

*Enrico Drioli,
Gianluca Di Profio,
Efrem Curcio
Istituto per la Tecnologia
delle Membrane (ITM-CNR)
Università della Calabria
Arcavacata di Rende (CS)
e.drioli@itm.cnr.it*

APPLICAZIONI DEI CONTATTORI A MEMBRANA NEI PROCESSI DI SEPARAZIONE DI FASE - I CRISTALLIZZATORI A MEMBRANA

La necessità di produrre sostanze in fase solida-cristallina, con morfologia e struttura controllata, è oggi di notevole importanza in numerosi campi industriali, tecnologici e della ricerca scientifica di base ed applicata. In tale ottica, recentemente è stato ideato un sistema di cristallizzazione il cui funzionamento si basa sull'utilizzo di membrane microporose.

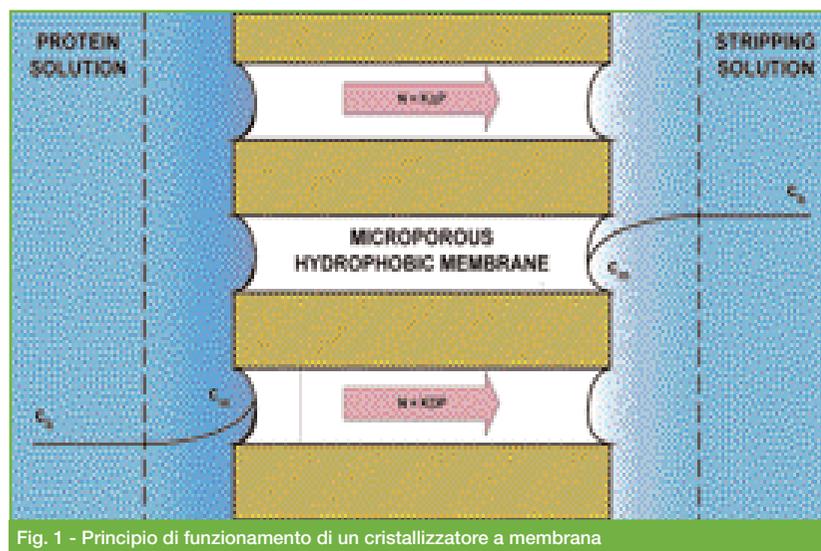
Il ruolo delle membrane, concepite in passato semplicemente come barriere selettive tra due fasi, si è oggi notevolmente ampliato in molti campi scientifici, tecnologici ed industriali. Parlando di membrane non ci si riferisce più soltanto a strutture statiche, il cui ruolo primario è quello di impedire il passaggio di sostanze, ma a sistemi che pur agendo tramite un meccanismo concettualmente semplice, sono caratterizzati da strutture com-

plesse, in grado di regolare il passaggio di materia e/o di energia in maniera estremamente selettiva ed efficiente (separazioni molecolari a membrana), di promuovere trasformazioni chimiche (reattori a membrana), di ottimizzare il trasferimento di materia ed energia tra fasi (contattori a membrana) [1]. Negli ultimi decenni, i vantaggi derivanti dall'applicazione delle tecnologie a membrana nei processi produttivi, ha conferito a tali sistemi notevole

