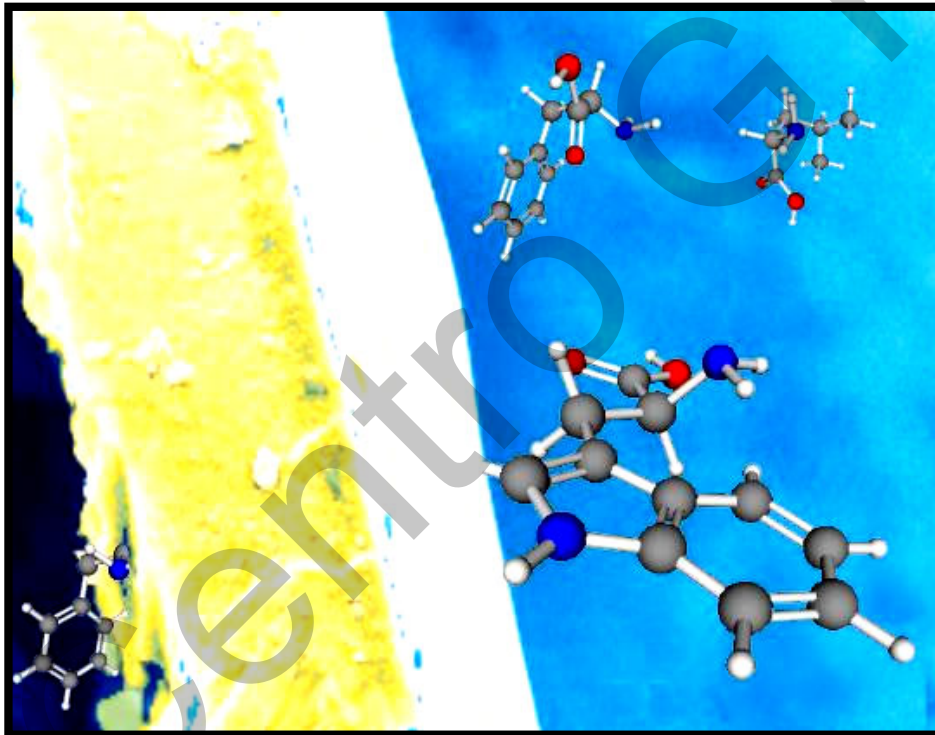


**SEPARACIÓ DE COMPOSTOS ANIÒNICS I NEUTRES AMB
MEMBRANES DE TRANSPORT FACILITAT
MILLORES EN LA SELECTIVITAT**



Joan Antoni Calzado Cuevas

2001

El treball que es presenta en aquesta Tesi ha estat enfocat a la separació d'anions inorgànics i molècules orgàniques neutres, bàsicament amino àcids, a través de membranes de transport facilitat.

S'han estudiat tres possibilitats per a aconseguir estudiar la selectivitat de les membranes: la inclusió d'un centre metàl·lic com a centre actiu en el transportador, l'ús de transportadors immobilitzats en les noves membranes compostes activades (MCA) i l'ús de transportadors quirals per a la resolució d'enantiòmers.



Grup de Tècniques de Separació

Universitat Autònoma de Barcelona
Bellaterra

**SEPARACIÓ DE COMPOSTOS ANIÒNICS I NEUTRES AMB
MEMBRANES DE TRANSPORT FACILITAT
MILLORES EN LA SELECTIVITAT**

Memòria presentada per
Joan Antoni Calzado Cuevas
per aspirar al grau de Doctor en
Ciències Químiques.

Juliol 2001

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

CERTIFIQUEM: Que els estudis descrits a la present memòria sota el títol, “Separació de compostos aniònics i neutres amb membranes de transport facilitat. Millores en la selectivitat” que presenta en Joan Antoni Calzado i Cuevas, Llicenciat en Ciències Químiques, han estat realitzats sota la nostra direcció per optar al Grau de Doctor en Ciències Químiques.

I perquè així es faci constar, signem la present certificació a Bellaterra, 30 de Maig de 2001.

Cristina Palet i Ballús
Malmagro

Manuel Valiente

Centro GTS

A Lidia

Centro GTS

Summary

Summary

Membranes are widely used around the world for many processes, e.g. synthetic membranes mainly for dialysis and for micro and macro filtration. Instead, liquid membranes (LM) have received much attention for developing new, selective and stable systems to improve or perform separation processes involving specific chemical reactions. In this sense, there are a lot of applications for the separation of metals and also some for non-metallic species. The use of liquid membranes develops higher fluxes over normal solid filtration membranes and the inclusion of carriers also produces a higher selectivity. The interaction between the carrier and the substrate induces a facilitated transport where the carrier should be fast and reversible to achieve an appropriate transport. This selectivity arises from the proper binding or interaction of the carrier and the analyte and the proper rate of this reaction. Thus, it should be possible to tailor selective LM by developing new carriers or by identifying the appropriate molecules that fulfill these characteristics.

The present work has been focused to the separation of inorganic anions and organic molecules, basically amino acids. Three possibilities on studying the selectivity of the membranes for this purpose have been studied: the inclusion of a metal ion as active site in the carrier, the use of a carrier immobilized in the new Activated Composite Membranes (ACM) and the use of chiral carriers.

The use of a metal complex as selective carrier is based on the Immobilized Metal Affinity Chromatography (IMAC) technique principles, where a metal ion is immobilized on a resin and used as exchanger. In our case we wanted to apply this principle to the facilitated transport of anions and amino acids across liquid membranes (LM). In this concern, two approaches have been performed: the formation of the metal complex in an appropriate LM media by the facilitated extraction of a metal, or the use of a commercial water insoluble organometallic complex. The characteristics of such a metallic complex to transport inorganic anions, being stable enough to avoid the leaching of the metal, are established.

In the first attempt, once the metallic complex was prepared by a liquid-liquid distribution in presence of an appropriate metal extractant, it was used as carrier for anions in the corresponding LM (by the interactions of the anions with this specific metal properly immobilized). Pd(II) metal complexes in organic diluents have been studied for the transport of NO_2^- as specific target system for LM. The choice of this metal ion was based in the affinity that nitrite and the amino acids have for Pd(II). To this purpose, different types of reagents were used as Pd(II) extractants to get the proper immobilization of this metal and

Summary

thus, to accomplish for the best transport of NO_2^- . Although the Palladium(II) complexes of 7-(4-ethyl-1-methyloctyl) quinolin-8-ol (Kelex100), tri-butylphosphate (TBP) and 1,12-di-2-thienyl-2,5,8,11-tetrathiododecane (TTD) were assayed, tri-isobutylphosphine sulphide (Cyanex 471) was found to provide best characteristics as anion carrier. For the preparation of the Pd(II)–Cyanex471 complex a solution of Cyanex471 34 mM in kerosene was contacted with an aqueous solution of 30.3 mg l^{-1} of Pd(II) in HCl 1.0 M and then agitated during 30 min. The LM studies were carried out in a concentric cell and the optimum conditions were determined as: a 10 mg l^{-1} (0.217 mM) nitrite solution in 0.2 M acetic/acetate buffer at pH 4.75 as feed solution, 0.2 M NaCl as stripping solution and a 0.28 mM solution of Pd(II)–Cyanex471 in kerosene. The best results expressed as Permeability coefficient in the receiving phase (P_s) was $(4.2 \pm 0.3) \cdot 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, compared to the negligible permeability that a blank membrane (without carrier) had.

The second attempt consisted in the use of a commercial organometallic complex, as anion carrier. Three different complexes were assayed: Trans-benzylchloride bis-triphenylphosphine palladium (II) (BPP–Pd(II)), dichloro-bis-(tri-phenylphosphine) palladium(II), (PP–Pd(II)) and bis(tri-phenylphosphine) cobalt(II) chloride, (PP–Co(II)). The last one contains Co(II) instead of Pd(II), to determine the effect of the metal ion. Only the first one was used as carrier, because of the low solubility of the rest in appropriate LM solvents and the less effective transport. So, trans-benzylchloride bis-triphenylphosphine palladium (II) (BPP–Pd(II)) has been studied as nitrite carrier, providing a higher rate of transport than the previous Pd(II)–Cyanex471 extracted complex. Different parameters have been investigated to contribute to NO_2^- transport, that was conducted in a Lewis modified Cell, including the nature of stripping solutions, pH of feed solution and membrane modifiers, as well as the influence of membrane modifiers in the selectivity of anion transport. The best conditions assayed corresponded to 10 mg l^{-1} nitrite solution in 0.05 M MES buffer at pH 4.5 as feed solution, a 0.05 M MES or TRIS solution at pH 11.7 as stripping phase and a 1.0 mM BPP–Pd(II) solution in cumene to form the BLM. In this case the best results corresponds to a stripping permeability of $4.5 \cdot 10^{-2} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, in the case of MES stripping buffer, and $8.2 \cdot 10^{-2} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ for the TRIS buffered stripping. The difference is due to the complete removal of the carrier bearing nitrite from the membrane to the receiving phase in the case of the TRIS buffer, while MES does not destroys the carrier and an important amount of nitrite remains in the membrane phase.

The addition of a cationic membrane modifier, Tri-dodecylmethylammonium chloride (TDMACI), was also assayed. This charged compound leads to the stabilization of the BPP-

Pd(II) complex with two nitrite anions, thus increasing the extraction of the analyte, but also produces a higher loss of Pd(II) from the membrane with a small increase in the recovery of nitrite in the receiving phase.

The selectivity of the LM was demonstrated in presence of a mixture of anions with a lower affinity for Pd(II) (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , H_2PO_4^-) and for SCN^- , that interacts stronger than nitrite with this metal cation and has a higher lipophilicity, so favouring its entrance into the organic phase. In the case of the first mixture, the increase of the molar ratio (interferents:nitrite) in the feed phase produced a slow decrease in the flux of nitrite, although the interferences were not substantially transported. So, the presence of the metal ion can produce a selective transport as expected, based on the affinity between the analyte and the metal ion, Pd(II). The presence of SCN^- , induced a fast extraction of itself and a sharp decrease of the permeability for nitrite, because of the higher affinity of the interferent for the metal ion. The addition of TDMACl produces a stabilization of the complex $\text{BPP-Pd(II)} - \text{NO}_2^-$, thus producing a recovery of the permeability for nitrite in the both cases.

In the case of using the amino acids as analyte, the affinity of its anionic form for the metallic center (Pd(II)) and the lower pH in the receiving phase that changes the speciation of the amino acid leading to its release from the LM phase is the power that maintains the transport. This system was assayed only with the organometallic complex BPP-Pd(II), that produced the better results for the inorganic anions. In this case, a SLM system was assayed and the amino acid tryptophan (Trp) was employed as target analyte for the membrane transport study. The LM unit used consisted in two Teflon blocks, with a carved spiral path where the aqueous solutions flow by, that clamp the impregnated porous membrane. This configuration permits the use of different volumes for the initial and receiving phases, thus a preconcentration of the analyte is possible, when using a smaller volume in the receiving phase respect to the feed phase.

Various parameters that characterize the amino acid transport by this liquid membrane have been studied. The effect of the concentration of carrier in the membrane solution was assayed. It was confirmed that no transport existed in absence of BPP-Pd(II), and the increase of its concentration in the bis-2-ethylhexyl phthalate solvent used increased the transport efficiency up to a plateau that appears at concentrations higher than $7.5 \cdot 10^{-4}$ M. So, a concentration of $8 \cdot 10^{-4}$ M of BPP-Pd(II) was selected as the optimum one. Also different mineral acids (HCl , HNO_3 , H_2SO_4 and H_3PO_4) were assayed as stripping agents at a concentration 0.1N, with no difference among them, except for the phosphoric acid that has a softer acidity. Only the increase in the acidity of the media increased the transport, no

Summary

matter what acid used. However, the increase of the concentration of the stripping acid produced a slow decrease of the recovery of the amino acid, leading to a solution 0.1M of HCl as a stripping solution. The pH of the feed solution was demonstrated to be a key factor in the transport through the LM. The increase of the pH from 5 to 9 increased the transport rate of Trp, but a higher pH decreased this rate. Thus a solution 0.1 mM of Trp buffered at pH 9 with a phosphate solution was selected as initial feed phase.

Because of the configuration of the LM unit, the preconcentration of Trp was possible, so the measure of this process was performed at different recirculating times of the feed solution and a valuable preconcentration factor of 45 from a solution 0.1mM was obtained after 40 hours of experiment transport.

To characterize such transport system and the effect induced by the interaction of the amino acid and the solvent or the interaction between the amino acid and the carrier, solvent extraction and LM experiments were performed for different amino acids, i.e.: Glycine (Gly), Alanine (Ala), Valine (Val), Leucine (Leu), Methionine (Met), Histidine (His), Phenylalanine (Phe), Tyrosine (Tyr) and Tryptophan (Trp). Such interactions have been evaluated in terms of the lipophilicity and polarity of the different amino acids, both calculated from their partition coefficients.

So, different liquid-liquid distribution experiments of these amino acids from aqueous solutions (at regulated pH) to organic solutions with or without the presence of the BPP-Pd(II) carrier were performed. It was monitored the amino acid concentration in both cases as well as the Pd(II) losses from the organic phase. The amino acid extraction distribution results were correlated with the previous parameters, lipophilicity and polarity and it was found that such amino acid properties can explain them, except for Phe and Trp. In the case of these, an extra interaction with the carrier, over the prediction, is observed because of the aromatic structure of both, the carrier and these amino acids.

LM experiments with mixtures of amino acids with similar structures were performed. The behavior of the three aromatic amino acids (Trp, Phe and Tyr) in a SLM at different feed aqueous pH was correlated with the distribution results. Also the recovery of the homologous series of the aliphatic amino acids (Gly, Ala, Val and Leu) was explained by the distribution mentioned results. So, the behavior of the amino acids in the liquid-liquid distribution process can be used to predict the performance of the transport through supported liquid membranes (SLM) containing the same carrier. The amino acid higher distributed in the liquid-liquid system has the higher flux in SLM and interferes the transport of the rest of amino acids.

Meanwhile, it has been also demonstrated that the selectivity of the designed LM depends also on the interaction of the molecule to be transported through the LM with the environment of the reaction center.

In the same concern to demonstrate the influence of the media in the amino acid transport, the effect of immobilizing a proper carrier in the new Activated Composite Membranes (ACM) was studied. The well known LM system containing bis-(2-ethyl-hexyl) phosphoric acid (DEHPA) to transport aromatic amino acids was implemented to such ACM membranes.

The ACM containing DEHPA and prepared according to a previously established procedure, were used to experimentally determine their behavior for the transport of Phenylalanine (Phe) that was used as target amino acid. A general characterization of the Phe transport through DEHPA-ACM membranes including the existence of facilitated counter transport, reproducibility and the effect of buffering the feed solution, has been performed prior to a systematic study of the influence of some chemical transport parameters. Afterwards, it was determined the more convenient initial Phe concentration to monitor the transport and a solution 0.5mM of Phe was selected. Different nature and concentrations of the stripping agent, and also the pH of the feed solution were optimized. The HCl acid was demonstrated to be the best receiving media, over HNO_3 and H_2SO_4 . The higher the concentration of acid used the faster was the transport, so a 2M solution was selected. About the feed phase, an increase of the pH from 0.5 to 3 induced an increase in the rate of transport of Phe that was stabilized at higher pH values. The use of NaCl in the feed phase is necessary to maintain the same ionic strength between both aqueous solutions, although not important differences were detected in absence of this salt (NaCl). Also, the influence of the DEHPA concentration in the casting solution used to prepare the membrane is established. It is found that the membrane phase controls the rate transport up to a DEHPA concentration of 1200mM. Finally, although the affinity of the aromatic amino acids Phenylalanine, Tryptophan (Trp) and Tyrosine (Tyr) for DEHPA is in the order $\text{Phe} \gg \text{Trp} > \text{Tyr}$, the selectivity of the DEHPA-ACM was found to be $\text{Trp} > \text{Phe} > \text{Tyr}$, probably because of the interaction between Trp and the carrier and between Trp and the groups of the membrane structure (amide or not reacted amine).

The last concept applied was the use of chiral selectors to accomplish for an enantioselective transport. In this concern, the enantiomeric separation of Mandelic acid Phenylglycine was achieved by using a bulk liquid membrane containing Cinchonidine as a

Summary

chiral carrier ($\alpha = 1.5$ and 0.9 respectively). The transport of the respective enantiomers through a liquid membrane has been characterized, by using Mandelic acid as target analyte. Different parameters were checked. The presence of a modifier as decanol added to the dodecane membrane phase containing cinchonidine was investigated. It was found that, even though with not the best transport rate a higher enantioselective separation was achieved for a mixture 1:1 of decanol and dodecane. Another important parameter in these membranes studied is the initial ratio between the carrier in the LM phase and the analyte in the feed phase. Different ratios from 0.2 to 3 (cinchonidine : mandelic acid) were assayed obtaining the best results for the value of 0.5. The pH of the aqueous solutions (feed and receiving) has also an important role in the enantioseparation, so the speciation of the carrier and the analyte can change depending on this parameter, permitting or avoiding their selective interaction. In this point, it was characterized the distribution of both, the carrier and the analyte at different aqueous pH, and it was established to get the proper interaction between both at a pH below the first pK_a (5.8) of the cinchonidine.

To better characterize the interaction of the membrane solvent in the selectivity, the effect of changing from dodecane-decanol to the more solvating chloroform was considered. It was demonstrated that the use of a more solvating agent produces a decrease of the interaction analyte – chiral carrier, so a bigger amount of carrier is necessary to have a similar selectivity (ratio carrier:analyte of 2).

Also to characterize the enantioselective interaction established between the analyte and the carrier two molecules very similar to Mandelic acid were assayed, Phenylglycine and Phenylalanine. The former was also transported enantioselectively, but not the last one, demonstrating the importance of the different interactions that can be established between the carrier and the analyte, and the spatial disposition and separation of the active or inactive groups of such enantiomers.

Centro GTS

Capítol 1

Introducció General

1. INTRODUCCIÓ GENERAL

Sovint, la necessitat de fer servir processos de separació en la producció industrial explica la major part dels costos de fabricació d'algunes substàncies pures ¹. Des de fa molt és sabut que existeix una relació directa entre els preus de mercat de molts productes i llurs concentracions a les mescles en que els trobem. Com es pot veure a la **Figura 1**, ja al 1959 era palesa aquesta relació.

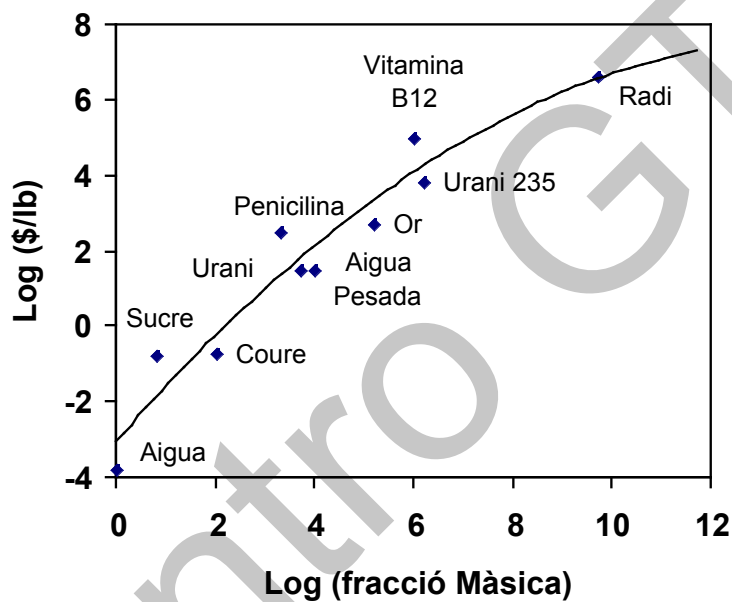


Figura 1.- Relació entre el valor de les substàncies pures i la seva concentració en les mescles en que els trobem ¹.

Però, què és una separació? En termes físico-químics, pot definir-se com una operació que permet transformar una mescla en dues o més fraccions, on cadascuna conté diferents proporcions relatives dels components presents a la mescla original ². Un sistema de separació és, doncs, un

dispositiu o una combinació de dispositius que permeten dur a terme una separació³.

Les separacions es poden diferenciar en dues grans categories, preparativa i analítica⁴. La separació preparativa tradicional produeix, generalment en mode continu o a gran escala, elements purificats per al seu ús en medicaments, combustibles, metalls, a la síntesi química o en productes pel consum humà o industrial. Actualment, però, existeixen també separacions preparatives en menor escala, per exemple, per a la obtenció de molt petites quantitats de producte. Generalment es tracta de productes biotecnològics (proteïnes, hormones...), d'un molt alt valor afegit. En qualsevol cas, la finalitat més freqüent de les separacions preparatives és la reducció o eliminació de contaminants de baix nivell en compostos amb valor afegit.

Les separacions analítiques, en canvi, pretenen obtenir informació del mateix procés de separació o bé de mesures posteriors, que només després de la separació són valuoses. És a dir, un mètode de separació prou selectiu ens evitarà utilitzar un mètode de mesura molt específic. La tria d'un mètode de separació acostuma a estar condicionada per la quantitat de mostra existent, la seva simplicitat i selectivitat, la resolució requerida i l'aplicabilitat del mètode⁵.

