁵² J.H.Kim, J.H. Kim, J. Jegal, K-H. Lee, "Optical resolution of amino acids through enantioselective polymeric membranes based on polysaccharides". *J. Membr. Sci.* 213 (2003) 273-283.

⁵³ J.H.Kim, J. Jegal, J.H. Kim, K-H. Lee, Y. Lee, "Enantioselective Permeation of α -Amino Acid Optical Isomers through Crosslinked Sodium Alginate Membranes". *J. Appl. Polym. Sci.* 89 (2003) 3046-3051.

derivats del poliacetilè, i els poliaminoàcids. D'aquest darrer cas, el poliglutamà, per exemple, ha mostrat ser apropiat per a la separació de triptòfan i, addicionalment, si es mescla amb cadenes curtes i flexibles de siloxà, permet augmentar el flux de la separació esmentada, conservant encara una selectivitat raonable.^{56,57} L'alternativa a l'ús de polímers basats en fases estacionàries quirals passa per la immobilització d'un component quiral, com ara un aminoàcid,⁵⁸ DNA,⁵⁹ BSA,^{60,61} anticossos,²³ o enzims,⁶² en una membrana porosa, ja sigui en els porus o en la matriu polimèrica.⁹ A part dels dos tipus de polímers quirals esmentats, existeixen també els polímers d'impressió moleculars (MIP),⁴¹ que han estat desenvolupats en les últimes dècades⁶³ i aplicats recentment per a separacions enantiomèriques.^{64,65,66} La preparació d'aquest tipus de polímers es basa en la formació d'un complex entre el monòmer i l'enantiòmer que volem separar. Durant la subseqüent polimerització, amb agents entrecruadors, la matriu polimèrica que es forma és capaç de capturar la geometria del complex format. Posteriorment, els enantiòmers són eliminats de la xarxa polimèrica, però les cavitats d'aquesta conservaran la forma i l'estructura corresponent per encaixar amb els grups funcionals de l'enantiòmer d'interès.

1.5 Separació enantiomèrica de Propranolol mitjançant membranes

La majoria dels processos de membranes dissenyats per dur a terme separacions enantiomèriques s'han aplicat a la separació de mescles racèmiques d'aminoàcids o derivats d'aquests, mentre que

⁵⁴ E. Yashima, J. Noguchi, Y. Okamoto, "Enantiomer Separation with Cellulose Tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) Membrane. Enantioselective Adsorption and Desorption". *Chemistry Letters* (1992) 1959-1962.

⁵⁵ E. Yashima, J. Noguchi, Y. Okamoto, "Continuous and Preparative Enantioseparation of Oxprenolol with Cellulose Tris(3,5-dimethylphenylcarbamate)-coated Belt". *Tetrahedron: Asymmetry* 6(8) (1995) 1889-1990.

⁵⁶ C Thoelen, M.D. Bruyn, Y. Kondo, I.F.J. Vankelecom, P. Grobet, M. Yoshikawa, P.A. Jacobs, "Membranes based on poly(gamma-methyl-L-glutamate): synthesis, characterization and use in chiral separations". *J. Membr. Sci.* 186 (2001) 153-163.

⁵⁷ T. Aoki, S. Tomizawa, E. Oikawa, "Enantioselective permeation through poly(γ -[3-(pentamethyldisiloxanyl)propyl]-L-glutamate) membranes". *J. Membr. Sci.* 99 (1995) 117-125.

⁵⁸ T. Masakawi, M. Sasai, S. Tone, "Optical resolution of an amino acid by an enantioselective ultrafiltration membrane". *J. of Chem. Eng. of Jap.*, 25(1) (1992) 33-39.

⁵⁹ A. Higuchi, Y. Higuchi, K. Furuta, B.O. Ion, M. Hara, S. Maniwa, M. Sayito, K. Sanui, "Chiral separation of phenylalannine by ultrafiltration through immobilized DNA membranes". *J. Membr. Sci.*, 221 (2003) 207-218.

⁶⁰ M. Nakamura, S. Kiyohara, K. Saito, K. Sugita, T. Sugo, "Chiral separation using porous membranes containing multilayered bovine serum albumin crosslinked with glutaraldehyde". *J. Chrom. A* 822 (1998) 53-58.

⁶¹ J. Randon, F. Garnier, J.L. Rocca, B. Maïsterrena, "Optimization of the enantiomeric separation of tryptophan analogs by membrane processes". *J. Membr. Sci.* 175 (2000) 111-117.

⁶² A. Skolaut, J. Retey, "Use of Enzymes Deactivated by Site-Directed Mutagenesis for the preparation of Enantioselective Membranes". *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41(16) (2002) 2960-2962.

⁶³ M. Kempe, "Molecularly imprinted polymers in enantiomeric separations", in B. Sellergen (Ed.), *Molecularly Imprinted Polymers*, Elsevier, 2001, 395-415.

⁶⁴ M. Yoshikawa, J. Izumi, T. Kitao, S. Sakamoto, "Alternative molecularly imprinted polymeric membranes from a tatrapeptide residues consisting of D- or L-amino acids". *Macromol. Rapid Commun.*, 18 (1997) 761-767.

⁶⁵ M. Yoshikawa, T. Fujisawa, J. Izumi, "Molecularly imprinted polymeric membranes having EFF derivatives as a chiral recognition site". *Macromol. Chem. Phys.*, 200 (1999) 1458-1465.

⁶⁶ M. Lehmann, H. Brunner, G.E.M. Tovar, "Selective separations and hydrodynamic studies: a new approach using molecularly imprinted nanosphere composite membranes". *Desalination*, 149 (2002) 315-321.

l'ús de membranes per a la separació enantiomèrica de compostos farmacèutics és encara un terreny poc explorat.

1.5.1 El propranolol

El propranolol (l'estructura del qual es pot veure en la figura 1.6) és un fàrmac antagonista dels β -adrenoceptors no específic (bloqueja tant els receptors β_1 com β_2 , amb els quals forma un complex de baixa energia inactivant les propietats d'aquests),⁶⁷ que s'utilitza per tractar anomalies cardiovasculars (hipertensió, angina de pit) i simptomatologies perifèriques de l'angoixa (taquicàrdia, tremolors).⁶⁸

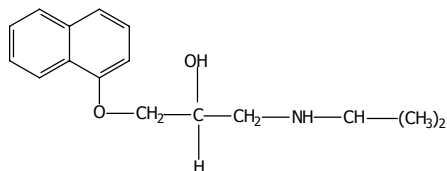


Figura 1.6. Estructura del fàrmac propranolol.

Com es pot apreciar en la figura 1.6, la seva estructura conté un carboni asimètric, que dóna lloc a dos enantiòmers. L'enantiòmer actiu d'aquest fàrmac és el levògir (L o S-propranolol), mentre que l'enantiòmer dextrògir (D o R-propranolol) no presenta activitat, però pot mantenir altres accions com ara l'estabilització de la membrana cel·lular.^{67,69} L'estructura del fàrmac conté també una amina secundària que té un pKa de 9.5.^{70,71}

1.5.2 La separació enantiomèrica de propranolol mitjançant membranes

La separació enantiomèrica del fàrmac propranolol mitjançant membranes fou plantejada per primer cop per *Heard et al.* l'any 1994.⁵⁰ En aquest cas, es va utilitzar una membrana líquida suportada que contenia el transportador quiral N-hexadecil-L-hidroxiprolina (capaç de formar un parell iònic amb els enantiòmers del propranolol i transportar-los de manera facilitada), amb la qual es va aconseguir una certa separació enantioselectiva del fàrmac en qüestió. Malgrat tractar-se

⁶⁷ J.A. García-Sevilla, F. Barturen, "Fármacos que modifican la actividad simpática", en J. Flórez, J.A. Armijo, A. Mediavilla (Eds.), *Farmacología Humana*, Masson, Barcelona-Madrid (Espanya), 3ª ed., 1997, 261-275.

⁶⁸ Pàgina web: <http://vademecum.medicom.es>.

⁶⁹ G. M. Hanna, F.E. Evans, "Optimization of enantiomeric separation for quantitative determination of the chiral drug propranolol by H^1 -NMR spectroscopy utilizing a chiral solvating agent". *J. Pharm. Biomed. Anal.* 24 (2000) 189-196.

⁷⁰ X. Zhu, Y. Ding, B. Ling, A. Jacobs, B. Koppenhoefer, "Study of enantioselective interactions between chiral drugs and serum albumin by capillary electrophoresis". *Electrophoresis* 20 (1999) 1869, 1877.

⁷¹ H.H. Yarabe, E. Billiot, I.M. Warner, "Enantiomeric separations by use of polymeric surfactant electrokinetic chromatography". *J. Chrom. A* 875 (2000) 179-206.

d'un sistema prometedor, aquest no fou caracteritzat ni optimitzat. En els darrers anys, altres sistemes de membranes líquides, basades en l'ús de dialquiltartrats com a selectores quirals, i de membranes polimèriques,⁷² han estat també investigats per a la separació enantiomèrica del propranolol.^{42,73,74} L'estructura d'alguns dels transportadors selectius utilitzats es mostren en la figura 1.7.

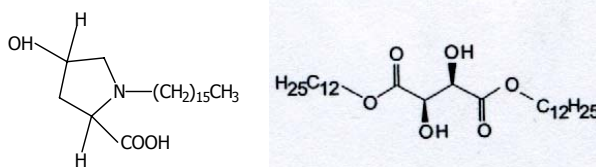


Figura 1.7. Estructura dels selectores quirals N-hexadecil-L-hidroxi prolina (esquerra) i (S,S)-di-N-dodeciltartrat (dreta).

Tots els casos de separacions enantiomèriques de propranolol que s'han descrit, han utilitzat processos de membranes basats en gradients de concentració. També en tots ells la separació enantiomèrica té lloc directament en la membrana, ja que tots els sistemes esmentats han emprat membranes enantioselectives. En aquests sistemes, hi intervenen dos mecanismes de transport: la difusió del propranolol a través de la membrana i el transport facilitat més o menys selectiu, d'un dels dos enantiòmers del fàrmac. En diversos casos, el transport facilitat té lloc acoblat a un contratransport de protons. Quan això ocorre, sovint s'incorpora en els sistemes de membranes, un contragradient de protons que afavorirà que el transport del fàrmac sigui complet.

⁷² T. Aoki, M. Ohshima, S. Makoto, K. Shinohara, T. Kaneko, E. Oikawa, "Enantioselective permeation of racemates through a solid (+)-poly{2-[dimethyl(10-pinanyl)silyl]norbornadiene} membrane". *Polymer* 38 (1997) 235-238.

⁷³ I.M. Coelho, M.M. Cardoso, R.M.C. Viegas, J.G. Crespo, "Modelling of Transport Mechanism in Liquid Membranes, in S.Luque", en J.R. Alvarez (Eds.), *Proceedings of Engineering with Membranes*, Universidad de Oviedo, Oviedo, 2001, V1, pp. 425-430.

⁷⁴ I.M. Coelho, M.M. Cardoso, R.M.C. Viegas, J.G. Crespo, "Transport mechanisms and modelling in liquid membrane contactor". *Sep. Pur. Tech.* 19 (2000) 183-197.

1.6 Objectius

Considerant els antecedents exposats, la finalitat inicialment plantejada del treball d'investigació que es descriu fou el desenvolupament i la caracterització de sistemes de separació, mitjançant membranes, que permetin la separació enantiomèrica del fàrmac propranolol.

Per aconseguir tal fita, es varen proposar els següents objectius:

- Caracterització d'un sistema de separació enantiomèrica de propranolol mitjançant membranes líquides. Determinació dels factors que regulen la seva separació enantiomèrica.
- Desenvolupament de nous tipus de membranes polimèriques quirals. Caracterització superficial i interna de les noves membranes obtingudes.
- Aplicació de les membranes polimèriques a la separació enantiomèrica del propranolol. Avaluació de la influència dels paràmetres que determinen l'eficiència del transport i/o la separació enantioselectiva del propranolol racèmic.
- Modelització del transport del propranolol.
- Comparació dels resultats obtinguts dels distints sistemes de membranes.

CAPÍTOL 2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Aquest capítol descriu de manera general la metodologia utilitzada per assolir els diversos objectius del present treball.

2.1 Preparació de membranes

S'han preparat dos tipus diferents de membranes: membranes líquides i membranes polimèriques.

2.1.1 Preparació de membranes líquides suportades

Per preparar les membranes líquides suportades, es submergeix una membrana porosa de fluorur de polivinilidè, PVDF, en 10ml d'una solució quirals del transportador N-hexadecil-L-hidroxi prolina, HHP, dissolt en l'èster isopropílic de l'àcid mirístic, IPM, o bé en nopol. Per tal d'assegurar la màxima impregnació del suport porós, el recipient d'impregnació es manté en el bany d'ultrasons durant 15min. Tot seguit i prèviament a la utilització de la membrana, s'elimina l'excés de líquid o solució quirals del suport porós, deixant que s'escorri (durant 1 min.). S'han emprat solucions quirals de varies concentracions de transportador i, per tant, s'han preparat membranes líquides suportades que contenen distintes quantitats de transportador (*carrier*, C). Els continguts de transportador en les membranes líquides suportades s'han expressat en funció del quocient entre els mols de HHP en la membrana (tenint en compte la concentració de HHP en la solució quirals orgànica i el volum efectiu del suport porós), i els mols de l'analit, A, en la solució de càrrega inicial, C/A. S'han estudiat 5 quocients C/A diferents: 0,005, 0,4, 1,4, 2, i 3.

2.1.2 Preparació de membranes polimèriques poroses (amb transportador i sense)

Malgrat haver-se emprat diferents membranes polimèriques poroses, totes elles s'han preparat seguint les mateixes pautes i basant-se en un únic polímer: la polisulfona, PS. Les membranes polimèriques poroses s'han preparat mitjançant la tècnica d'inversió de fase per immersió. Primerament, es prepara una dissolució homogènia de PS al 15% en pes, en dimetilformamida, DMF, o ocasionalment en dimetilacetamida, DMAc. Seguidament, aquesta solució es pel·licula sobre un paper no-teixit (tensat sobre un vidre), que té la funció de suport mecànic i tot junt es submergeix en un bany d'aigua-gel que es troba a $4 \pm 1^\circ\text{C}$. En certes ocasions, la solució de membrana s'ha pel·liculat directament sobre un vidre, sense suport no-teixit, però les membranes resultants no mostren suficient estabilitat mecànica. El conjunt es retira del bany de precipitació, un cop formada la membrana, i aquesta es guarda en aigua, a temperatura ambient, fins a la seva utilització. Per a la preparació de membranes polimèriques poroses amb transportador, s'afegeix el transportador que s'immobilitzarà a la solució de membrana, juntament amb la PS. Els

transportadors investigats han estat el nopol, l' L-didodeciltartrat, L-DDT, l'HHP, la dissolució d'HHP en IPM, i l'enantiòmer S- del propranolol. La taula 2.1 resumeix totes les combinacions investigades, així com les quantitats de transportador afegides en cada cas.

Taula 2.1. Transportadors i solvents utilitzats en les distintes solucions de membrana.