considerazione per la realizzazione di cicli industriali ispirati alla *strategia dell'intensificazione di processo* [2]. Infatti, le operazioni a membrana sono intrinsecamente caratterizzate da estrema efficienza, semplicità nel condurre le operazioni, elevata selettività e permeabilità nel trasporto di specifici componenti, bassa richiesta energetica, buona stabilità nelle varie condizioni operative, possibilità di elevato controllo ed automazione e, in definitiva, rispetto dell'ambiente. Per tali ragioni, l'utilizzo di operazioni a membrana, anche integrate, è oggi molto diffuso, ad esempio per la produzione di acqua ultrapura per l'industria della microelettronica; per la rimozione di virus, batteri, insetticidi ed altri agenti inquinanti, delle acque di scarico e dei reflui industriali così da consentirne il recupero ed il riciclo, riducendo lo sfruttamento delle risorse idriche; inoltre, le operazioni a membrana rappresentano oggi la tecnologia dominante nel campo della dissalazione delle acque saline e salmastre. Recentemente, applicazioni per il recupero da acque di processo di molecole di particolare interesse nutrizionale e commerciale (*nutraceuticals*), come ad esempio del settore lattiero-caseario, e per la sterilizzazione a freddo di prodotti agro-alimentari, sono divenute realtà commerciali. Ciò è reso possibile dai processi di separazione a livello molecolare, che consentono di isolare e concentrare singole specie a seconda delle loro caratteristiche chimico-fisiche, scegliendo opportunamente il tipo di membrana. Nel campo medico, sistemi a membrana sono alla base di organi artificiali come il rene o nei sistemi di trattamento del sangue come l'emodialisi e l'ossigenazione. Nel campo delle nuove tecnologie, le membrane rappresentano il cuore di dispositivi come le celle a combustibile. Nei processi industriali inoltre, dispositivi a membrana di più recente concezione riservano promettenti applicazioni nelle fasi di reazione/separazione combinata, con i reattori catalitici a membrana [3], e nella realizzazione di unità fondamentali di processo. Un tipico esempio in tal senso è rappresentato dal progressivo sviluppo e dalla rapida diffusione di dispositivi appartenenti alla categoria dei contattori a membrana [4], come ad esempio gli emulsificatori, i distillatori ed i cristallizzatori a membrana. In questa nota si discuteranno in particolare le potenzialità dei cristallizzatori a membrana, oggetto oggi di particolare attenzione presso i laboratori dell'ITM-CNR.

Nuove metodologie nella cristallizzazione industriale

La produzione di sostanze in fase solida-cristallina riveste attualmente un ruolo fondamentale in numerosi campi industriali, tecnologici e della ricerca scientifica sia di base che applicata. Se si considerano le più recenti edizioni dei due principali congressi sul tema della cristallizzazione industriale (*International Symposium on Industrial Crystallization e International Workshop on Industrial Crystallization*), è evidente l'attenzione rivolta dagli addetti del settore verso due obiettivi principali: 1) lo *shift* nella produzione di materiali cristallini verso l'area biologica e 2) la necessità di un maggiore controllo del processo di cristallizzazione [5]. Queste due linee guida derivano da un lato dal notevole progresso degli ultimi anni nel settore delle biotecnologie, che ha portato una notevole estensione dell'area di applicazione di materiali a base biologica e bio-inorganica nella vita di tutti i giorni, e dall'altro dalla necessità di comprendere in dettaglio le leggi chimico-fisiche che governano il meccanismo di formazione e crescita cristallina al fine di poter controllare le caratteristiche morfologiche e strutturali dei materiali prodotti. Benché, infatti, la cristallizzazione risulti un'operazione presente già da decenni nei cicli produttivi, spesso essa è difficilmente governabile. Tale aspetto assume ulteriore importanza se si considera la cristallizzazione di molecole biologiche, come ad esempio le proteine, a causa dell'elevata complessità strutturale e la bassa velocità di diffusione in soluzione di questi sistemi. Tuttavia, la cristallizzazione di proteine assu-



me particolare importanza per diversi motivi:

- 1) per la loro estrazione, con sufficienti livelli di purezza, da brodi di fermentazione attraverso un processo che prevede un unico *step*, con rese elevate ed in maniera economicamente accessibile e tecnicamente semplice;
- 2) per la comprensione della loro struttura tridimensionale al fine di decifrarne i meccanismi di azione e quindi progettare e sintetizzare nuovi farmaci capaci di agire su particolari siti attivi [6];
- 3) come prima fase nella produzione di cristalli enzimatici *cross-linked* (CLECs) per applicazioni di catalisi eterogenea, in processi industriali e bio-tecnologici [7].