Totes les separacions prenen avantatge de les diferències en les propietats físico-químiques de les substàncies que es volen separar⁶: volatilitat, solubilitat, coeficient de partició, equilibri de bescanvi, activitat superficial, geometria molecular, electromigració, energia cinètica molecular, etc. d'aquí la seva gran varietat. Així, són diferents les tècniques de separació existents que podem anomenar: destil·lació, extracció en dissolvent, cromatografia, electroforesi, bescanvi iònic, exclusió iònica, diàlisi, precipitació, coprecipitació, adsorció, flotació, cristal·lització, electrodeposició, mètodes biològics, i, d'entre ells, cal esmentar la separació amb membranes, que destaca per la seva simplicitat

1.1. MEMBRANES

Una membrana és una barrera, de caràcter homogeni o heterogeni, permeable o semipermeable a certes espècies i que separa dues fases^{7,8}. Aquesta barrera controla les velocitats relatives de transport de vàries espècies al seu través i per tant ens dóna un producte reduït en certs components i incrementat en d'altres.

Les membranes són emprades en aplicacions molt diverses, però són els processos de separació els que les utilitzen d'una forma més habitual. D'altra banda, en els darrers trenta anys molts processos de separació han estat actualitzats a les indústries per la introducció de les membranes, sobre tot membranes sòlides poroses^{7,9}. A la **Taula 1** es poden veure alguns dels processos de separació que es poden realitzar amb membranes.⁸

Treballar amb la tecnologia de membranes presenta una sèrie d'avantatges que es poden resumir en que¹⁰:

- La separació es pot dur a terme de forma contínua
- El consum d'energia acostuma a ser petit
- Són processos fàcilment combinables amb d'altres processos de separació
- Es poden emprar condicions poc dràstiques per a dur-les a terme
- L'escalat dels processos és fàcil
- Les propietats de les membranes es poden ajustar
- No cal emprar additius

També existeixen alguns inconvenients, com són:

- La polarització de concentració i el bloqueig de la membrana
- La curta vida de les membranes
- Generalment la baixa selectivitat

Els materials dels que estan fetes les membranes són tant variats com les seves aplicacions, pel que la seva classificació és difícil. Una classificació genèrica podria ser en membranes biològiques (totes les cèl·lules vives

estan constituïdes per membranes) i membranes sintètiques. En aquestes tenen lloc multitud de transferències de massa, que poden ocórrer per simple difusió o mitjançant un transportador. Aquests transportadors generalment són proteïnes, antibiòtics o altres substàncies naturals que, mitjançant algun tipus de reconeixement molecular, seleccionen el substrat desitjat i el transporten d'una banda a l'altra de la membrana, sent reutilitzats infinitat de vegades. Un exemple excel·lent de transportadors biològics són les anomenades bombes de sodi-potassi, de calci o de protons ¹¹. Cal destacar el cas particular dels liposomes i les vesícules (membranes sintètiques que mimetitzen les biològiques), que estan experimentant un gran augment en el seu ús en camps com la medicina, la biomedicina i la farmàcia, així com, darrerament en d'altres menys restrictius com la indústria dels detergents o la indústria alimentària ¹². Dintre de les membranes sintètiques, podem distingir-ne dos grans grups: inorgàniques i orgàniques. Les membranes inorgàniques, malgrat que presenten una gran estabilitat tèrmica, mecànica i química, no han estat emprades molt profusament. En distingim tres tipus segons el material usat: membranes ceràmiques, de vidre i metàl·liques. Les primeres destaquen pel seu antic ús en el procés d'enriquiment de l'hexafluorur d'urani (²³⁵U). Actualment les aplicacions de les membranes ceràmiques se centren en processos de filtració i ultrafiltració, separació de gasos i separació d'isòtops.⁹ Les membranes orgàniques s'agrupen en membranes sòlides (membranes polimèriques) i membranes líquides.

Taula 1.- Processos de separació més comuns realitzats amb membranes a la indústria⁸

Procés de Separació	Força Impulsora	Aplicació
Microfiltració	Pressió hidrostàtica	Aclarit, Filtració Estèril
Ultrafiltració	Pressió hidrostàtica	Separació de Solucions Macromoleculares
Nanofiltració	Pressió hidrostàtica	Separació de petits compostos orgànics i determinades sals en solució
Osmosi Inversa	Pressió hidrostàtica	Separació de microsolut i sals en solució
Permeació de Gasos	Pressió hidrostàtica i Gradient de concentració	Separació de mescles de gasos
Diàlisi	Gradient de concentració	Separació de petits compostos orgànics i determinades sals de macromolècules en solució
Pervaporació	Gradient de concentració i Pressió de vapor	Separació de mescles de líquids volàtils
Permeació de Vapors	Gradient de concentració	Separació de vapors volàtils de gasos i vapors
Destil·lació amb Membranes	Temperatura	Separació d'aigua de soluts no volàtils
Electrodiàlisi	Potencial elèctric	Separació d'ions d'aigua i de soluts no iònics
Electrofiltració	Potencial elèctric	Dessecació de solucions de sòlids en suspensió
Membranes Líquides	Gradient de concentració i/o Reacció química	Separació d'ions i soluts de solucions aquoses

1.2. MEMBRANES LÍQUIDES

Les membranes líquides són aquelles membranes que es troben en fase líquida. Com a membrana, al seu través tenen lloc transferències de massa selectives de gasos, ions o molècules via processos de transport o permeació. La característica més rellevant pel seu estat, líquid, és la velocitat a que tenen lloc els processos de transferència de massa involucrats al seu través, en comparació a la resta de membranes. Aquests es troben bàsicament controlats per fenòmens de permeació, dissolució o difusió, i només caldrà una petita aportació energètica externa (agitació, bombeig...) per ser duts a terme. Aquestes atractives característiques han fet que molts estudis hagin estat endegats per tal de trobar solució a problemes específics de les separacions o a millorar processos de separació establerts.

L'ús de transportadors o mediadors, una mena de catalitzadors del transport, que només són solubles a la membrana líquida, augmenta encara més aquesta efectivitat degut sobre tot a la major selectivitat que produeixen les interaccions específiques i reversibles o els processos de complexació entre aquestes molècules transportadores i el substrat a transportar. Aquest fet obre la porta del transport facilitat i per això s'han realitzat grans esforços per trobar nous i efectius transportadors per membranes líquides ¹³.

1.2.1. Tipus de transport

Els processos de transport en una membrana líquida els podem classificar segons tinguin lloc en presència o no d'un transportador (Figura 2). Així parlem de transport *no facilitat* si no intervé un transportador, és a dir, que té lloc per simple difusió del substrat (esquema 1). Igualment parlem de *transport facilitat* si hi ha una molècula (C) a la membrana amb la que interacciona l'anàlit i que intervé en el seu transport. Dintre d'aquesta

classificació distingim dues formes de transport facilitat, el *no acoblat* i l'*acoblat*. En el primer sols l'analit (A) és ajudat a travessar la membrana (esquema 2), mentre que al darrer el transport de l'analit té lloc al mateix temps que el transport d'un segon substrat (B). Segons el sentit relatiu del transport d'aquests dos analits, parlem de *cotransport* (en el mateix sentit, esquema 3) o de *contratransport* (en sentit oposat, esquema 4).

El transport acoblat té la particularitat de permetre el transport en contra del gradient químic del nostre analit (A). El transport té lloc mentre el segon analit (B) sigui transportat gràcies al seu propi gradient químic. Això fa que un cop hem igualat el gradient químic del nostre analit (A) als dos costats de la membrana, continuem tenint transport d'aquest, sent un dels objectius a assolir en un bon sistema de separació.

1.2.2. Configuracions de membranes líquides

Els estudis de membranes líquides sintètiques duts a terme fins ara s'han realitzat majoritàriament en tres configuracions diferents amb diferents formats ^{13,14} (**Figura 3**):

- Membrana Líquida de Volum (MLV)
 - Format tipus U
 - Format tipus H
 - Format amb dos mòduls de fibres buides
- Membrana Líquida Suportada
 - Format pla (MLS plana)
 - Format en fibres buides (MLS-FB)
- Membrana Líquida d'Emulsió (MLE)

La configuració en *membrana de volum* és la més semblant a un procés d'extracció en dissolvent (extracció líquid-líquid). Tenim dues fases aquoses separades (o connectades) per una fase orgànica. Segons sigui la densitat

d'aquesta fase orgànica la configuració tindrà una disposició en U ($\text{densitat}_{\text{org}} > \text{densitat}_{\text{aigua}}$) (**Figura 3a**) o en H ($\text{densitat}_{\text{org}} < \text{densitat}_{\text{aigua}}$) (**Figura 3b**). A la fase orgànica es solubilitza el transportador i totes tres fases són agitadaes mecànicament. Un dels avantatges d'aquest sistema és que ens permet treballar amb processos en que es formin complexes poc solubles durant el transport. Així mateix, podrem treballar en la disposició en U amb dissolvents volàtils, els quals es perdrien ràpidament en altres sistemes, sobre tot contenint menor quantitat de dissolvent. Les configuracions de membrana de volum, són molt útils per a realitzar estudis de caracterització i modelització dels processos de separació en sistemes amb transportadors selectius, però no en separacions a gran escala.

Un cas particular de les membranes líquides de volum és la *membrana líquida amb dos mòduls de fibres buides* (**Figura 3c**), per on circulen les fases de càrrega i descàrrega submergits en la fase orgànica, va ser dissenyada per minimitzar les relacions de volums orgànic i aquós però obtenint velocitats de transport menys elevades que en els sistemes suportats. En aquest cas, les fibres buides fan de separadors de la membrana de volum de les fases de càrrega i de descàrrega. Això ens permet l'ús de dissolvents orgànics i transportadors menys hidròfobs. També ens permet l'addició fàcil de transportador durant el procés de transport. A part dels pros i contres dels sistemes suportats en fibres buides, en aquest cas tenim una major estabilitat de la membrana, donat el seu gran volum. Aquest major volum genera la necessitat de tenir una bona agitació a la fase orgànica. També es presenta un alentiment del transport que es produeix en afegir noves interfícies de bescanvi.

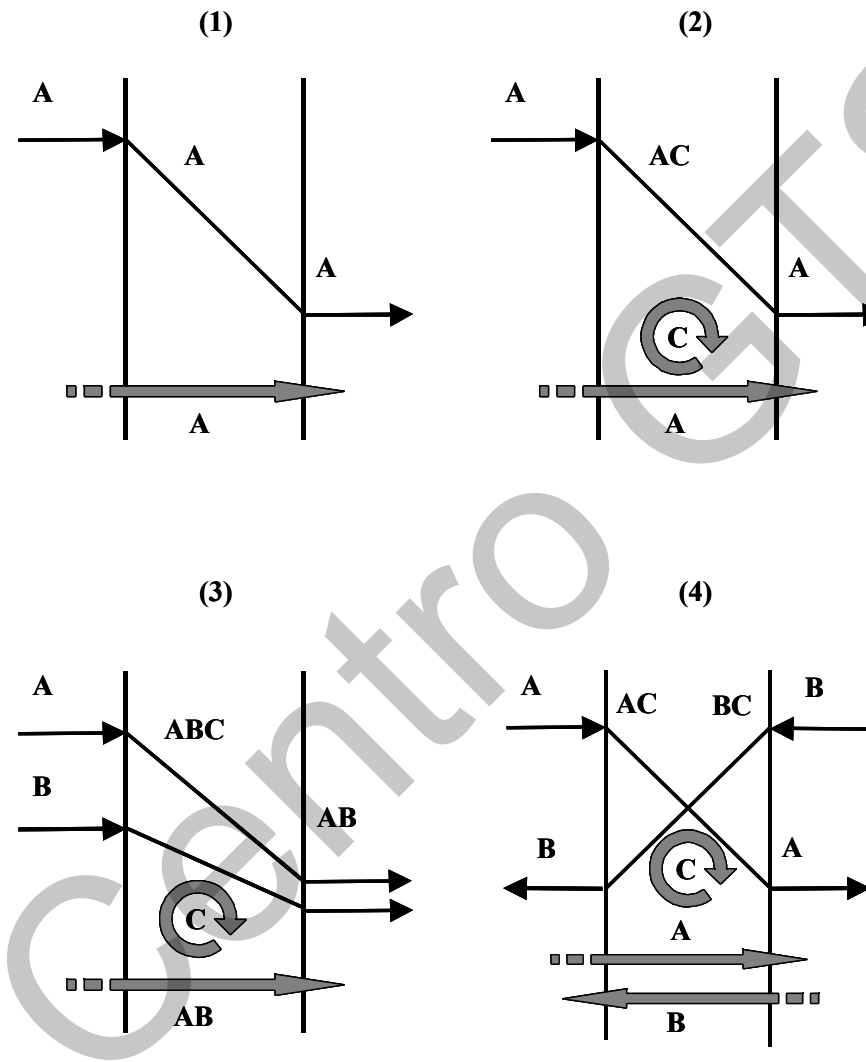
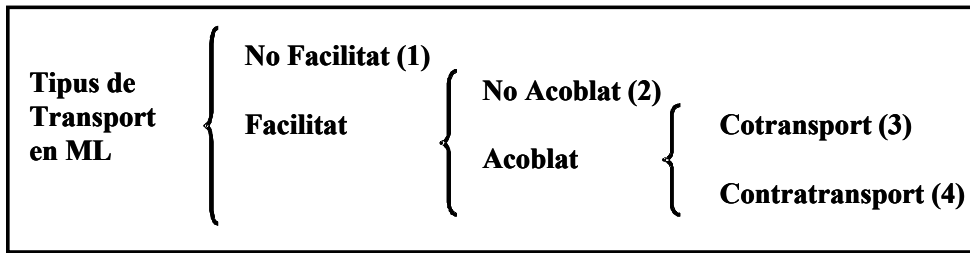


Figura 2.- Classificació i representació dels tipus de transport que es poden donar en una membrana líquida. Als esquemes, A i B són l'analít i l'espècie que es cotransporta o es contra transporta i C és el transportador.

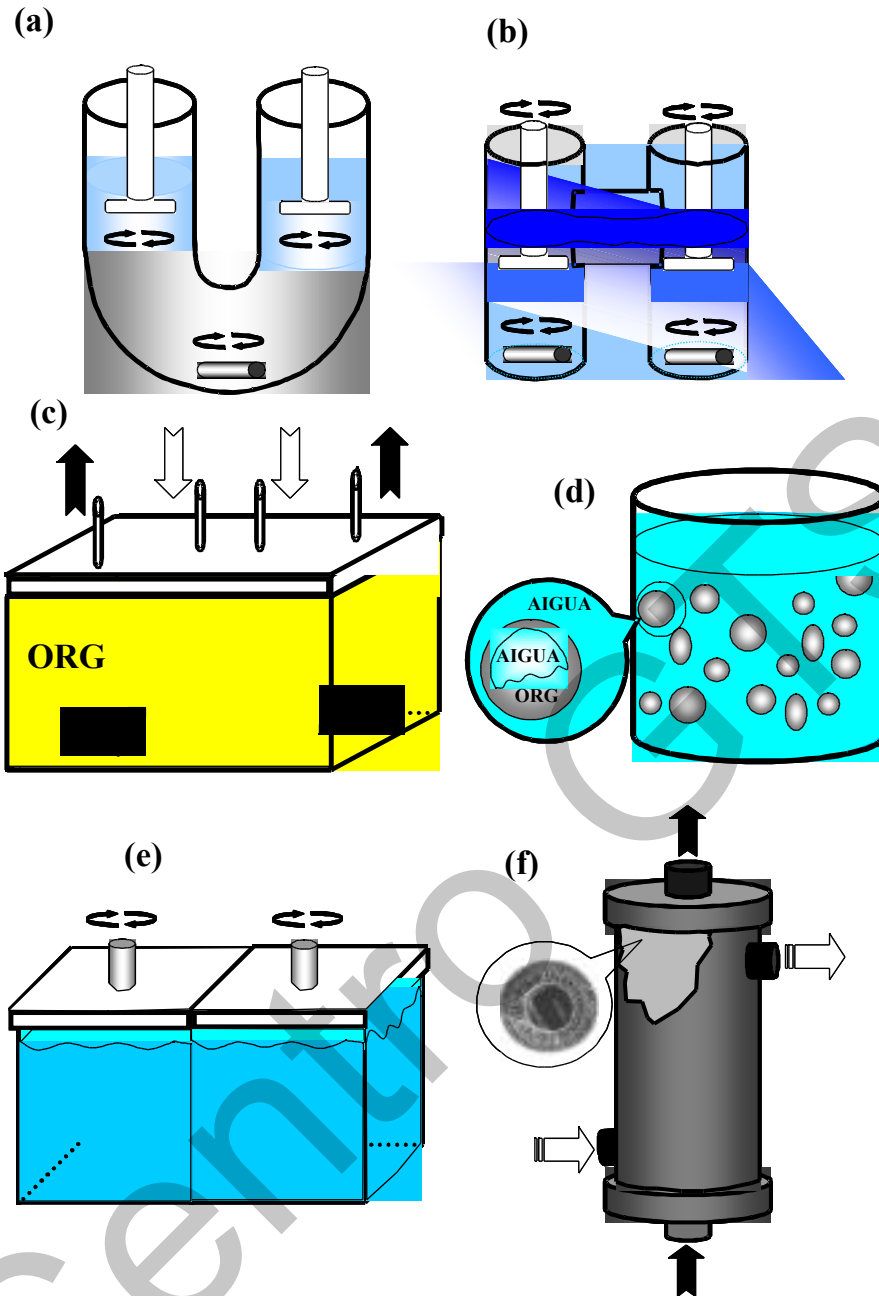


Figura 3.- Configuracions de les membranes líquides. (a) MLV en forma de U, per membranes més denses que l'aigua, (b) MLV en forma de H per membranes menys denses que l'aigua, (c) ML amb dos mòduls de Fibres Buides, (d) MLE, (e) MLS plana i (f) MLS-FB.

En el cas de les *membranes líquides suportades*, la fase orgànica es troba impregnada en un suport polimèric porós i inert. Les disposicions en membrana líquida suportada poden ser en dos formats diferents, plana i en fibres buides. La *MLS plana (Figura 3e)*, com ja hem dit, sols ens permet fer estudis bàsics dels processos de separació, ja que donada la seva petita relació *Àrea de membrana : Volum tractat* fa que el procés de transport sigui lent, malgrat el petit gruix de la membrana, i per tant aquest format no és eficient a escala industrial. Com a sistema suportat presenta els problemes d'aquests: els dissolvents i transportadors emprats cal que siguin molt hidròfobs per tal de mantenir l'estabilitat de la membrana, tant respecte als problemes de solubilitat d'una fase en l'altre com per minimitzar la formació d'emulsions a la interfase. D'altra banda, la petita relació de volums de la fase orgànica i de les fases aquoses d'aquestes membranes exalta qualsevol petita variació o pèrdua de la fase membrana. Aquesta petit volum, d'altra banda, constitueix un avantatge, pel baix consum en dissolvents i transportadors que impliquen. Un altre problema és la possibilitat de que els porus del suport quedin bloquejats bé per partícules en suspensió al medi, bé per precipitació dels productes a transportar.

Les *membranes líquides suportades en fibra buida (MLS-FB) (Figura 3f)* permeten en canvi el seu ús en sistemes a escala industrial. La gran relació *Àrea de membrana: Volum tractat* i el seu petit gruix ens permet tenir processos de transport ràpids. Aquest format de MLS permet un fàcil tractament i gestió dels fluids que contenen els productes a separar. Això inclou tant el control de pèrdues o el trencament de les fibres, com el poder realitzar fàcilment la concentració dels productes tractant diferents volums de solucions de càrrega i de descàrrega. Ara bé, als desavantatges abans mencionats de les MLS, en aquest cas cal afegir la necessitat d'emprar

moltes fibres alhora, i això fa que els mòduls de fibres buides (carcassa i fibres) suposin una inversió econòmica considerable.

La configuració en *membrana líquida d'emulsió* (MLE) (**Figura 3d**) presenta els gruixos de membrana més petits i un àrea de bescanvi molt gran, proporcionant-nos un transport rapidísim. Malgrat tot, la relació entre volum de càrrega i de descàrrega o recepció no permet tenir durant el procés uns factors de concentració tan grans com en les MLS-FB. D'altra banda, ni el dissolvent ni el transportador han de ser excessivament hidròfobs per mantenir l'estabilitat de la membrana. Això és degut al major volum de fase orgànica emprada i als processos d'emulsió que hi tenen lloc. Paradoxalment, els principals desavantatges d'aquestes membranes són deguts al propi procés d'emulsió. Cal controlar tots els factors que afecten a l'estabilitat de l'emulsió, com el pH de la fase aquosa i la força iònica. Un cop acabat el transport cal trencar l'emulsió per recuperar el producte i per recarregar la membrana amb el transportador, pel que sovint cal treballar amb unes emulsions més inestables del que podrien ser per facilitar el seu trencament final. Això pot minimitzar-se emprant transportadors més hidròfobs, però perdem l'avantatge abans anomenat.