Solvents de solució de membrana	Transportadors addicionats	Quantitat de transportador (% en pes)
DMF	Nopol	1, 20 (amb suport i sense), 40
	L-DDT	1
	HHP	<1
	HHP en IPM	<1
	S-propranolol	1
DMAc	Nopol	<1
	L-DDT	<1
	HHP	<1
	S-propranolol	<1

De totes les combinacions presentades, sols una va mostrar característiques adequades per poder assolir els objectius proposats: DMF/HHP en IPM. A partir d'aquesta combinació s'han preparat varies membranes polimèriques poroses sense transportador i amb transportador. Un altre cop, s'han incorporat diferents quantitats de transportador en la solució de membrana, cosa que ha donat lloc a membranes amb 0,6 o 1,2 % en pes d'HHP.

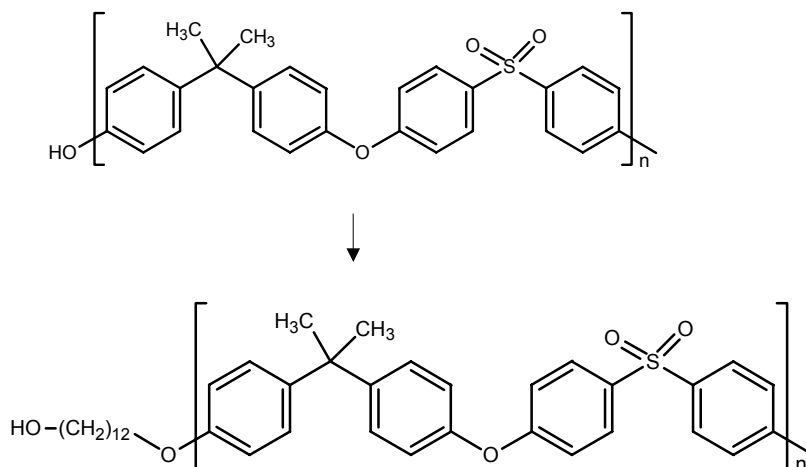
2.1.3 Preparació de membranes polimèriques poroses quirals

Es tracta d'una variació de les membranes polimèriques poroses esmentades al punt 2.1.2. L'única diferència respecte les anteriors rau en el fet que, en aquest cas, el transportador es troba lligat covalentment al polímer de PS, en lloc d'estar incorporat a la matriu polimèrica. L'esmentat enllaç covalent del transportador amb el polímer de PS s'assoleix mitjançant la derivatització quiral de la PS d'origen. Per derivatitzar la PS s'han seguit dues rutes sintètiques distintes, que han donat lloc a l'obtenció de dos polímers quirals de PS diferents.

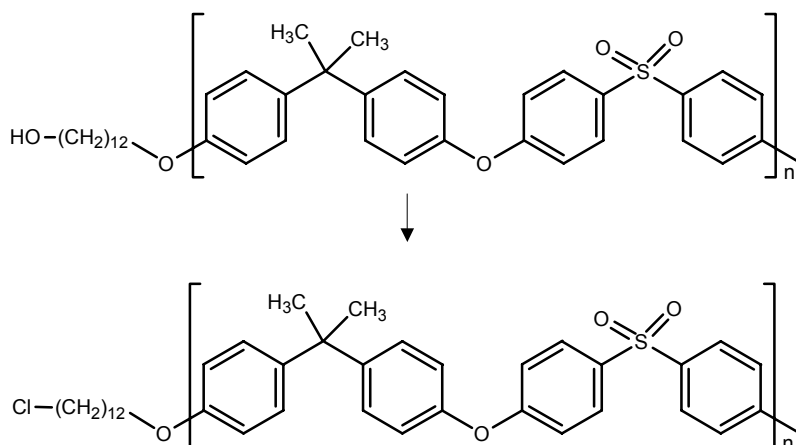
La primera ruta sintètica (ruta A) consisteix en tres reaccions successives:

- I. En primer lloc es procedeix a l'alquilació dels grups hidroxil (OH-) dels extrems de les cadenes de PS amb 12-bromododecanol. Amb aquest objectiu, es prepara una dissolució homogènia de PS en DMF anhidre, dins un matràs proveït d'agitació magnètica i protegit de l'exterior amb un tub de clorur càlcic. Un cop obtinguda la dissolució, s'afegeix al matràs una quantitat determinada de NaH (el mateix pes de PS dissolta). El NaH ha estat netejat prèviament amb hexà, per tal d'eliminar la parafina que el protegeix, i es transfereix al matràs utilitzant petits volums de DMF. Seguidament, s'addiciona molt lentament (gota a gota), una quantitat coneguda (que

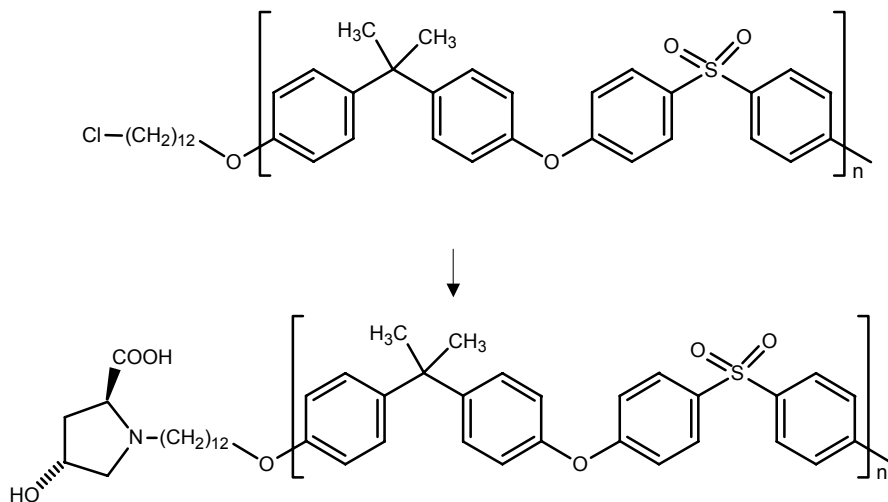
correspon al doble dels mols d'unitats de PS dissolta) de $\text{Br}(\text{CH}_2)_{12}\text{OH}$ dissolt prèviament en DMF. La mescla es deixa reaccionar 30 minuts a temperatura ambient i després es manté a 70°C durant 20-24h. Un cop passat aquest temps, el contingut del baló es fa precipitar sobre aigua MilliQ. El precipitat obtingut es renta amb aigua i hexà i es deixar assecar.



- II. En segon lloc, es porta a terme la substitució dels grups hidroxil (OH-) de l'alquil per un halogen (Cl-). Aquesta substitució s'aconsegueix mitjançant la dissolució i reacció del producte obtingut de la primera etapa (9% en pes) en clorur de tionil dins un matràs proveït d'agitació magnètica i aïllat de l'exterior amb un tub de clorur càlcic. Una vegada el producte sòlid està completament dissolt, el contingut del matràs es manté en reflux a 70°C durant 2h. Posteriorment, es deixa refredar, s'elimina el dissolvent sobrant a pressió reduïda i es recull el producte, que es rentarà abundantament amb aigua i hexà i es deixarà assecar.

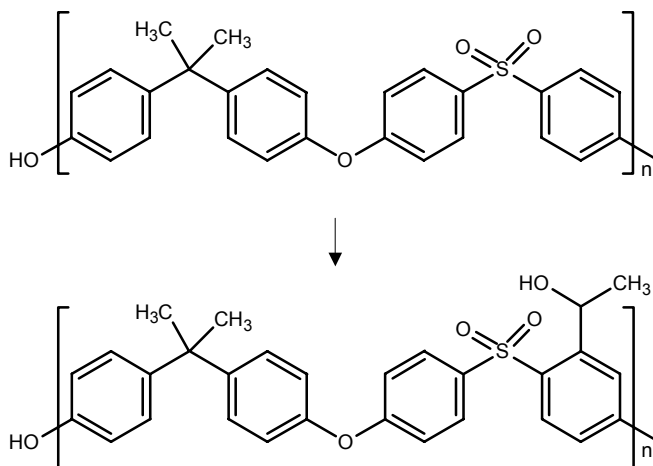


III. Finalment, té lloc la substitució del grup sortint (Cl-) per l'enantiòmer 4(R)-hidroxi-L-prolina. Es mesclen en un tub d'assaig una quantitat coneguda (q mols) del producte obtingut de la reacció prèvia i q mols de KI. Simultàniament, es dissolen en un matràs 5q mols de 4(R)-hidroxi-L-prolina i 7,5q mols de K_2CO_3 en DMF. Quan la mescla del matràs té un aspecte blanc lletós, s'hi addiciona el contingut del tub d'assaig i es fa reaccionar tot junt a $80^\circ C$ durant 70-75h. Després d'aquest temps, es para la reacció i s'evapora el dissolvent. Posteriorment, el material obtingut es renta amb aigua i es deixa assecar.



La segona ruta sintètica (ruta B) es diferencia de la primera en un únic fet: incorpora una reacció prèvia de derivatització, que té com a finalitat augmentar el nombre de grups hidroxil sobre la PS, per tal de tenir més i distintes posicions on enllaçar el transportador quiral desitjat.¹

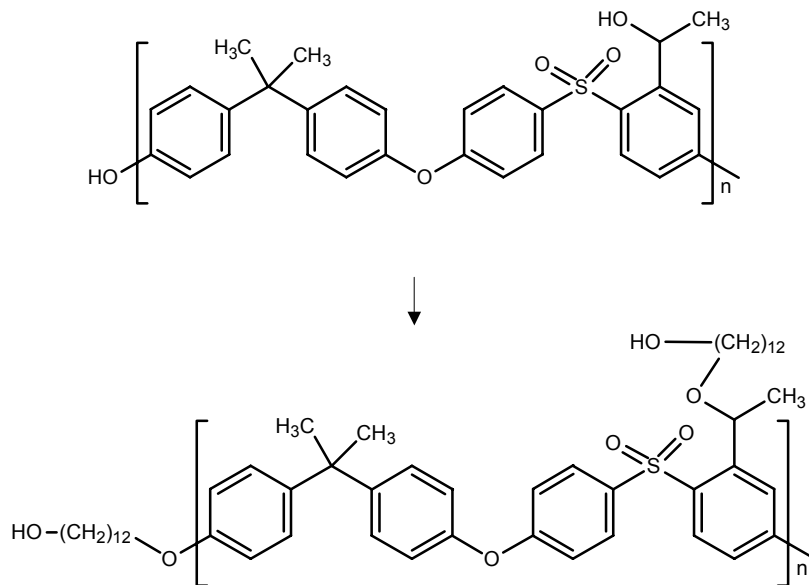
- I. Per aconseguir la incorporació de grups (OH-) en la PS es dissol, en un matràs proveït d'agitació mecànica i aïllat completament de l'exterior, PS en tetrahidrofurà, THF, anhidre. Tota la reacció té lloc en condicions anhidres. Un cop dissolta la PS, es refreda el matràs a -78°C i, seguidament, s'afegeix una quantitat de butil-liti (en excés, respecte la PS) en hexà molt lentament (gota a gota), i la mescla es fa reaccionar durant 30 minuts a -78°C . A continuació, s'hi afegeix una quantitat d'acetaldehid en excés, i es fa reaccionar durant 2h a -78°C . Posteriorment es fa reaccionar a temperatura ambient durant 2h més. El contingut resultant del matràs es precipita sobre la mescla aigua MilliQ:isopropanol (4:1), es renta amb aigua MilliQ i es deixa assecar.



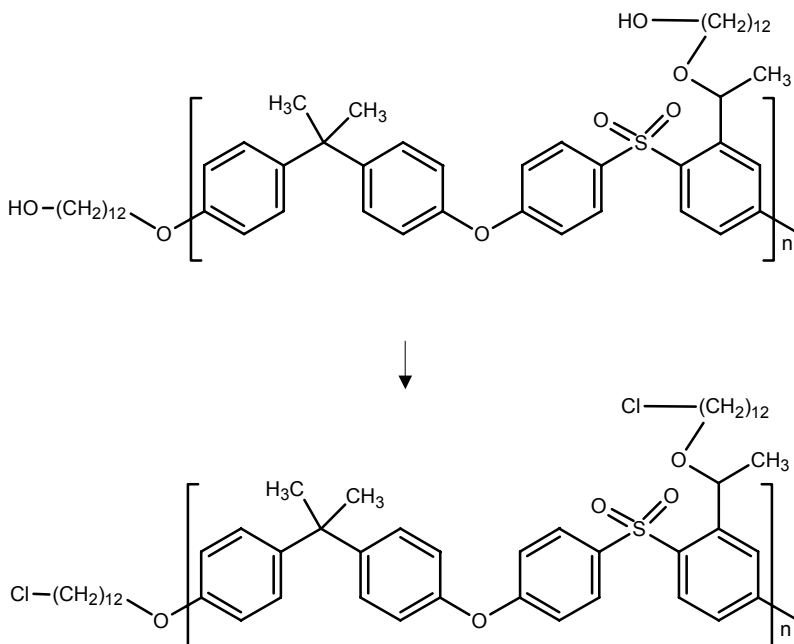
A continuació es procedeix de manera anàloga a la ruta sintètica A:

¹ M.D. Guiver, G.P. Robertson, M. Yoshikawa, C.M. Tam, "Functionalised Polysulfones: Methods for Chemical Modification and Membrane Applications", ACS Symposium Series (2000), 744 (Membrane Formation and Modification), 137-161.

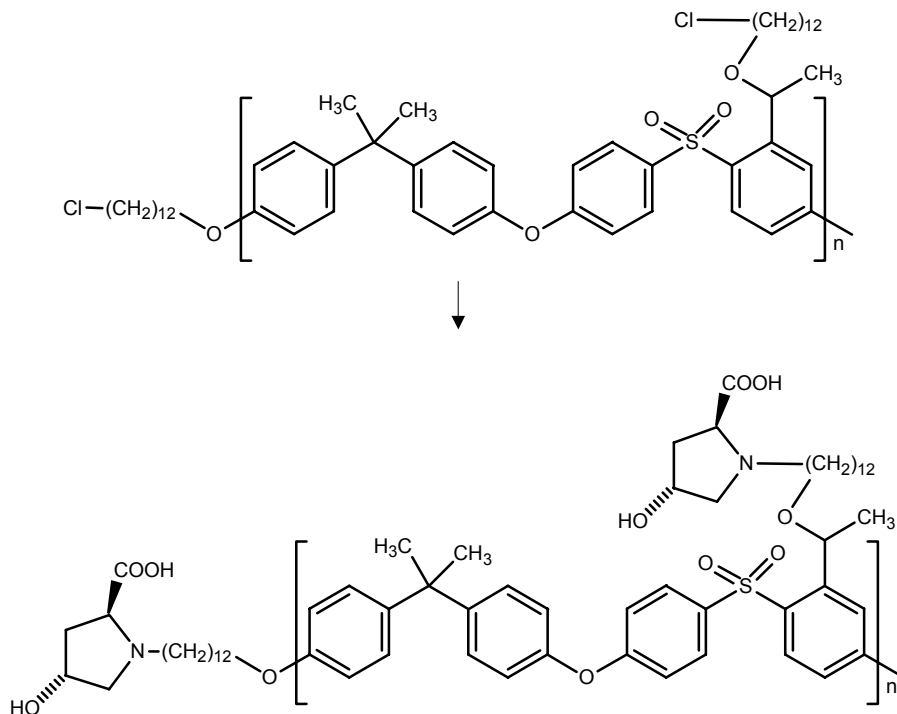
II. l'alquilació dels grups hidroxil (OH-) de les cadenes de PS amb 12-bromododecanol



III. la substitució dels grups hidroxil (OH-) de l'alquil per un halogen (Cl-),



IV. la substitució del grup sortint (Cl-) per l'enantiòmer 4(R)-hidroxi-L-prolina



Tots els productes resultants de les diverses etapes de les dues rutes sintètiques estudiades han estat caracteritzats amb tècniques de ressonància magnètica nuclear, RMN.