Altro aspetto fondamentale, di estrema attualità, soprattutto in campo farmaceutico, riguarda il controllo del polimorfismo. Il problema del polimorfismo riguarda, infatti, numerosi prodotti di origine farmaceutica commercializzati allo stato solido-cristallino. I diversi polimorfi, presentando reticoli cristallini differenti, sono caratterizzati da proprietà chimico-fisiche diverse, tanto da influenzare la loro stabilità ed il loro comportamento bio-farmaceutico; a causa della diversa velocità di assorbimento determinata dalla rapidità della dissoluzione di una specifica forma polimorfa, si osserva una differenza nella bio-disponibilità del prodotto stesso [8]. Senza dimenticare inoltre che il problema del polimorfismo è al centro di numerose dispute legali fra grosse aziende farmaceutiche nella registrazione di brevetti di nuove fasi di ingredienti farmacologicamente attivi. Disporre di tecniche che consentono di produrre selettivamente una specifica forma polimorfa a seguito di un processo di cristallizzazione è quindi di estremo interesse.

I cristallizzatori a membrana

Il sistema di cristallizzazione a membrana si basa sull'utilizzo di membrane microporose ed idrofobe, generalmente di natura polimerica, per la produzione di cristalli a partire da una soluzione insatura [9]. Questa duplice caratteristica della membrana fa sì che le soluzioni acquose messe in contatto non invadano i pori allo stato liquido, come normalmente avviene nella dialisi, ma consente la formazione di una duplice interfaccia liquido/vapore su entrambi i lati della membrana stessa (Fig. 1). Un gradiente di potenziale chimico fra le due interfacce, dovuto ad una differenza di temperatura e/o di pressione osmotica, rappresenta la forza spingente dell'intero processo. Nel primo caso, il sistema è definito *cristallizzatore a membrana termico* mentre nel secondo caso *cristallizzatore a membrana isoterma (o osmotico)*. La presenza del gradiente di potenziale chimico dà luogo ad un meccanismo di allontanamento di molecole di solvente in fase vapore dall'interfaccia a contatto con la soluzione contenente la specie da cristallizzare, la migrazione attraverso la struttura porosa, la ri-condensazione sulla seconda interfaccia, in contatto con una soluzione a più bassa temperatura, nel caso del sistema termico, o con una soluzione di un agente di *stripping*, nel sistema osmotico.

Mentre per la cristallizzazione di sostanze inorganiche o di molecole organiche di bassa massa molare è possibile utilizzare un cristallizzatore a membrana termico [10], per la cristallizzazione di specie termolabili, come ad esempio proteine o altre bio-macromolecole, è possibile utilizzare il sistema osmotico [11].

Il sistema di cristallizzazione a membrana può operare secondo due modalità:

- 1) in condizioni statiche (sistema statico), entrambe le soluzioni sono messe a contatto per mezzo della membrana senza che vi siano moti convettivi generati dal ricircolo forzato [12]. Il sistema può far uso di membrane capillari o piane, in configurazione tale da consentire più esperimenti in contemporanea per la realizzazione di *screening* su larga scala, utilizzando piccoli volumi di soluzioni di partenza (pochi microlitri) come anche quantità di soluzione, nell'ordine dei millilitri o delle decine di millilitri (con facilità di ulteriore scale-up);