Un altre desavantatge és que la ruptura accidental de l'emulsió durant el procés de separació suposa la barreja de les dues fases aquoses (càrrega i descàrrega) malbaratant totes dues. Malgrat tot, van ser les primeres ML que es van aplicar a escala industrial.

1.3. MEMBRANES SÒLIDES

Les membranes sintètiques orgàniques, un cop excloses les membranes líquides, són totes de tipus sòlid. Generalment la classificació de les membranes sòlides es fa en funció de la seva morfologia o estructura, ja que l'estructura sol ser el que determina el mecanisme de separació i l'aplicació de les mateixes. Així es diferencia entre membranes simètriques i

membranes asimètriques (depenent de la igualtat o desigualtat de les dues cares de la membrana). Les membranes simètriques es poden diferenciar en poroses i no poroses o denses. En aquestes membranes, el gruix és la característica que determina la resistència al pas de manera que el flux i la velocitat de permeació seran inversament proporcionals a aquest paràmetre. En les membranes asimètriques diferenciem tres tipus: poroses, poroses amb una capa superficial densa i membranes compostes. Les dues primeres són formades per un sol material polimèric i sols canvia la mida del porus, sent molt més petit a la capa superficial de les segones. Les membranes compostes consten de diverses estructures polimèriques, tenint sempre una part porosa i una altra més prima i densa d'un altre material polimèric com a capa superficial.

Les membranes asimètriques presenten l'avantatge de l'alta selectivitat de les membranes simètriques denses amb els alts fluxos de les membranes més primes. La part porosa bàsicament actua com a suport, sent la part densa qui determina la resistència a la transferència de massa.

El funcionament d'aquestes membranes es fonamenta, com hem dit, en la seva estructura. Així, en el cas de les membranes poroses, les separacions tenen lloc segons la mida dels porus i la mida molecular de les substàncies a separar. En canvi, a les membranes denses són les seves diferències de solubilitat i difusivitat les que determinen la selectivitat de la separació. Les aplicacions d'aquestes membranes es troben indicades a la **Taula 1**.

1.3.1. Tècniques de preparació

El material triat per fer les membranes no sols limita les tècniques que podem fer servir per a preparar-les, si no també la morfologia obtinguda i el principi de separació que es podrà fer aplicar. Existeixen diferents tècniques per preparar membranes sòlides. Algunes d'elles permeten fabricar tant membranes orgàniques com inorgàniques. Les principals tècniques són la

sinterització, l'estirament (stretching), el bombardeig i buidat (track-etching), el template leaching, la inversió de fases i el recobriment. Les quatre primeres generen membranes poroses, la inversió de fases crea membranes amb capa superficial densa i el recobriment usa qualsevol de les tècniques anteriors com a base per crear membranes compost ¹⁰.

Sinterització

Consisteix en pressionar una pols feta de partícules d'una determinada mida a una determinada temperatura, tot creant una mena de fusió dels grànuls del material. En aquest procés es fusionen les parts que són en contacte però es mantenen els intersticis que tenien en forma de porus. Els materials que podem usar són molt variats: polímers (polietilè, politetrafluoroetilè, polipropilè), metalls (acer inoxidable, tungstè), ceràmiques (òxids d'alumini i de zirconi), grafit i vidre (silicats). La mida dels porus depèn de la mida de les partícules que constitueixen la pols i van des de 0.1 a 10 μm . Les porositats són del 20% en els polímers i del 80% en els metalls.

Estirament

En aquest mètode, una làmina d'un polímer semicristal·lí extrudit (politetrafluoroetilè, polipropilè i/o polietilè) és estirat en sentit perpendicular a la direcció de l'extrusió. La tensió aplicada produeix una sèrie de trencaments que generen els porus. La mida de porus és de 0.1 a 3 μm i la porositat fins al 90%.

Bombardeig i buidat

En aquest cas, una làmina és sotmesa a un bombardeig amb partícules altament energètiques. Les partícules malmeten el polímer, creant trajectòries (tracks). Posteriorment la pel·lícula és submergida en àcid o base per treure (etching) el polímer de les trajectòries apareixent els porus cilíndrics. Els porus són de 0.02 a 10 μm i la porositat inferior al 10%.

Inversió de fases

Aquesta tècnica transforma un polímer de forma controlada de líquid a sòlid. Generalment existeix un pas intermedi en que el líquid passa a una barreja de dos líquids i el líquid més ric en polímer solidifica, generant la matriu sòlida. Existeixen diferents processos que produeixen membranes per aquest mètode; precipitació per evaporació del dissolvent, precipitació amb vapor, precipitació per evaporació controlada, precipitació tèrmica i la més àmpliament emprada, precipitació per immersió. En aquesta darrera (**Figura 4**), una solució de polímer en un dissolvent és adequadament dipositada (cast) sobre un suport adient i el conjunt és immers en un bany que conté un medi on el polímer no és soluble (anomenat no solvent a la **Figura 4**). La precipitació ocorre en produir-se la mescla dels dos dissolvents. La difusió mútua dels dissolvents crea una zona a la interfície dissolució-polímer-no solvent on el polímer ja no és soluble, iniciant la precipitació. Aquesta barrera va dificultant el pas del no dissolvent a la zona on queda polímer soluble, i es creen zones cada cop més poroses.

Les característiques d'aquestes membranes es poden regular controlant diferents paràmetres: temperatura, tipus de dissolvents i concentració del polímer.

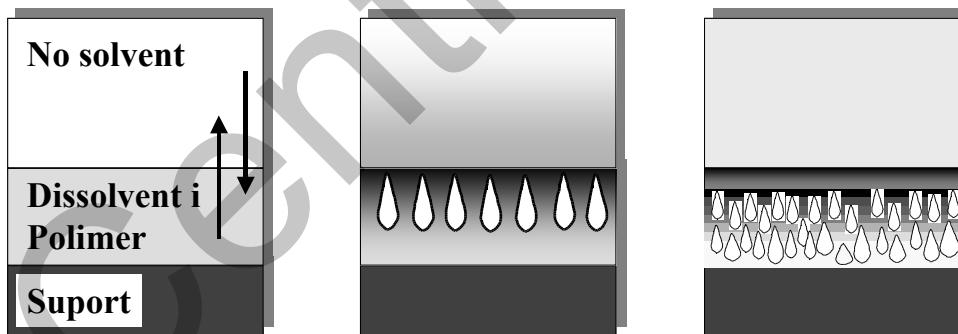


Figura 4.- Representació del procés d'inversió de fases per immersió.

Recobriment

Aquest mètode té l'avantatge de que podem optimitzar el procés de creació de cada capa independentment. El més habitual és usar una membrana generada per inversió de fases com a suport estructural al qual s'hi afegirà una capa densa. Aquesta es pot crear per diferents tècniques: recobriment per immersió, polimerització per plasma, polimerització in situ, fixació (grafting) i polimerització interfacial. Aquesta darrera es realitza impregnant un polímer porós (suport estructural) amb una solució aquosa d'un monòmer (**Figura 5**, a i b). Tot seguit es submergeix el polímer impregnat en una solució orgànica que conté un altre monòmer complementari del primer (c). La polimerització té lloc a la interfície dels dos medis (d), generant una capa extremadament prima. En el cas de que el polímer de suport sigui hidròfob, l'ordre d'impregnació seria a l'inrevés.

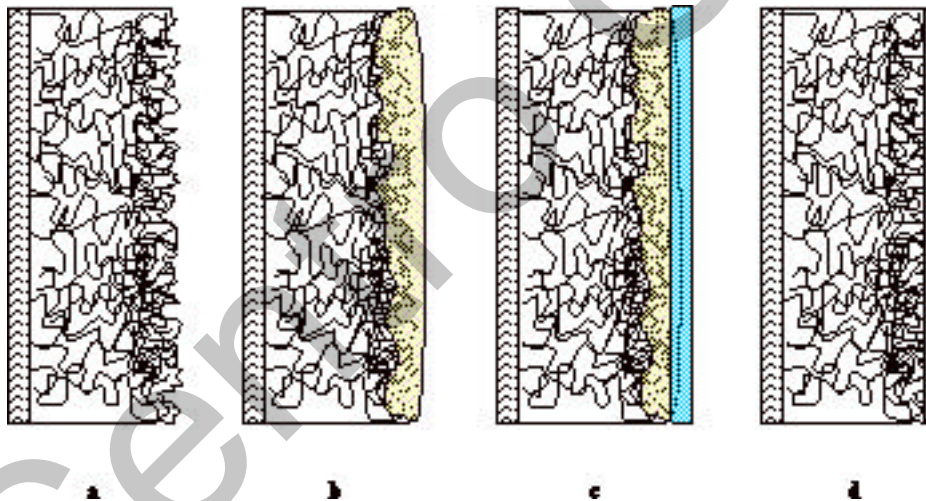


Figura 5 .- Esquema del procés de recobriment per polimerització interfacial. Un polímer porós (a) és impregnat amb una solució d'un monòmer (b) i posteriorment s'introdueix en una solució d'un altre monòmer (c) que reacciona amb el primer, generant una capa polimèrica molt prima (d). Finalment, els excessos de monòmers són rentats

1.4. SELECTIVITAT

Com ja hem definit anteriorment, una membrana és una barrera semipermeable que ens permet de canviar les proporcions relatives d'una barreja. Els fluxos dels analits d'una barreja es diferencien en funció de la seva interacció amb la membrana. En qualsevol cas, el transport a través de membranes és degut a l'existència d'una força sobre els analits a la fase de càrrega que provoca el seu transport, per exemple poden ser la pressió, la concentració o activitat, la temperatura, etc. De manera que totes elles es poden unificar sota un sol paràmetre, el gradient electroquímico ($\Delta\mu$). Les diferències entre els fluxos dels analits a través de les membranes venen donades pel gradient a que estan sotmesos i per la forma en que interaccionen amb la membrana. El procés d'interacció bàsicament ve determinat per dos factors, la solubilitat de l'analit en la membrana i la difusivitat d'aquest al seu través. La solubilitat és un paràmetre termodinàmic que ens dóna la quantitat d'analit que penetra a l'estructura de la membrana en condicions d'equilibri. La difusivitat és un paràmetre cinètic que ens dóna la velocitat amb que l'analit viatja a través de la membrana i depèn en gran mesura de la seva geometria. Així els gasos tenen menors solubilitats que els líquids a les membranes sòlides i les molècules més voluminoses difonen més lentament que les més petites, permetent la corresponent separació selectiva.

L'addició d'un transportador a una membrana pot incrementar substancialment la interacció entre l'analit i la membrana, tal que permetrà aconseguir l'esmentada i desitjada diferenciació, augmentant-ne permeabilitat i la selectivitat d'aquesta. En aquest cas, el conjunt analit-transportador (format per la seva afinitat mútua) té una gran solubilitat a la membrana i difon al seu través. D'aquesta forma es veu accelerat el transport. Aquesta addició és especialment adient en membranes líquides o fins i tot en membranes compostes, com veurem més endavant. La interacció

que es produeix entre el transportador i el substrat ha de ser ràpida i reversible ¹⁵.

D'aquesta manera, es defineix aquest diferent comportament-interacció com a selectivitat de la membrana, i s'acostuma a expressar en funció de paràmetres com la retenció (R) o el factor de separació (α) ¹⁰.

$$R = \frac{C_C - C_R}{C_C} \quad \alpha = \frac{F_A}{F_B} \quad (\text{Equació 1 i 2})$$

La selectivitat del transportador ve donada per l'afinitat i la velocitat amb que s'uneix o deixa anar al substrat. Així doncs, es poden dissenyar ML selectives dissenyant o construint transportadors o utilitzant compostos que compleixin una sèrie de característiques. Les característiques que s'han d'observar en el disseny o selecció d'un transportador són:

- Forma i mida de la cavitat, si és el cas, on interaccionaran el substrat i el transportador.
- Naturalesa de la cavitat d'interacció.
- Topologia tridimensional de la cavitat i del substrat.
- Solubilitat i estabilitat tant del transportador com del complex corresponent
- Flexibilitat molecular i dinàmica d'enllaç

Seguint aquestes pautes s'ha desenvolupat una gran varietat de nous transportadors, com èters corona, criptants i esferants. La possibilitat d'afegir parts i centres donadors a aquestes molècules de forma controlada ha donat la possibilitat de produir a nivell molecular la interacció amb el substrat desitjat.

Una de les pautes seguides per el desenvolupament de nous transportadors s'ha fonamentat en la observació de la natura, on una tercera part de les proteïnes existents són metal·loproteïnes, combinacions químiques d'àtoms de proteïnes (carboni, nitrogen, oxigen, hidrogen, fòsfor i sofre) amb ions de metalls com ferro, calci, coure, zinc, magnesi... L'hemoglobina és un clar

exemple d'aquestes proteïnes, que conté ferro a la seva estructura i permet el transport de l'oxigen en el corrent sanguini. Els metalls en aquestes proteïnes són crítics en el reconeixement i l'enllaç amb els substrats amb que interaccionen per a realitzar les seves funcions. És més, són crítics per al manteniment de l'estructura o estabilitat d'aquestes ¹⁶⁻²⁰. Un altre cas seria el de l'Oxid-nítricsintetasa (**Figura 6**). Aquest metal·loenzim s'encarrega de la síntesi d'òxid nítric a partir de l'amino àcid arginina (Arn). L'òxid nítric juga un paper crucial en diversos processos vitals, com ara la vasodilatació, la resposta immune, la neurotransmissió o l'adhesió de les plaquetes.

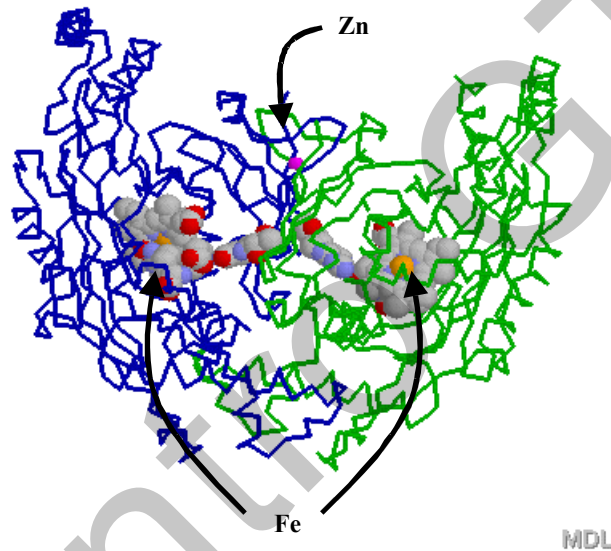


Figura 6.- Estructura de l'òxid-nítricsintetasa endotelial humana, que conté en la seva estructura un ió Zn i dos ions Fe²².

De l'observació d'aquests casos en que la selectivitat té lloc mitjançant un centre metàl·lic, veiem que les característiques a tenir en compte per dissenyar transportadors metàl·lics són:

- Mida i forma de la cavitat del transportador
- Naturalesa de la interacció del metall amb l'ió
- Geometria de la coordinació del substrat

Seguint aquestes indicacions Tsukube et al. van dissenyar una sèrie de complexes amb metalls de transició per al transport d'anions ²¹. Van veure que aquests tipus de complexes presenten una sèrie d'avantatges importants per al disseny controlat d'agents transportadors respecte als transportadors tradicionals, com són que:

- Podem modificar els lligands que retenen el centre metàl·lic del complex
- Podem variar el centre metàl·lic
- Les propietats de coordinació dels anions venen regulades tant per l'ió metàl·lic central com per l'entorn (ligand) d'aquest metall. L'addició de substituents ens permet controlar la hidrofòbia – hidrofília tant del transportador com del complex format amb el substrat o analit

D'altra banda, aquests tipus d'interaccions també han sigut aprofitades en el desenvolupament d'elèctrodes selectius d'ions (ISE) ²³⁻²⁶. A més, és conegut el paral·lelisme existent entre ISEs i el transport en ML, ja que les membranes emprades en els ISEs són membranes líquides, i s'ha comprovat la reciprocitat dels sistemes de ML amb es ISEs.

1.5. ESTABILITAT DE LES MLS

Les membranes líquides ofereixen selectivitats altes i fluxos de transport relativament grans, mentre que les membranes sòlides prometen millor estabilitat. La major part de la recerca duta a terme en membranes líquides s'ha centrat en desenvolupar aquest tipus de membranes amb la més alta selectivitat i el més estables possible.

El principal efecte que s'observa en un sistema inestable és un descens del flux (permeabilitat) selectiu amb el temps, que pot ser més o menys progressiu i acabar o no amb el trencament de la membrana com a ens

separador, permetent la comunicació directa de les fases aquoses que separa.

La primera explicació que es va donar a aquest fet es fonamentava en l'existència d'un gradient de pressió osmòtica entre les dues bandes de la membrana ^{28,29}. Consideraven que la diferencia de pressió osmòtica genera un flux d'aigua que passa a través de la membrana, la solubilitza progressivament i acaba amb la pèrdua de la ML i per tant el contacte de les fases aquoses. Malgrat tot, observaven que per millorar l'estabilitat calia tenir ML basades en dissolvents amb elevades tensions superficials a la interfase amb l'aigua i baixa solubilitat de l'aigua en el dissolvent.

Estudis posteriors ^{30,31}, han mostrat que si bé una diferència de pressió osmòtica entre les dues cares de la membrana genera inestabilitat, el principal procés de desestabilització de la membrana és el procés d'emulsió a l'interfase. El principal efecte d'aquest procés és la pèrdua de dissolvent i de transportador, generant un descens en la velocitat de transport o permeabilitat. Les solucions per minimitzar aquest efecte són treballar amb dissolvents i transportadors de baixa capacitat d'emulsió i fases aquoses d'elevat contingut salí, ja que es va observar una estabilització de la fase ML en elevar les concentracions salines a ambdues fases aquoses.

De la mateixa manera que s'han iniciat diferents vies per trobar membranes selectives també han estat diversos els procediments emprats per aconseguir membranes líquides més estables. L'aproximació més immediata ha estat la de triar adequadament tant el suport com la composició de la fase orgànica, és a dir, la constitució de la membrana. Així és sabut que l'elecció d'un suport o un altre, la mida de porus, l'afinitat relativa de la fase orgànica i aquosa pel suport, així com algunes propietats físico-químiques dels components de la membrana afecten a la seva estabilitat ^{29,32-34}.

Una altra de les aproximacions fetes consisteix en afegir irreversiblement grups funcionals a les membranes, transformant-les de suports inerts en membranes de bescanvi iònic. D'aquesta manera s'incrementa la interacció del transportador i del dissolvent amb la matriu polimèrica. Les forces electrostàtiques fortes establertes (en el cas que el transportador pugui actuar de contraió del suport derivatitzat)³³ o bé la unió covalent del transportador a l'estructura del suport³⁵ permeten perllongar la vida de les membranes. Ara bé, el transport de les espècies a transportar acostuma a quedar afectat negativament mentre que el de les espècies que no volem transportar es més difícil de controlar, permetent unes separacions menys efectives.

La formació de capes a la superfície del suport on tenim impregnada la membrana líquida també ha estat una de les tècniques emprades per l'estabilització de les ML. Considerant que la principal causa de la inestabilitat d'aquestes membranes és deguda a la formació d'una emulsió de la fase orgànica, degut sobre tot a les forces laterals de tensió que arrenquen la fase orgànica, la creació d'aquesta capa ha de protegir la membrana. Es poden diferenciar dos tipus de recobriments, els gels³⁶ i les capes polimèriques³⁷⁻³⁹. Malgrat l'estabilització de les membranes aconseguida amb el recobriment d'aquestes amb gels sense tenir pèrdues importants de flux, la reproductibilitat de les propietats de transport no és molt bona, degut a la dificultat de controlar el gruix de la capa de gel. D'altra banda, aquesta tècnica no és aplicable a membranes de fibra buida, pel que les seves aplicacions industrials serien reduïdes. No passa el mateix amb l'aplicació de la polimerització interfacial o el "sucats" de les membranes en una solució de polímer per a constituir recobriments polimèrics molt prims a la superfície de la membrana que, tot depenent de quina interfase presenti més problemes d'inestabilitat, poden fer-se a una o a les dues cares de la membrana.

També s'ha provat la incorporació del transportador i del dissolvent al sí d'aquest polímer, sent aquest un gel ^{40,41} o una matriu polimèrica ⁴²⁻⁴⁴. El problema que solen presentar les membranes constituïdes d'aquesta forma és una difusivitat reduïda, que es veu contrarestada per la major quantitat d'agent transportador que es pot incorporar a aquestes membranes plastificades, que compensa aquesta baixa mobilitat dels ions en el sí de la membrana.

Darrerament, el Grup de Tècniques de Separació de la UAB ha desenvolupat una bona alternativa per a obtenir membranes líquides estables, les membranes compostes activades (ACM) ⁴⁵. Com el nom indica, són constituïdes per un suport porós amb una capa densa d'un altre material a sobre. En aquesta capa densa s'immobilitza el transportador ⁴⁶. Com a les anteriorment indicades, el transportador és doncs immobilitzat a la fase polimèrica. Aquestes membranes han demostrat ser estables durant llargs períodes de temps, tant en funcionament continu com després de períodes d'emmagatzematge ⁴⁷⁻⁴⁹.