Un cop s'ha obtingut el polímer de partida, en aquest cas PS quiral A o B (segons la ruta seguida), es porta a terme la preparació de les membranes, tal com s'ha esmentat a l'apartat anterior. Tot i això, com que les PS quiral obtingudes, CPS_A i CPS_B, tenen una solubilitat reduïda en DMF, fou necessari partir de mescles de diferents composicions de polímers (PS+CPS_A ó PS+CPS_B) per a la preparació de solucions de membrana homogènies. En la taula següent es llisten les composicions de polímers estudiades:

Taula 2.2. Composicions de polímers investigades.

PS (%)	PS quiral (%)
100	0
95	5 A ó B
90	10 A
85	15 A
80	20 A
75	25 A

2.1.4 Preparació de membranes polimèriques denses (amb transportador i sense)

Les membranes polimèriques denses s'han preparat mitjançant la tècnica d'inversió de fase per immersió o per evaporació (del solvent). En el primer dels casos s'ha usat la PS com a polímer i, per tal d'obtenir les membranes, s'ha emprat el parell cloroform/metanol com a solvent/no solvent, i s'han incorporat distintes concentracions del transportador L-DDT (1,8 o 3,3 % en pes). En el segon cas, les membranes polimèriques denses s'han obtingut a partir de l'evaporació del solvent d'un film de solució de membrana, constituïda per PS (15% en pes) i L-DDT (0 o 3,3% en pes) en cloroform.

2.1.5 Preparació de membranes compòsit

Pel que fa a les membranes compòsit, aquestes s'han obtingut mitjançant la formació d'una capa densa de poliamida, PA, en la superfície de diverses membranes polimèriques poroses (amb transportador i sense). La capa de PA s'ha preparat fent ús de la tècnica de recobriment per polimerització interfacial. Per dur a terme la polimerització, es fa reaccionar, sobre la superfície d'una membrana porosa, una diamina, en aquest cas 1,3-fenilendiamina (dissolta en aigua MilliQ, juntament amb dodecilsulfat de sodi), amb un clorur d'àcid, aquí 1,3,5-tricarbonilbenzè (dissolt en hexà). En certes ocasions, aquestes membranes han estat activades mitjançant la incorporació de transportadors en la membrana durant el procés de polimerització interfacial. Els transportadors es poden afegir a les solucions d'hexà o d'aigua MilliQ o, altrament, es poden dipositar directament sobre la membrana porosa, un cop el suport porós s'ha impregnat de diamina i abans de l'addició del clorur d'àcid, que finalitza la polimerització de la PA. Un cop es dona per acabat el procés de polimerització, les membranes es renten i es posen a assecar a l'estufa a 60°C. En la taula següent es recullen les distintes membranes compòsit preparades.

Taula 2.3. Tipus de membranes compòsit preparades.

Transportador incorporat	Capa on s'ha incorporat
HHP	Densa, Porosa
L-DDT	Densa, Porosa
DEHPA	Densa
Nopol	Densa, Porosa
R-Propranolol	Densa, Porosa

2.2 Caracterització de membranes

Per tal de caracteritzar les diverses membranes preparades s'han emprat diverses tècniques.

2.2.1 SEM

S'han obtingut imatges SEM (tant superficials com de talls transversals) de distintes membranes. Totes les imatges han estat obtingudes amb el microscopi electrònic d'escombratge HITACHI S-570 del Servei de Microscòpia Electrònica de la UAB. Per poder analitzar les mostres d'interès, cal un pretractament que consisteix a metal·litzar-les. Amb aquesta finalitat, les mostres es col·loquen sobre uns portaobjectes especials que s'introdueixen en una cambra en ambient buit, i les mostres es recobreixen d'una fina pols d'or. Per aconseguir talls transversals de membrana nets (sense deformació del polímer), les membranes d'interès s'humitegen amb etanol i, posteriorment, es trenquen submergint-les en nitrogen líquid.

Algunes de les imatges SEM obtingudes de talls transversals de membranes han estat també caracteritzades amb el programa d'interpretació de fotos de microscòpia electrònica, IFME.² Aquest programa ens permet calcular la mida i distribució dels porus interns de les membranes, així com obtenir un valor numèric (relatiu, en qualsevol cas) de la simetria i la regularitat internes de les membranes.

2.2.2 AFM

Totes les imatges AFM s'han obtingut amb l'aparell d'AFM Nano Scope III de l'*Industrial Membrane Research Institute*, IRMI, del *Department of Chemical Engineering* de la *University of Ottawa*. S'ha utilitzat la tècnica d'AFM en mode intermitent i amb cantilevers de nitrur de silici. A partir de les imatges AFM, s'ha calculat la mida mitjana de porus i nòduls (mitjançant la inspecció visual de les imatges), la densitat de porus i la porositat superficial, i la rugositat mitjana de les membranes.

Per determinar la mida mitjana de porus, les mides de porus mesurades s'ordenen de forma ascendent i se'ls assigna un rang, que es calcula a partir de la fórmula següent:^{3, 4}

$$\text{Rang} = [(j-0,3)/(n+0,4)]*100 \quad (2-1)$$

on j és la posició en l'ordre de les mides de porus, i n és el nombre total de porus mesurats. La representació gràfica d'aquests rangs en funció de les mides de porus dóna lloc a la funció de

² C. Torras-Font, R. Garcia-Valls, "Quantification of membrane morphology by interpretation of scanning electron microscopy images". *J. Memb. Sci.* 233 (2004) 119-127.

³ S. Singh, K.C. Khulbe, T. Matsuura, P. Ramamurthy, "Membrane characterization by solute transport and atomic force microscopy". *J. Membr. Sci.* 142 (1998) 111-127.

⁴ C. Lipson, N.J. Sheth, *Statistical Design and Analysis of Engineering Experiments*, McGraw-Hill, New York, 1973, p.18.

distribució acumulativa. Si aquesta funció es normalitza en eixos de probabilitat log-normal, s'obté una línia recta (sempre i quan les mides de porus tinguin una distribució log-normal). A partir d'aquesta línia recta, la mida mitjana de porus equival al diàmetre de solut amb Rang igual a 50 %, i la seva desviació estàndard geomètrica correspon al quocient dels diàmetres de solut amb Rang igual a 84,13 % i 50 %.

La densitat de porus de la membrana es pot obtenir directament, comptant visualment el nombre de porus d'àrees perfectament determinades de diverses imatges d'AFM. Per altra banda, la porositat superficial S_p , que correspon al quocient entre l'àrea dels porus i l'àrea superficial total de la membrana, s'obté de l'equació:

$$S_p = [N\pi(\sum f_i d_i^2)/4]*100 \quad (2-2)$$

en la qual N és el nombre total de porus per unitat d'àrea (densitat de porus) i f_i és la fracció del nombre de porus amb diàmetre d_i .

La rugositat superficial de les membranes, que es defineix com les diferències en morfologia superficial d'aquestes, s'expressa generalment en funció de la rugositat mitjana R_a (tot i que existeixen altres expressions de rugositat), i es calcula:

$$R_a = (1/L_x L_y) \int \int f(x,y) dx dy \quad (2-3)$$

R_a correspon al valor mig de superfície relativa al pla central; és a dir, al pla tal que el volum de la mostra per sobre i per sota del pla és el mateix.

2.2.3 Angle de contacte

Les mesures de l'angle de contacte (dutes a terme a l'IMRI) de la superfície activa de les membranes s'han realitzat amb el mètode de la gota captiva. Es diposita una gota de 6 nm^3 amb l'ajuda d'una xeringa de 0,1 ml a la superfície de la membrana, i es mesura tant l'angle de contacte d'avançament com el de retrocés. S'ha calculat també la histèresi de l'angle de contacte, que és la diferència entre aquests dos valors. L'agulla de la xeringa es manté durant tota la mesura submergida en la gota.

2.2.4 ESR

Els diferents espectres ESR s'han realitzat també a l'IMRI amb l'espectròmetre x-band Bruker 200 DC. Per tal de realitzar els espectres ESR de les mostres d'interès, aquestes es posen prèviament en

remull en una solució aquosa al 0,01 % del radical lliure 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxil, TEMPO (que és el radical lliure de referència), durant 1h. Posteriorment, les mostres es renten amb aigua MilliQ per eliminar les restes de TEMPO de la superfície de les membranes; i finalment, s'elimina l'excés d'aigua de rentat, prement les mostres de membrana entre dos papers de filtre. Seguidament, les mostres es col·loquen dins les cel·les d'anàlisi i se'ls aplica un camp magnètic. El senyal ESR que emet la mostra es registra amb un espectròmetre. El senyal ESR del TEMPO en solució aquosa consta de tres pics iguals. Per avaluar la quantitat relativa de TEMPO atrapat en la matriu polimèrica de les membranes, es calcula el quocient entre l'alçada del segon pic, b, i el primer pic, a, del senyal ESR obtingut.

2.2.5. Rebuig de soluts

Per determinar els valors de rebuig de soluts de les membranes es realitzen experiments de separació de soluts per ultrafiltració a 3,5 bar. Per dur a terme aquests experiments s'utilitzen tres mòduls de membrana de filtració tangencial connectats en sèrie.⁵ En primer lloc, es determina el flux de l'aigua destil·lada a través de les membranes. En segon lloc es fan recircular per l'interior del sistema de membranes, diferents solucions de càrrega que contenen inicialment 200 ppm de polietilenglicol, PEG, o òxid de polietilè, PEO (de diferents pesos moleculars). Les solucions de càrrega es fan recircular ordenadament, de menor a major pes molecular de solut. El sistema es renta generosament, amb aigua destil·lada, entre experiments amb distint pes molecular de solut. Durant els experiments, es recullen mostres tant de la solució de càrrega com del filtrat; i el contingut de solut en les mostres es determina en forma de contingut total de carboni orgànic, TOC. Anàlogament, es porten a terme experiments de rebuig de soluts carregats, emprant NaCl i MgSO₄. En aquest cas, el contingut de solut en les mostres de les solucions de càrrega i de filtrat es determina amb un conductímetre.

A partir de les dades experimentals recollides, es determinen la mida mitjana de porus i la seva desviació geomètrica estàndard, el MWCO, la porositat superficial i la densitat de porus de les membranes. La mida de porus i la seva corresponent distribució s'avaluen a partir dels resultats de separació de soluts per ultrafiltració. La separació (retenció) de soluts es calcula amb l'equació (1-8). Per tal de determinar els diferents paràmetres superficials de les membranes, els valors de separació de soluts es tracten com a probabilitat log-normal, i es representen en funció del diàmetre de solut d_s , que s'obté a partir del radi d'Einstein-Stokes, ESr . En l'esmentada representació gràfica, el MWCO correspon al d_s d'una separació del 90%, la mida mitjana de porus equival al diàmetre de

⁵ S. Sourirajan, T. Matsuura, *Reverse Osmosis/Ultrafiltration Process Principles*, National Research Council of Canada, 1985.

solut amb separació igual al 50 %, i la seva desviació geomètrica estàndard correspon al quocient dels diàmetres de solut amb separació de 84,13 % i 50 %.

El pes molecular dels soluts utilitzats per als experiments d'ultrafiltració, M , es converteix en valors ESr amb equacions empíriques del tipus:³

$$ESr = 16,73 \times 10^{-10} M^{0,557} \quad (2-4)$$

per al PEG, i:

$$ESr = 10,44 \times 10^{-10} M^{0,587} \quad (2-5)$$

per al PEO. A partir dels valors de mida mitjana de porus i de desviació geomètrica estàndard es pot obtenir la funció de distribució acumulativa, que ens permetrà calcular el valor del sumatori de $f_i d_i^4$ i, com a conseqüència, la porositat superficial, S_p .⁶ Aquesta es pot calcular amb l'equació 2-2. En aquest cas, el nombre total de porus, N , es calcula a partir de la següent equació matemàtica:

$$N = (128 \eta \delta J / \pi \Delta P \sum f_i d_i^4) \quad (2-6)$$

en la qual δ és la longitud dels porus, η és la viscositat del dissolvent, ΔP correspon a la diferència de pressió a través dels porus i J és el flux del dissolvent. Com a valor de δ , es pren $1 \mu m$, que correspon al gruix determinat experimentalment per la capa de poliamida.⁷

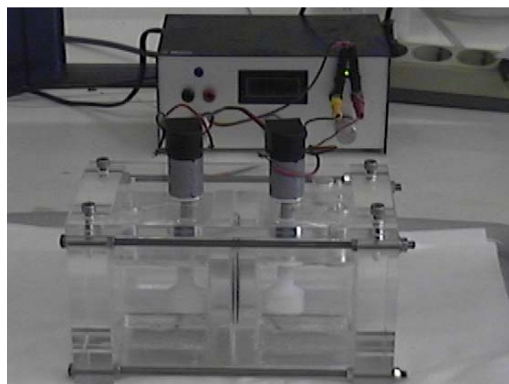
2.3 Mòduls de membrana i procediment experimental

En el treball present, s'han utilitzat quatre mòduls de membrana diferents; i el procediment experimental que s'ha seguit amb tots ells ha estat molt similar. Tot seguit es descriuen els distints mòduls usats (figura 2.1), i es detalla, per a cada un d'ells, el procediment de treball establert.

⁶ K.H. Youm, W.S. Kim, "Prediction of intrinsic pore properties of ultrafiltration membrane by solute rejection curves: Effect of operating conditions on pore properties". J. Chem. Eng. Japan 24 (1981) 1-7.

⁷ J. Benavente, M. Oleinikova, M. Muñoz and M. Valiente, "Characterization of novel activated composite membranes by impedance spectroscopy". J. Electroanal. Chem. 451 (1998) 173-180.

a)



b)



c)



d)



Figura 2.1. Mòduls de membrana emprats: a) cel·la UAB, b) mòdul espiral d'Arquímedes, c) mòdul UNL i d) mòdul de filtració frontal.

