

Slutrapport för ÅForsks utlysning om forskningsanslag inom generell forskning

Prof. Martin Andersson, Kemi och Kemiteknik, Chalmers Tekniska Högskola

Dr. Kristina Hedfalk, Kemi och Molekylärbiologi, Göteborgs Universitet

Dr. Simon Isaksson, Retein AB, ÅForsk Entreprenörstipendiat 2020

Slutrapport: Unik skalbar process som möjliggör hållbart användande av naturens finaste vattenrening

Syftet med detta forskningsprojekt var att med hjälp av biomimetik utveckla en robust vattenreningsteknologi som effektivt kan avlägsna joner från saltvatten på ett kostnadseffektivt sätt, för att på så sätt producera rent dricksvatten. Samtidigt är målet att teknologin ska bli kapabel att avlägsna föroreningar likt hormonstörande substanser som perfluorerade kolväten, läkemedelsrester och mikroplastpartiklar vid både dricksvattenproduktion och avloppsrening.

I många länder är tillgång till rent dricksvatten långt ifrån en självklarhet, och då det finns är vattnet dessutom ofta bara tillgängligt på annan plats, vilket kostar både tid och energi. Det faktum att ungefär 97% av vattnet på jorden är salt havsvatten innebär att det finns stora möjligheter genom användandet av teknik som på ett energieffektivt sätt kan omvandla saltvatten till rent dricksvatten, vilket är vad som utvecklas inom detta projekt.

Ett 2-årigt forskningsprojekt initierades enligt plan genom anställningen av Dr. Florian Schmitz i professor Martin Anderssons grupp på Chalmers. Florian är doktor inom aquaporinframställning och karaktärisering, vilket gör honom ytterst väl lämpad. Projektet har drivits i samarbete med Dr. Kristina Hedfalk på Göteborgs Universitet med fokus mot proteinframställningen och i aktivt samarbete med Retein AB (tidigare Aquammodate AB) med fokus på vattenreningsteknologi.

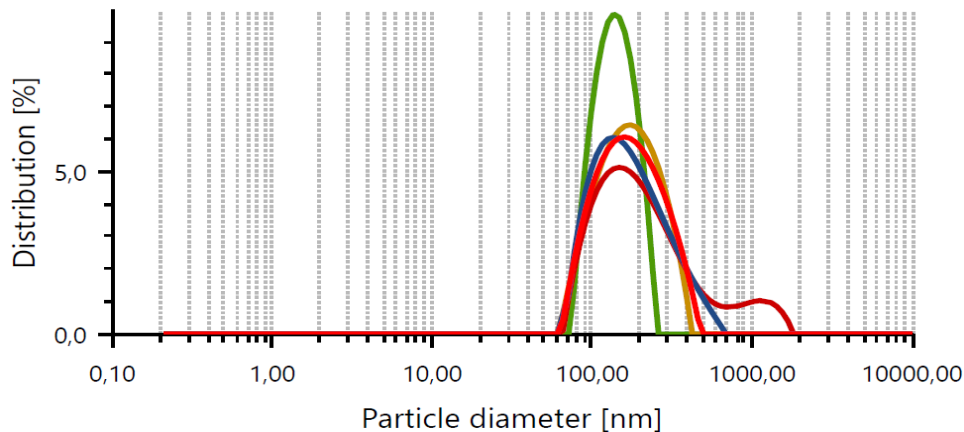
Planen var initialt på utveckling av metodik kring produktion och framrening av jästcellers membran och framtagning av vesiklar baserade på dessa. Denna plan justerades till viss del efter att en ny infallsvinkel belyst en annan proteinframtagningsmetod som bedöms kunna resultera i en ännu mer kostnadseffektiv framställningsprocess. Då målet med projektet är att utveckla en signifikant förbättrad process som ska minska tidsåtgången för framställningen med 50% samt sänka kostnaderna för produktionen med 70% prioriterades utforskandet av denna alternativa framställningsmetod som använder sig av s.k. cell-fri metodik.