1.6. TRANSPORT I SEPARACIÓ D'ANIONS AMB MEMBRANES

Els primers treballs en el camp del transport actiu d'espècies a través de membranes líquides es basaven en el transport d'espècies metàl·liques mitjançant agents extractants aniònics ⁵⁰. De fet la major part dels estudis realitzats s'han dedicat a la separació de cations metàl·lics. Alguns, però, dels treballs involucrats en el transport d'ions metàl·lics, es desenvolupen gràcies a la formació prèvia d'un parell iònic amb algun co-anió present en el medi aquós de la dissolució carregada, de manera que l'extracció i per tant el transport s'aconsegueix amb l'ús d'un agent extractant neutre, generalment macrocíclic ⁵¹⁻⁵⁶. Els anions cotransportats en aquests casos són NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} ... entre d'altres.

En els darrers anys s'han estudiat i dissenyat nous sistemes pel transport i separació d'anions a través de, generalment, MLS. Agents transportadors derivats de biomolècules naturals com, per exemple, la vitamina B₁₂ s'han emprat per al disseny i implementació de sistemes de MLS per anions inorgànics ²³. La separació d'anions com NO₃⁻, TcO₄⁻, CrO₄²⁻ es va aconseguir mitjançant tri-laurilamina, entre d'altres agents extractants o transportadors ⁵⁷. Aquest sistema va ser emprat per a la separació d'una sèrie d'anions mitjançant MLS en format laminar i de fibra buida, amb aplicacions a la descontaminació d'aigües subterrànies ⁵⁸. També s'ha reportat el transport de l'anió picrat, ja sigui com a anió tal qual fent servir una amina lipòfila com a transportador ⁵⁹ o com a parell iònic amb un metall emprant èters corona ⁶⁰.

Com a cas especial, podem destacar el transport d'amino àcids, donat el seu caràcter amfipròtic. A la **Taula 2**, podem trobar tot un seguit d'aplicacions estudiades per al transport d'amino àcids en membranes líquides en diferents configuracions. Són moltes i variades les aplicacions realitzades per a la separació d'amino àcids, bé de la solució resultant del procés de producció, bé de la barreja amb d'altres aminoàcids. Han estat diferents els transportadors emprats, des dels neutres, fins als metàl·lics, passant pels de bescanvi catiònic o aniònic, degut a la característica zwitteriònica dels amino àcids.

Taula 2.- Exemples de transport d'amino àcids amb membranes líquides, classificats en funció del transportador emprat. (Els transportadors catiònics transporten la forma aniònica de l'amino àcid i els aniònics la forma catiònica).

Tipus de Transportador	Referència
Neutre (èters corona, calixarens...)	61-64
Catiònics (amina...)	65-66
Aniònics (derivats d'àcids carboxílics, fosfòric o sulfosuccinats)	67-77
Complexes Metàl·lics	21,78-86

D'altra banda, i quan al transport i separació de molècules neutres, s'han realitzat investigacions que es basen en el transport de cations en forma de complexos o molècules neutres. Per òsmosi inversa i ultrafiltració (nanofiltraió) amb mòduls en espiral, s'han desenvolupat sistemes de separació de sals inorgàniques i compostos orgànics ionitzables mitjançant la tècnica de membranes líquides, fent servir molècules carregades negativament com agents transportadors ⁸⁷. En aquest sistema, el transport de fenol i dels àcids làctic i propiònic ha estat estudiat, de manera que a mida que augmenta el pH de la fase de càrrega per sobre dels pK_a corresponents, es formen majoritàriament les formes aniòniques respectives (fenolat, lactat i propionat) disminuint a l'hora el seu transport. També existeixen exemples de transport d'àcid làctic en membranes líquides d'emulsió ⁸⁸ i suportades ⁸⁹. En la mateixa línia, existeixen treballs sobre el transport d'àcids carboxílics per a la preconcentració i posterior determinació amb mètodes cromatogràfics ⁹⁰ o d'àcids dicarboxílics, que volen imitar els processos de transport de protons dintre les membranes cel·lulars en la síntesi del ATP ⁹¹. També s'han aconseguit dissenyar sistemes de MLS pel transport de biomolècules neutres, com per exemple la urea amb reacció d'extracció amb macrocicles per encapsulació en aquests ^{92,93}.

Un altre tipus de separació ben diferenciat és la separació de molècules enantiomèriques, que descrivim a continuació.

1.7. TRANSPORT I SEPARACIÓ D'ENANTIÒMERS AMB MEMBRANES

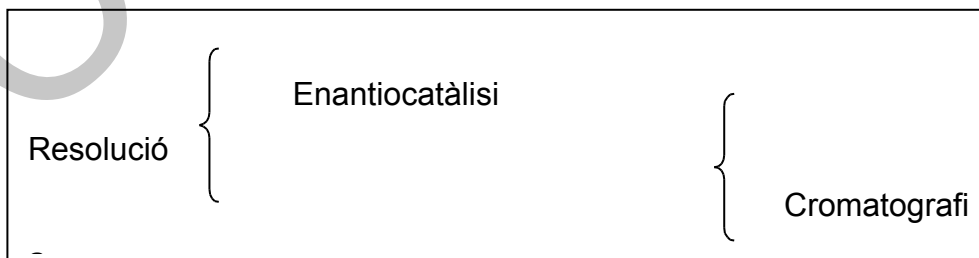
El factor de simetria classifica a les molècules amb la mateixa fórmula molecular (isòmers) però amb una estructura espacial diferent com a estereoisòmers. L'estereoisomeria es presenta quan en una molècula hi ha un o més centres de quiralitat: hèlixs, plans quirals, quiralitat axial o torsional, o asimetria topològica ⁹⁴. D'estereoisòmers en podem distingir de dos tipus: els enantiòmers i els diastereòmers. Els primers són la imatge

especular l'un de l'altre, mentre que els segons es defineixen per no ser enantiòmers ⁹⁵. Són diverses i molt importants les diferències que aquesta disposició espacial produeix donat que l'activitat biològica és sensible a aquesta disposició, tal que en la majoria de casos és necessària la separació i/o purificació d'un dels enantiòmers per al seu ús farmacològic, agrícola o alimentari.

Són dos els mètodes bàsics utilitzats actualment a la indústria per a obtenir compostos enantiomèricament purs ^{96,97}, la síntesi asimètrica i la resolució. La primera hauria de ser la més rendible econòmicament, donat que tots els reactius haurien d'acabar donant l'enantiòmer desitjat. Ara bé, després de sospesar tots els paràmetres que hi intervenen (cost dels catalitzadors, la seva eficiència, les condicions de treball...) no sempre és la millor opció ⁹⁸.

Per a la resolució podem distingir dos tipus, l'enantiocatàlisi (o catàlisi enzimàtica), on un dels enantiòmers és generat o destruït per processos biològics, o les tècniques de separació. D'aquestes en podem anomenar les més emprades, la cromatografia majoritàriament i les separacions amb membranes. Els mètodes cromatogràfics es fonamenten en la presència d'un selector quiral, bé a la fase mòbil, bé a la fase estacionària. L'extensa gamma de mètodes cromatogràfics preparatius desenvolupats complementen i competeixen amb la catàlisi enzimàtica.

Hi ha dues aproximacions per a la separació d'enantiòmers amb membranes: La separació amb membranes enantioselectives o l'ús de membranes en processos enantioselectius. Els processos assistits per



membranes poden ser de diferents tipus: el fraccionament entre un líquid i una membrana^{99,100}, la ultrafiltració de micel·les¹⁰¹ o la resolució cinètica.

Membranes enantioselectives

Aquestes membranes són, normalment, de dos tipus: membranes líquides o sòlides de tipus compost. Aquestes segones consten d'un suport porós no selectiu amb un recobriment prim d'un polímer enantioselectiu. Aquesta capa prima pot estar constituïda bé per un polímer quiral o bé per un polímer amb grups funcionals quirals. La selectivitat ve determinada per les interaccions enantioespecífiques entre l'isòmer i la capa superficial de la membrana, resultant "dissolt" selectivament en la membrana un dels dos enantiòmers. Els polímers que se solen fer servir són: polisacàrids^{102,103}, polímers propílics^{104,105}, poliaminoàcids¹⁰⁶, derivats del poliacetilè¹⁰⁷ o d'altres tipus¹⁰⁸.

Una altra aproximació, com hem enunciat, consisteix en la impregnació dels porus d'un suport polimèric amb un compost quiral en solució¹⁰⁹⁻¹¹⁴. Podem incorporar un dissolvent pròpiament quiral o bé un compost quiral dissolt en un dissolvent apropiat, de manera que aquest actuï com a transportador, interaccionant selectivament amb un dels dos enantiòmers a la interfase amb la solució de càrrega i transportant-lo a través de la membrana fins a la fase receptora. Per a poder fer-lo servir, cal que aquest compost quiral compleixi amb les característiques ja enumerades pels altres tipus d'agents transportadors emprats en membranes líquides.

Existeixen una sèrie de problemes en l'ús d'aquestes configuracions de MLS. El primer és intrínsec a la separació, doncs, a mesura que la solució de càrrega és va diluint en un dels enantiòmers (que es va transportant cap a la fase receptora a través de la membrana), el pas de l'altre enantiòmer es veu afavorit, doncs el seu gradient de concentració entre les fases aquoses

és major que pel primer. D'aquesta manera, l'excés enantiomèric (%EE, equació 3) es va reduint a mesura que avança la separació.

$$\%EE = \frac{[L - D]}{[L + D]} 100 \quad (\text{Equació 3})$$

Aquest fet es produeix donat que la diferencia d'afinitat entre els enantiòmers i el transportador no és gaire gran i l'increment de la concentració relativa del menys afavorit en genera un gradient electroquímic major.

El segon que cal destacar té l'origen en la necessitat de fer diferents passos o etapes de separació per a aconseguir pureses superiors al 99%, pel que els esquemes de separació esdevenen relativament complicats i cars.

Tenint en compte els antecedents anteriorment exposats, la finalitat del present projecte és la recerca de nous sistemes de membrana capaços de transportar selectivament tant espècies aniòniques com neutres, determinant propietats innovadores del procés de separació. Els objectius proposats pel desenvolupament d'aquest projecte han estat els següents:

- Desenvolupament del concepte d'afinitat metàl·lica en ML mitjançant l'ús d'un complex metàl·lic com agent transportador d'espècies tant inorgàniques (nitrits) com orgàniques (amino àcids).
- Immobilització d'un bescanviador iònic en una membrana compost activada (MCA) per a la separació d'amino àcids.
- Separació enantiomèrica en ML mitjançant la immobilització d'un transportador quirals en una membrana líquida.

1.8. BIBLIOGRAFIA

- 1 C.J KING, "Procesos de separación" Editorial Reverté S.A., 1980
- 2 M. VALCÁRCEL I A. GOMEZ-HENS, "Técnicas Analíticas de Separación". Editorial Reverté, S.A. 1990
- 3 N.N. LI (Ed) "Recent Developments in Separation Science" Vol II, CRC Press 1972
- 4 J. CALVIN GIDDINGS; "Unified Separation Science"; Wiley-Interscience Public. John Wiley & Sons, Inc., 1991
- 5 E.W.BERG, "Physical & Chemical Methods of Separation" McGraw Hill Inc. 1963
- 6 J.A DEAN, "Chemical Separation Methods" Van Nostrand Reinhold Co. 1969
- 7 W.S. HO, K.K. SIRKAR, (Ed.); "Membrane Handbook", Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 1992.
- 8 K. SCOTT, "Handbook of Industrial Membranes", Elsevier Advanced Technology, Oxford, UK, 1995.
- 9 H. STRATHMANN, Economical Evaluation of the Membrane Technology, "Future Industrial Prospects of Membrane Processes" (ed. L. Cecille, J.C. Toussant), Elsevier Applied Science (comision of European Communities) 1989
- 10 M. MULDER, "Basic Principles of Membrane Technology", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1991.
- 11 R.B. GENNIS, "Biomembranes: Molecular Structure and Function", Springer-Verlag, USA, 1989
- 12 R.R.C. NEW, (Ed); "Liposomes. A practical Approach", IRL Press (at Oxford University Press), UK, 1990
- 13 T. ARAKI, H. TSUKUBE, "Liquid Membranes: Chemical Applications", CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1990.
- 14 R.M. IZATT, J.D. LAMB, R.L. BRUENING, Separ. Sci. Technol. 23 (1988) 1645
- 15 L.L. KEMENA, R.D. NOBLE, N.J. KEMP, J.Membrane. Sci. 15 (1983) 259
- 16 A. AAGAARD, G. GILDERSON, C.M. GOMES, M. TEIXEIRA, P. BRZEZINSKI, Biochemistry 38(1999) 10032
- 17 E.M. CÉSPEDES, I. HERNÁNDEZ, N. LLÓPIZ, Rev. Cubana Invest. Biomed. 15 (1996) 2
- 18 G. WU, S.M. MORRIS, Biochem. J., 336 (1998) 1
- 19 P.K. WARME, R.S.MORGAN, J. Mol. Biol. 118 (1978) 289
- 20 S.K. BURLEY, G.A. PRESTO, Science 229 (1985) 23
- 21 K. MARUYAMA, H. TSUKUBE, T. ARAKI, J. Am. Chem. Soc., 104 (1982) 5197
- 22 Metalloprotein Structure and Design Group: Main Page Recent PDBs entries, http://www.scripps.edu/research/metallo/pdb_entries/recent_pdb.html, entrada 3nos.pdb. 11-febrer-2000
- 23 C. PALET, M. MUÑOZ, S. DAUNERT, L. BACHAS, M. VALIENTE, Anal. Chem., 65 (1993) 1533
- 24 I.H.A. BADR, M.E. MEYERHOFF, S.S.M. HASSAN, Anal. Chem. 67 (1995) 2613
- 25 C. DEMUTH, U.E. SPICHIGER, Anal. Chim. Acta, 355 (1997) 259
- 26 E. MALINOWSKA, J.NIEDZIOLKA, M.E.MEYERHOFF, Anal. Chim. Acta 432 (2001) 67
- 27 A.J.B. KEMPERMAN, Book of Abstracts EUROMEMBRANE '99 volume 1, Keynote lecture J-01, 139
- 28 C. FABIANI, M. MERIOGIOLA, G. SCIBONA, A.M. CASTAGNOLA, J. Membrane Sci. , 30 (1987) 97
- 29 P.R. DANESI, L. REICHLEY-YINGER, P.G. RICKERT, J. Membrane. Sci., 31 (1987) 117
- 30 A.M. NEPLEMBROEK, D. BARGEMAN, C.A. SMOLDERS, J. Membrane. Sci. , 67 (1992) 121
- 31 A.M. NEPLEMBROEK, D. BARGEMAN, C.A. SMOLDERS, J. Membrane Sci., 67 (1992) 133
- 32 J.F. DOLZOL, J. CASAS, A. SASTRE, J. Membrane Sci. 82 (1993) 237
- 33 J.D. WAY, R.D. NOBLE, B.R. BATEMAN, Selection of Supports for Immobilized Liquid Membranes. "Material Science of Synthetic Membranes". ed. Lloyd, D.L., ACS Symposium Series nº 269, . 1985
- 34 R. MOLINARI, E. DRIOLI, G. PANTANO, Separ. Sci. Technol. 24 (1989) 1015
- 35 P. LACAN, C. GUIZARD, P LeGALL, D. WTTLLING, L. COT.; J. Membrane Sci. , 100 (1995) 99
- 36 A.M. NEPLEMBROEK, D. BARGEMAN, C.A. SMOLDERS, J. Membrane Sci., 67 (1992) 149

- 37 A.J.B. KEMPERMAN, H.H.M. ROLEVINK, D. BARGEMAN, T.H. VAN DER BOOMGARD, H. STRATHMANN, *J. Membrane Sci.* 138 (1998) 43
- 38 Y. WANG, Y.S. , THIO, F.M. DOYLE, *J. Membrane Sci.* 147 (1998) 109
- 39 M.C. WIJERS, M. JIN, M. WESSLING, H. STRATHMANN, *J. Membrane Sci.* 147 (1998) 117
- 40 D. LEVIN, L. BROMBERG, *J. Appl. Polym. Sci.*, 48 (1993) 335
- 41 L. BROMBERG, D. LEVIN, O. KEDEM, *J. Membrane Sci.*, 71 (1992) 41
- 42 M.F. PAUGAM, J. BUFFLE, *J. Membrane Sci.* 147 (1998) 207
- 43 T.A. MUNRO, B.D. SMITH, *Chem. Commun.* (1997) 2167
- 44 J.A. RIGGS, B.D. SMITH, *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (1997) 2765
- 45 R. GARCIA, "New materials for Lanthanids Separation Techniques. Activated Polimeric membranes and inorgànic materials for chromatography", Ph.D. thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, 1995
- 46 M. MUÑOZ, M. OLEINIKOVA, R. GARCIA, M. VALIENTE, Procedimiento para la Obtencion de Membranas Compuestas para el Transporte de Especies Químicas. Inscriptió de Patent 200000536 (2000)
- 47 T. GUMI, M. OLEINIKOVA, C. PALET, M. VALIENTE, M. MUÑOZ, *Anal. Chim. Acta*, 337 (1997) 183
- 48 M. OLEINIKOVA, C. GONZALEZ, M. VALIENTE, M. MUÑOZ, *Polyhedron*, 18 (1999) 3353
- 49 J. BENAVENTE, M. OLEINIKOVA, M. MUÑOZ, M., VALIENTE, *J. Electroanal. Chem.*, 451 (1998) 173
- 50 J.H. MOORE, R.S. SCHECHTER, *Nature* 222 (1969) 476
- 51 R.M. IZATT, M.B. JONES, J.D. LAMB, J.S. BRADSHAW, J.J. CHRISTENSEN, *J. Membrane Sci.*, 26 (1986) 241
- 52 E. BACON, M. KIRCH, *J. Membrane Sci.*, 32 (1987) 159
- 53 A. OHKI, S. MATSUNO, T. TAKEDA, M. TAKAGI, K. UENO, *Separ. Sci. Technol.*, 17 (1982), 1237
- 54 A. OHKI, S. MATSUNO, T. TAKEDA, M. TAKAGI, K. UENO, *J. Membrane Sci.*, 15 (1983) 231
- 55 R.M. IZATT, R.L. BRUENING, J.J. CHRISTENSEN, *ACS Symp. Ser.*, 347 (1987), 98
- 56 R.M. IZATT, G.C. LINDH, R.L. BRUENING, P. HUSZTHY, C.W. McDANIEL, J.S. BRADSHAW, J.J. CHRISTENSEN, *Anal. Chem.* 60 (1988) 1694
- 57 R. CHIARIZIA, *J. Membrane Sci.*, 55 (1991), 39
- 58 R. CHIARIZIA, *J. Membrane Sci.*, 55 (1991), 65
- 59 L.A. ULRICK, K.D. LOKKESMOE, M.M. KREEVOY, *J. Phys. Chem.* 86 (1982) 3651
- 60 S. TSUCHIYA, S., MANABU, *J. Phys. Chem.* 98 (1994) 1682
- 61 H. TSUKUBE, *Tetrahedron Lett.*, 24 (1983) 1519
- 62 S. CHANG, H. HWANG, H. SON, J. YOUK, Y.S. KANG, *Chem. Commun.*, (1991) 0/03793A
- 63 M.T. REETZ, J. HUFF, J. RUDOLPH, K. TÖLLNER, A. DEEGE, R. GODDARD, *J. Am. Chem. Soc.*, 116 (1994) 11588
- 64 S. INOKUMA, S. SAKAI, T. YAMAMOTO, J. NISHIMURA, *J. Membrane Sci.*, 97 (1994) 175
- 65 J.P. BEHR, J.M. LEHN, *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (1973) 6108
- 66 R. MOLINARI, L. DE BARTOLO, E. DRIOLI, *J. Membrane Sci.*, 73 (1992) 203
- 67 C.V. UGLEA, C.V. ZANOAGA, *J. Membrane Sci.*, 47 (1989) 285
- 68 S. TAKESHIMA, S. WADA, H. SAKURAI, *Separ. Sci. Tech.* 29 (1994) 2117
- 69 S. FURUSHAKI, K. KISHI, *J. Chem. Eng Jpn.*, 23 (1990) 91
- 70 C.V. UGLEA, C.V. ZANOAGA, *J. Membrane Sci.*, 65 (1992) 65
- 71 M.D. HOSSAIN, R.A. STANLEY, *Separ. Sci. Tech.* 30 (1995) 3801
- 72 M. TERAMOTO, T. YAMASHIMIRO, A. INOUE, A. YAMAMOTO, H. MTSUYAMA, Y. MIYAKE, *J. Membrane Sci.*, 58 (1991) 11
- 73 P. WIECZOREK, J.Å. JÖNSSON, L. MATHIASON, *Anal. Chim. Acta*, 346 (1997) 191
- 74 H. ITOH, M.P. THIEN, T.A. HATTON, D.I.C. WANG, *J. Membrane Sci.*, 51 (1990) 309
- 75 H. ITOH, H., M.P. THIEN, T.A. HATTON, D.I.C. WANG, *Biotechnol. Bioeng.*, 35 (1990) 853
- 76 S.A. HONG, H.J. CHOI, S.W. NAM, *J. Membrane Sci.*, 70 (1992) 225
- 77 S.A. ONG, S.W. NAM, *J. Membrane Sci.*, 86 (1994) 181
- 78 H. TSUKUBE, *Angew. Chem. Int. Edit.* 21 (1982) 304
- 79 P. SCRIMIN, U. TONELLATO, N. ZANTA, *Tetrahedron Lett.*, 39 (1988) 4967
- 80 H. SUKUBE, J. UENISHI, H. HIGAKI, K. KIKKAWA, *Chem. Lett.* (1992) 2307
- 81 I. WILLNER, Y. EICHEN, S. SUSSAN, B. SHOHAM, *New J. Chem.* 15 (1991) 879