2.3.1 Cel·la UAB

El primer dels mòduls emprats s'anomena cel·la UAB, ja que fou dissenyada en els nostres laboratoris. Aquesta cel·la de membrana consta de dos recipients cúbics de 200 ml de capacitat, on s'afegeixen les solucions aquoses de càrrega i receptora; els dos recipients estan connectats entre si per d'una finestra circular de 3,8 cm de diàmetre, que és on es col·loca la membrana d'estudi.⁸ La cara activa de la membrana es col·loca en contacte amb la solució de càrrega; i la cara no activa, que correspon, generalment, al paper no teixit usat com a suport mecànic, es manté en contacte amb la

⁸ C. Palet, M. Muñoz, S. Daunert, L. Bachas, M. Valiente, "Vitamin B12 derivatives as anion carriers in transport through supported liquid membranes and correlation with their behavior in ion-selective electrodes". *Anal. Chem.*, 65 (1993) 1533-1536.

solució receptora. Ambdues solucions aquoses s'agiten contínuament durant tot l'experiment, amb l'ajuda de motors. La velocitat d'agitació es manté constant a 1200 rpm.⁹

2.3.2 Mòdul espiral d'Arquímedes

Aquest mòdul, dissenyat a Suècia, està format per dos blocs circulars de PTFE (politetrafluoroetilè) de 12 cm de diàmetre i 0,8 cm de gruix, en la cara interior dels quals s'ha foradat un canal en forma d'espiral (pla) d'Arquímedes, que té una profunditat de 0,25 mm, una amplada d'1,5 mm i una llargada de 2,5 m, ocupant un volum total de 0,95 ml. En contacte amb les cares exteriors dels blocs de PTFE s'hi col·loquen dos blocs d'alumini de 6 mm de gruix, per tal d'estabilitzar el mòdul.^{10,11} La membrana es col·loca entre les dues cares interiors dels blocs de PTFE. El mòdul es manté tancat amb l'ajuda de 6 cargols. Cada un dels quatre blocs que conformen el mòdul conté dos orificis (els orificis dels blocs d'alumini coincideixen amb els orificis dels blocs de PTFE), que corresponen als punts d'entrada i de sortida de les solucions aquoses de càrrega i receptora. Cada una d'aquestes dues solucions aquoses, de càrrega i receptora, es fa arribar a un costat de la membrana, impulsades per una bomba peristàltica a un cabal de 0,2 ml/min durant tot l'experiment. I també es fan recircular contínuament durant tot l'experiment. En tots els assajos les dues solucions flueixen a contracorrent.

En determinades ocasions, s'ha treballat amb aquest mòdul en mode discontinu, que consisteix a fer circular durant varies hores per ambdós costats de la membrana la solució de càrrega i, posteriorment, la solució receptora.

2.3.3 Mòdul UNL

El tercer dels mòduls utilitzats consta de dos blocs d'acer inoxidable amb dos canals rectangulars de 23 cm de llargada, 1,5 cm d'amplada, i 0,3 cm de profunditat, separats entre si per la membrana. Aquest mòdul permet treballar a cabals majors que l'anterior (entre 10-100 ml/min), que es fixen també amb l'ajuda d'una bomba peristàltica. El disseny del mòdul UNL té la particularitat que permet modelar el transport d'espècies a través de la membrana, ja que les mides del seu canal intern, que han estat calculades amb molta exactitud, permeten un gran control de les condicions hidrodinàmiques del procés. En aquest cas, tal i com passa amb el mòdul espiral, ambdues solucions aquoses (de càrrega i receptora) flueixen a contracorrent i es fan recircular durant tot el procés.

⁹ R. Garcia-Valls, M. Muñoz, M. Valiente, "Selective separation of lanthanides by supported liquid membranes containing Cyanex 925 as a carrier". *Anal. Chim. Acta*, 387 (1999) 77-84.

¹⁰ J.A. Calzado, C. Palet, J.A. Jonson, M. Valiente, "Metal affinity liquid membrane II. Facilitated transport of tryptophan". *Anal. Chim. Acta* 417 (2000) 159-167.

¹¹ P. Wiczorek, J.A. Jonsson, L. Mathiasson, "Concentration of amino acids using supported liquid membranes with di-2-ethylhexyl phosphoric acid as a carrier". *Anal. Chim. Acta* 346 (1997) 191-197.

2.3.4 Mòdul de filtració frontal

Aquest mòdul està constituït per dues grans peces d'acer inoxidable: un suport circular pla on es recolza la membrana, i un tub cilíndric que es col·loca sobre la membrana i on s'afegirà la solució de càrrega que es pretén filtrar. Aquesta solució es fa fluir a través de la membrana aplicant-li pressió amb N₂. La pressió, en tots els casos, s'ha mantingut a 3,5 bar.

2.3.5 Consideracions generals

Tots els experiments s'han portat a terme a temperatura ambient ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) i s'han fet, com a mínim, per duplicat. Per poder avaluar el comportament de les membranes, s'han tret periòdicament mostres de solució de càrrega i de solució receptora i, ocasionalment, de filtrat. Generalment, la solució de càrrega conté 0,1 g/l de propranolol (racèmic), i s'ajusta a pH 8 amb borat sòdic; la solució receptora, en canvi, s'ajusta a pH 7 amb fosfat sòdic. En la taula següent es recullen, de manera esquemàtica, els mòduls emprats per a cada tipus de membrana i els paràmetres investigats.

Taula 2.4. Mòduls emprats per a cada un dels tipus de membrana estudiats i paràmetres investigats.

Tipus de membrana	Mòdul emprat	Paràmetres investigats
Membranes Líquides Suportades, SLM	UAB Espiral	pH solució càrrega i receptora Concentració selector quirals Concentració propranolol Força iònica Presència d'altres analits Continuïtat o no del procés
Membranes Compòsit (Activades), ACM	Espiral Filtració frontal	Capa d'incorporació del selector quirals
Membranes polimèriques poroses/denses, CAM	UAB Espiral UNL	Concentració selector quirals Cabals solucions aquoses
Membranes polimèriques quirals, CPSM	UAB UNL	Concentració selector quirals

2.4 Tècniques analítiques de detecció

Per tal d'estudiar el comportament dels sistemes de membrana ens cal determinar, periòdicament, la concentració dels dos enantiòmers S i R-propranolol en ambdues solucions aquoses. S'han utilitzat dues tècniques analítiques de detecció: l'electroforesi capil·lar, CE, i la cromatografia líquida d'alta resolució, HPLC.

2.4.1 Electroforesi capil·lar

L'electroforesi és el moviment de les partícules i molècules carregades positivament o negativament, que són presents en un medi líquid conductor quan aquest es troba sota la influència d'un camp elèctric extern (migració). Si apliquem un camp elèctric extern a la solució d'interès introduint de dos elèctrodes de càrrega oposada, els ions de la solució es mouran cap a l'elèctrode de càrrega oposada a la seva, però l'eficiència de la separació es veurà greument limitada per la convecció i difusió tèrmica. L'electroforesi capil·lar permet eliminar aquests problemes, gràcies a les reduïdes dimensions de la columna de separació.¹² Aquesta tècnica permet la resolució de partícules positives, negatives i neutres, tot i que aquestes últimes no es poden separar entre elles. Un instrument de CE consta de diversos components: un capil·lar de sílice fosa (de 50-75 µm de diàmetre intern de i de 30 a 100 cm de llargada) recobert externament amb poliimida per aportar resistència i evitar que es trenqui durant la seva manipulació; els vials d'entrada, de sortida, i de mostra; una font d'alt voltatge (que, en general, pot treballar fins a 30kV constantment, o a una intensitat constant de fins a 300 µA, o també a una potència constant de fins a 6 W); un detector (que pot ser d'absorbància UV/vis, de fluorescència, de fluorescència induïda per làser, d'espectrometria de masses, conductimètric, amperimètric, radiomètric o d'índex de refracció, essent el primer tipus el més utilitzat); i, finalment, un integrador i un ordinador amb el programari adequat per al tractament de les dades. La figura 2.2 mostra un esquema d'un instrument de CE.

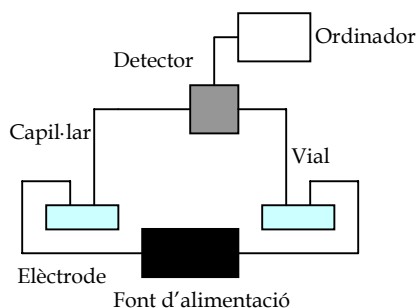


Figura 2.2. Esquema d'un aparell de CE.

Per dur a terme el procés d'electroforesi s'omple el vial d'entrada, el capil·lar i el vial de sortida amb una solució tampó. A continuació, l'extrem d'entrada del capil·lar s'introdueix dins el vial de mostra i uns pocs nanolitres d'aquesta són introduïts dins el capil·lar. Existeixen dos mètodes d'injecció. La injecció hidrodinàmica, la més emprada, pot dur-se a terme bé per pressió (tant aplicant pressió al vial de mostra com fent el buit al vial de sortida), o bé per gravetat (mantenint el

¹² D.R. Baker, *Capillary Electrophoresis*, John Wiley and Sons, Inc., New York (USA), 1995.

vial de mostra alçat respecte els altres vials). En segon lloc, trobem la injecció electrocinètica, en la qual s'aplica un camp elèctric al vial de mostra, cosa que provoca la migració dels components cap a l'interior del capil·lar. Posteriorment, el mateix extrem del capil·lar torna o col·locar-se en el vial d'entrada del sistema i, seguidament, s'aplica un camp elèctric entre els vials d'entrada i de sortida. A mesura que els soluts migren per l'interior del capil·lar, van arribant a la finestra del detector. El senyal corresponent s'envia a l'integrador, que el tractarà i el mostrarà en forma d'electroferograma. Com que els diferents soluts presents en la mostra migraran a diferents velocitats, arribaran al detector en distints temps i, per tant, apareixeran a l'electroferograma separats, amb temps de migració distints. La migració de cada un dels analits per l'interior del capil·lar depèn de la suma de dos factors: la velocitat electroforètica del solut i el flux electroosmòtic. La velocitat electroforètica del solut depèn del quocient entre la seva càrrega i el seu radi iònic (mobilitat electroforètica del solut), del voltatge aplicat, de la viscositat del medi i de la llargada del capil·lar. El flux electroosmòtic es deu a la naturalesa de la superfície interna del capil·lar.

La superfície interna del capil·lar conté grups silanoides que poden ionitzar-se gradualment a pH majors de 2,5-3, i proporcionen així una càrrega efectiva negativa a la seva paret que atraurà els cations de la solució tampó. Això donarà lloc a la formació d'una primera capa de cations adjacent a la paret del capil·lar. Com que aquesta primera capa no resulta suficientment densa per a la neutralització de les càrregues negatives, es forma una segona capa de cations adjacent a la primera que, com que està relativament lluny de la paret del capil·lar, serà mòbil i es desplaçarà en direcció al càtode en aplicar-se-li un camp elèctric. El flux electroosmòtic depèn del potencial z generat a la paret del capil·lar per la descompensació elèctrica, i de la constant dielèctrica i la viscositat del tampó.

L'electroforesi capil·lar en zona es distingeix dels altres modes de CE pel fet que el capil·lar s'omple d'una solució tampó de composició constant i, conseqüentment, els diferents soluts es mouen per l'interior del capil·lar formant zones. Els soluts surten en l'ordre d'elució següent: cations petits, cations grans, molècules neutres, anions grans i anions petits. Ocasionalment, la direcció del flux electroosmòtic es pot invertir o, fins i tot, pot eliminar-se.

2.4.2 Determinació d'S i R-propranolol amb CE

La determinació dels dos enantiòmers de propranolol s'ha dut a terme amb l'aparell P/ACE SISTEM MDQ usant capil·lars de sílice fosa no recoberta internament de 60 cm de llargada (50 cm de llargada fins al detector). Abans de qualsevol anàlisi, el capil·lar es renta amb 0,1 M de NaOH, aigua MilliQ i, finalment, solució tampó. En aquest cas, la solució tampó que permet la separació dels dos enantiòmers del fàrmac propranolol és una solució 100 mM d'àcid fosfòric, que conté 17,4

mM de hidroxipropil- β -ciclodextrina, ajustada a pH 4,4 amb trietanolamina.^{13,14} S'hi aplica un voltatge de 23kV i s'utilitza el detector UV a 210nm. Les mostres són introduïdes al capil·lar mitjançant el mode hidrodinàmic durant 5s a 0,3 psi. El capil·lar es manté a 20°C durant tota l'anàlisi. El capil·lar es renta amb aigua MilliQ entre determinacions consecutives. En finalitzar cada seqüència d'anàlisi, el capil·lar es renta amb NaOH 0,1 M, aigua MilliQ i MeOH, que s'utilitza per eliminar les possibles restes de solucions de compostos orgànics i d'aigua.

2.4.3 Cromatografia líquida d'alta resolució

La cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC) és una tècnica de separació que es basa en la velocitat de desplaçament diferenciada dels diversos components d'una mostra quan són arrossegats per una fase mòbil líquida a través d'un llit cromatogràfic que conté la fase estacionària (que pot ser líquida o sòlida). La diferent velocitat que adopten els components és causada per les propietats físicoquímiques d'aquests (solubilitat, adsorció, volatilitat, mida, càrrega i reactivitat química o bioquímica, entre d'altres).¹⁵ Per evitar inconvenients des del punt de vista pràctic, el pas de la fase mòbil a través de la fase estacionària té lloc a pressió elevada. Un cromatògraf líquid consta de diverses parts: un o més dipòsits de dissolvents; una bomba d'alta pressió (que permet pressions de 500 a 5000 psi i cabals des de 0,5-10 ml/min fins a 50-100ml/min, segons si l'aplicació és analítica o preparativa); un sistema d'injecció; una columna (que és la part essencial del cromatògraf, ja que hi tindrà lloc la separació o discriminació dels diferents analits); un detector (essent els més emprats: els d'absorció UV-vis, els de fluorescència, els electroquímics, els d'índex de refracció i els conductimètrics); i, finalment, un registrator o ordinador (figura 2.3).

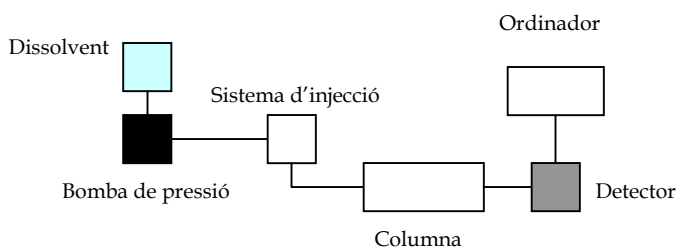


Figura 2.3. Esquema d'un aparell de HPLC.

¹³ C. Pak, P.J. Marriot, P.D. Carpenter, R.G. Amiet, "Enantiomeric separation of propranolol and selected metabolites by using capillary electrophoresis with hydroxypropyl- β -cyclodextrin as chiral selector". *J. Chromatogr. A*, 793 (1998) 357-364.

¹⁴ M. Fillet, I. Bechet, P. Chiap, Ph. Hubert, J. Crommen, "Enantiomeric purity determination of propranolol by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*, 717 (1995) 203-209.

¹⁵ M. Valcárcel Cases, A. Gómez-Hens, *Técnicas Analíticas de Separación*, Reverté, Barcelona (Espanya), 1988.

La fase mòbil pot ser de naturalesa no polar o polar, segons si la fase estacionària emprada és polar o no polar, respectivament; i, addicionalment, es pot variar la composició d'aquesta al llarg del procés cromatogràfic (mitjançant gradient de composició).

2.4.4 Determinació d'S i R propranolol amb HPLC

La determinació dels dos enantiòmers de propranolol mitjançant HPLC s'ha dut a terme amb un aparell HITACHI, emprant la columna Chiralcel OD-R i usant, com a fase mòbil, solució aquosa 0,1 M de hexafluorofosfat de potassi/acetnitril al 60:40. S'usa el detector d'UV, però aquest cop a 254 nm.¹⁶

2.5 Tractament de dades

A partir de les concentracions dels enantiòmers de propranolol determinades amb qualsevol de les dues tècniques anteriors, s'ha pogut avaluar tant la velocitat de transport (flux) com la selectivitat dels diferents sistemes i processos. Per assolir aquesta fita, hem utilitzat les equacions (1-1), (1-7), (1-9), i (1-10), descrites en el capítol anterior. En determinades ocasions, treballant amb el mòdul espiral d'Arquímedes, la quantificació del transport s'ha expressat en termes d'eficiència d'extracció, E, que es calcula:

$$E = [(C_{s,t,i}V_{s,t,i}) / (C_{f,0,i}V_{f,0,i})] \quad (2-7)$$

$C_{s,t,i}$ i $V_{s,t,i}$ corresponen, respectivament, a la concentració i al volum de mostra extret de la fase receptora (*stripping*) de l'analit i en el temps t. De la mateixa manera, $C_{f,0,i}$ i $V_{f,0,i}$ són la concentració, i el volum total de fase de càrrega (*feed*) de l'analit i en el temps inicial (temps = 0).