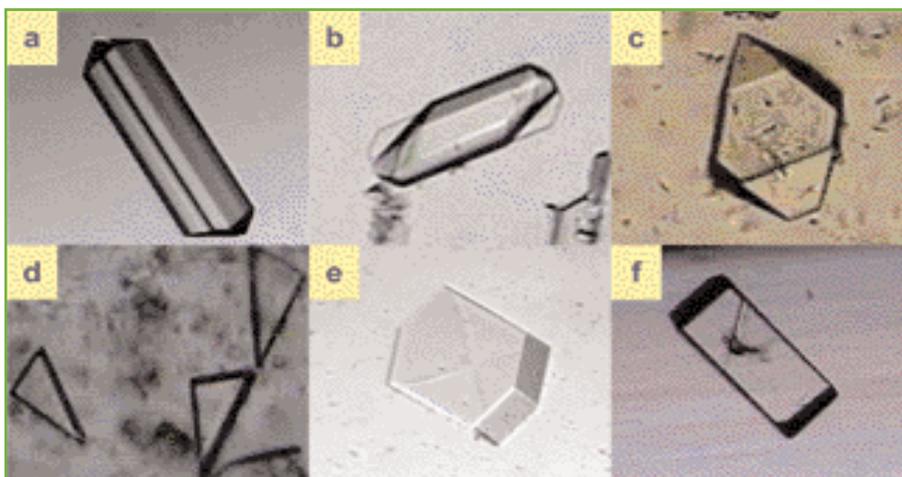


Fig. 2 - Cristalli ottenuti con il sistema a membrana: a) glicina ottenuta in <48 h; b) triglicina solfato ottenuta in <36 h; c) tripsina pancreatica bovina ottenuta in <24 h; d) β -glucosidasi di mandorlo ottenuta in ~4 giorni; e) lisozima da uovo di gallina cristallizzato in <14 h; f) paracetamolo ottenuto in 12 h

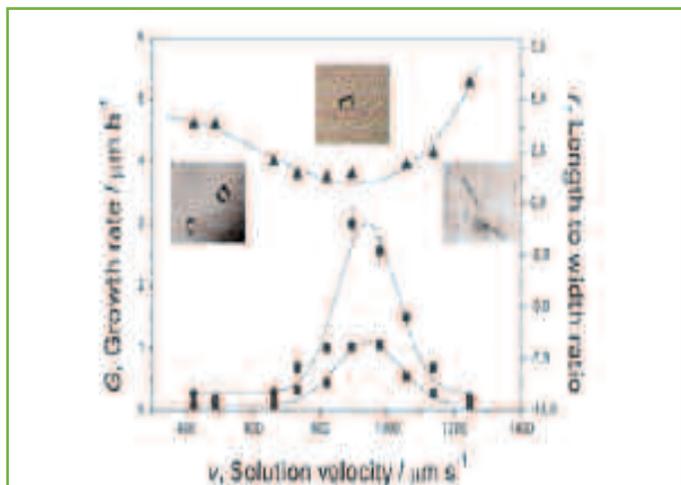


Fig. 3 - Dipendenza delle velocità di crescita e della morfologia dei cristalli di tripsina pancreatica bovina dalle condizioni fluido dinamiche in un cristallizzatore a membrana dinamico

2) in condizioni dinamiche (sistema dinamico o in flusso forzato), le soluzioni sono messe a ricircolo in controcorrente [13]. In tale configurazione, nel caso di molecole a simmetria sferoidale (come per le proteine), una condizione di flusso assiale in regime laminare, fornisce un ambiente “anisotropo”, confrontabile con quello generato da campi elettrici, magnetici, o in presenza di substrati “allineanti”, in cui si ha un controllo del moto termico delle molecole ed una conseguente interazione privilegiata delle stesse, consentendo una aggregazione più ordinata fin dalle prime fasi del processo: ciò introduce effetti migliorativi sulle caratteristiche strutturali finali dei cristalli prodotti. Questo permette di produrre cristalli ad elevato potere diffrangente che, nel caso di proteine, consente un’analisi strutturale mediante raggi X con maggiori livelli di risoluzione.