- 82 Y. AOYAMA, A. YAMAGISHI, M. ASAGAWA, H. TOI, H. OGOSHI, J. Am. Chem. Soc., 110 (1988) 4076
- 83 H. TSUKUBE, J. UENISHI, T. KANATANI, H. ITOH, O. YONEMITSU, Chem. Commun., 5/06691C (1996) 477
- 84 H. TSUKUBE, J. Chem. Soc. Perkin T. I, (1983) 29
- 85 Y. AOYAMA, M. ASAKAWA, A. YAMAGISHI, H. TOI, H. OGOSHI, J. Am. Chem. Soc. ,112 (1990) 3145
- 86 H. TSUKUBE, Chem. Commun., (1983) 617
- 87 D. BHATTACHARJEE, R. ADAMS, M. WILLIAMS, Ed. D. Allan Butterfield "Biological and Synthetic Membranes" vol.292, Alan R.Liss, Inc. N.Y. (EUA) 1989
- 88 Y.S. MOK, W.K. LEE, Separ. Sci. Technol., 29 (1994) 743
- 89 T. SIRMAN, L. PYLE, A.S. GRANDISON, Biochem. Soc. Trans. 19 (1991) 274S
- 90 Y. SHEN, L. GRÖNBERG, J.Å. JÖNSSON, Anal. Chim. Acta 292 (1994) 31
- 91 I.J. COLTON, J. KAZLAUSKAS, J.Org. Chem. 59 (1994) 3626
- 92 W.F. Van STRAATEN-NIJENHUIS, A.R. Van DOORN, A.M. REICHWEIN, F. De JONG, D.N. REINHOUDT, J. Am. Chem. Soc., 113 (1991) 3607
- 93 W.F. Van STRAATEN-NIJENHUIS, A.R. Van DOORN, A.M., REICHWEIN, F. De JONG, D.N. REINHOUDT, J. Org. Chem., 58 (1993), 2265
- 94 S. AHUJA, "Chiral Separations. Applications and Technology", Capítol 1. Editor Ahuja, S., ACS, Washington DC, 1997
- 95 R.T. MORRISON, R.N. BOYD, "Química Orgánica". Fondo Educativo Interamericano, 1976
- 96 J. KAMPHUIS, W.H.J. BOESTEN, B. KAPTEIN, H.F.M. HERMES, T.SONKE, Q.B. BROXTERMAN, W.J.J.VAN DEN TWEEL, H.E.SCHOEMAKER, "Chirality in Industry I", Capítol 8, Editors: COLLINS, A.N., SHELDRAKE, G.N., GROSBY, J., J. Wiley and Son 1992
- 97 J.T.F. KEURENTJES, F.J.M. VOERMANS, "Chirality in Industry II", Capítols 1 i 8, Editors: COLLINS, A.N., SHELDRAKE, G.N., GROSBY, J., J. Wiley and Son 1997
- 98 S.C. STINSON, Chem. Eng. News 78 (2000) 59
- 99 J.T.F. KEURENTJES, L.J.W.M. NABUURS, E.A. VEGTER, J. Membrane Sci. 113 (1996) 351
- 100 K. ABE, M. GOTO, F. NAKASHIO, Separ. Sci. Technol. 32 (1997) 1921
- 101 S. PONCET, J. RANDON, J.L. ROCCA, Separ. Sci. Technol. 32 (1997) 2029
- 102 I. MALINOWSKA, J.K. RÓZYLO, Biomed. Chromatogr. 11(1997) 272
- 103 E. YAMASHIMA, J. NOGUCHI, Y. OKAMOTO, Macromolecules 28 (1995) 8368
- 104 T. AOKI, K-I. SHINOHARA, E. OIKAWA, Makromol. Chem., Rapid Commun. 13 (1992) 565
- 105 T. AOKI, K-I. SHINOHARA, T. KANEKO, E. OIKAWA, Macromolecules 29 (1996) 4192
- 106 T. AOKI, S. TOMIZAWA, E.J. OIKAWA, Membrane Sci. 99 (1995) 117
- 107 T.AOKI, M. KOKAI, K-I. SHINOHARA, E. OIKAWA, Chem. Lett. (1993) 2009
- 108 T.AOKI, M. OHSHIMA, K-I. SHINOHARA, T. KANEKO, Polymer 38 (1997) 235
- 109 L.J. BRICE, W.H. PIRKLE, "Chiral Separations. Applications and Technology", Capítol 11, Editor Ahuja, S., ACS, Washington DC, 1997
- 110 W.H. PIRKLE, W.E. BOWEN, Tetrahedron-Asymmetr. 5 (1994) 773
- 111 D.W. ARMSTRONG, H.L. LIN, Anal. Chem. 59 (1987) 2237
- 112 T. YAMAGUCHI, K. NISHIMURA, T. SHINBO, M. SUGIURA, Bioelectroch. Bioener. 20 (1998) 109
- 113 T. YAMAGUCHI, K. NISHIMURA, T. SHINBO, Chem. Lett. (1985) 1549
- 114 P. DZYGIEL, P. WIECZOREK, J.Å. JÖNSSON, M. MILEWSKA, P. KAFARSKI, Tetrahedron 55 (1999) 9923

Centro GTS

Capítol 2
Metodologia i
Discussió Global de Resultats

1. METODOLOGIA I DISCUSSIÓ GLOBAL DE RESULTATS

La metodologia emprada en el present treball amb membranes líquides té característiques específiques per cada cas, tot i seguint tres etapes bàsiques:

- Selecció i optimització del mètode de determinació dels analits per a monitoritzar el seu transport a través de Membranes Líquides (ML).
- Caracterització del sistema químic de separació: proves d'extracció amb dissolvent per determinar el comportament químic i les possibilitats de transport del sistema en estudi.
- Caracterització del transport dels analits a través de membranes.

En el nostre cas, hem utilitzat diferents sistemes químics amb l'objectiu de trobar noves formes de millorar la selectivitat del transport a través d'una membrana líquida. Les característiques de cada sistema, el coneixement previ del mateix, així com l'evolució de l'estudi han marcat el mètode emprat en cada cas.

Procedirem a partir d'ara a descriure la metodologia que s'ha emprat de forma general en aquest treball, tot fent esment a cadascun dels casos descrits als annexos i realitzant una discussió resumida i global dels resultats que aquesta metodologia ens ha permès obtenir.

Els estudis de separació quiral van ser duts a terme conjuntament amb la Universitat de Roma, dins del marc de la col·laboració establerta en el treball descrit a l'annex V.

1.1. TÈCNIQUES D'ANÀLISI

El primer pas en tots els estudis de transport a través de membranes és el desenvolupament o adequació d'un mètode d'anàlisi, o simplement la verificació de la idoneïtat d'una determinada metodologia d'anàlisi per al seguiment dels analits objecte d'estudi. Si bé la nostra intenció no era

desenvolupar nous mètodes d'anàlisi, en molts casos vam haver de fer modificacions en els mètodes existents per a poder dur a terme les determinacions corresponents.

Les tècniques emprades han estat diverses al llarg dels diferents estudis de la present memòria, en funció de les característiques de l'analit, de la matriu en que es trobava i de la informació final requerida. Bàsicament han estat mètodes per a la determinació d'espècies no metàl·liques: nitrats, nitrats, sulfats, clorurs, diferents amino àcids alifàtics i aromàtics, els enantiòmers de l'àcid mandèlic... però també cations metàl·lics com el pal·ladi (II) o el cobalt (II).

1.1.1. Determinacions de metalls

La determinació dels metalls (pal·ladi bàsicament en el nostre cas) es realitzava per a quantificar les pèrdues de transportador (format per un compost organometàl·lic) des de la fase orgànica cap a les fases aquoses en els experiments de membrana. També es determinava la càrrega de la fase orgànica amb el centre metàl·lic, en aquells casos en que nosaltres mateixos preparàvem el compost organometàl·lic que actuava com a agent transportador. Així, es va procedir a realitzar els experiments dels annexos I a III, que disposaven d'un transportador amb un centre actiu metàl·lic (Pd (II) i Co(II)). Per a dur-les a terme es van emprar tant l'espectroscòpia d'absorció atòmica amb flama (AAS) com l'espectroscòpia d'emissió òptica per plasma acoblat inductivament (ICP-OES). La determinació en totes dues tècniques atòmiques es feia per interpolació sobre una recta de calibrat preparada amb patrons del metall en el mateix medi de les mostres i mesurada abans de cada anàlisi.

1.1.2. Determinacions d'espècies no metàl·liques

Han sigut diverses les tècniques que hem hagut d'emprar. L'ús d'una o altra tècnica va dependre de les necessitats de cada moment. Si bé en alguns casos es veia clarament la possibilitat de dur a terme anàlisis ràpides i senzilles per mètodes directes, com l'espectrofotometria UV-visible, en d'altres les interferències degudes a la matriu o a d'altres analits presents (que havíem de determinar o evitar) han fet necessari l'ús de mètodes de separació.

Espectrofotometria UV-Vis

L'ús d'aquesta tècnica ens ha permès la determinació directa i ràpida d'alguns analits, sempre que la matriu ho permetia (bàsicament la determinacions d'amino àcids no mesclats (annex IV) i d'àcid mandèlic (annex V). Però també ens ha servit per a seguir l'estabilitat d'algunes membranes líquides (annex I) mitjançant l'enregistrament dels espectres de l'agent transportador a la fase orgànica.

Les determinacions van realitzar-se en un equip d'escombrat de doble feix amb cubetes de quars, prenent com a solució per la cel·la de referència la matriu on es trobava la mostra. Previ a la quantificació de les mostres es mesuraven els espectres de les mostres en el rang de longituds d'ona adient per a determinar la presència de possibles interferències. Aquestes interferències provenien bàsicament de la solubilitat dels dissolvents emprats a la fase de membrana i que en molts casos van impedir l'ús d'aquesta tècnica per al seguiment de l'analit que transportàvem (com per exemple als annexos II i III). Un cop feta aquesta comprovació, es procedia a la mesura dels patrons per a la construcció de la corba de calibrat i seguidament a la mesura de les mostres que es quantificaven per interpolació en aquesta recta.

Fluorescència

Les determinacions per fluorescència van ser aplicades a mostres d'amino àcids (annex III). Per a realitzar-les va ser necessària la derivatització dels amino àcids amb Naftalè-dicarboxaldèhid en presència de cianurs tal i com es troba detallat a l'apartat de metodologia de l'annex III. Com en d'altres casos, vam partir d'un mètode d'anàlisi descrit a la bibliografia ¹, però vam haver de comprovar l'efecte del medi en la derivatització, que en aquest cas va resultar ser nul i que va permetre la quantificació a partir dels mateixos patrons. D'altra banda, es va determinar el temps necessari per a que la reacció tingués lloc, així com el temps d'estabilitat de les solucions un cop derivatitzades. Un vegada optimitzades les condicions de derivatització es van aplicar a la mesura dels patrons i de les mostres. La quantificació es va dur a terme per interpolació en rectes de calibrat mesurades amb patrons derivatitzats i mesurats al mateix temps que les mostres.

Anàlisi per Injecció en Flux (FIA)

El sistema FIA emprat ens permet la derivatització dels nitrits i la seva determinació amb un espectrofotòmetre UV-Vis en línia. Com en tots el casos, la determinació va ser optimitzada i la quantificació realitzada per interpolació en la recta de calibrat trobada. Així mateix, periòdicament es realitzava la mesura de la solució inicial de càrrega per a controlar qualsevol deriva o degradació de les mostres.

Electroforesi capil·lar

En els casos en que necessitàvem diferenciar entre mesclades d'analits o en aquells casos en que el medi no permetia la determinació directa, es va recórrer a una tècnica de separació, aquest és el cas de l'electroforesi capil·lar. Aquesta tècnica va ser emprada per a la determinació d'anions inorgànics com el nitrit, el nitrat, el clorur, el sulfat, el fosfat (annex I),

diferents amino àcids aromàtics i alifàtics (annexos II, III i IV) i la separació dels dos enantiòmers de l'àcid mandèlic o de la mescla racèmica (annex V). Tots els casos van ser realitzats per electroforesi capil·lar en zona (CZE). En totes les determinacions es va emprar un detector UV-Vis de diodes en línia. En el cas dels anions inorgànics la seva nul·la o petita absorció va fer necessari l'ús d'una determinació indirecta, emprant un tampó de separació que absorbeix a l'ultraviolat. En el cas de les determinacions d'amino àcids, aquestes van ser fetes per determinació directa els amino àcids aromàtics i per determinació indirecta els no aromàtics. La separació dels enantiòmers de l'àcid mandèlic es va dur a terme emprant una ciclodextrina com a selector quiral. Tots els mètodes de separació van ser optimitzats a partir de mètodes establerts a la bibliografia, com es recullen als annexos (I-V).

1.2. MOSTREIG

En tots els casos, per poder seguir els experiments de transport a través de membrana cal la presa de mostra, tant a la fase de càrrega com a la receptora, al llarg del temps. En el cas dels NO_2^- (annex I), on es van realitzar les determinacions en continu mitjançant un sistema d'anàlisi FIA, la mostra és directament inserida al cabal portador per ser derivatitzat i detectat. En la resta de casos, el volum de mostreig depèn de la tècnica o tècniques que fem per a la determinació dels analits. En les determinacions de nitrits amb el sistema FIA, cada replicat consumeix uns quants microlitres de mostra que són reemplaçats pels mateixos microlitres de solució portadora (aigua en el nostre cas). En les determinacions amb electroforesi capil·lar (CE) només ens calen uns 200 microlitres per a realitzar diversos replicats mentre que les tècniques espectrofotomètriques directes, UV-Vis, Fluorescència, AAS i ICP-OES necessiten uns mil·lilitres. La presa de mostra es realitza bé amb micropipeta o bé amb els mateixos tubs de tefló del muntatge experimental connectats a una bomba

peristàtica. Les mostres es guardaven en vials de vidre o en vials de plàstic en el cas de la CE des d'on directament es fa la injecció de la mostra a l'instrument.

1.3. TRACTAMENT DE LES DADES

En els experiments de distribució líquid-líquid determinem la distribució de l'analit tot quantificant el seu contingut a les solucions aquoses inicial i final després d'arribar a l'equilibri entre les fases. Així mateix, es determinen les concentracions de totes aquelles espècies presents de les quals necessitem conèixer el seu comportament. Les dades obtingudes les solem representar en funció del percentatge d'extracció (%E) o del coeficient de distribució (D). El primer correspon al quocient entre la concentració final en fase orgànica i la inicial en fase aquosa en format percentual, mentre que el segon és el quocient entre la concentració final a la fase orgànica i la concentració final a la fase aquosa.

$$\%E = \frac{[A]_{\text{brg}}}{[A]_{\text{aq}_0}} \cdot 100 \quad D = \frac{[A]_{\text{brg}}}{[A]_{\text{aq}}} \quad (\text{Equacions 4 i 5})$$

Als experiments de membrana quantifiquem les concentracions d'analit de les solucions de càrrega i receptora al llarg del temps que dura l'experiment, amb la periodicitat adient per cada cas. Aquestes dades són transformades en el coeficient de permeabilitat, P, que es un flux normalitzat per la concentració inicial d'analit emprada ², i que es determina aplicant l'equació 6 a les dades experimentals.

$$-\ln \frac{C}{C_0} = \frac{S}{V} P t \quad (\text{Equació 6})$$

On C_0 i C són els valors de concentració de l'analit a la dissolució carregada al temps zero i t respectivament, V el volum de la dissolució carregada i S l'àrea efectiva de la membrana líquida (corregida pel valor de la porositat, si s'escau). De l'equació (6) i de la representació del $-\ln(C/C_0)$ front el temps

tenim que del pendent de la recta representada podem determinar el coeficient de permeabilitat, P (un cop corregit per l'àrea i el volum de solució), que és una mesura de la velocitat del transport a través de la membrana.

Als experiments de membrana realitzats amb la cel·la dissenyada al grup de la Universitat de Lund (Figura 3) el tractament de les dades es va realitzar de forma diferent. D'una banda es va calcular el paràmetre anomenat eficiència d'extracció (E), que es defineix com el quocient dels mols que es troben a la solució receptora respecte els mols que hem posat a la fase donadora, com indica l'equació 7:

$$E = \frac{C_R V_R}{C_D V_D} \quad (\text{Equació 7})$$

On C correspon al valor de la concentració, V al volum i els subíndex R i D a les fases receptora i donadora respectivament. També hem fet servir la relació de concentració a la fase receptora (C_R) respecte a de càrrega (C_D), que anomenem factor d'enriquiment i que hem emprat per caracteritzar la preconcentració aconseguida amb aquest sistema.

$$\text{enriquiment} = \frac{C_R}{C_D} \quad (\text{Equació 8})$$

En el cas de les separacions quirals, per a representar la selectivitat del sistema de membrana hem emprat el factor de separació (α), que mostra la relació del flux d'un enantiòmer respecte a l'altre. Per a calcular aquest flux hem fet servir el pendent inicial de la corba concentració vs. temps dels experiments, que en els instants inicials és lineal. Un altre paràmetre emprat a les separacions quirals i que nosaltres hem fet servir es l'anomenat excés enantiomèric (%ee), que correspon al quocient de la diferència de concentracions dels dos enantiòmers respecte a la seva suma (equació 9) a la fase receptora.

$$\% ee = \frac{|[D]_R - [L]_R|}{[D]_R + [L]_R} \cdot 100 \quad (\text{Equació 9})$$

On D es refereix a l'enantiòmer D, L a la seva imatge especular i el subíndex R a que son concentracions de la fase receptora.

1.4. EXTRACCIÓ EN DISSOLVENT

L'extracció en dissolvent o distribució líquid-líquid és el procés bàsic de caracterització de les separacions amb membranes líquides. Així, els fenòmens en membrana líquida es poden correlacionar directament amb els fenòmens d'extracció en dissolvent. Malgrat que els primers tenen lloc en condicions de "no-equilibri", el coneixement de la cinètica i els processos de transferència de massa que tenen lloc en els segons ens permetran entendre i descriure els processos de permeació d'espècies a través de les ML. El tipus d'interacció fisico-químic que es dona entre el nostre analit i el transportador és semblant en els dos casos. Són els aspectes cinètics i la forma en que arribaran a posar-se en contacte les solucions d'analit i de transportador el que canviarà. És per això que s'acostuma a realitzar l'estudi previ d'un sistema de membrana mitjançant extraccions líquid-líquid.

En el nostre cas hem fet servir dos procediments diferents per a realitzar l'estudi d'extracció. D'una banda, hem fet servir els tradicionals tubs d'extracció amb tap (**Figura 1**). Aquests tubs de vidre de 25 cm³ de capacitat (en el nostre cas) són emplenats amb la solució aquosa i amb la solució orgànica que volem assajar, generalment volums iguals. Un cop tancats, les dues fases són posades en contacte en un agitador rotatori, per a aconseguir una bona barreja. Passat el temps establert es para l'agitació, es deixa que les fases se separin bé per si mateixes o bé per centrifugació i les dues fases són recollides per separat per procedir a fer les determinacions necessàries. Aquest procediment ha estat l'emprat en els experiments dels annexos I a III.

D'altra banda, hem emprat un altre sistema per a les extraccions en dues fases. Hem fet servir un vas termostatitzat de 150cm³ de capacitat per a dur a terme l'estudi de distribució líquid-líquid controlant una de les variables químiques en continu (**Figura 1**). Aquesta configuració també ens ha permès determinar les cinètiques d'extracció. Un cop afegides les dues solucions, aquosa i orgànica, iniciem l'agitació turbulenta mitjançant un agitador magnètic. Passat el temps establert es para l'agitació, es deixa separar les dues fases i es realitza la presa de mostra. En cas necessari es continua agitant el sistema prèvia addició d'àcid o base per a ajustar el pH del medi. En els experiments dedicats a la determinació de la cinètica d'extracció, l'agitació no ha estat turbulenta, sinó prou suau com per a no produir alteracions a la interfície entre les fases orgànica i aquosa.

