

РАЗДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА И ХЛОРИДА НАТРИЯ СТАЦИОНАРНЫМ ДИАЛИЗОМ С ПРОФИЛИРОВАННОЙ СУЛЬФОКАТИОНООБМЕННОЙ МЕМБРАНОЙ

Е. А. Голева, В. И. Васильева

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 03.10.2011 г.

Аннотация. Показана возможность разделения амфолита (аминокислоты) и электролита (минеральной соли) диализом на основе доннановского исключения электролита и облегченного транспорта аминокислоты через катионообменную мембрану в водородной форме. Установлены диапазон концентраций и соотношение компонентов в растворе, соответствующие эффективному разделению фенилаланина и хлорида натрия. Для интенсификации процесса рекомендовано применение сульфокатионообменных мембран с геометрически неоднородной профилированной поверхностью.

Ключевые слова: разделение, фенилаланин, хлорид натрия, диализ, сульфокатионообменная профилированная мембрана.

Abstract. It has been demonstrated a possibility of separation of the ampholyte (amino acid) and electrolyte (mineral salt) by dialysis on the basis of Donnan elimination of the electrolyte and facilitated transport of amino acid through the cation-exchange membrane in hydrogen form. The concentration range and the ratio of the components in a solution were determined for the case of the efficient separation of phenylalanine and sodium chloride. To intensify the process it is recommended to apply sulphocation-exchange membranes with geometrically non-uniform profiled surface.

Keywords: separation, phenylalanine, sodium chloride, dialysis, profiled sulphocation-exchange membrane.

ВВЕДЕНИЕ

Операции разделения смесей и концентрирования малых количеств имеют характер вспомогательных, хотя и очень существенных, а часто и просто необходимых при контроле качества и подлинности лекарственных препаратов и пищевых добавок [1]. В связи с этим разработка новых способов разделения биологически активных веществ и их селективного определения относится к приоритетным аналитическим задачам. Аминокислоты относятся к важнейшим биологически активным соединениям, нарушение содержания которых в организме человека является одной из причин возникновения патологических процессов, дисфункций различных органов [2]. Известно определение аминокислот электрохимическими методами [3]. Разделение и определение аминокислот, а также их энантиомеров методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [1, 4] характеризуется низкими пределами обнаружения и малой погрешностью, однако для разделения необходимо сложное оборудование. Разработаны способы селективного экстракционного извлече-

ния аминокислот для последующего определения их самыми разными методами [1, 5]. Ионообменные процессы на синтетических сорбентах (ионитах) как метод избирательного выделения, очистки и разделения аминокислот применяются во многих отраслях пищевой и фармацевтической промышленности [6, 7]. Однако способы ионообменного разделения предусматривают использование для регенерации ионообменников кислотных и щелочных растворов, что вызывает серьезные экологические проблемы, приводит к загрязнению получаемых продуктов и их удорожанию. В настоящее время мембранные технологии не только заменяют общепринятые методы разделения (экстракцию, испарение, ионный обмен), но и применяются в областях, где традиционные методы неприменимы или малоэффективны [8, 9]. Среди примеров аналитического применения ионообменных мембран можно отметить концентрирование [10—12] и разделение аминокислот с минеральными компонентами [12—14] и сахарами [15] электродиализом. При электродиализе, требующем больших затрат электричества, потери очищаемых от минеральных примесей аминокислот достаточно велики за счет диффузионного и электроосмотического переноса через мембраны.

Экологическая целесообразность диализа (диффузионного процесса разделения растворенных веществ, различающихся молекулярными массами, через полупроницаемые мембраны под действием градиента концентраций [16]), проводимого без затрат химических реагентов и не требующего расходов электричества, представляется почти идеальной для выделения аминокислот после микробиологического синтеза из смеси с сахарами и минеральными компонентами. Диализ важен для разделения компонентов крайне нестойких к влиянию внешних воздействий — температуры, давления, электрического потенциала. Возможность проведения процесса в мягких условиях позволяет применять диализ в микробиологической и фармацевтической промышленности при получении и очистке ряда биологически активных веществ и дорогостоящих лекарственных препаратов [17]. Препятствием на пути его внедрения являются низкие скорость и селективность диффузионного переноса веществ через мембраны. В связи с этим необходимы направленный подбор мембран с заданными свойствами и использование дополнительных эффектов, которые позволили бы увеличить эффективность и селективность выделения целевого продукта — аминокислоты.