Nel sistema di cristallizzazione a membrana, sia statico sia dinamico, si combina la duplice natura idrofobica e porosa della superficie della membrana per indurre la cristallizzazione in condizioni di sovrasaturazione che altrimenti non sarebbero adeguate per l’innesco del processo di nucleazione. La struttura porosa, infatti, consente l’intrappolamento delle molecole, generando localmente dei massimi di sovrasaturazione tali da consentire la nucleazione anche quando nel bulk della soluzione tali valori non sono esistenti. Inoltre, la superficie polimerica della membrana, mediante effetti di *template* dovuto all’adsorbimento del soluto, induce l’abbassamento dell’energia di attivazione per la nucleazione attraverso un meccanismo di nucleazione eterogenea [14].

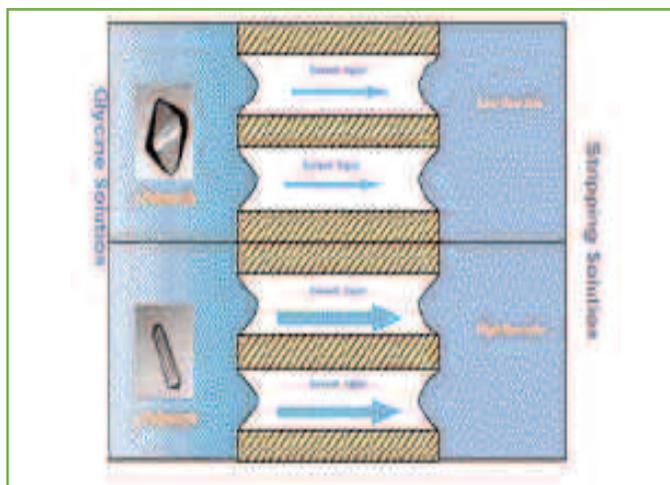


Fig. 4 - Controllo del polimorfismo dell'amminoacido glicina mediante la velocità di raggiungimento della sovrasaturazione in un cristallizzatore a membrana

Tale duplice effetto, da un lato consente di ottenere cristalli utilizzando piccole quantità di sostanza e dall’altro permette un’accelerazione dell’intero processo di cristallizzazione (Fig. 2) con la comparsa di cristalli in tempi estremamente ridotti rispetto alle tecniche normalmente utilizzate [15].

Con il sistema a membrana, nella configurazione dinamica, è possibile ottenere cristalli dalle dimensioni notevolmente uniformi e di forma controllabile (Fig. 3), agendo sulla fluidodinamica del processo [16]. La possibilità di agire sul flusso trans-membrana, e quindi sulla velocità di estrazione del solvente, permette inoltre di intervenire sulle cinetiche di crescita, portando il sistema nelle differenti regioni del suo diagramma di fase corrispondenti a condizioni termodinamiche opportune, controllando così la morfologia del materiale cristallino prodotto [17].

Nel sistema di cristallizzazione a membrana, a seconda delle proprietà chimico-fisiche della membrana stessa e delle condizioni fluido-dinamiche, è possibile controllare la velocità di estrazione del solvente. Ciò è di fondamentale importanza, in quanto consente di modulare la velocità di raggiungimento dei livelli di sovrasaturazione e quindi dalla larghezza della zona metastabile (*Metastable Zone Width*, MZW) nel diagramma di fase del sistema considerato. È ben noto, infatti, che, in un processo di cristallizzazione, dalla MZW dipendono le proprietà finali dei materiali cristallini prodotti [18].

Tale concetto si estende, in un cristallizzatore a membrana, al controllo del polimorfismo [19]. Infatti, nelle prime fasi di

membrana fino al superamento dei livelli di sovrassaturazione e quindi alla formazione di cristalli, con ulteriore recupero di acqua pura. L'elevato controllo del processo consente di produrre materiali cristallini aventi caratteristiche morfologiche e strutturali opportune.