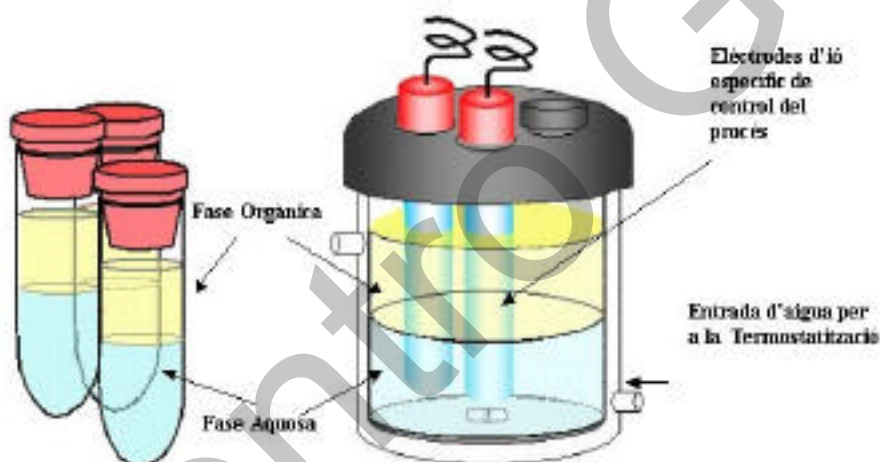


Figura 1.- Representació dels dos procediments emprats per als experiments d'extracció en dissolvent. D'una banda, veiem els tubs d'extracció (esquerra) i d'altra la cel·la termostatitzada (dreta) on podem posar les dues fases i fer el seguiment de pH, o d'alguns ions amb elèctrodes o realitzar la presa de mostra amb la inserció d'una sonda que travessi la fase orgànica (si aquesta es menys densa que l'aigua).

Les condicions dels experiments líquid-líquid depenen del coneixement previ que es tingui del sistema en cada cas. Per exemple, a l'annex I l'estudi

líquid-líquid va ser més extens, donat que es desconeixia totalment el comportament del sistema, i d'altra banda va ser necessari preparar la membrana mitjançant extracció líquid-líquid.

En l'esmentat treball, la primera aproximació realitzada va consistir en la preparació d'un transportador metàl·lic per anions mitjançant l'extracció d'un catió metàl·lic des d'una solució aquosa amb una fase orgànica que contenia un extractant del metall. D'aquesta forma faríem una extracció líquid-líquid per a formar el transportador i un cop format es faria servir aquest en l'extracció o el transport de l'analit. Igualment es realitzaren experiments per determinar la recuperació de l'analit de les fases orgàniques carregades a diferents fases aquoses receptores. D'aquesta forma després de provar diferents complexos de Pd(II) es va triar l'ús d'una solució 34 mM del complex Pd(II)-Cyanex471 (sulfur de tri-isobutilfosfina de Pd(II)) en querosè com a fase membrana, una fase de càrrega 0.217 mM de nitrit en medi acètic-acetat i una solució de clorur sòdic com a medi receptor per als experiments inicials amb membrana. Igualment es va comprovar experimentalment la impossibilitat de fer servir els complexos formats per Pd(II) amb Kelex100 (7-(4-etil-1-metiloctil) quinolein-8-ol), TBP (tributilfosfat) o TTD (1,12-di-2-tienil-2,5,8,11-tetratiododecà) com a transportadors de nitrit. Tot plegat ens permeté identificar les característiques bàsiques que havia de complir el nostre sistema per a emprar-lo en el seu ús en membranes líquides:

- L'analit ha de presentar una afinitat moderada pel centre metàl·lic carregat a la fase orgànica, donat que ha de interaccionar amb ell però la reacció ha de ser reversible.
- El centre metàl·lic ha de mantenir posicions de coordinació per a que la interacció entre el metall i l'analit pugui tenir lloc.
- El complex metàl·lic format ha de ser estable a la fase orgànica.

D'altra banda, vam emprar complexos organometàl·lics comercials, solubles en fase orgànica, com a transportadors d'anions. Concretament vàrem seleccionar complexos organometàl·lics de Pd(II) que havien estat emprats a la bibliografia per a la determinació de nitrit amb elèctrodes selectius d'ions, i dels que existia informació referent a la corresponent interacció, així com complexos similars a aquests amb altres centres metàl·lics, Co(II). Això, juntament amb alguna prova inicial d'extracció en dissolvent per a comprovar la ràpida extracció del nostre analit i a la informació obtinguda a la primera aproximació ens va donar les condicions inicials de treball en ML amb el complex organometàl·lic que millor va funcionar. Aquestes van ser una solució 1.0 mM de BPP-Pd(II) (clorur de *trans*-benzil bis-trifenilfosfina pal·ladi (II)) en cumè com a fase orgànica, una solució 0.217 mM de nitrit en un medi de pH regulat amb β -morfolino-etanosulfonat monohidrat (MES), 50 mM, com a fase de càrrega i una solució de clorur sòdic 0.2 M a pH 11.7 com a medi receptor (el clorur actua com a agent retro-extractant del nitrit en les condicions indicades).

En el cas de l'annex II, el coneixement previ de l'existència de la interacció dels amino àcids amb el catió Pd(II), així com del comportament del complex BPP-Pd(II) fet servir a l'annex I, ens va portar a assajar l'extracció d'un amino àcid a diferents pH per comprovar la possibilitat d'emprar aquest transportador per al nostre propòsit. El primer pas, però, va ser trobar un dissolvent adequat per a l'ús en MLS com per exemple el bis(2-etilhexil) ftalat, també anomenat di-octilftalat (DOFT) que va ser el que millor va dissoldre el complex d'entre els assajats. El diferent comportament observat en les extraccions en funció del pH (1,7 i 10), la rapidesa de l'extracció a pH alt i la pràctica nul·la extracció en absència del transportador ens va permetre iniciar ràpidament els experiments de transport en MLS. Les condicions de les que vam partir van ser: 0.9 mM de BPP-Pd(II) en DOFT

com a fase membrana, una solució de càrrega 0.1 mM de Trp en medi fosfat a pH 10 i una fase receptora 0.1 M en HCl.

A l'annex III, el coneixement del funcionament del sistema adquirit a l'annex II ens va dur a establir unes condicions concretes per als experiments d'extracció. Així es van emprar volums iguals d'una fase orgànica 0.15 mM de BPP-Pd(II) en DOFT i d'una aquosa 0.1 mM d'amino àcid a diferents pH regulats amb tampó fosfat (I=0.1M) des de pH 4 fins pH 12 ó bé amb medi HCl (I=0.1M) per treballar a pH 1. La relació de concentracions entre l'extractant BPP-Pd(II) i l'amino àcid pretenia obtenir extraccions totals per aquells amino àcids extractables. El temps de contacte va ser establert en 4 hores (un cop comprovat que en aquest temps s'assolia l'equilibri). En aquest cas, la finalitat dels experiments era una mica diferent que als casos anteriors, donat que es realitzaven no solament com a pas previ per l'establiment de condicions als experiments de membrana, sinó que tenien un objectiu propi. Es van fer servir els resultats obtinguts per a identificar les causes que diferencien el comportament dels amino àcids estudiats en la seva interacció amb el transportador de Pd(II), com s'explica més endavant a l'apartat d'estudi de la selectivitat en ML (1.5.6).

En el cas de la separació quiral (annex V), primer es van realitzar proves de distribució líquid-líquid per a determinar tant l'extracció com la retro-extracció del nostre analit, l'àcid mandèlic. L'extracció es va realitzar des de solucions 10 mM d'àcid mandèlic i 10mM de HCl. A continuació i emprant la solució orgànica del procés d'extracció anterior (carregada d'àcid mandèlic), es va assajar la re-extracció emprant dues fases receptores diferents, d'una banda aigua i d'altra una solució tamponada a pH 8 amb TRIS-HCl. Així mateix, es van realitzar experiments similars, en absència bé de l'analit, bé del transportador, per caracteritzar el seu comportament per separat. Com es pot apreciar a l'annex V, aquests experiments van permetre comprovar que tant a l'extracció com a la re-extracció l'enantiòmer D de l'àcid mandèlic

roman en major proporció a la fase orgànica que l'enantiòmer L. També ens va permetre veure que el transportador emprat en aquest cas es distribueix apreciablement cap a la fase aquosa en contacte, donada la seva gran solubilitat, tant cap a les solucions de càrrega en el procés d'extracció, com cap a les solucions receptores amb només aigua en el procés de re-extracció. Es va determinar la influència del pH de la solució receptora en l'extracció enantioselectiva de l'àcid mandèlic, tot determinant també la distribució de la cinconidina. Aquest estudi es va realitzar amb la cel·la termostatitzada que es mostra a la **Figura 1**. En aquest cas, s'empra inicialment una fase orgànica 1mM de cinconidina en dodecà-decanol i una fase aquosa 1mM d'àcid D,L-mandèlic a pH bàsic. Es realitzaven addicions d'alíquotes d'àcid per tal d'anar variant el pH de la fase aquosa, i mitjançant l'agitació turbulenta s'assegurava l'establiment de l'equilibri. Es deixaven separar les fases, es mesurava el pH i es prenia la mostra per a la posterior determinació de la concentració dels enantiòmers de l'àcid mandèlic i de la cinconidina que podia haver-se distribuït des de la fase orgànica. Igualment hem realitzat aquests experiments en absència de l'analit o del transportador. D'aquesta forma hem aconseguit tenir en tots el casos punts de la corba de distribució líquid-líquid al llarg de tot el rang de pH desitjat. Dels resultats obtinguts, hem pogut apreciar que la distribució de l'àcid mandèlic cap a la fase orgànica es produeix en absència de transportador (cinconidina), però la diferenciació dels dos enantiòmers és nul·la sense la seva presència. També hem observat que el transportador es perd cap a la fase aquosa de forma molt important a pH relativament àcids (per sota del primer pK_a de la cinconidina, 5.8), però aquesta pèrdua és menor en presència de l'analit, doncs s'estabilitza el corresponent complex a la fase orgànica. Així mateix veiem, que la interacció entre el transportador i l'analit es pot dur a terme bé a la interfase, com atribuïem en els casos anteriors, o

bé a la mateixa fase aquosa de càrrega, donat que bona part del transportador es troba en aquesta fase aquosa.

1.5. ESTUDIS DE MEMBRANES

Un cop tenim la metodologia d'anàlisi i hem trobat, bé experimentalment (extracció líquid-líquid), bé a la literatura, les condicions inicials per a realitzar els experiments de membrana, podem iniciar la caracterització d'aquests sistemes. L'estudi de les membranes líquides acostuma a fer-se sobre les diferents fases en que té lloc el transport: la fase de membrana, la fase de càrrega i la de descàrrega (fase receptora). Els experiments no busquen la optimització del transport, sinó el coneixement de l'efecte de cadascuna d'aquestes fases en el transport. Finalment, comprovem l'existència de transport no facilitat, si el transport és acoblat, així com la selectivitat del nostre sistema.

1.5.1. Procediment de preparació de les membranes

Membranes de volum

Les membranes de volum es preparen per dissolució o dilució del transportador i/o els co-transportadors en la fase orgànica adequada. En el cas de que la dissolució sigui lenta, com és el cas del clorur de benzil-bis-trifenilfosfina pal·ladi (II), ens ajudem del bany d'ultrasons. Un cop dissolt es procedeix a buidar la solució orgànica a la cel·la, juntament amb les fases aquoses, tot evitant la "barreja turbulenta". En el moment d'iniciar-se l'agitació mecànica es considera que comença el procés de separació. De membranes de volum n'hem fet servir en dos formats, un de concèntric i un altre en forma d'H. L'avantatge del segon és la facilitat amb que podem agitar totes dues fases aquoses i la fase orgànica, fet que millora el contacte no turbulent entre les fases aquoses i la orgànica i millora doncs la reproductibilitat dels resultats, respecte al format concèntric. En tots els

casos es treballava en un laboratori termostatitzat (23 °C), per controlar i minimitzar les pèrdues de dissolvent.

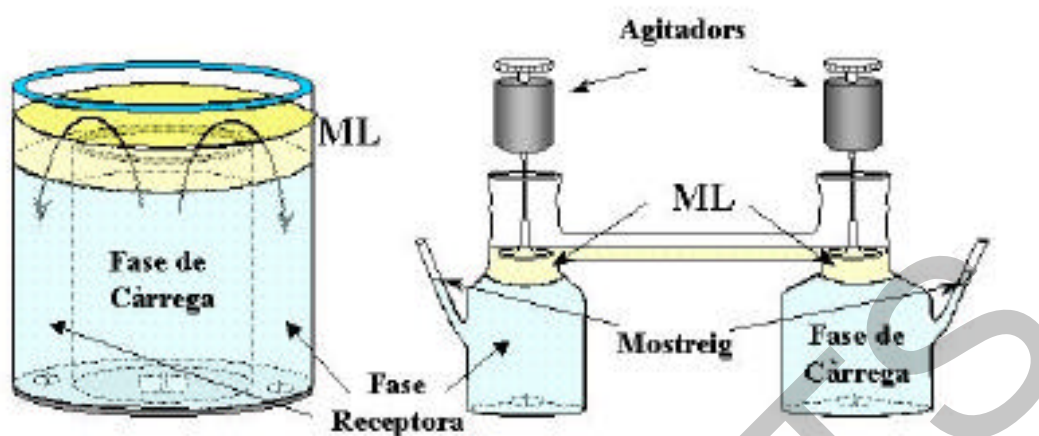


Figura 2.- Representació dels dos formats de ML de volum emprats als experiments. A l'esquerra es troba el format concèntric i a la dreta el format en H o de Lewis modificat.

Membrana suportada

El procediment per a la preparació de la membrana és idèntic a les membranes de volum. La variació es produeix en el moment en que la solució de membrana està llesta. En aquest cas es procedeix a la immersió d'un suport polimèric (PVDF, PE...) en una alíquota de la solució del transportador. En funció de la viscositat del dissolvent, de la similitud de polaritats del suport i el dissolvent, etc., la impregnació del suport serà més o menys ràpida. Per assegurar una impregnació més homogènia i reproducible acostumem a realitzar aquest procés ajudats d'un bany d'ultrasons. D'aquesta forma s'accelera l'entrada del dissolvent i la sortida de l'aire dels porus del suport.

Un cop impregnat, deixem escórrer l'excés de solució que conté el suport i que no es troba retingut als seus porus. Col·loquem el suport dins de la cel·la, bé sigui la cel·la dissenyada al nostre Grup de recerca (Grup de

Tècniques de Separació, GTS), bé la cel·la dissenyada al Grup de Recerca del Professor Jan Åke Jonsson (Lund–Suècia). En el primer model de cel·la (**Figura 3**, Model GTS), on la membrana es col·loca en una finestra rodona que separa els compartiments on aniran les solucions aquoses, seguidament es procedeix a omplir els dos recipients per les mostres aquoses (de càrrega i receptora), es col·loca la tapa amb els motors elèctrics i en engegar-los es comença a contar el temps de l'experiment. En el segon model de cel·la (**Figura 3**, Model Lund), on la zona de contacte correspon a un circuit en espiral, enrosquem els connectors que permeten l'entrada dels tubs de tefló que porten les solucions. Submergim aquests en aigua que impulsem per tot el recorregut per a eliminar l'excés de solució orgànica que hi hagi a ambdós costats de la membrana. Posteriorment submergim els tubs en les solucions de càrrega i de descàrrega i comencem a contar el temps en el moment en que les solucions arriben a la sortida dels tubs, després d'haver passat pel circuit en espiral gravat a la cel·la que està en contacte amb la MLS. En aquests sistemes fem membranes noves en cada experiment. Com abans, es treballa a temperatura controlada (23 °C).

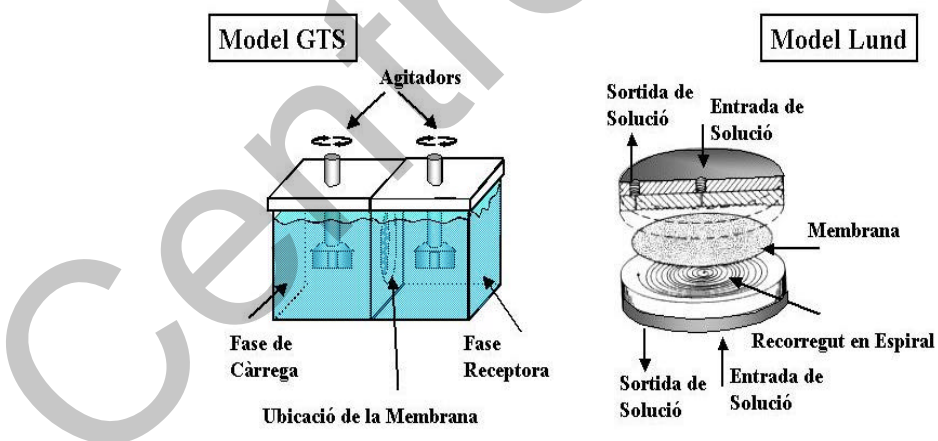


Figura 3.- Representació dels dos models de cel·la de MLS emprats als experiments. A l'esquerra el model dissenyat al nostre grup de recerca (Grup de Tècniques de Separació, GTS). A la dreta el model dissenyat a Lund (Suècia) on fem recircular les solucions de càrrega i descàrrega pel circuit gravat al mòdul des de dos recipients exteriors.

Membranes compòsit activades (MCA)

La preparació de les membranes MCA es fa en dues parts. Primer formem el suport macroporós i després creem la capa densa activada a sobre d'aquest suport, com hem descrit a la introducció.

A la primera part, es dilueix la polisulfona en DMF per formar una solució al 15% en massa. Per fer-ho es col·loca en un baló de reacció i es deixa agitant durant tota la nit. L'endemà ens trobem una solució groguenca una mica viscosa. Amb aquesta solució podem preparar la base porosa per a la nostra membrana sobre un paper no teixit ben estirat en un vidre. Ens ajudem de varetes de vidre i de cinta aïllant per a tensar i subjectar el paper en l'aire, sense tocar directament al vidre. Posem el vidre en un lloc ben pla. Aboquem una porció de la solució de polisulfona en un extrem del paper i amb l'ajuda d'un controlador de gruix estenem la solució per sobre del paper en una sola passada. Introduïm ara tot el conjunt (paper + vidre) en aigua destil·lada refredada amb gel (temperatura inferior a 5 °C) per a produir la inversió de fases. La introducció ha de ser decidida i continua per a evitar la formació d'esquerdes o replegaments en la capa de polímer. Uns minuts després es treu de l'aigua, se separa del vidre la membrana unida al paper no teixit, es renta amb abundant aigua destil·lada i es conserva en remull.

Un cop preparat el suport polimèric, procedim a realitzar el recobriment dens de poliamida. Per això preparem dues solucions, una d'orgànica i una altre d'aquosa. Totes dues han de ser preparades poc abans de fer-les servir. La primera es prepara dissolent 1,3,5- triclorur de tricarbonil benzè i el transportador de naturalesa orgànica en hexà. La segona conté 1,3-fenilendiamina en aigua i una mica de dodecil sulfat sòdic com a estabilitzant. Es prepara llavors un vidre on estendrem la capa polimèrica de polisulfona unida al paper preparada. S'impregna la solució aquosa amb un pinzell per la cara on hem dipositat la polisulfona. Es treu l'excés de solució aquosa amb un rodet dessecant i es mulla la capa ja impregnada amb la

solució orgànica. En contactar les dues solucions en la superfície de la polisulfona es genera la capa de poliamida (polimerització interfacial), que deixa atrapat el transportador.

Passats uns minuts, un cop deixat reaccionar, es renten les membranes per a treure l'excés de solució que no ha reaccionat i es fiquen a l'estufa a 45-60 °C durant 10-15 minuts per a evaporar l'hexà. Les membranes un cop eixutes es guarden protegides de la llum per prevenir la descomposició de les restes de l'amina i del propi extractant orgànic.

Amb els fulls de membrana preparats podem retallar la superfície necessària per incorporar-la a la cel·la que farem servir. Un cop retallada la col·loquem a la cel·la vigilant de posar la cara amb la capa densa sempre del mateix cantó (generalment mirant a la solució de càrrega). Un cop fixada, el procediment és el mateix que a les MLS amb la diferència de que no canviarem la membrana en els experiments de reproductibilitat, i sols la canviem a la resta d'experiments.

1.5.2. Composició de la Membrana Líquida

El paràmetre que més s'estudia a les variacions efectuades a la pròpia membrana en els experiments amb membranes líquides és la concentració del transportador que fem servir. Un altre és la variació del dissolvent, que sol realitzar-se a les proves prèvies d'extracció en dissolvent, i que depèn en gran part del format de membrana que farem servir. En d'altres casos, caldrà afegir additius o modificadors a la membrana per augmentar la solubilitat del complex que es formi o per millorar la selectivitat.