I samarbete med NMR-centrum i Göteborg skapades en optimerad cellfri aquaporinproduktion, där billiga tensider kan användas. Till skillnad från traditionell proteinproduktion, är en cellfri syntes mer kostnadseffektiv och snabbare då man eliminerar tidskrävande reningssteg. Vår optimerade process tillåter redan produktion av rent protein och befinner sig för närvarande i valideringsfasen. Forskningen har visat på bra utbyte av dessa proteiner, med vissa variationer berodande på vilka tensider som används i processen. Dessa proteiner kan sedan appliceras antingen i membran av *Pichia pastoris* jästceller eller i modellmembran, där det senare är det alternativ som utforskats såhär långt.

Som ett alternativ till den cell-fria syntesmetodik har ett mer konventionellt proteinproduktionsprojekt utförts tillsammans med TESTA-center i Uppsala. Målet var att skala upp proteinproduktionen och utveckla en förbättrad reningsprocess. Genom samarbetet med TESTA center har vi tagit fram en industriellt gångbar bearbetningsprocess för produktion av

vårt aquaporin. Dessutom har vi genomfört preliminära tester för en ny reningsprocess och vi är i diskussion om ett utökat samarbete med en ledande tillverkare inom life science-sektorn.

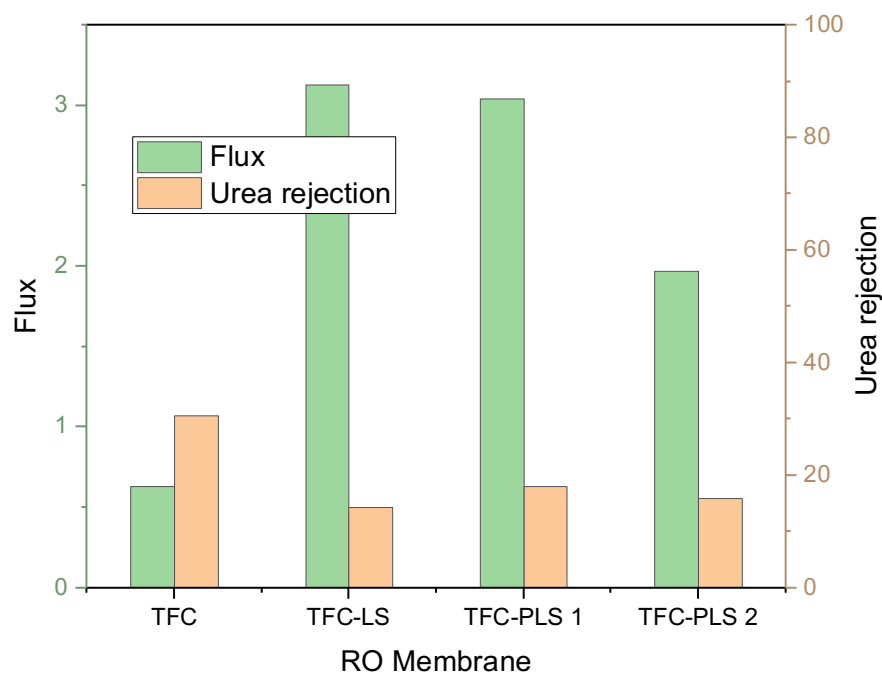
Inom projektet har vi tagit fram data som visar på bibehållen aquaporinfunktion genom s.k. stopped-flow-mätningar. Dessa visar på att vår silicifieringsmetod, som används för att stabilisera proteinerna, resulterar i fungerande lipidbilager innehållande Aquaporin 4 (AQP4). Vi har utvecklat en metod för att kontrollera silikalagrets tjocklek runt partiklarna. Detta nya protokoll möjliggör produktion av partiklar med en genomsnittlig storlek på 170 nm (bekräftat av dynamisk ljusspridning), vilket är idealiskt för membraninkorporering, se Figur 1.