En els casos concrets en què ha interessat de modelar el transport dels enantiòmers s'han utilitzat dos programes distints. Emprant el mòdul UNL, amb vàries membranes polimèriques, s'ha emprat el programa *Scientist*[®] per calcular els coeficients de transferència de massa.¹⁷ El programa esmentat determina aquests valors mitjançant la resolució de sistemes d'equacions diferencials. Per altra banda, en investigar les membranes polimèriques poroses amb la cel·la UAB i el mòdul espiral d'Arquímedes, s'ha utilitzat el programa *Umetrics AB Modde 5.0*, amb un disseny experimental quadràtic *Full Fac* de 3 nivells, per obtenir superfícies de resposta.^{18,19} Aquest programa

¹⁶ Y. Abe, T. Shoji, M. Kobayashi, W. Qing, N. Asai and H. Nishizawa, "Enantioselective distribution of amino-alcohols in a liquid-liquid two-phase system containing dialkyl l-tartrate and boric acid". Chem. Pharm. Bull. 43 (1995) 262-265.

¹⁷ R.M.C. Viegas, M. Rodríguez, S. Luque, J.R. Alvarez, I.M. Coelho, J.P.S.G. Crespo, "Mass transfer correlations extraction: Anàlisi de Wilson-plot methodology". J. Membr. Sci. 145 (1998) 129-142.

¹⁸ M. Andersson, P. Adlercreutz, "Evaluation of simple enzyme kinetics by response surface modelling." Biothecnology Techniques, 13 (1999) 903-907.

proporciona el disseny experimental que cal aplicar per dur a terme l'estudi d'interès, i permet el tractament estadístic i matemàtic dels resultats obtinguts.

¹⁹ S.L.R. Ellison, D.G. Holcombe, M. Burns, "Response surface modelling and kinetic studies for the experimental estimation of measurement uncertainty in derivatisation". *Analyst*, 126 (2001) 199-210.

CAPÍTOL 3. DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

3. DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

Aquest capítol conté la discussió dels resultats obtinguts dels diferents estudis realitzats al llarg de la tesi.

3.1 Separació enantiomèrica de propranolol mitjançant membranes líquides suportades, SLM, amb HHP com a selector quiral (annex A)

Les membranes líquides suportades amb N-hexadecil-L-hidroxirolina, HHP, van ser escollides com a sistema de partença, ja que es tractava d'un sistema de separació lleugerament conegut¹ i, per tant, permetia la caracterització detallada del seu funcionament. Per aquesta raó es va estudiar la influència de diversos paràmetres sobre el sistema d'enantioseparació d'estudi.

En primer lloc, es va dur a terme la selecció del dissolvent de la fase de membrana, així com del mòdul de membrana. Primerament, es va emprar la cel·la UAB per investigar la influència del pH de la solució receptora, mantenint la solució de càrrega a pH 8, i usant nopol com a dissolvent de la fase de membrana. Els resultats obtinguts es mostren a la figura 3.1.

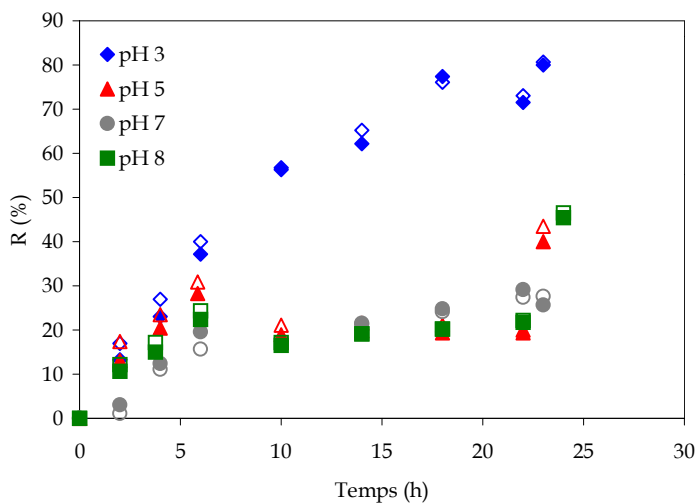


Figura 3.1. Influència del pH de la solució receptora en el transport dels enantiòmers S (símbols plens) i R (símbols buits) de propranolol.

¹ C.M. Heard, J. Hadgraft, K.R. Brain, "Differential facilitated transfer across a solid-supported liquid membrane". *Bioseparation* 4 (1994) 111-116.

Pot observar-s'hi que la quantitat de propranolol transportat a través de les membranes augmenta a mesura que disminueix el pH de la fase receptora. Quan el pH de la fase receptora s'ajusta a 3, la recuperació de propranolol (al cap de 24h) és del 80%. Tenint en compte que el transport facilitat de propranolol usant HHP com a selector quirals té lloc acoblat a un contratransport de protons, cal esperar que, en augmentar la concentració de protons en la solució receptora (augmenta la força impulsora del procés) augmentarà la velocitat del transport de propranolol. Malauradament, en cap dels casos no es va observar enantioselectivitat. Això es degut a l'elevada participació del transport no facilitat del propranolol a través de la membrana, i a la participació relativament minsa del transport facilitat selectiu. Per una banda, la difusió d'espècies a través d'un líquid és relativament senzilla i, a més, en aquest cas, s'havia observat prèviament que emprant les SLM sense selector quirals (membrana blanca), el transport del propranolol per difusió era notable. Per altra banda, la quantitat relativa de transportador selectiu incorporat a la SLM és molt petita (el quocient entre mols de selector C i mols d'analit A és de 0,005). Amb la finalitat d'augmentar notablement la relació C/A sense variar les condicions químiques del sistema (concentració de les solucions aquoses i orgànica), va utilitzar-se el mòdul espiral d'Arquímedes, cosa que va donar lloc a $C/A = 0,4$. Això és possible degut al fet que aquest mòdul permet usar volums molt inferiors de solució de càrrega (A menor), i membranes amb àrea de treball força superior (C major).

D'altra banda, com a dissolvents de la fase de membrana, es van investigar el nopol i l'isopropil miristat, IPM. Es va observar que l'IPM permet una millor impregnació dels suports porosos, en comparació amb el nopol. Així doncs, per dur a terme aquest estudi i tots els posteriors, es va utilitzar IPM com a dissolvent de la fase membrana. La figura 3.2 mostra la comparació entre ambdues relacions de C/A i, per tant, entre ambdós mòduls.

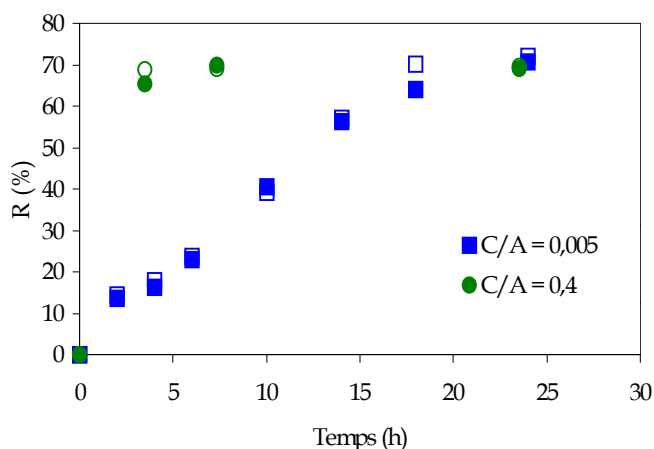


Figura 3.2. Influència de la relació C/A en el transport dels enantiòmers S (símbols plens) i R (símbols buits) de propranolol. La relació C/A de 0,005 correspon a la cel·la UAB; i la de 0,4, al mòdul espiral.

Es pot veure que l'augment de la relació C/A dóna lloc a un increment clar de la velocitat de transport. Sota les condicions estudiades en aquest cas, tampoc no es va detectar transport enantioselectiu. Tot i això, per realitzar l'estudi detallat del sistema SLM (per a la separació enantiomèrica del propranolol amb el selector quirals HHP), es va optar pel mòdul espiral d'Arquímedes, ja que posseeix més versatilitat (annex A).

El primer paràmetre investigat fou, altre cop, el pH de la solució receptora. En aquest cas, no s'hi observà cap increment de la quantitat del transport en disminuir el pH. De fet, no és possible observar-ho, ja que la velocitat de transport, quan el pH de la solució receptora és 7 (pH més alt investigat), ja és màxima. Aquest fet, que diferencia clarament el mòdul espiral d'Arquímedes de la cel·la UAB, és degut a una menor relació entre volum de solució de càrrega i àrea de membrana, en el mòdul espiral d'Arquímedes, que fa que l'equilibri entre fases, en aquest mòdul, sigui molt més eficient.

En segon lloc, s'estudià la influència del pH de la solució de càrrega en el transport de propranolol a través de la membrana. Aquest paràmetre va resultar ser clau per al funcionament i la comprensió del sistema. El pH de la solució de càrrega determina la participació dels dos tipus de transports que intervenen en aquest sistema: (1) el transport facilitat de propranolol, mitjançant la formació d'un parell iònic amb el transportador selectiu HHP; i (2) la difusió de propranolol. La figura 3.3 mostra un esquema dels diversos mecanismes de transport que prenen part en aquest sistema.

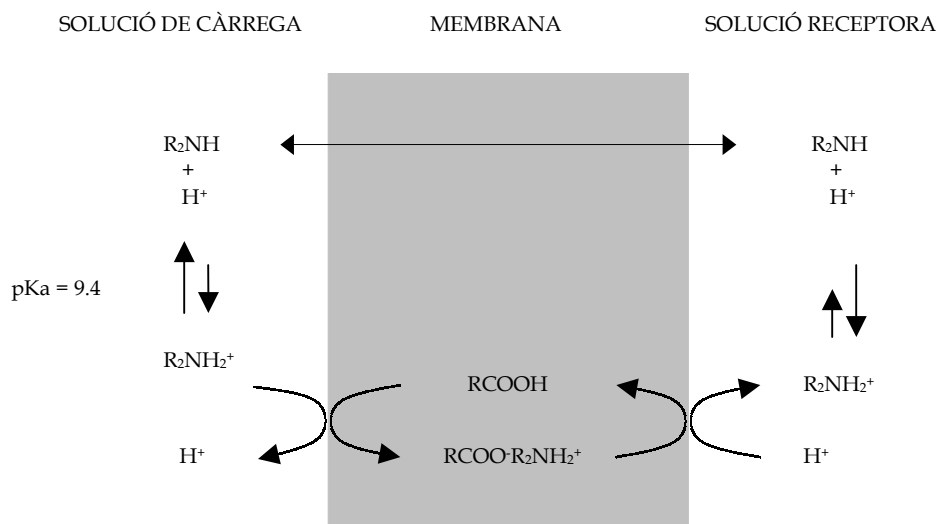


Figura 3.3. Esquema dels mecanismes que intervien en el sistema de membrana d'estudi. El propranolol i el transportador HHP es representen com a R_2NH i $RCOOH$, respectivament.

L'abast de la contribució d'un o altre mecanisme de transport té a veure amb els pK_a de les espècies químiques del sistema d'estudi. L'amina secundària del propranolol té un pK_a de 9,4, aproximadament, i el grup carboxílic de l'HHP té un pK_a de 9,5.^{2,3} Per tal que propranolol i HHP puguin interaccionar entre ells i que, per tant, es doni el pas de propranolol per transport facilitat i es redueixi al mínim la contribució del transport no facilitat, cal que es donin dues condicions: a) que el propranolol es trobi totalment protonat (carregat positivament), per evitar la difusió, ja que una espècie carregada no es pot dissoldre i difondre en una solució orgànica. I, b) que el selector HHP es trobi proper al seu pK_a ; així estarà parcialment protonat i podrà bescanviar protons per molècules de propranolol amb celeritat. Degut a la proximitat de pK_a de les dues espècies, no es poden complir ambdues situacions completament i simultàniament, però sí que es pot arribar a un valor de pH de compromís (pH 8), en el qual conviuen els dos mecanismes de transport de manera força acceptable, cosa que permet assolir certa enantioselectivitat (com es comentarà més endavant). A pH inferiors de 8 no s'observa transport facilitat de propranolol (veure *figure 5* annex A), perquè el selector HHP es troba protonat gairebé en la seva totalitat, i no mostra capacitat de bescanvi de protons per molècules de propranolol. En aquest cas, tampoc no trobem transport de propranolol per difusió, ja que les molècules de propranolol es troben majoritàriament protonades i

² A.E. Martell (Ed.), *Stability constants of metal-ion complexes. Section II: Organic Ligands*, 2nd edition, The Chemical Society, London (UK), 1964.

³ J.A. Dean (Ed.), *Lange's Handbook of Chemistry*, revised 10th edition, McGraw-Hill (USA), 1973.

no poden travessar la membrana lliurement. A pH superiors a 8, sí que trobem transport de propranolol (veure *figure 6* annex A), però és bàsicament per difusió i, per tant, no selectiu.

La influència de la concentració de propranolol en la solució de càrrega fou el tercer dels paràmetres avaluats. Les dues concentracions avaluades inicialment van ser 0,05 i 0,1 g/L. Com que ambdues concentracions són molt diluïdes i relativament similars, els resultats obtinguts en tots dos casos no difereixen significativament. Així doncs, per dur a terme la resta d'investigacions, es va optar per usar la concentració més elevada, cosa que va permetre deteccions analítiques més precises.

També es va avaluar l'efecte de la presència d'altres espècies iòniques (NaCl i KCl) en les solucions aquoses en el transport de propranolol. Addicionant aquestes espècies, no es va observar cap diferència rellevant en el transport, excepte en el cas concret d'afegir una quantitat tal de NaCl en la solució de càrrega, que la força iònica entre ambdós costats de la membrana (solució de càrrega i solució receptora) quedés igualada. En aquest cas, es detecta una lleugera millora de l'enantioselectivitat del procés. Molt probablement, aquest lleuger augment de la selectivitat es deu a la disminució de la resistència pròpia de l'analit quan es desplaça d'una solució aquosa més diluïda a una de més concentrada (aquesta resistència apareix si no s'igualava la força iònica entre ambdues solucions).

La concentració de transportador en la membrana va resultar ser el segon paràmetre clau del sistema. Es van examinar tres concentracions d'HHP distintes, que s'expressen com a C/A i són: 1,4, 2 i 3. En aquest cas, es van investigar tres relacions C/A majors que les anteriors, per tal d'aconseguir transport enantioselectiu. Els resultats obtinguts es mostren en la figura 3.4.