Dissolvents i transportadors

A l'annex I trobem com fem servir dos transportadors i dos dissolvents diferents per a dur a terme el transport de nitrats. En el primer cas podem realitzar la formació del transportador carregat amb el centre metàl·lic en

medi querosè. Aquesta barreja de compostos alifàtics i cicles no aromàtics presenta unes molt bones característiques per a l'estabilitat de les membranes líquides. Així vam poder emprar una concentració màxima 0.28 mM de complex Pd(II)-Cyanex471 per als experiments en membrana de volum. En el cas del complex BPP-Pd(II) aquest dissolvent no va permetre una bona dissolució del transportador, pel que vam haver d'emprar el cumè (*iso*-propilbenzè), que malgrat no ser el dissolvent més adequat per treballar amb ML ens permetia tenir dissolucions 1 mM de BPP-Pd(II). Pel cas dels annexos II i III, el cumè no era molt adequat pel format de membrana que es volia fer servir (MLS), pel que es va intentar la dissolució en un altre dissolvent. El dissolvent triat va ser el *bis*-(2-etilhexil) ftalat, anomenat DOFT. Aquest dissolvent permeté treballar amb solucions 0.9 mM de BPP-Pd(II), pel que vam poder variar la concentració del transportador a la MLS des de 0 fins a 0.9 mM. En el cas de la membrana compòsit activada no parlem d'una concentració de transportador a la membrana, si no que ens referim a la concentració del transportador a la solució de preparació emprada. Així en el cas de l'annex IV es va treballar amb membranes preparades amb solucions de 0 fins a 1200 mM de DEHPA en hexà. Pel que fa a l'annex V, també vam treballar amb dos dissolvents diferents a la fase membrana. En aquest cas és molt important el paper del dissolvent en el transport enantioselectiu, donat que les interaccions que es produeixen en el reconeixement quiral entre el transportador i l'analit són més febles que les interaccions del propi dissolvent tant amb l'analit com amb el transportador. Així, es va estudiar el comportament del sistema en dos dissolvents ben diferenciats, d'una banda s'emprà el cloroform i d'altra una barreja de dodecà-decanol (el decanol s'afegeix per a millorar la solubilitat de la cinconidina i el transport enantioselectiu). La solubilitat de la cinconidina és major en el primer cas i per tant, les major interaccions del dissolvent amb el transportador fa que la diferenciació entre els dos enantiòmers sigui menor

que en dodecà-decanol. És més, s'aconsegueix la màxima diferència entre els dos enantiòmers a una concentració de transportador en cloroform quatre cops major que en dodecà-decanol, confirmant així que la major interacció del dissolvent amb el transportador entorpeix la interacció enantioselectiva amb l'analit.

L'efecte general que es troba a les membranes líquides en augmentar la concentració del transportador és un augment del transport que arriba a un valor límit. La raó d'aquest comportament es el reflex del mecanisme de transport que té lloc. El nostre analit ha d'arribar des del sí de la solució de càrrega a la interfase amb la membrana, difondre a través d'aquesta interfase, interaccionar amb el transportador i difondre a través de la fase membrana. En augmentar la concentració de transportador podem millorar la interacció de l'analit amb aquest i per tant fer que només les difusions a la interfase i a la fase membrana siguin els paràmetres que controlen la velocitat del transport. Això és el que observem a l'annex II (Figura 3) i III. Molt a prop del límit de solubilitat del transportador veiem que l'augment de la concentració d'aquest millora cada cop menys el transport. En l'annex IV (Figura 2) tenim un comportament similar. En augmentar la concentració del transportador arribem a un límit de velocitat de transport abans d'arribar a una concentració límit del transportador a la membrana. Aquest comportament els dona més caràcter de membranes líquides que de membranes sòlides, on normalment un increment de la concentració del transportador genera un increment quasi exponencial del transport ³. A l'annex V trobem una situació particular, donat que en aquest cas busquem la màxima diferenciació dels dos enantiòmers, no el màxim flux. D'aquesta manera la relació de concentracions inicials analit/transportador és un paràmetre determinant en la separació enantioselectiva, malgrat que s'obtingui un flux total més petit. Això ho expliquem pel fet que, augmentant la quantitat de transportador respecte la d'analit, existeix menys

competència entre els enantiòmers per ell i per tant el transport serà menys enantioselectiu.

Additius i Modificadors

Existeix la possibilitat de que la nostra fase de membrana no sigui estable o que necessiti d'alguns additius per a millorar el seu funcionament. Molt sovint cal modificar la polaritat del medi per a millorar bé la solubilitat del transportador, bé la interacció de l'analit amb la fase membrana. O pot ser el que cal és introduir alguna altra substància que permeti canviar les propietats de la membrana respecte a la solubilitat del complex transportador-analit, termodinàmica de la reacció química, etc. La primera opció sol realitzar-se afegint un dissolvent més polar al dissolvent que normalment fem. Els més utilitzats són els alcohols alifàtics de cadena llarga (decanol, dodecanol...) que permeten augmentar el caràcter polar de la membrana, però que també la fan més hidròfila i per tant més inestable front a les pèrdues per emulsió, pel que cal trobar un punt d'equilibri que ens permeti millorar les nostres propietats sense inestabilitzar massa la membrana. La segona opció sol implementar-se afegint un segon transportador, que en menor proporció que el primer permet canviar bé la forma amb que l'analit entra a la membrana, bé la forma en que el complex analit-transportador interacciona i es mou dins la membrana. Aquests modificadors poden ser bescanviadors iònics que no només afecten per poder realitzar el bescanvi de l'analit, sinó perquè introdueixen a la fase membrana contraions que modifiquen la forma en que altres ions, a part de l'analit, entren a la fase membrana.

En el transcurs dels experiments realitzats hem fet ús de tres modificadors/additius de membrana, dos els trobem a l'annex I. En el primer cas, fem servir el dodecanol com a modificador de la fase orgànica en un rang del 0 al 20%. La raó del seu ús és millorar la solubilitat del complex

format entre el nostre analit (nitrit) i el transportador (el complex Pd(II)-Cyanex471). Durant el transcurs de l'extracció es podia apreciar la formació d'un enterboliment a la interfase entre la solució de càrrega i la membrana. La presència d'aquest alcohol alifàtic de cadena llarga permet millorar la solubilitat de les espècies més polars respectant fins a cert punt l'estabilitat de la membrana (raó per la qual es va triar una solució de compromís amb el 5% de dodecanol). Aquesta addició no només afecta a la solubilitat del complex, sinó que també afecta a la solubilitat de la resta d'espècies i a la difusió d'aquestes.

En el segon cas, fem servir una sal d'amoni quaternari (TDMACl) com a estabilitzador de la forma carregada del complex BPP-Pd(II)-NO₂⁻. Si bé s'ha mostrat que l'ús d'aquest complex en elèctrodes permet millorar la resposta del sensor corresponent respecte al nitrit ⁴, en el nostre cas no només apreciem la millora del transport i la selectivitat, sinó que a més ens genera una major pèrdua del centre metàl·lic cap a les fases aquoses. Això es podria explicar pel fet que afavorim la formació de l'espècie doble carregada del complex amb nitrits que sembla ser més làbil ⁷.

El tercer cas, a l'annex V, té la particularitat de mostrar un objectiu diferent. Si bé normalment volem obtenir el màxim flux del nostre analit, en aquest cas el que es vol obtenir és la màxima separació de dos enantiòmers. Es dona la particularitat que trobem un màxim per a la diferenciació dels dos enantiòmers fent servir una mescla del 50% de decanol (additiu) en dodecà, malgrat que el flux dels dos enantiòmers augmenta en augmentar la quantitat d'aquest additiu. Això s'explica pel fet que amb l'additiu augmenta la solubilitat d'ambdós enantiòmers a la membrana, tot disminuint la selectivitat quiral de la mateixa.

1.5.3. Composició de la solució de càrrega

Dins de la solució de càrrega són bàsicament tres els paràmetres que més influeixen en el comportament del transport a la ML: la concentració de l'analit, la diferència de la força iònica del medi respecte a la solució receptora i sobre tot, el pH del medi i el seu manteniment.

Concentració de l'analit

El transport en una ML es fonamenta en el gradient del potencial electroquímic entre les fases aquoses en que es mou l'analit en estudi, com hem definit a la introducció. Una bona part d'aquest gradient pot ser degut al seu gradient de concentració. Ara bé, aquest flux té un límit i a partir d'una determinada concentració d'analit el bombeig de la membrana no s'incrementa. Com en la majoria dels casos representem el flux relatiu a la concentració a la fase de càrrega (permeabilitat), si ens apropem a aquest flux límit, la permeabilitat tendirà a disminuir. Així, serà més difícil veure petits canvis en aquest coeficient quan més petit sigui el seu valor. És per això que se sol treballar en unes condicions de compromís on el flux d'analit és prou gran com per poder monitoritzar el seu pas cap a la fase receptora però la concentració d'analit inicial no és massa gran com per no apreciar les variacions del coeficient de permeabilitat.

Així doncs, als estudis realitzats apreciem que les concentracions d'analit emprades acostumen a ser molt semblants entre sí: 0.1 mM pels amino àcids als annexos II i III, 0.2 mM pel nitrit a l'annex I ó 0.5 mM pels amino àcids a l'annex IV. En aquest darrer cas, que és el més diferent de tots, es va haver d'estudiar el rang de concentracions a treballar, donat que el menor coeficient de difusió a la membrana compost va necessitar d'una concentració d'analit major per poder apreciar el flux a la solució receptora. En el cas de l'annex V, com era el cas de l'annex IV, és necessària una

major concentració d'analit a la solució de càrrega per poder apreciar el seu transport.

Ajust de la força iònica

La diferència de força iònica entre les dues fases aquoses separades per la membrana genera una pressió osmòtica que és proporcional a aquesta diferència de concentració. La pressió osmòtica tendirà a igualar les concentracions d'ambdues fases fent passar el dissolvent, en aquest cas l'aigua, de la més diluïda a la més concentrada. Tant en el cas de les membranes de volum com a les MLS estudiades aquest efecte ens ha estat mínim, donat que en alguns casos hem igualat o disminuït la diferència en força iònica de les dues fases amb el tampó de pH (annex I a III). En canvi, en el cas de l'annex IV treballem amb solucions força concentrades i els treballs anteriors amb cations metàl·lics amb aquestes membranes ens indicaven que era necessari aquest ajust. Tot i així, no hem apreciat cap diferència entre els experiments ajustant la força iònica o sense ajustar-la.

Control del pH

Aquest és un factor que pot afectar molt al transport en ML. No només per afectar a l'especiació del nostre analit en fase aquosa, sinó perquè també afecta al transportador així com al flux de protons o hidroxils que es pot generar per efecte del gradient de pH creat. En gairebé tots els casos estudiats hem hagut de treballar amb una solució reguladora de pH. Aquesta, no només ens ha de regular el pH, sinó que ha de ser neutre respecte al transport del nostre analit o bé ha d'afavorir-lo. Així en el cas de l'annex I, treballant amb el transportador Pd(II)-Cyanex471 es va veure que la millor solució era treballar amb el tampó acètic/acetat, malgrat que es van provar altres solucions reguladores que poden ajustar el pH al mateix interval (cítric/citrat i fòrmic/formiat). En canvi, en treballar amb el

transportador BPP-Pd(II) es van trobar diferències significatives entre l'ús de l'anterior tampó i el descrit a la referència on vam trobar aquest transportador, la MES ⁴. En aquest cas no es podia jugar molt més amb el pH de la solució de càrrega, donat que sabíem que a pH majors el transport disminuïa però tampoc podíem baixar més el pH donada la inestabilitat i la perillositat del nitrit en la seva forma àcida. En canvi, en els estudis dels amino àcids i de la separació quiral si que es podia aprofitar més aquest paràmetre, del rang de pH (annexos II a V). En el cas dels amino àcids la seva especiació canvia molt en funció del pH. Això ens permet jugar amb la forma que presenta l'analit als diferents pH per afavorir la seva entrada a la membrana i la seva interacció amb el transportador així com la seva sortida de la mateixa. És per això que en els annexos II i III estudiem un rang de pH molt ampli (de 4 a 12) però acabem treballant a un pH alt a la solució de càrrega, que afavoreix la forma desprotonada del grup amino i per tant una millor interacció amb el centre metàl·lic de Pd(II), mentre que en el cas de l'annex IV són els pH al voltant del punt isoelèctric (pI) els que afavoreixen l'entrada de l'amino àcid a la fase membrana i estudiem un interval de pH de 0.5 a 4. Com hem comentat a l'apartat 1.4, en el cas de l'annex V era molt important el pH inicial de la solució, donat que influirà en l'especiació tant de l'àcid mandèlic com de la cinconidina. Així mateix i com en el cas de l'annex IV, la forma neutra de l'analit és la que més fàcilment pot penetrar a la membrana per ser transportada. Cal destacar que la presència de la cinconidina fa difícil l'ús de solucions amortidores. Molts d'ells precipiten en contactar amb aquesta espècie. Tot i així, la variació del pH es produeix en els primers segons de contacte entre les fases donada l'elevada solubilitat en aigua del transportador i al seu caràcter àcid-base, no produint-se canvis importants al llarg de l'experiment de transport enantioselectiu. Tot i així, és interessant constatar que en el cas dels annexos II i III en tot moment necessitàvem de l'ajust del pH amb un tampó fosfat, que en el cas de

l'annex II tenia una força iònica 0.05 M i en l'annex III era 0.1 M, mentre que a l'ús de les membranes compost (annex IV) l'ús del tampó fòrmic/formiat a pH 3.5 no va aportar diferències constatables al flux d'amino àcid durant les primeres 6 hores d'experiment, que eren les que monitoràvem, malgrat que si que s'apreciava una variació de pH que en experiments més llargs necessitarien aquesta regulació.

1.5.4. Composició de la fase receptora

Un cop hem aconseguit introduir a la membrana el nostre analit des de la solució de càrrega cal recuperar-lo des de la fase receptora. En el nostre cas hem jugat amb dues formes d'aconseguir-lo: la competència pel centre d'unió del transportador i l'especiació de l'analit o del transportador. Al primer cas fem servir una altra espècie que presenti afinitat pel centre d'unió al transportador i que permeti establir un procés de bescanvi del nostre analit per aquest competidor, bé perquè sigui més estable el complex amb aquest competidor, bé perquè puguem bescanviar-lo per tenir aquest una concentració més elevada que permeti desplaçar l'equilibri. A la segona aproximació canviarem l'especiació del nostre analit o del transportador (en el nostre cas el protonarem o desprotonarem) per canviar la interacció que hi ha entre ells. Aquests dos casos no són excloents, de fet en el cas que puguem fer sortir l'analit del complex amb el transportador, quasi sempre haurem de deixar alguna altra espècie que ocupi el seu lloc.

Bescanvi d'ions

Aquest plantejament ha estat explotat sobre tot a l'annex I. Al primer transportador fet servir (Pd(II)-Cyanex471) es van assajar dos anions per aconseguir el bescanvi dels nitrats extrets des de la fase de càrrega, el clorur i el tiocianat (SCN^-). El primer presenta una afinitat pel pal·ladi (II) menor que el nitrat, pel que caldrà una major concentració per desplaçar al nitrat del

centre metàl·lic. El tiocianat en canvi és més afí per aquest metall que el mateix nitrit, pel que s'espera que fàcilment el pugui desplaçar, com així passa. Però no només l'afinitat pel transportador importa en la possibilitat de realitzar el bescanvi, també la facilitat que tingui aquest ió per entrar o apropar-se a la fase membrana marcarà les possibilitat d'aquests ions a l'hora de fer efectiu el bescanvi. Així és conegut que en els elèctrodes amb bescanviadors no selectiu d'anions com a transportador, els diferents analits assajats tenen un comportament que segueix la sèrie anomenada de Hoffmeister ⁵, que els ordena en funció de la seva lipofilitat, és a dir, que la resposta dels anions depèn de la seva lipofília o de la seva capacitat per entrar a la fase més lipòfila. L'ordre en que trobem els anions és :



És a dir, que el tiocianat no només és més afí pel centre metàl·lic, sinó que a més és més lipòfil que el mateix nitrit.

En aquest cas a més, ens vam trobar que el tiocianat produïa unes grans pèrdues del centre metàl·lic cap a la fase receptora, i per tant va haver de ser descartat el seu ús. Per això sols es va emprar NaCl en un rang de 0.2 a 2M, no trobant-se diferències en aquest rang de concentracions.

Amb el segon transportador emprat a l'annex I (BPP-Pd(II)), també vam fer servir l'ió Cl^- , a més del perclorat sòdic i els mateixos hidroxils. Degut a que el perclorat presenta una afinitat menor pel centre pal·ladi, però és més lipòfil que el nitrit es va provar com a agent re-extractant, però va haver de ser descartat per les grans pèrdues que produïa de metall de la fase orgànica, bé per formació de complexes de Pd, anàlogament a com ho fa el Pt ⁶, bé per provocar canvis en l'entorn del Pd a la fase membrana desestabilitzant-lo. Vam provar doncs, un anió menys lipòfil que el nitrit i també amb una menor afinitat pel Pd(II), el clorur. Es van provar solucions de 10 a 200mM en NaCl en una solució tamponada amb MES 0.05M a pH 5.5 (mateix tampó i pH que la solució de càrrega). En aquest cas podíem

apreciar un cert transport, que s'incrementava fins assolir el màxim a una concentració de Cl^- de 150mM.

Donat que aquest transportador és molt sensible al pH del medi ⁴, vam provar solucions d'hidròxid sòdic (1 mM) com a solució receptora. Aquesta solució produïa un transport dl mateix ordre que l' observat amb la solució de clorur sòdic al mateix pH (11.7), és a dir, que semblava que la major part de l'efecte provenia de la concentració d'hidroxils que no pas de la presència de Cl^- . Per això vam provar solucions receptores de NaCl 150mM a diferents valors de pH, des de pH 4.5 fins a 12, tot emprant dues solucions reguladores per augmentar i controlar el pH en diferents zones de pH. La MES a pH baixos (pK_a 5.5), i el Tris-(hidroximetil)-aminometà (TRIS) a pH alt. La presència de TRIS incrementa el transport de nitrits, alhora que augmenta la pèrdua del centre metàl·lic de la membrana. Així, d'una banda podem dir que a pH bàsic la recuperació del nitrit és més efectiva, tot i així, una part important queda unit al centre metàl·lic que hi ha a la membrana. D'altra banda, l'ús del TRIS ens permet la recuperació del nitrit que es quedava a la membrana, però destruint el transportador.

Tot plegat, ens permet definir una nova característica que ha de tenir el nostre sistema de ML de manera que:

- L'espècie a la fase receptora ha de ser aniònica com el mateix analit i que la seva afinitat pel centre metàl·lic ha de ser moderada respecte a l'analit, doncs cal que pugui desplaçar-lo del centre metàl·lic, però no el pot deixar bloquejat ni ha de produir la pèrdua cap a la fase receptora del centre metàl·lic.

Especiació

A la resta de casos estudiats hem aprofitat la diferent afinitat de la forma protonada o desprotonada dels analits o del transportador per a aconseguir la recuperació de la nostra espècie. Així a l'annex II vam estudiar diferents

àcids com a fase receptora a una força iònica (0.1 M): HCl, HNO₃, H₂SO₄ i H₃PO₄. Els tres primers no tenien diferències significatives entre ells, mentre que l'àcid fosfòric degut a la seva menor acidesa a la concentració assajada va resultar ser un medi poc adient com a recuperador. Per comprovar l'efecte poc important del clorur en aquest transport, a diferència del que passava a l'annex I amb el mateix transportador, es va provar una solució de NaCl a la mateixa concentració que la d'àcid corresponent sense obtenir cap transport. És a dir, el factor més important és el menor pH a la solució receptora que permet la protonació de l'analit, deixant de ser favorable la complexació del metall del transportador.

Es van provar diferents concentracions d'àcid clorhídric (de 0.05 a 1M), obtenint-se els millors resultats per a la solució 0.1M. És per això que els experiments de l'annex III van ser realitzats amb aquestes condicions.

El cas de l'annex IV, formalment fem servir una aproximació diferent, el que variem és la protonació del transportador mateix. Transportem la forma protonada de l'amino àcid i la bescanviem per protons a la fase receptora. En el sí de la solució de càrrega, el pH existent fa predominar la forma amfipròtica de l'amino àcid, que pot difondre més fàcilment a la fase membrana. Ara bé, el pH de la solució receptora fa que el transportador es protoni, alliberant així l'amino àcid, de manera que es trobarà en aquest estat fins que arribi de nou a la interfase amb la solució receptora on pot desprotonar-se o cedir el seu protó a l'analit que es troba en aquest interfase o que està ja dintre de la membrana.

Entre els àcids testats com a fase receptora a l'annex IV si que hem apreciat diferències importants. Si bé l'àcid sulfúric sols presenta una menor efectivitat que l'àcid clorhídric, l'àcid nítric és molt menys efectiu que aquests dos.

Tot plegat fa que de les concentracions de HCl provades (0.001 a 2M) ens quedem amb la última.

A l'annex V hem tret partit de la variació amb el pH de la distribució entre la fase orgànica i la fase aquosa tant de l'àcid mandèlic com de la cinconidina. A pH elevat, la cinconidina es desprotona, sent més estable a la fase orgànica, mentre que l'àcid mandèlic, que també es desprotona, queda carregat negativament i és més soluble a la fase aquosa. És important en aquest cas que el pH d'aquesta solució es mantingui constant, donat que a pH neutres o lleugerament àcids la cinconidina es protona, augmentant la seva solubilitat a la fase aquosa.