Задача настоящего исследования состоит в разработке способа безреагентного разделения смеси аминокислоты с минеральным компонентом и установлении факторов, обеспечивающих высокую интенсивность и селективность извлечения с целью выявления перспективы создания новых технологических процессов.

Ускорение мембранного транспорта аминокислоты возможно при использовании катионообменных мембран в водородной форме или анионообменных мембран в гидроксильной форме вследствие протонирования биполярных ионов в фазе мембраны (явление «облегченной» диффузии) [18—22], что позволяет эффективно выделять амфолиты из смеси с сахарами [23]. Одним из путей интенсификации массопереноса через ионообменные мембраны является модификация мембран путем профилирования с приданием их поверхности определенного геометрического микрорельефа [24]. Известны работы по селективному разделению электролита и неэлектролита диализом с ионообменными мембранами на основе явления доннановского исключения электролита, вследствие которого электролит при низких концентрациях через мембрану практически не переносится [22, 25—27].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования — неполярная ароматическая аминокислота (фенилаланин) и минеральная соль (хлорид натрия). Фенилаланин относится к незаменимым аминокислотам, которые не синтезируются клетками животных и человека и поступают в организм в составе белков пищи. L-фенилаланин является протеиногенной аминокислотой и входит в состав белков всех известных живых организмов. Используют фенилаланин для сбалансирования кормов для животных, как компонент спортивного питания, при производстве синтетического сахарозаменителя, активно используемого в пищевой промышленности.

Разделение фенилаланина и хлорида натрия было проведено в двухсекционном проточном термостатируемом диализаторе. Рабочая высота разделяющей секции мембраны составляла 4,2 см, расстояние от мембраны до параллельной ей стенки секции составляло 0,6 см, ширина мембраны 1,7 см.

Модельные растворы готовили из реактивов классификации «ч.д.а.». Диализ проводился из растворов с $\text{pH} = 5,20\text{—}5,60$, в которых амфолит фенилаланин находился в виде биполярных ионов. Выбранный диапазон концентраций растворов фенилаланина составил $0,0010\text{—}0,1500$ моль/дм³, максимальное значение концентрации ограничено его растворимостью. Исследуемый раствор подавали с помощью регулируемых зажимов в одну из секций (1), а через смежную приемную секцию (2) в режиме противотока пропускали дистиллированную воду. Скорость подачи растворов аминокислоты составляла $4,5 \cdot 10^{-2}$ см/с, воды — $5,8 \cdot 10^{-3}$ см/с. Выбор скоростей обусловлен необходимостью получения воспроизводимых результатов при контроле изменения концентрации компонентов в секциях диализатора.

При диализе использовали сульфокатионообменные мембраны МК-40 с гладкой и геометрически неоднородной (профилированной) поверхностью. Гетерогенная сильнокислотная катионообменная мембрана МК-40 представляет собой композицию из полиэтилена и сульфированного сополимера стирола и дивинилбензола. Способ профилирования гетерогенных мембран в набувшем состоянии разработан в ООО «Инновационное предприятие «Мембранная технология» (г. Краснодар) и защищен патентом [28]. Доля поверхности для профилированных мембран возрастает в 2—3 раза по сравнению с гладкой мембраной, влагоемкость возрастает на 28% при постоянной обменной емкости ($\sim 1,55$ г·экв/г). Мембраны кон-

диционировали в соответствии с общепринятой методикой [29], а затем переводили в требуемую ионную форму — водородную.

Диализ осуществляли в стационарном режиме, достижение стационарного состояния определялось по постоянству концентрации компонентов в растворе приемной секции (пермеате).

Аналитический контроль изменения концентрации аминокислоты в пермеате осуществляли методом абсорбционной спектроскопии при длине волны 257 нм (предел обнаружения фенилаланина — $5,8 \cdot 10^{-6}$ моль/дм³), а ионов натрия — методом эмиссионной фотометрии пламени (предел обнаружения — $2,1 \cdot 10^{-5}$ моль/дм³).

Для вычисления концентрации ионов натрия в растворе, содержащем аминокислоту, предварительно измеряли концентрацию аминокислоты спектрофотометрическим методом и оценивали соответствующий отклик пламенно фотометрического анализатора. Затем проводили коррекцию показаний прибора с учетом вклада в общий сигнал отклика аминокислоты и по градуировочному графику находили концентрацию хлорида натрия в растворе.