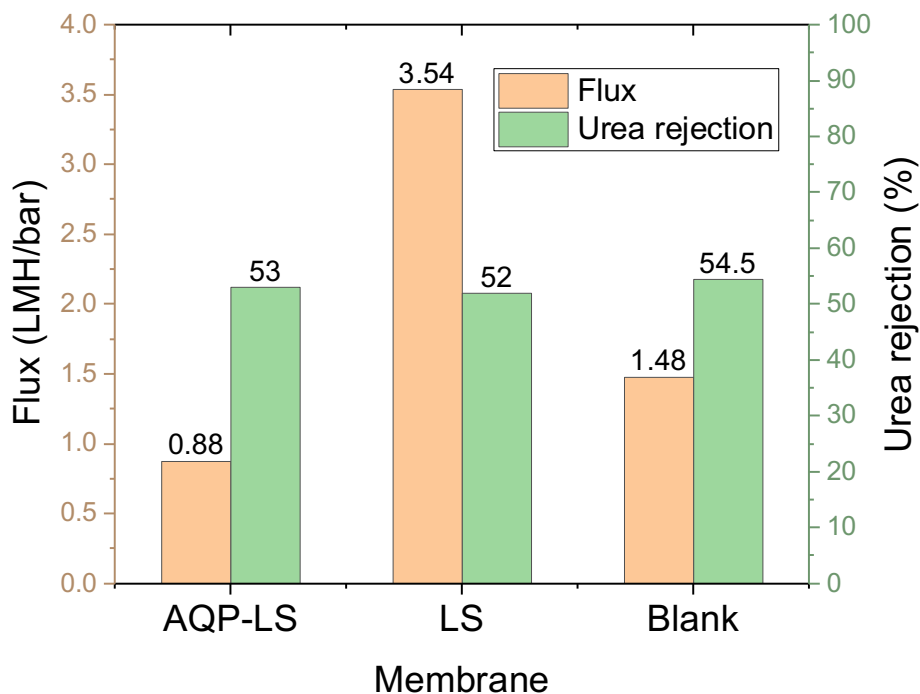
Figur 1. Tillväxt av silikaskiktet på liposomer mätt med DLS. Olika prover analyserades under en period av två timmar, och det konstaterades att det skedde en tillväxt i storlek från det initiala liposomprovet (grönt) över tid (andra färger).

Dessa silikastabiliserade partiklar kan sedan inkorporeras i olika polymermembranmatriser. Vi har utvärderat olika produktionsmetoder för separationsmembran med avseende på prestandan hos de resulterande membranen. Vi har utvärderat *thin film nanofabrication composites* (TFNC) membran med konventionell *interfacial polymerization* (IP) teknik, vakuumfiltrering IP och asymmetriska blandade matrismembran (MMM). För båda produktionsmetoderna (TFNC och MMM) analyserade vi parametrar som membrantjocklek och koncentration av aquaporininnehållande silikakapslar. Vi utvecklade även utrustning för membranproduktion som är nödvändig för vidare uppskalning med avseende på önskad membrantjocklek. Resultaten visade att det finns en optimal tjocklek och att det är viktigt att lagren har en hög homogenitet, vilket visades vara avgörande för reproducerbarheten. En ny filmgjutningsmaskin med justerbar membrantjocklek införskaffades för att ersätta den befintliga metodiken som baserades på användandet av rullar, vilka visade sig ge inkonsekventa resultat.

Vi har genomfört regelbundna tester av våra pilot-tillverkade membran under ”verkliga” förhållanden, till exempel med tryck från 6 till 20 bar och med olika matningsvätskor (bräckt vatten, fysiologiska ammoniakkoncentrationer mm). Vi har dessutom tagit fram en metodik för att bestämma koncentrationen av filtrerad ammoniaklösning för att utveckla filtreringslösningar som är anpassade till mänskliga fysiologiska förhållanden. Preliminär data visar på högre selektivitet och mer än 3 gånger flöde hastigheten för vatten jämfört med de bästa kommersiella omvänd osmos (RO)-membranen (Figur 2).