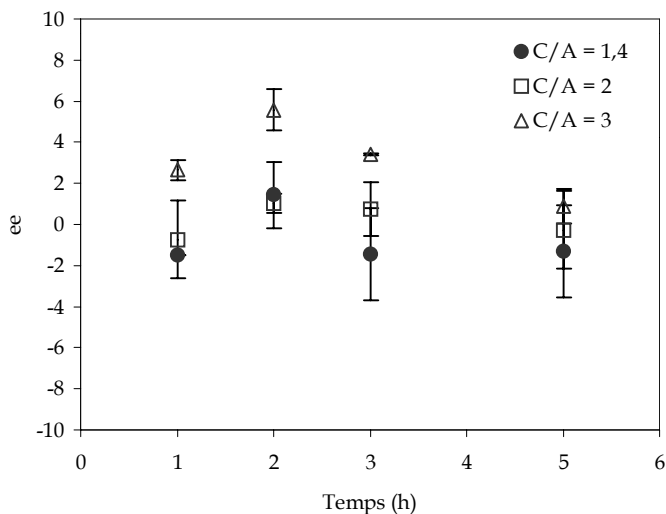


Figura 3.4. Influència de la concentració d'HHP en la membrana, en l'excés enantiomèric.

Com es pot observar, l'enantioselectivitat del procés millora amb l'augment de la relació C/A; és a dir, amb l'augment de la concentració d'HHP a la membrana. Aquest fenomen és molt freqüent en els sistemes de transport facilitat. Es va obtenir un valor màxim de 5,6 % d'excés enantiomèric (amb C/A = 3 i a les 2h). Per altra banda, s'observa també una disminució de l'enantioselectivitat amb el temps, causada per l'increment de la participació del transport no facilitat del propranolol racèmic, que tendeix a igualar les concentracions d'un i altre enantiòmer entre ambdós costats de la membrana, per difusió. L'enantiòmer transportat més ràpidament a través de les SLM fou l'R-propranolol, cosa que faria pensar que és l'enantiòmer més afí al selector quiral, tenint en compte les bases teòriques del transport facilitat. Tanmateix, el fet que en absència de transportador també hi hagi transport de propranolol (encara que no selectiu), proporciona, d'entrada, dubtes importants sobre aquest fet.

L'estudi de diferents maneres de treballar amb el mòdul espiral d'Arquímedes, en continu i en discontinu, va permetre confirmar els avantatges dels sistemes de membranes, que són sistemes d'extracció continus i dinàmics, respecte altres mètodes d'extracció discontinus tradicionals com ara l'extracció líquid-líquid. Treballant en mode continu s'obtenen transports més eficients (velocitats de transport majors). Pel que fa a l'enantioselectivitat, no s'observen diferències entre les dues maneres de treballar.

Per últim, es va investigar també l'estabilitat de les SLM. Les membranes emprades en aquest estudi van mostrar una elevada estabilitat en termes d'eficiència del transport. Aquesta estabilitat

és afavorida, molt probablement, per les condicions de treball del mòdul utilitzat (tancat i amb un cabal de recirculació molt baix) i per la naturalesa intrínseca del solvent IPM de fase de membrana. Un cop fou caracteritzat el sistema químic d'estudi i establerts els mecanismes de transport que hi intervenen i els factors que els condicionen, es va procedir a variar el tipus de membranes, amb l'objectiu de millorar l'eficiència, l'estabilitat, i l'enantioselectivitat del procés de separació. Per aquest motiu, es van estudiar distints tipus de membranes sòlides.

3.2 Caracterització de membranes compòsit activades, ACM, per a la separació enantiomèrica de propranolol (annexos B i C)

Les primeres membranes sòlides preparades i caracteritzades foren les membranes compòsit activades. Aquest tipus de membranes sòlides es van desenvolupar fa pocs anys en el grup de recerca,⁴ i han estat aplicades amb altres finalitats amb èxit.^{5,6} Tot i això, els primers resultats obtinguts amb aquests tipus de membranes per a la separació enantiomèrica de propranolol, emprant tant la cel·la UAB com el mòdul espiral d'Arquímedes, foren poc engrescadors, ja que en contra del que s'esperava, no es va detectar transport de propranolol a través de les ACM. Aquest fet s'associa a dues possibles causes: a) la incorporació del transportador en la membrana no havia estat apropiada; i/o b) la membrana oferia una resistència al transport de propranolol massa elevada (degut a la capa densa superficial de poliamida, PA). Per tal de verificar aquestes hipòtesis, es va dur a terme la caracterització física i química de 4 ACM diferents: ACM sense transportador, ACM amb l'àcid dietilhexilfosfòric en la capa de PA,⁵ ACM amb nopol en la capa de PA, i ACM amb HHP dissolt en IPM en la capa de PA. Per dur a terme l'esmentada caracterització es van emprar les tècniques de rebuig de soluts (neutres i carregats), mesura d'angle de contacte, microscòpia de força atòmica, AFM, i ressonància electrònica d'espí, ESR (annex B).

Els principals resultats obtinguts de cada una d'aquestes tècniques es recullen a la taula 3.1.

⁴ M. Oleinikova, R. Garcia-Valls, M. Valiente, M. Muñoz, Procedimiento para la obtención de membranas compuestas para el transporte de especies químicas, Patent 200000536.

⁵ T. Gumí, M. Oleinikova, C. Palet, M. Valiente, M. Muñoz, "Facilitated transport of lead(II) and cadmium(II) through novel activated composite membranes containing di-(2-ethyl-hexyl)phosphoric acid as carrier". *Analytica Chimica Acta*, 408 (2000) 65-74.

⁶ J.A. Calzado, C. Palet, M. Valiente, "Facilitated transport and separation of aromatic amino acids through activated composite membranes". *Analytica Chimica Acta*, 431 (2001) 59-67.

Taula 3.1. Característiques principals de les membranes ACM determinades per rebuig de soluts, mesura d'angle de contacte, AFM i ESR.

	Tipus de ACM	ACM sense transportador	ACM amb DEHPA	ACM amb nopol	ACM amb HHP
Rebuig de soluts	Mida mitjana de porus (nm)	10,75 (2,48)	8,10 (2,55)	5,69 (2,60)	3,75 (2,57)
	Porositat superficial (%)	0,15	0,03	0,08	0,08
Angle de contacte	Histèresi (°)	51 ± 5	13 ± 6	38 ± 3	43 ± 10
AFM	R _a (nm)	14 ± 3	8 ± 4	6 ± 2	7 ± 2
	Mida mitjana de porus (nm)	20,11 (1,16)	17,70 (1,23)	20,62 (1,21)	14,13 (1,21)
	Porositat superficial (%)	7,12	2,9	2,83	4,81
ESR	b/a	1,5	1,1	---	1,3

Els experiments de rebuig de soluts neutres ens aporten informacions fonamentals. En primer lloc, es determina que les ACM són aptes per a treballar sota pressions baixes (3,5 bar) i que, en aquestes condicions, es dona el pas de soluts a través seu. En segon lloc, es detecta l'existència de porus en la cara activa de la membrana (capa densa superficial de PA), de mida equivalent als porus superficials de les membranes poroses de polisulfona, PS. Malgrat això, la porositat superficial determinada és dos ordres de magnitud més petita que la porositat superficial de les membranes de PS. Per tant, els porus detectats en la superfície activa de les ACM són, de fet, zones defectuoses de la capa de PA, on la polimerització de la PA no fou completa. I, per últim, es constata que els valors observats de mida mitjana de porus i porositat superficial, entre d'altres, són superiors en el cas de la membrana compost sense transportador, respecte les distintes ACM on s'havia incorporat un transportador selectiu (taula 3.1). Apareix, doncs, una primera evidència de la incorporació de transportadors en les membranes. Per altra banda, els experiments de rebuig de soluts carregats (ions), permeten assegurar que la presència de la càrrega elèctrica intrínseca de la membrana no afecta de manera considerable la separació dels ions per part de la mateixa.

Les mesures de l'angle de contacte corroboren la naturalesa hidrofílica de la capa de PA, ja que tots els angles de contacte determinats (tant d'avançament com de retrocés) són menors de 90°. Els valors d'un o altre tipus d'angle de contacte, separatament, són relativament similars per les diferents membranes estudiades; però, en canvi, els valors resultants del càlcul de la histèresi (diferència entre l'angle de contacte d'avançament i el de retrocés) són força distanciats per les distintes membranes i segueixen un ordre concret: ACM sense transportador > ACM amb HHP > ACM amb nopol > ACM amb DEHPA (taula 3.1). Aquest ordre és el mateix, i no per casualitat, que el que es determina per a la porositat superficial amb la tècnica de rebuig de soluts. La histèresi de l'angle de contacte està relacionada amb la resistència que ofereixen les forces capil·lars dels porus de les membranes al moviment de la gota d'aigua dipositada en la superfície de la membrana. Així

doncs, més porositat superficial (més porus) implica més forces capil·lars i, per tant, una major histèresi de l'angle de contacte.

La tècnica AFM contribueix també al coneixement de les ACM. Els valors de rugositat superficial que es van determinar, recollits a la taula 3.1, són valors comuns de membranes compòsit amb una capa densa superficial de poliamida aromàtica. El valor més elevat de rugositat s'observa en el cas de la membrana sense transportador. L'addició de transportadors pot donar lloc a l'emplenat de les valls i dels porus superficials de la membrana, així se'n redueix la rugositat. Pel que fa als valors de mida mitjana de porus, es pot veure que els valors obtinguts amb la tècnica AFM són clarament superiors als obtinguts amb els experiments de rebuig de soluts. Això és degut al fet que la mida mitjana de porus obtinguda amb rebuig de soluts correspon al diàmetre més petit de tot el porus, mentre que la mida de porus determinada de la inspecció de les imatges d'AFM, correspon al diàmetre de la part superficial del porus, de més obertura.

Finalment, la tècnica ESR ens confirma l'existència de porus en les membranes, degut a l'observació de dos senyals diferents d'ESR del TEMPO segons si aquest es troba immers en els porus o en la matriu polimèrica de la membrana. Per determinar la contribució relativa de cada tipus de senyal, es va calcular el quocient b/a . Altre cop, la membrana sense transportador mostra un valor més allunyat de la resta.

Així doncs, un cop confirmada la incorporació correcta dels transportadors a l'interior de les membranes ACM, es van preparar i caracteritzar tres membranes ACM distintes: sense transportador, amb el transportador HHP en IPM en la capa de PA i, finalment, amb el transportador HHP en IPM en la capa de PS. Aquestes membranes es van caracteritzar, prèviament, amb l'ajuda del microscopi electrònic d'escombrat, SEM, i es van aplicar per a la filtració sota pressió de propranolol (annex C).

La tècnica SEM ha permès obtenir imatges de talls transversals de les tres membranes, dues de les quals (la membrana sense transportador i la membrana amb transportador a la capa de PA) mostren una morfologia interna molt similar. La tercera membrana (amb transportador a la capa de PS) presenta una morfologia distinta, més simètrica i sense *macrovoids*. La figura 3.5 mostra les tres imatges obtingudes.

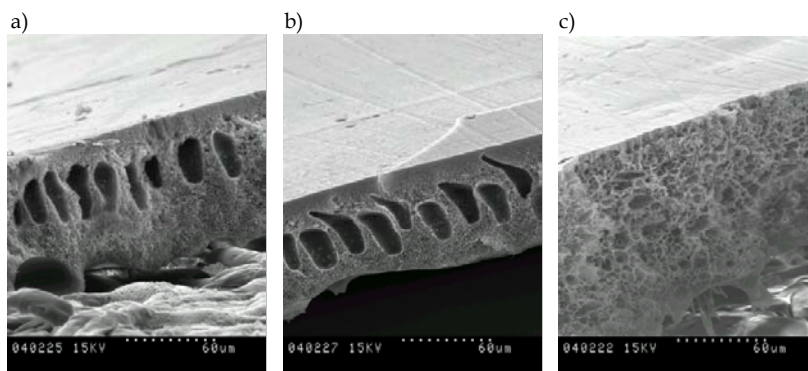


Figura 3.5 Imatges de tall transversals de les membranes obtingudes amb SEM: a) membrana sense transportador, b) membrana amb el transportador HHP en IPM en la capa de PA, i c) membrana amb el transportador HHP en IPM en la capa de PS.

Aquests resultats no són gens sorprenents, tenint en compte que, exceptuada una petita part superficial que correspon a la capa de PA, gairebé tot el tall que s'observa en les imatges correspon a la capa de PS. Aquesta capa de PS es va preparar de la mateixa manera per a les dues primeres membranes i de manera distinta per a la tercera membrana. En el cas de la tercera membrana, l'addició del transportador HHP en IPM té lloc en la dissolució de la PS en el solvent DMF, variant les propietats d'aquesta i, per tant, la seva interacció amb el bany de coagulació d'aigua, com a no solvent. En aquest cas, la morfologia interna de membrana més simètrica i més densa (sense *macrovoids*) és deguda, segurament, a una precipitació més lenta de la PS.

Les imatges SEM van ser tractades amb el programa IFME©, per tal d'establir valors de simetria i regularitat interna de les membranes. Els valors que s'obtenen amb el programa esmentat són del tot arbitraris i serveixen tan sols per a comparar les membranes. El programa estableix que la simetria i la regularitat de les membranes corresponen a la variació de la morfologia interna que s'aprecia en les fotos de les membranes, al llarg de l'eix de les y i de les x, respectivament. Tal com ja s'havia observat amb la inspecció visual de les imatges SEM, la tercera membrana és la que presenta major simetria i major regularitat (veure *table 2* annex C).

Un cop preparades i caracteritzades, es va escollir un mòdul de membrana distint, el mòdul de filtració frontal, que permet aplicar les ACM per a la filtració sota pressió de propranolol. Aquest mòdul ofereix garanties de separació, tenint en compte els resultats prèviament obtinguts amb la tècnica de rebuig de soluts.

Dels experiments de filtració realitzats, se'n va analitzar, en primer terme, la velocitat de filtrat (flux) i s'ha observat que en tots els casos el flux inicial disminueix fins arribar a un flux de permeat gairebé constant. Els valors de flux en règim estacionari, sota una pressió de treball de 3,5 bar

(pressió d'ultrafiltració), compresos entre 0,8 i 13,5 Lm⁻²h⁻¹, són molt menors que els fluxos obtinguts generalment en processos típics d'ultrafiltració a 3,5 bar (170 - 1700 Lm⁻²h⁻¹). La davallada inicial del flux és pròpia dels sistemes de filtració i és deguda a la polarització de la concentració. Fent referència als valors del flux en règim estacionari, aquests es corresponen amb els esperats, ja que les membranes compòsit activades són equivalents a les membranes d'osmosi inversa, molt més denses que les d'ultrafiltració. Treballant sota pressions més elevades, s'obtidrien fluxos majors, però s'eliminaria totalment la possibilitat d'obtenir pas enantioselectiu. La comparació entre els fluxos assolits anteriorment amb els experiments de rebuig de soluts (compresos entre 7,6 i 83,3 Lm⁻²h⁻¹), i els d'aquest cas (força més baixos i més similars entre ells), permet afirmar que aquí la polimerització de la capa de PA ha estat completa i que la presència de transportador en la membrana contribueix al transport facilitat de propranolol.

En segon terme, es va analitzar la composició de la solució de filtrat, i aquest cop es detectà pas de propranolol a través de totes les membranes, fet que no és possible treballant sense pressió aplicada.