Sostanze come: cloruro di sodio, carbonato di calcio in varie forme polimorfe a seconda delle condizioni operative, ed epsomite ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), sono ottenute come prodotti solidi [20]. In questa maniera, l'ulteriore recupero di acqua consente:

- i) di aumentare il fattore di recupero dal 45-55% (tipico per il solo stadio di RO), fino al 95% per l'intero sistema integrato;
- ii) di risolvere il problema del *brine disposal*, grazie al recupero di prodotti solidi di interesse commerciale;
- iii) un abbassamento generalizzato dei costi di dissalazio-

ne ben al disotto dei 0,50 \$/m³ di acqua prodotto [21].

In conclusione, con i cristallizzatori a membrana è stato possibile cristallizzare una vasta gamma di sostanze, caratterizzate da differenti dimensioni molecolari, che vanno da quelle di piccole molecole organiche alle più grandi e complesse proteine. In maniera semplice ed efficace è possibile controllare le proprietà morfologiche e strutturali dei cristalli prodotti, grazie al controllo dei principali parametri di processo e/o di membrana, aventi una profonda influenza sulla cinetica di cristallizzazione fin dai primi stati di aggregazione. In definitiva, il sistema di cristallizzazione a membrana rappresenta una interessante prospettiva nel campo della "bio-cristallizzazione" e della "cristallizzazione controllata" come anche nella razionalizzazione di produzioni industriali più diverse, tra cui la dissalazione delle acque sia saline sia salmastre.

Bibliografia

- [1] H. Strathmann *et al.*, An Introduction to Membrane Science and Technology, Publisher CNR Roma, August 2006.
- [2] E. Drioli *et al.*, *Fluid Part. Sep. J.*, 2004, **16**, 1.
- [3] E. Drioli, L. Giorno, Biocatalytic Membrane Reactors: Application in Biotechnology and the Pharmaceutical Industry, Taylor & Francis Publisher, Padstow, UK, 1999.
- [4] E. Drioli *et al.*, Membrane Contactors: Fundamentals, Applications and Potentialities, Elsevier, Amsterdam, 2006.
- [5] Proc. of the 16th International Symposium on Industrial Crystallization (ISIC16), 11-14 September, Dresden, Germany; Proceedings of the 13th International Workshop on Industrial Crystallization (BIWIC 2006), 13-15 September, Delft, The Netherlands.
- [6] A. McPherson, Crystallization of biological macromolecules. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, USA, 1999.
- [7] A.L. Margolin, M.A. Navia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **20**, 2204.
- [8] J. Bernstein *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, **38**, 3440.
- [9] E. Curcio *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2001, **40**, 2679.
- [10] E. Curcio *et al.*, *Sep. Pur. Tech.*, 2003, **33**, 63.
- [11] E. Curcio *et al.*, *Desalination*, 2002, **145**, 173.
- [12] E. Curcio *et al.*, *J. Memb. Sci.*, 2005, **257**, 134.
- [13] E. Curcio *et al.*, *J. Cryst. Growth*, 2003, **247**, 166.
- [14] E. Curcio *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 12438.
- [15] G. Di Profio *et al.*, *J. Cryst. Growth*, 2003, **257**, 359.
- [16] G. Di Profio *et al.*, *J. Struct. Biol.*, 2005, **150**, 41.
- [17] G. Di Profio *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2005, **44**, 10005.
- [18] J. Ulrich, C. Strege, *J. Cryst. Growth*, 2002, **237-239**, 2130.
- [19] G. Di Profio *et al.*, *Cryst. Growth Des.*, 2007, in press.
- [20] E. Drioli *et al.*, *J. Memb. Sci.*, 2004, **239**, 27.
- [21] E. Drioli *et al.*, *Chem. Eng. Res. Des.*, 2006, **84**, 209.

Membrane Crystallization in Phase Separation Processes

The necessity to produce solid-crystalline substances, with controlled morphology and structure, is today increasing in various areas of industry, technology and basic and applied research. On this respect, in the last few years, an innovative crystallization system, based on the use of microporous membranes, has been proposed. Their characteristics make membrane crystallization a powerful tool in view of its application on industrial scale, and encourage further research for the development of this innovative technology.