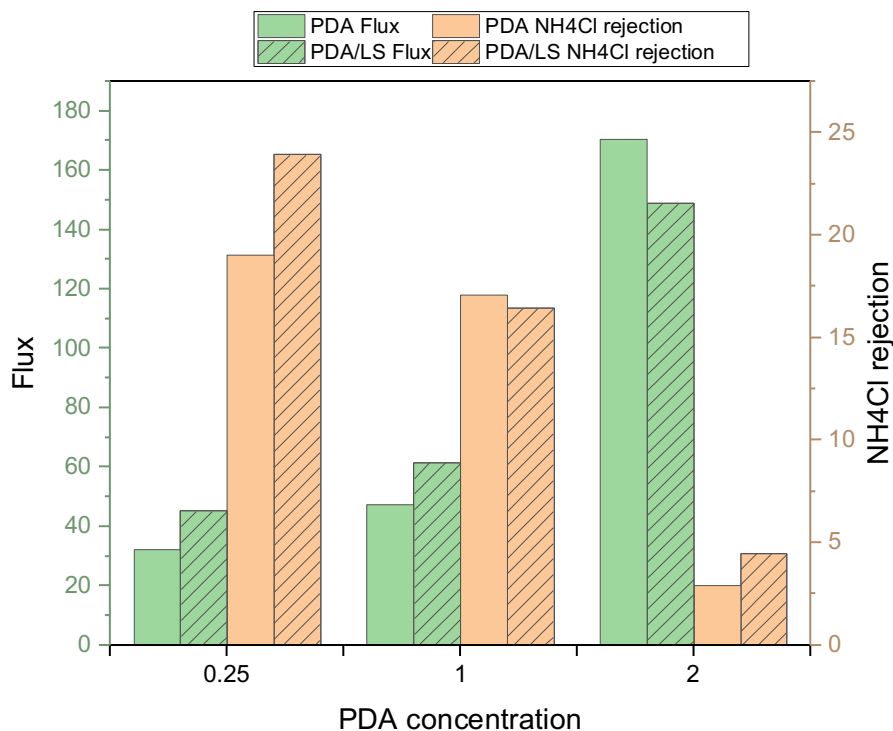


Figur 2. Flux- och urea "rejection" för olika RO-membran. Jämförelse mellan en tunnfilmkomposit (TFC) kontrollmembran med inkorporerade liposiler (LS) och proteoliposiler (PLS, innehållande aquaporin).



Figur 3. Mätningar av flux och ureaavvisning för olika membran. Jämförelse mellan ett kontrollmembran av tunnfilmkomposit (TFC) med inkorporerade liposiler (LS) och proteoliposiler (PLS, innehållande aquaporin).

Närvaron av våra tillverkade partiklar ökade det resulterande flödet med upp till 480 % jämfört med kontrollmembranen, se Figur 3. Urea-avvisning, å andra sidan, förbättras inte med denna tillverkningsmetod. Genom vidareutveckling av membrantillverkning kunde dock en högre urea-avvisningsgrad nås, se Figur 4. Den förbättrade ureaavvisningen kombinerades även med en fördubbling av flödeshastigheten. Den betydande urea-avvisningsgraden bevisar den höga strukturella integriteten hos de självproducerade omvänd osmos-membranen med inkorporerade liposil-partiklar. Inkorporeringen av aquaporin-nanopartiklar har ingen påverkan på den höga urea-avvisningsgraden, men flödet påverkas märkbart.



Figur 4. Vattenflux och NH₄Cl-avvisning hos tillverkade membran med olika polymerkoncentrationer.

Under projektets gång har vi initierat samarbete med industripartners för att testa våra membran under verkliga förhållanden. Vi har fördjupat vårt samarbete med Triomed från Sverige och Suedzucker från Tyskland. Suedzucker är världens största sockerproducent och strävar efter att återvinna resterna från sin produktion. Vi strävar efter att koncentrera det residuala flödet från produktionen. Inledande tester med våra nya membran visade på en minskning med 88 procent av befintliga elektrolyter i produktionsvattnet, vilket minskar vattenförbrukningen väsentligt i produktionen.

Sammanfattningsvis har stödet från ÅForsk-stiftelsen gjort det möjligt att utveckla nya produktionsmetoder, både inom området för proteinproduktion och för tillverkning av nya separationsmembran. Dessa nya material har förbättrade egenskaper, som efter fortsatt optimering kan användas för olika industriella tillämpningar inom vattenreningprocesser.