A continuació, es va avaluar la selectivitat d'aquest transport. Malauradament, en aquest cas no es detectà transport enantioselectiu. El motiu principal de l'absència de transport selectiu en aquest sistema de membranes és, sens dubte, la força impulsora del procés (diferència de pressió entre ambdós costats de la membrana). Aquesta força impulsora esdevé necessària per aconseguir pas de propranolol a través de les ACM, però alhora resulta massa elevada perquè es produeixi la separació dels enantiòmers. És a dir; s'obtenen fluxos de propranolol relativament elevats, i això comporta selectivitats baixes o nul·les.

Així doncs, el pas següent va consistir a desenvolupar un sistema de membrana tal que permetés obtenir fluxos de propranolol força més baixos. Es va escollir un sistema de separació impulsat per diferència de concentració (entre un i altre costat de la membrana). Ara bé, per tal que aquesta força impulsora resultés suficient per assegurar transport de propranolol a través de les membranes, calien membranes que oferissin una resistència menor al pas de substàncies que la que presenten les ACM. Per tant, es va procedir a la preparació i caracterització de membranes polimèriques de diversos tipus, totes elles d'una sola capa (tant porosa com densa).

3.3 Desenvolupament i caracterització de membranes polimèriques, CAM, per a la separació enantiomèrica del fàrmac propranolol (annexos D i E)

Les primeres membranes polimèriques que es van preparar consistien en una capa de polisulfona porosa, en la qual s'havia incorporat el transportador HHP dissolt en IPM. Aquest estudi es va dur a terme mitjançant un disseny d'experiments adaptat en el que es variaren simultàniament dos paràmetres fonamentals del sistema de separació -la concentració de transportador en la membrana

(0 - 0,6 - 1,2 %) i el pH de la fase receptora (3 - 5 - 7)-, i emprant dos mòduls de membrana (cel·la UAB i mòdul espiral d'Arquímedes). Les superfícies de resposta obtingudes (en funció d'ambdós paràmetres), tant pel percentatge de reextracció, R, com pels valors del factor de separació, α , permeten aprofundir en el coneixement del sistema de separació d'interès, i avaluar l'aplicació de les membranes CAM (annex D).

En la figura 3.6 es pot veure la superfície de resposta corresponent a R a les 48h amb la cel·la UAB.

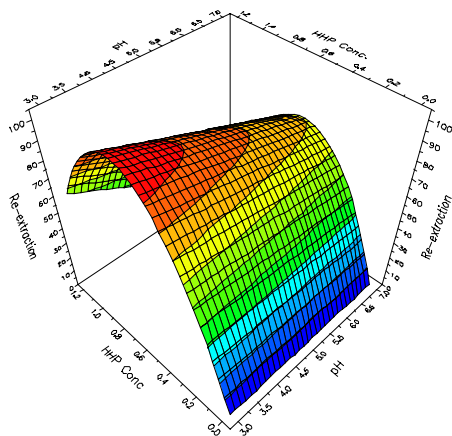


Figura 3.6. Superfície de resposta de R a les 48h, obtinguda amb la cel·la UAB.

Les superfícies de resposta de R obtingudes, a 24 i 48 h, amb la cel·la UAB, mostren un bon ajust dels valors experimentals al model. Ambdues superfícies de resposta tenen el mateix perfil, i constaten que, en les condicions estudiades, sols es dona transport de propranolol en presència de transportador en la membrana. Això implica que la incorporació dels transportadors a la membrana facilita l'entrada del fàrmac i el pas d'aquest a través d'ella. També es pot observar que, amb una quantitat fixa de transportador incorporat, R creix lleugerament a mesura que disminueix el pH de la solució receptora. Aquest comportament és propi de sistemes de separació basats en mecanismes de transport facilitat acoblat a un contratransport de protons. Amb concentracions altes de transportador en la membrana (1,2%), aquest increment d'R és més pronunciat. Per últim, es pot veure que quan la quantitat incorporada d'HHP és de 0,6 % s'obtenen els valors absoluts màxims d'R. Aquest fet es relaciona amb la morfologia de les membranes, que havíem constatat anteriorment. Grans addicions del transportador HHP (en IPM), a la membrana, donen lloc a membranes més denses i, per tant, fóra lògic que oferissin una major resistència al pas de substàncies a través seu. En resum, la presència de transportador és imprescindible per detectar

transport de propranolol, però una concentració elevada de transportador pot, indirectament, dificultar el transport del fàrmac.

En segon lloc, es va determinar la superfície de resposta respecte l'enantioselectivitat del sistema, tant en funció del factor de separació, α , com en funció de l'excés enantiomèric, ee.

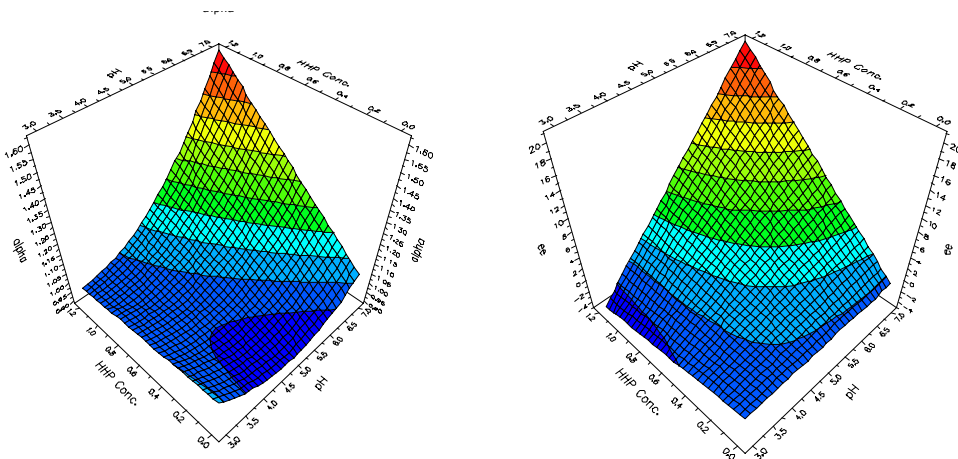


Figura 3.7. Superfícies de resposta de α (esquerra) i ee (dreta), a les 48 h, obtingudes amb la cel·la UAB.

En aquest cas, quan el pH de la fase receptora és 7 i la quantitat de transportador incorporat a la membrana és de 1,2 %, es detecta transport enantioselectiu de propranolol a través de la membrana. Aquestes condicions corresponen, no casualment, als experiments amb menor R (velocitat de transport). Els valors experimentals d' α i d'ee, no s'ajusten tan bé a la superfície de resposta del model com en el cas anterior. Això, probablement, és degut al fet que els valors d'enantioselectivitat depenen dels valors d'R, i no pas dels valors de pH de la solució receptora ni de la quantitat incorporada de transportador a la membrana. Els factors de separació obtinguts en aquest cas són força elevats, però cal tenir present que estan subjectes a una incertesa de quantificació també elevada, ja que es determinen sempre concentracions molt diluïdes de propranolol. Així doncs, més que remarcar el valor absolut del factor de separació, el que pren importància és la presència de transport selectiu, la tendència d'aquest transport en el temps i la naturalesa d'aquest (la qual cosa es comentarà a continuació). En la figura següent es presenta l'evolució de la enantioselectivitat amb el temps.

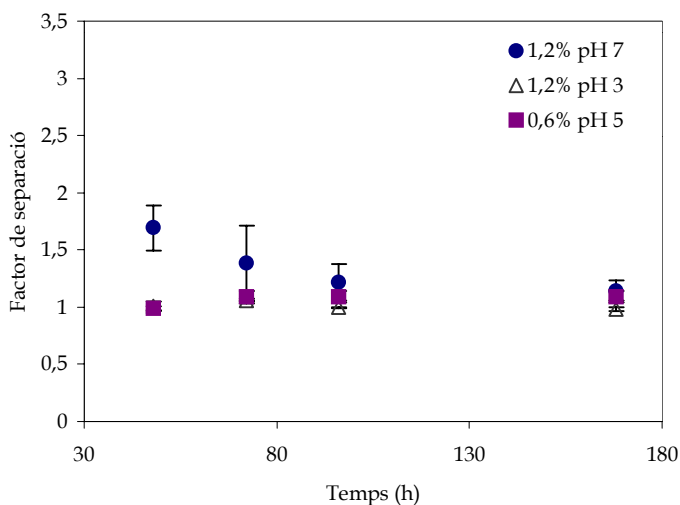


Figura 3.8. Evolució del factor de separació amb el temps, treballant amb la cel·la UAB, a diferents valors de pH de la solució receptora.

S'observa que l'enantioselectivitat disminueix amb el temps, degut al transport no facilitat del propranolol. Així doncs, en el període en el qual es detecta una certa enantioselectivitat, l'enantiòmer S-propranolol és el que es troba en major concentració a la fase receptora. Tenint en compte el tipus de mecanisme de transport que s'atribueixen a aquest sistema, les observacions experimentals indiquen que l'enantiòmer més transportat, S-propranolol, és aquell que té més afinitat pel transportador HHP. Contràriament al que pugui semblar d'entrada, aquesta afirmació es veu recolzada pels resultats experimentals obtinguts de la caracterització d'SLM (major transport de R-propranolol). En el cas d'SLM, el transport no facilitat de propranolol a través de les membranes no ha de superar cap resistència; és, per tant, molt elevat, i es dona també en absència de transportador HHP. En el cas de les CAM, el transport no facilitat del fàrmac es veu força dificultat degut a la naturalesa de les membranes, fent que sigui comparativament molt lent, i sols té lloc en presència del transportador. Per tant, en el cas d'SLM, l'enantiòmer transportat més ràpidament és, amb més seguretat, el que mostra una afinitat inferior pel transportador, mentre que en el cas de les CAM, l'enantiòmer més afí serà el primer en ser transportat.

Els resultats d'R i enantioselectivitat dels experiments realitzats amb el mòdul espiral d'Arquímedes també foren representats com a superfícies de resposta. En aquest cas, la superfície de resposta d'R (en funció del pH de la fase receptora i de la quantitat de transportador HHP incorporat a la membrana) té el mateix perfil que l'obtinguda amb la cel·la UAB, i també presenta un bon ajust als punts experimentals. Ara bé, els valors absoluts d'R són, en tots els casos, majors

que els equivalents determinats amb la cel·la UAB (anàlogament al que s'havia observat amb les SLM), com a conseqüència de l'augment del quocient d'àrea de membrana per volum de fase aquosa de càrrega i , per tant, de la disminució del quocient de solut respecte el transportador, que és 10 vegades menor.

Fent referència a l'enantioselectivitat del procés, cal comentar que emprant el mòdul espiral d'Arquímedes no s'aconsegueix transport enantioselectiu de propranolol. De fet era d'esperar, tenint en compte els valors elevats d' R detectats en aquest cas.

Per últim, també es van realitzar experiments amb la cel·la UAB usant solucions aquoses de càrrega amb només un dels enantiòmers del propranolol. No es va detectar cap diferència en la velocitat de transport d'un o altre enantiòmer, la qual cosa, fa pensar que l'enantioselectivitat és una conseqüència de la competència entre ells. Altrament, suggereix que el transportador del present estudi no presenta una afinitat diferenciada remarcable per cap del dos enantiòmers.

Els bons resultats obtinguts per a aquest tipus de membranes polimèriques emprant la cel·la UAB van esperonar la preparació de noves membranes polimèriques, també per a la separació enantiomèrica de propranolol, amb un transportador quiral distint, didodeciltartrat, DDT, amb el qual sols s'havia treballat fins al moment amb membranes líquides (DDT en cloroform).⁷ Considerant les característiques del sistema de membranes líquides previ, es van preparar dissolucions de PS i DDT en cloroform, i es van obtenir membranes polimèriques mitjançant dues tècniques de precipitació per inversió de fase distintes: a) per evaporació del dissolvent i b) per immersió en etanol. Només es detecta transport de propranolol en l'últim cas, degut al fet que les membranes precipitades per evaporació presenten una estructura morfològica especialment densa, mentre que les obtingudes per immersió presenten normalment una estructura menys densa.

Seguidament, es va dur a terme la comparació entre ambdós sistemes de membranes polimèriques CAM: el sistema A, basat en HHP (en IPM) i el sistema B, basat en DDT (annex E). Per poder estudiar i comparar els dos tipus diferents de sistemes de membranes polimèriques, CAM, es va emprar el mòdul UNL. En cada cas es va avaluar tant la influència de la relació solut/transportador ($S/C = 50$ i 100 pel sistema A i, 12 i 120 , pel sistema B) com l'efecte del cabal de recirculació (10 i 100 ml/min, en ambdós sistemes), en la selectivitat i el grau de transport. Finalment, també es va modelar el transport de propranolol a través de les membranes i es van calcular els coeficients de transferència de massa per a cada sistema.

Per tal d'estudiar la relació solut/transportador, expressada com a quocient S/C , es va variar, segons les limitacions de cada sistema, la concentració del selector (transportador o *carrier*, C) en la

⁷ I.M. Coelho, M.M. Cardoso, R.M.C. Viegas, J.G. Crespo, "Modelling of Transport Mechanism in Liquid Membranes". In *Proceedings of Engineering with Membranes*, Engineering with membranes, Granada (Spain), 4-6 June 2001; Luque, S., Alvarez J.R., Eds.; Universidad de Oviedo: Oviedo, 2001; abs number, V1, 425-430.

membrana, en el sistema A, ó bé la concentració inicial de propranolol (solut, S) en la solució de càrrega, en el sistema B. En els dos sistemes s'observa el mateix comportament. El transport de propranolol a través de les membranes augmenta en disminuir el quocient S/C; és a dir, en augmentar la concentració relativa de transportador en la membrana. Aquest fenomen ocorre, normalment, en els sistemes de transport facilitat. Els experiments realitzats amb membranes sense transportador pràcticament no van mostrar transport, tal i com esperàvem.

Per altra banda, es van estudiar diversos cabals de recirculació de les solucions aquoses per cada sistema, i es constata que el transport de propranolol a través de les CAM augmenta en augmentar el cabal. Aquest fet està estretament relacionat amb el número de *Reynolds*, el qual indica la velocitat de difusió del propranolol des del sí de la dissolució de càrrega fins a la superfície de la membrana. Números de *Reynolds* petits impliquen velocitats de difusió baixes, i viceversa. L'augment dels cabals incrementa els números Reynolds, per un sistema determinat i, per tant, actua augmentant també la velocitat de transport fins al màxim permès pel procés, que equival a la velocitat de transport per l'interior de la membrana. En el cas del sistema amb HHP, l'increment de la velocitat de transport en augmentar el cabal es fa més palès a quocients de S/C menors, ja que en aquestes condicions es pot assolir el nivell màxim de transport de propranolol per aquest sistema.

En tercer lloc, es va investigar l'enantioselectivitat d'ambdós sistemes. En aquest cas, sols es detecta enantioselectivitat pel sistema basat en DDT. Sota les condicions de treball establertes amb el mòdul UNL, el sistema basat en HHP presenta una velocitat de transport força elevada, cosa que disminueix, ja d'entrada, les seves possibilitats de presentar enantioselectivitat. En canvi, el sistema basat en DDT, sí que presenta enantioselectivitat. L'excés enantiomèric assolit, que és del 38 %, decreix amb el temps, com a conseqüència de l'augment del transport no facilitat.