С учетом измеренных концентраций в пермеате рассчитывались диффузионные потоки компонентов через мембрану:

$$J = dM / S dt = CV_{ог} / S \quad (1)$$

где J — плотность потока, моль/см²·с; dM — приращение числа молей в измеряемом пространстве, моль; S — площадь рабочей поверхности мембраны, равная 7,3 см²; t — время, с; C — концентрация компонента в приемной секции, моль/дм³; $V_{ог}$ — объемная скорость раствора в приемной секции, дм³/с. Относительное стандартное отклонение при определении потоков аминокислоты находилось в интервале 0,01—0,02, хлорида натрия — 0,03—0,05.

В качестве критерия эффективности разделения двух компонентов использован коэффициент разделения K_p [16]:

$$K_p = \frac{C_2(\text{Phe})}{C_2(\text{NaCl})} \div \frac{C_1(\text{Phe})}{C_1(\text{NaCl})}, \quad (2)$$

который определяется как отношение концентраций веществ, вытекающих из приемной секции C_2 (пермеат) к отношению концентраций веществ, поступающих исходную секцию C_1 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучена возможность гидродинамической интенсификации процесса диализа аминокислоты и минеральной соли через сульфокатионообменные

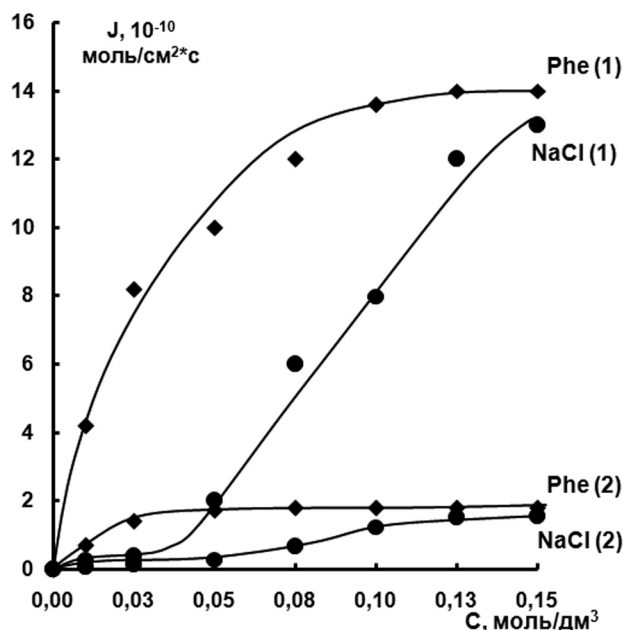
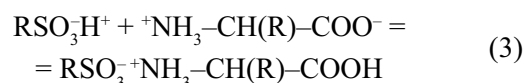


Рис. 1. Концентрационная зависимость потоков фенилаланина и хлорида натрия при диффузии индивидуальных растворов Phe, NaCl через мембрану МК-40 с профилированной (1) и гладкой (2) поверхностью

мембраны в водородной форме. Установлено, что применение профилированной мембраны увеличивает скорость массопереноса компонентов в 6—8 раз по сравнению с имеющими гладкую поверхность (рис. 1). Мембраны с профилированной поверхностью отличаются улучшенными транспортными характеристиками за счет увеличения площади массообмена и возможности турбулизации потока раствора на элементах профиля поверхности.

В настоящей работе выдвинуто предположение, что при диализе смеси аминокислоты и минеральной соли через профилированную катионообменную мембрану в водородной форме «облегченный» транспорт амфолита и доннановское исключение электролита в фазе мембраны приведут к их эффективному разделению.

Была проведена серия экспериментов по диффузионному переносу компонентов из индивидуальных и смешанных эквимольных растворов (рис. 2). В области разбавленных растворов поток фенилаланина через сульфокатионообменную мембрану значительно превышает поток электролита. Причиной этого является сопряжение переноса аминокислоты с химической реакцией в фазе мембраны:



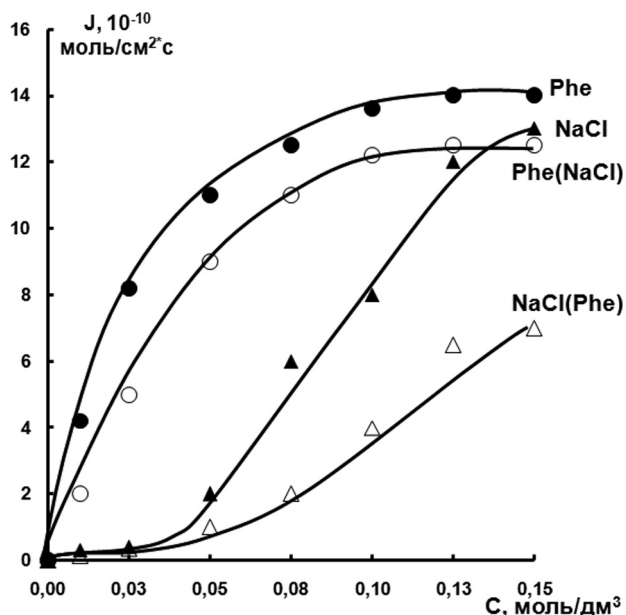


Рис. 2. Концентрационная зависимость потоков фенилаланина и хлорида натрия при диализе индивидуальных растворов Phe, NaCl и эквимольных смесей Phe(NaCl), NaCl(Phe) через профилированную мембрану МК-40П в водородной форме

где RSO_3^- — сульфокатионообменник в Н-форме. Протонирование биполярных ионов аминокислоты водородными ионами, находящимися в мембране в качестве противоионов, увеличивает скорость массопереноса, так как образовавшиеся катионы аминокислоты более легко, чем биполярные ионы, диффундируют в фазе мембраны (эффект «облегченного» переноса).

Низкие потоки хлорида натрия через сульфокатионообменную мембрану в области разбавленных растворов являются следствием ограничения диффузии электролита по механизму доннановского исключения. Известно, что при диализе электролита с использованием заряженных мембран вследствие неодинакового распределения ионов возникает эффект Доннана, накладывающийся на «обычный» процесс диализа [16]. Применительно к ионообменным мембранам скорость диффузии в них определяется концентрацией коионов. Мембрана МК-40 имеет закрепленные в матрице отрицательные сульфогруппы (фиксированные ионы), которые создают электрический барьер для одноименно заряженных с ними хлоридных ионов (коионов). Так как хлорид-ионы связаны условием электронейтральности с ионами натрия, то это приводит к уменьшению общего потока диффузии электролита (доннановское исключение).

Для диффузионного переноса из смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия через катионообменную мембрану выявлен конкурентный характер. Сравнительный анализ диффузии фенилаланина и хлорида натрия из индивидуальных растворов и эквимольных смесей показал, что присутствие минерального компонента несколько уменьшает поток аминокислоты (рис. 2). В области разбавленных растворов вероятная причина заключается в действии потенциала Доннана на биполярные ионы аминокислоты, в результате чего уменьшаются ее потоки. В более концентрированных растворах ($C > 10^{-1}M$) наблюдается снижение переноса биполярных ионов фенилаланина через мембрану из-за увеличения обменной сорбции электролита и уменьшения набухаемости мембран.

В свою очередь присутствие фенилаланина в растворе значительно уменьшает массоперенос хлорида натрия через мембрану. Возможное объяснение рассматриваемого явления заключается в снижении влагосодержания мембраны и стерических затруднениях транспорта хлорида натрия в связи с тем, что часть противоионов водорода в фазе мембраны заменена объемными катионами аминокислоты.

Большое различие между диффузионными потоками электролита и амфолита через ионообменные мембраны в области разбавленных растворов может быть использовано для их разделения. Зависимости коэффициента разделения K_p от концентрации при диализе эквимольных растворов и соотношения концентраций компонентов в растворе смеси фенилаланина и хлорида натрия через профилированную мембрану МК-40П в водородной форме представлены на рис. 3.

При диализе эквимольных смесей максимальная эффективность разделения наблюдается в диапазоне концентраций до трехсантимольных растворов. При этом поток аминокислоты имеет высокие значения, а поток минерального компонента, препятствующий «облегченной диффузии», был еще мал. Дальнейшее увеличение концентрации компонентов вызывает уменьшение коэффициента разделения, связанное с тем, что уменьшается эффект доннановского исключения и наблюдается конкурентный массоперенос. Следует заметить, что для всего исследуемого диапазона концентраций характерен селективный перенос аминокислоты и коэффициент разделения сохраняет значения больше единицы.