1.5.5. Transport facilitat i transport acoblat

La comprovació de l'existència de transport facilitat o no facilitat, és a dir el transport que es produeix en presència o absència d'un transportador respectivament, es realitza des del primer moment en que constatem que existeix transport. De fet, en el moment que comprovem que l'augment de la concentració de transportador augmenta el flux del nostre analit, constatem l'existència de transport facilitat, però cal comprovar fins a quin punt el transport que observem és fruit del treball del transportador, d'una simple difusió de l'analit o d'una contribució mixta d'ambdós processos. En els casos estudiats, els sistemes en que hem treballat amb transportador metàl·lic (annexos I a III) sols hem observat transport facilitat, és a dir tot el transport ha estat fruit de la presència del complex amb Pd(II) fet servir com a transportador o bé hi ha un transport no facilitat tan lent que no s'observa en el temps d'experiment de transport assajat. En el cas de la membrana compost si que hem apreciat un petit flux en absència de transportador (el derivat d'àcid fosfòric, DEHPA), però sempre ha estat inferior al 3% del flux global observat. No deixa, però, de ser sorprenent que la membrana que a priori ha de tenir un menor flux sigui la que ens ho permet veure. La possible raó es trobaria bé a la mateixa estructura de la membrana compost, que afavoreix les interaccions dels amino àcids amb els grups funcionals de la

capa de poliamida o bé que donada la lentitud del transport en aquest tipus de membranes, els processos de difusió de l'analit tenen una contribució més significativa. El cas més diferenciat ha estat el de la separació quiral de l'annex V. En aquest cas no sols existia transport no facilitat, si no que a més era tant o més gran com el que es produïa en presència del transportador a pH molt àcids (inferiors a 3). Sols a pH lleugerament àcids (pH >3), s'aconsegueix el transport facilitat de l'enantiòmer L de forma preferència sobre el D.

Un cop comprovada l'existència de transport facilitat i/o no facilitat el següent pas és verificar l'acoblament del transport de l'analit amb el d'una altre substància que permeti el seu transport. En molts casos, i davant d'un excés d'aquesta substància a les dissolucions aquoses, s'aconsegueix transportar l'analit en contra del seu gradient de concentració existent entre les dissolucions aquoses. Aquesta darrera comprovació la duem a terme realitzant el transport des d'una solució aquosa carregada amb analit cap a una solució receptora amb inicialment la mateixa concentració d'analit. Així en el cas de l'annex I i IV es va comprovar que existia transport en contra del seu gradient de concentració. Als annexos II i III, on el volum de fase receptora és molt menor que el de la fase donadora, tal que la comprovació del transport contragradient queda palesa en el moment que podem concentrar el nostre analit mantenint una relació de volums aquosos diferents, obtenint així solucions de concentracions finals molt majors que la solució de càrrega inicial.

1.5.6. Estudi de selectivitat

Un cop ha estat comprovat el funcionament del sistema de membrana i caracteritzats els paràmetres més habituals, el següent pas consisteix a esbrinar quina és la capacitat del sistema de diferenciar entre l'analit escollit

i d'altres de semblants o presents en les mescles on s'acostumen a trobar. En el cas d'una aplicació pràctica, podríem mirar quines són aquestes substàncies que tenim a la mescla que hem decidit resoldre i afegir-les a la solució per veure quines afecten a la nostra separació. En el nostre cas hem optat per afegir a la solució de càrrega aquells ions que pensem que són semblants o que poden tenir afinitat pel nostre transportador. A l'hora d'abordar aquest punt hem optat per diferents aproximacions.

A l'annex I vam realitzar proves de selectivitat sobre el transport de NO_2^- només en el cas de la membrana del transportador BPP-Pd(II). Els anions triats com a possibles interferents van ser: H_2PO_4^- , NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} i SCN^- . Com es pot apreciar, tots ells excepte el tiocianat es troben per sota del nitrit a la sèrie de Hoffmeister. L'ió ClO_4^- , indicat com a interferent a les referències bibliogràfiques sobre aquest transportador, on s'emprava en sensors, va ser descartat en ML per les grans pèrdues de Pd(II) que produïa. Tots els anions anteriors excepte el tiocianat van ser reunits en una sola mescla amb la mateixa concentració molar per a tots ells. Segons les referències de sensors per aquest transportador només el clorur, dels anions de la mescla, podria tenir algun efecte en el transport del nitrit⁴. El tiocianat en canvi té una major afinitat pel centre de Pd(II) que el nostre analit a més de tenir un caràcter més lipòfil, per això l'estudiem apart. Els experiments fets van consistir en preparar solucions de càrrega amb la mescla anterior o amb tiocianat amb diferents relacions molars respecte al nitrit (de 0 a 10 per la mescla i de 0 a 1 pel tiocianat). En tots dos casos la presència dels interferents va suposar un descens del transport de nitrit, especialment en el cas de la barreja amb tiocianat. Seguint les consideracions de les referències trobades es van realitzar experiments amb una relació fixa d'interferent:nitrit (1:1 per la barreja i 0.5:1 pel tiocianat) amb TDMACl a la membrana. Aquest compost havia de millorar la selectivitat del sistema de membrana i efectivament ho va fer, especialment en el cas de la

barreja, però també és cert que les pèrdues de Pd(II) van incrementar-se. Les raons per a que es millorés la selectivitat, sobre tot en el cas de la barreja es fonamenten en la presència del catió d'amoni quaternari que pot fer de bescanviador d'anions i que per tant ens dóna noves vies per a transportar els nitrits. Ara bé, aquest transport seria no selectiu i són els clorurs que aporta el TDMACl com a contraions els que fan que el pas d'altres anions i dels clorurs en especial es vegi desafavorit. Els nitrits, més lipòfils, passen més fàcilment a la membrana i a més són els que millor afinitat pel transportador de Pd(II) tenen, i per tant són els anions més afavorits per la presència de l'additiu. Ara bé, com hem dit, aquest additiu afavoreix la formació del complex disubstituït amb nitrits, BPP-Pd(II)-(NO₂⁻)₂, que sembla ser més làbil que el corresponent complex monocarregat, i per tant afavoreix el trencament del complex i és el responsable de la pèrdua de l'ió Pd(II). Aquest mateix fet de respondre millor a l'espècie amb dos nitrits en presència d'aquest additiu ha estat detectat en un complex porfirínic de Co³⁺ fet servir en un elèctrode selectiu d'ions ⁷.

A l'annex III la selectivitat la vam estudiar en dues parts. D'una banda vam fer experiments individuals d'extracció en dissolvent per trobar la raó que ens pogués explicar el diferent comportament dels amino àcids front a la seva extracció per part del complex BPP-Pd(II). D'aquí vam poder deduir que els dos paràmetres que ens permetien diferenciar entre els diferents amino àcids eren la seva lipofilitat i la seva polaritat o afinitat per l'aigua. Sabem que la interacció dels amino àcids amb el Pd(II) es produeix bàsicament mitjançant el grup amino. Per tant, sent aquest comú per a tots els amino àcids, ha de ser la part que els fa diferents (el radical R) la responsable de la diferent interacció que presenten. Com expliquem a l'annex III, aquesta contribució pot separar-se en una part que engloba totes les contribucions lipofíliques de l'analit i en una altra que engloba les desviacions d'aquest comportament i que són degudes bàsicament a les

contribucions més polars. Així hem pogut trobar que la relació entre el coeficient d'extracció dels amino àcids a diferents pH i la seva lipofilitat i polaritat es lineal com passa a les extraccions en dissolvent sense cap transportador present, excepte per al cas de dos d'ells (Trp i Phe). Aquests dos amino àcids presenten una distribució entorn a un pH similar al pK_a del grup amino molt superior al que aquestes propietats indiquen. Malgrat que es coneix la diferent interacció d'alguns amino àcids amb diferents centres metàl·lics ^{8,9}, la raó sembla radicar a la seva capacitat per a realitzar ponts d'hidrogen entre els grups aromàtics i el centre metàl·lic i la interacció amb l'entorn del metall. Aquesta capacitat d'interaccionar mitjançant els grups aromàtics amb els centres metàl·lics i amb d'altres grups aromàtics es troba clarament descrita en les metal·loproteïnes, on s'han caracteritzat i fins i tot quantificat les interaccions Phe-Phe, Phe-Trp... així com entre l'amino àcid i el metall ¹⁰⁻¹².

Després de realitzar aquests experiments vam triar dos grups d'amino àcids per a veure si la selectivitat trobada en els experiments de distribució líquid-líquid es corresponia amb els experiments de membrana. El primer grup estava format per quatre amino àcids alifàtics que sols difereixen entre ells en la presència d'un grup CH_2 de més en cadascun (Gly, Ala, Val i Leu). El segon grup són els amino àcids aromàtics (Tyr, Phe i Trp). Les solucions de càrrega van ser preparades amb mesclures equimolars dels amino àcids i es va determinar el seu transport, veient que la selectivitat esperada per l'afinitat dels amino àcids pel centre metàl·lic es correspon amb l'obtinguda en el transport. Però no només això, sinó que la competència existent entre ells fa que només els més afavorits siguin transportats, mentre que els altres no passen la membrana. Recentment un altre exemple de membrana basada en interaccions amb un centre metàl·lic ha estat descrita ¹³, en aquest cas diferents centres metàl·lics (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} i Zn^{2+}) van ser immobilitzats a la membrana mitjançant grups iminodiacètic i es va poder

apreciar un increment del transport de l'amino àcid histidina front a la Phe en el cas dels dos primers metalls. La diferent constitució de la membrana i les diferents propietats que el centre metàl·lic infereix condueixen a resultats complementaris als trobats amb el nostre sistema.

En el cas de l'annex IV aquest estudi de selectivitat el vam fer a partir de mescles binàries equimolars dels amino àcids estudiats (Tyr, Phe i Trp). La comparació entre els fluxos obtinguts quan són sols i en presència d'un altre amino àcid ens determina la selectivitat de la membrana, de manera que el triptòfan és l'amino àcid més afavorit en el pas de la membrana seguit de la fenilalanina, mentre que la tirosina pràcticament no es transportada, sobre tot en presència d'algun dels altres amino àcids aromàtics. En aquest cas és interessant esmentar la capacitat que tenen els anells aromàtics d'aquests tres amino àcids d'enllaçar-se o interaccionar amb grups catiònics, com es troba descrit a amb els residus amino a les proteïnes ¹⁴, i la característica catiònica del transportador i de les possibles restes de grups amino no convertits en amides en la formació de la membrana. També val la pena ressaltar la gran diferència a la distribució de càrregues que hi ha entre la Phe i la Tyr per efecte del grup hidroxil ¹², que indueix unes propietats ben diferenciades per als dos amino àcids.

A part de la selectivitat intrínseca a la separació quiral dels dos enantiòmers de l'àcid mandèlic, es van estudiar dos compostos amb una estructura similar a la de l'àcid mandèlic: la fenilglicina i la fenilalanina. La primera és igual a l'àcid mandèlic, excepte pel canvi del grup hidroxil per un grup amino. Es va demostrar que aquesta diferència comporta que la interacció amb el transportador sigui menys eficient i, com a conseqüència, el transport i l'enriquiment enantiomeric aconseguits són menors. A més, l'espècie més transportada és l'enantiòmer D, que és el que més favorablement s'extreu. En aquest cas no es produeix un enriquiment estable en el temps, si no que aquest excés enantiomèric desapareix a mesura que passa el temps, com

és habitual a la majoria de sistemes d'aquest tipus ¹⁵. D'altra banda, la fenilalanina no es transporta enantioselectivament, mostrant la importància que té una petita separació generada per un grup metilè en aquest tipus de sistemes.

Amb els sistemes estudiats hem plantejat diferents formes de veure la selectivitat en les membranes líquides. D'una banda hem vist sistemes de bescanvi d'ions inorgànics. En aquests casos, la tendència general bé marcada per la possibilitat que tenen els ions a entrar a la fase orgànica per a interaccionar amb el bescanviador. La introducció d'un centre metàl·lic, pel que els diversos analits presenten afinitats diferents, al menys en medi aquós, permet diferenciar entre ells, afavorint a aquells que poden interaccionar millor amb el metall. Així per exemple aconseguim millors transports per al nostre analit problema (nitrit) que per a analits més lipòfils que ell, com el nitrat. Això, però, ens limita també amb aquelles espècies que tenint afinitats semblants o superiors que el nostre analit tenen un caràcter lipòfil semblant, donat que també seran transportats molt favorablement. En aquest sentit, la relació de concentracions entre l'analit i l'interferent és crítica en la possible diferenciació, especialment en aquelles espècies amb afinitats semblants. La inserció d'espècies amb co-ions amb la mateixa càrrega que l'analit a la membrana afavoreix la selectivitat respecte a les espècies que poden interaccionar amb el metall, però com hem vist això pot introduir nous problemes al sistema.

Ara bé, les característiques pròpies de l'analit per a interaccionar amb la membrana són molt importants, com queda palès als annexos II i III. Quan parlem en aquest sistema de sèries homòlogues d'amino àcids, no podem diferenciar la manera en que aquests interaccionen amb el transportador i com es demostra al treball, és la seva facilitat per penetrar (i quedar-se) a la fase orgànica la que dóna unes característiques de transport diferents. Les

seves propietats en interaccionar amb el medi orgànic i aquós (lipofilitat i polaritat respectivament), com ja vèiem a l'annex I en forma de sèrie de Hoffmeister, ens permet ordenar els diferents analits respecte al seu transport. Sols en el cas en que veiem la interacció amb el transportador afavorida, com és el cas de la fenilalanina i del triptòfan tenim un comportament que se surt de l'esperat, com passava a l'annex I amb els anions que tenien més afinitat pel Pd(II), amb la diferència que ara no és la interacció entre el centre metàl·lic i l'analit la que ens marca les propietats, sinó que, és la interacció amb tot l'entorn del metall, com ja indicàvem a la introducció, el que ens diferencia més uns amino àcids dels altres^{11,12}. Però la importància d'aquesta interacció amb el medi i amb el transportador s'aprecia molt més a la selectivitat trobada a la separació quiral de l'annex V. Hem pogut veure com d'important és la interacció del mateix dissolvent amb el transportador, podent disminuir la interacció d'aquest amb l'analit. Però sobre tot hem pogut apreciar la importància que la disposició espacial dels diferents grups té en el reconeixement molecular i per tant en el transport dels enantiòmers, afavorint la interacció d'un d'ells sobre la de l'altre. Així mateix, es veu com la presència d'un determinat grup funcional posa de relleu la importància de la interacció que es genera entre l'analit i el transportador en diferents punts i com una petita variació o desplaçament d'aquest grup funcional trenca la possibilitat d'interaccionar que existia en la molècula anterior.

La selectivitat, però, pot donar-se en medis diferents. Així, a l'annex IV, tenim un sistema molt estudiat en format MLS que com hem vist presenta un símil en les noves membranes compòsit. La introducció del transportador en la formació de la membrana no evita la possible interacció més afavorida per uns analits que per altres. Malgrat que no és totalment clara la forma en que el transportador es troba en aquestes noves membranes, sembla ser que les característiques de selectivitat que presenten els donen un

comportament semblant al de les MLS convencionals, amb l'afegit de la seva més gran estabilitat.

Centro GTS

1.6. BIBLIOGRAFIA

- 1 T. HU, H. ZUO, C.M. RILEY, J.F. STOBAUGH, S.M. LUNTE, J. Chromatogr. A, 716 (1995) 381
- 2 P.R. DANESI, Separ. Sci. Technol. 19 (1984-85) 857
- 3 T. MUNRO, B.D. SMITH, Chem. Commun. (1997) 2167
- 4 I.H.A. BADR, M.E. MEYERHOFF, S.S.M. HASSAN, Anal. Chem. 67 (1995) 2613
- 5 P. SCHULTHESS, A. AMMAN, B. KRÄUTLER, C. CADERAS, R. STEPÁNEK, W., SIMON, Anal. Chem. 1985, 57, 1397-1401.
- 6 E. HÖGFELDT, "Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part A: Inorganic Ligands", IUPAC Chemical series, N° 21, Pergamon Press, 1982
- 7 E. MALINOWSKA, J.NIEDZIOLKA, M.E.MEYERHOFF, Anal. Chim. Acta 432 (2001) 67
- 8 L. RULÍ_EK, Z. HAVLAS, J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 10428
- 9 L. RULÍ_EK, J. VONDRÁ_EK, J. Inorg. Biochem. 71 (1998) 115
- 10 P.K. WARME, R.S.MORGAN, J.Mol. Biol. 118 (1978) 289
- 11 J. SINGH, J.M. THORNTON, FEBS 191 (1985) 1
- 12 S.K. BURLEY, G.A. PETSKO, Science 229 (1985) 23
- 13 C. OXFORD, D. CROOKSTON, R.R. BEITLÉ, M.R. COLEMAN, "Membrane Formation and Modification". Ed. I. Pinnau and B.D. Freeman, ACS Symposium Series 744. ACS 2000
- 14 N.S. SCRUTTON, A.R.C. RAINE, Biochem. J. 319 (1996) 1
- 15 J.T.F. KEURENTJES, F.J.M. VOERMANS, "Chirality in Industry II", Capítol 8, Editors: COLLINS, A.N., SHELDRAKE, G.N., GROSBY, J., J. Wiley and Son 1997

Centro GTS

Capítol 3
Conclusions

1. CONCLUSIONS

De forma específica es poden ressaltar les següents conclusions dels treballs presentats en aquesta memòria:

- S'ha pogut demostrar que la presència d'un centre metàl·lic com a punt d'interacció entre el transportador i l'analit permet dissenyar sistemes selectius per al transport de certs grups d'anions a través de membranes líquides. De manera que en funció de l'afinitat de l'analit corresponent pel centre metàl·lic escollit és possible transportar-lo a través de ML selectives, aplicat tant a sistemes d'anions inorgànics com a amino àcids.
- Per a aquells analits que presenten afinitats similars pel centre metàl·lic immobilitzat, l'ordre de preferència en el transport a través de la ML ve donat per la seva facilitat a introduir-se en la dissolució orgànica emprada com a fase membrana.
- A partir dels coeficients de distribució entre la fase aquosa i la fase orgànica que s'emprarà com a ML, es possible calcular la lipofilitat i polaritat dels analits en estudi. En el cas del transport d'amino àcids a través de ML s'han determinat aquests paràmetres per tal de predir la seva capacitat per penetrar a la ML, i per tant condicionar així la selectivitat del procés de transport.
- Quan els analits presenten característiques similars en afinitat pel transportador, així com pràcticament la mateixa capacitat de penetrar a la fase membrana, com és el cas d'alguns amino àcids, és la seva interacció amb l'entorn del centre metàl·lic el que permet la seva diferenciació.
- S'ha comprovat que la immobilització d'un transportador com el DEHPA en les noves MCA no modifica respecte la corresponent membrana líquida suportada l'eficàcia per al transport d'amino àcids, tot i que provoca una reducció del flux d'analit a través de la membrana, així com una millora de la seva estabilitat alhora que s'accentua la selectivitat del sistema de separació, permetent el transport quasi selectiu de Trp en presència de Phe i Tyr.
- Ha quedat pales que l'enriquiment enantiomèric de l'àcid mandèlic mitjançant membranes líquides contenint cinconidina com a agent transportador és

possible, i que aquest enriquiment pot mantenir-se en el temps sempre que la interacció entre el transportador i un dels enantiòmers sigui prou estable.

- La selectivitat enantiomèrica en les membranes líquides es veu fortament afectada pel medi de reacció i per la disponibilitat dels diferents punts d'interacció entre l'analit i el transportador.

De forma més general les causes que afecten a la selectivitat en membranes líquides, segons els resultats de la memòria que es presenta, es fonamenten en tres tipus d'interaccions existents durant el procés de transport, les quals es recullen a continuació.

- Interacció entre l'analit i els dissolvents. És la primera característica que condiciona la selectivitat d'una ML, i ve determinada per la interacció de l'analit amb el medi on es troba i on ha d'entrar o a d'on ha de sortir. En el cas dels anions estudiats en aquesta memòria, aquest factor ve indicat per la sèrie de Hoffmeister, en canvi pels compostos orgànics aquest factor ve determinat pel coeficient de distribució de l'espècie entre l'aigua i el dissolvent de la ML.
- Interacció entre l'analit i el transportador. És la segona interacció característica dels sistemes de transport facilitat a través de ML, i és la que més marca la selectivitat del procés. Aquest tipus d'interacció ha de complir una sèrie de condicions per afavorir la seva selectivitat, tals com:
 - El transportador ha de ser estable i ha de permetre la coordinació o interacció amb l'analit.
 - La interacció entre l'analit i el transportador ha de ser d'una afinitat moderada i reversible.
- Interacció entre l'analit i l'entorn del centre de reacció. En aquest cas pot contribuir a la diferenciació entre unes espècies i unes altres, i normalment té lloc conjuntament amb l'anterior. Aquesta pot modificar la selectivitat del sistema, permetent la interacció de l'analit i el transportador en més d'un punt, tot afavorint a aquelles espècies que tenen altres grups per interaccionar o bé a aquelles que els tenen en una conformació més adient.