Per últim, es va dur a terme la modelització del transport, que permet calcular els coeficients de transferència de massa per a cada un dels enantiòmers i per a tots dos sistemes de transport o separació enantiomèrica de propranolol. A partir dels valors obtinguts, recollits en la taula 3.2, es pot afirmar clarament que, per ambdós sistemes, la relació S/C té una influència més gran sobre el transport de l'espècie d'interès que no pas les variacions hidrodinàmiques (cabal de recirculació de les solucions aquoses) aplicades sobre els sistemes. La qual cosa confirma la importància dels transportadors selectius en els sistemes de transport facilitat.

Taula 3.2. Llistat dels diversos coeficients de transferència de massa dels enantiòmers S i R-propranolol (K_{SS} i K_{SR} , respectivament) obtinguts per ambdós sistemes A (basat en HHP) i B (basat en DDT).

	SISTEMA A			SISTEMA B		
	Q=100 ml/min S/C = 100	Q=100 ml/min S/C = 50	Q=10 ml/min S/C = 100	Q=100 ml/min S/C = 12	Q=100 ml/min S/C = 120	Q=10 ml/min S/C = 12
$K_{SR}(m/s)$	$(2.92 \pm 0.50) \cdot 10^{-8}$	$(1.26 \pm 0.10) \cdot 10^{-7}$	$(2.03 \pm 0.60) \cdot 10^{-8}$	$(5.40 \pm 0.30) \cdot 10^{-8}$	$(2.13 \pm 0.50) \cdot 10^{-8}$	$(4.49 \pm 0.50) \cdot 10^{-8}$
$K_{SS}(m/s)$	$(3.12 \pm 0.50) \cdot 10^{-8}$	$(1.22 \pm 0.10) \cdot 10^{-7}$	$(2.10 \pm 0.60) \cdot 10^{-8}$	$(5.30 \pm 0.30) \cdot 10^{-8}$	$(2.11 \pm 0.50) \cdot 10^{-8}$	$(4.33 \pm 0.50) \cdot 10^{-8}$

Ara bé, la variació del quocient S/C implica una variació de la velocitat de transport molt més notable en el cas del sistema A que en el cas del sistema B. Això està relacionat amb el fet que la variació absoluta provocada en el sistema, en cada cas, és de naturalesa distinta: en un cas s'augmenta la concentració de selector, mentre que en l'altre es disminueix la concentració de solut. Cal tenir present, doncs, que no és només el quocient S/C allò que determina el transport sinó també els valors absoluts de S i C en cada cas.

Comparant els dos treballs realitzats amb membranes polimèriques basades en el sistema A (HHP en IPM), es pot observar que el mòdul de membranes emprat té una influència destacable en el funcionament del sistema d'enantioseparació. Usant la cel·la UAB es detecta enantioselectivitat, però usant el mòdul espiral d'Arquímedes o el mòdul UNL no, fet que es relaciona amb la velocitat, menys o més elevada, respectivament, del transport a través de les CAM. Ara bé, el més sorprenent és la influència de la concentració del selector en el percentatge de reextracció. En el primer cas, treballant amb la cel·la UAB, s'observa que en augmentar la concentració de transportador en la membrana R disminueix. Contràriament, en el cas d'emprar el mòdul UNL, R augmenta en augmentar la concentració de transportador en la membrana. Aquesta diferència només pot explicar-se d'una manera: basant-se en les característiques distintes dels dos mòduls de membrana comparats. És obvi que existeixen moltes diferències de funcionament entre mòduls. De totes maneres, la diferència més important o que pot comportar diferències més notables és l'amplada de la capa de difusió adjacent a la cara de la membrana en contacte amb la solució de càrrega, que apareix en tots els processos de membrana. Aquesta amplada serà sempre més gran en el cas de la cel·la UAB, degut al disseny del mòdul de membrana, que aporta propietats hidrodinàmiques diferenciades. L'agitació de les solucions aquoses a 1200 rpm amb una pala de tefló a la cel·la UAB, implica capes de difusió grans respecte el mòdul UNL, amb cabals de 100 ml/min. Capes de difusió gruixudes donen lloc a processos menys sensibles a la concentració de selector en la membrana, ja que la velocitat de transport ve donada majoritàriament per la capa de difusió, i no per la composició de la membrana. Aquest fet, pot observar-se també treballant amb el mòdul UNL a cabals baixos (10ml/min). En aquest cas, no s'observa pràcticament cap diferència en la velocitat de transport de propranolol en funció de la concentració de transportador en la membrana, atès que la capa de difusió és també gran, comparable a la de la cel·la UAB. Simultàniament, també és la mateixa capa de difusió la que aparentment permet la presència de transport enantioselectiu, en actuar disminuint la velocitat de transport total a través de la membrana.

3.4 Síntesi i caracterització de membranes polimèriques quirals (annexos F i G)

Un altre tipus de membranes polimèriques investigades han estat les membranes polimèriques quirals, basades en polisulfona quiral, CPS. Amb la finalitat de poder preparar aquest tipus de membranes es va procedir a sintetitzar polisulfones quirals que tinguessin el transportador selectiu d'interès lligat covalentment a la seva estructura química.

Les dues rutes sintètiques investigades, A i B, van donar lloc a dos polímers quirals distints, CPS_A i CPS_B, respectivament. La caracterització d'ambdós productes finals, així com dels diferents intermedis permeten revelar les estructures obtingudes i confirmen l'enllaç covalent del transportador al polímer (annex F).

Per dur a terme la caracterització inicial dels distints productes d'ambdues rutes, es van emprar distintes tècniques d'RMN: RMN-¹H monodimensional, espectres d'homocorrelació, RMN-¹³C, i espectres d'heterocorrelació. L'ús d'aquestes tècniques va permetre d'obtenir els espectres corresponents de la polisulfona de partença i de les polisulfones resultants de cada pas de la reacció. L'anàlisi d'aquests espectres confirma l'estructura dels productes obtinguts en cada etapa sintètica. Al mateix temps, també permet fer una estimació del grau de substitució final (nombre d'entitats quirals lligades a cada unitat de PS) aconseguit en cada cas.

Una vegada caracteritzats els productes finals, es van preparar membranes usant CPS_A o CPS_B com a polímers base. Les membranes obtingudes es van aplicar per a la separació enantiomèrica del fàrmac propranolol (annex G).

D'entrada, cal destacar que no fou possible obtenir membranes adients per ser estudiades a partir del polímer CPS_B, degut a la seva baixa solubilitat en DMF. En el cas de CPS_A, va ser necessari recórrer a mescles d'aquest amb PS, per poder obtenir dissolucions homogènies en DMF, i va ser possible preparar, en aquest cas, mescles contenint només fins a un 25% de CPS_A. La baixa solubilitat que presenten les CPS respecte la PS de partença és, sens dubte, una conseqüència de la modificació de l'estructura química inicial de la PS (més notable en el cas de la CPS_B).

Un cop preparades les membranes de CPS_A/PS, van ser caracteritzades mitjançant la tècnica SEM amb la finalitat d'investigar-ne la morfologia interna. Totes les membranes obtingudes presenten una morfologia interna molt similar: estructura asimètrica i presència de *macrovoids* de diferent mida i distribució. Aquesta estructura és pròpia de membranes de PS preparades amb la tècnica d'inversió de fase per immersió amb DMF/aigua com a parell solvent/no solvent.

Seguidament, es van realitzar els experiments de separació enantiomèrica de propranolol, emprant la cel·la UAB. Els valors de percentatge de reextracció obtinguts (que es mostren en la figura 3.9) aporten informació rellevant del nou sistema de membranes.

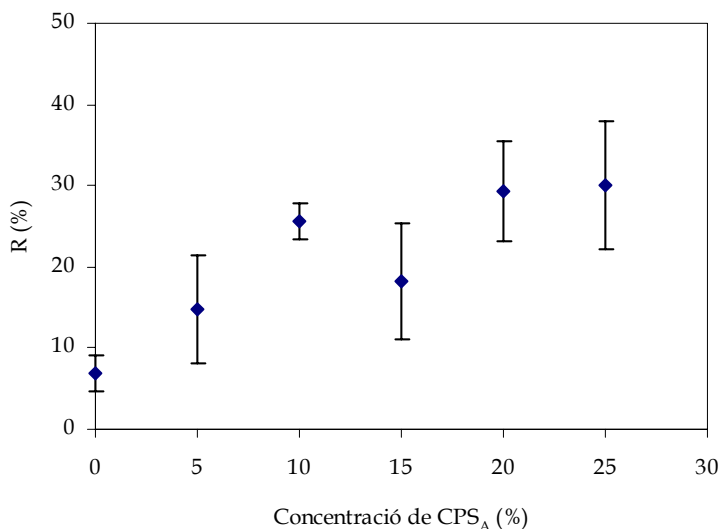


Figura 3.9. Influència de la concentració de CPSA en la membrana, en el percentatge de reextracció a les 96 h.

En primer lloc, es possible de veure que, a les 96h d'experiment, existeix transport no facilitat de propranolol, ja que en absència de transportador a la membrana es detecta un cert pas de fàrmac, tal i com s'ha comprovat anteriorment. En segon lloc, s'observa que en incorporar el transportador a la membrana, augmenta R. Això confirma que la presència de transportador facilita el transport del fàrmac a través de la membrana, anàlogament al que s'observa per altres sistemes i configuracions de membrana. En aquest cas, però, tenint en compte que el selector es troba enllaçat covalentment a l'estructura del polímer, el transport facilitat ha de produir-se, forçosament, mitjançant un mecanisme de salts consecutius (*jumping*) entre unitats de selector, cosa que seria facilitada per la presència del llarg espaiador entre la matriu de PS i el selector quiral.

La variació dels valors d'R segueix una tendència creixent en augmentar la concentració de selector en la membrana. Aquesta tendència creixent és més pronunciada al principi (fins arribar a una composició al 10% en CPSA) i, posteriorment, tendeix a un equilibri. Els valors d'R assolits són clarament inferiors als obtinguts amb SLM (propers al 90%). Aquest fet és degut a la diferència entre els coeficients de difusió d'una espècie determinada a través d'un líquid o bé a través d'un sòlid. El valor del coeficient de difusió és diversos ordres de magnitud inferior en l'últim cas. En canvi, si comparem aquests valors d'R amb els obtinguts amb les altres membranes polimèriques, CAM (que ronden al 20%), els valors són similars.

L'enantioselectivitat del procés també fou avaluada.

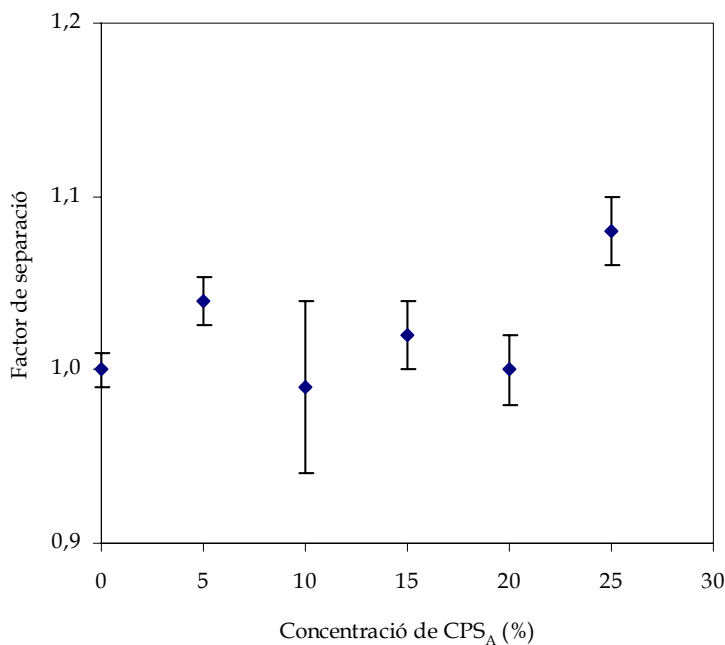


Figura 3.10. Influència de la concentració de CPSA en la membrana, en el factor de separació a les 96 h.

El procés presenta enantioselectivitat i el valor més elevat s'assoleix quan la concentració de transportador en la membrana és la màxima que permet el sistema. El valor del factor de separació a les 96 h és d'1,10 (a temps inferiors es detecten valors més elevats, però estan subjectes a majors imprecisions). També s'observa, com en el cas de les CAM, una disminució de l'enantioselectivitat amb el temps. En aquest cas, l'enantiòmer transportat més ràpidament és, altre cop, l'S-propranolol. Aquestes troballes semblen confirmar l'explicació proposada en l'apartat anterior, que considera que l'enantiòmer més transportat (S-propranolol) és el que mostra més afinitat pel selector quiral. Aquesta proposta també es veu recolzada per la bibliografia precedent. Si ens fixem detingudament en l'estructura quiral del transportador que s'usa en el present estudi, i el que va ser usat per C.M. Heard *et al.*,⁸ es pot apreciar una diferència significativa. En l'últim cas, els dos substituents de l'anell de pirrolidina de la prolina estan orientats cap al mateix costat de la molècula, mentre que el transportador utilitzat en aquest estudi, conté els dos substituents orientats cap a costats diferents. Així doncs, aquests dos transportadors són diastereòmers entre ells, i poden mostrar quiralitat diferent. Pel que fa als valors absoluts d'enantioselectivitat, cal assenyalar que els valors obtinguts

⁸ C.M. Heard, J. Hadgraft, K.R. Brain, "Differential facilitated transfer across a solid-supported liquid membrane". *Bioseparation* 4 (1994) 111-116.

en aquest cas són més elevats que els corresponents d'SLM ($\alpha_{\max} = 0,9$), i força comparables als obtinguts amb CAM (figura 3.8).

Finalment, es va modelar el transport de propranolol. En aquest cas concret, es va emprar el mòdul de membrana UNL. Els coeficients de transferència de massa determinats amb l'ajuda del programa Scientist, es van comparar amb els obtinguts prèviament amb les membranes CAM.

Taula 3.3. Coeficients de transferència de massa dels enantiòmers S i R-propranolol (K_{SS} i K_{SR} respectivament), obtinguts pels sistemes de membrana CPS_A i CAM.

	$K_{SR}(m/s)$	$K_{SS}(m/s)$
CPS _A	$(1.75 \pm 0.4) \cdot 10^{-8}$	$(1.57 \pm 0.4) \cdot 10^{-8}$
CAM	$(8.22 \pm 0.1) \cdot 10^{-8}$	$(8.47 \pm 0.1) \cdot 10^{-8}$

La comparació dels valors indiquen que el transport de propranolol a través de membranes de CPS_A és més lent, degut a la reduïda mobilitat del transportador en aquest últim cas.

Tot i els bons resultats obtinguts per a les membranes de CPS_A/PS, la impossibilitat de preparar membranes partint de CPS_B ha estimulat la caracterització exhaustiva dels diferents productes resultants de cada ruta sintètica, amb la finalitat de conèixer millor tots els productes implicats i poder descartar definitivament, si s'escau, la ruta sintètica B (annex F).

Amb l'objectiu d'assolir la caracterització esmentada, s'han proposat diverses tècniques, a part de les citades anteriorment: la calorimetria d'escombrat diferencial, DSC, amb la qual es pretén determinar la temperatura de transició vítreia; la cromatografia d'exclusió estèria, SEC ó cromatografia de permeació en gel, GPC; i, finalment, la *high resolution - magic angle spinning*, HR-MAS, de ressonància magnètica nuclear, per a aquelles mostres de molt baixa solubilitat en dissolvents convencionals.