При диализе смеси фенилаланина и хлорида натрия с профилированной катионообменной мем-

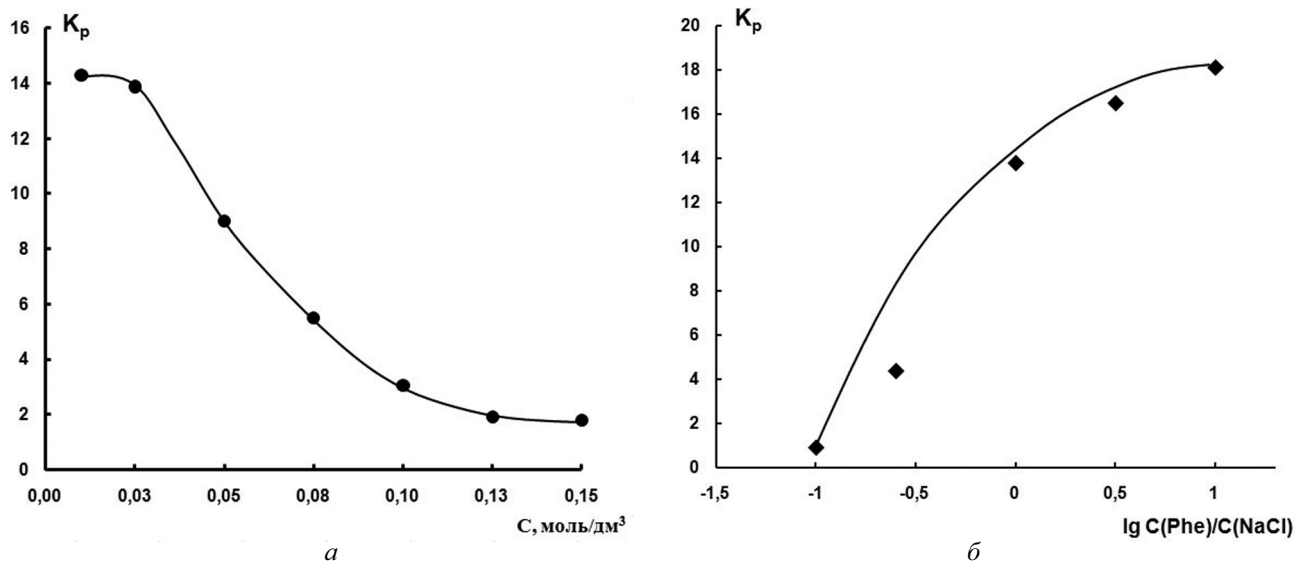


Рис. 3. Зависимость фактора разделения от концентрации при диализе эквимольных растворов фенилаланина и хлорида натрия (а) и соотношения компонентов в растворе смеси при $C_0(\text{Phe}) = 0,025$ моль/дм³ (б) через профилированную мембрану МК-40П в водородной форме

браной установлена зависимость коэффициента разделения от соотношения концентрации компонентов в исходном растворе (рис. 3б). При десятикратном превышении концентрации аминокислоты по сравнению с минеральной солью, величина S_F составила 19. С увеличением доли хлорида натрия в исходном растворе коэффициент разделения уменьшался: возрастание концентрации соли в растворе смеси с фенилаланином в сто раз вызывает уменьшение коэффициента разделения в десять раз.

Полученные экспериментальные результаты показывают возможность использования диализа с катионообменными мембранами, предварительно переведенными в водородную форму, как безреагентного метода извлечения аминокислот из нативных растворов, промывных и сточных вод микробиологического производства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены факторы, обеспечивающие высокую интенсивность и селективность диффузионного транспорта амфолита из смеси с электролитом через катионообменную мембрану. Эффективное разделение аминокислоты и минеральной соли обусловлено двумя эффектами: сопряжением переноса аминокислоты с химической реакцией в фазе мембраны (явление «облегченной диффузии») и электростатическими взаимодействиями анионов соли с фиксированными группами катионообменника (эффект доннановского исключения). Уста-

новлены диапазон концентраций и соотношение компонентов в растворе, позволяющие наиболее эффективно выделять фенилаланин из смеси с минеральной солью. Для интенсификации процесса рекомендовано применение сульфокатионообменных мембран с геометрически неоднородной профилированной поверхностью.

Авторы выражают благодарность проф. В. И. Заболоцкому (Кубанский государственный университет) за предоставленные образцы профилированной катионообменной мембраны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Золотов Ю. А. Разделение и концентрирование в химическом анализе / Ю.А. Золотов // Рос. хим. журн. — 2005. — Т. 49, № 2. — С. 6—10.
2. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия: в 2 т. / В. Г. Беликов. — Пятигорск: Пятигорская гос. фарм. акад., 1996. Т.2. — 608 с.
3. Раздельное определение ароматических α -аминокислот и витаминов после экстракции из водных сред / Н. Я. Мокшина [и др.] // Аналитика и контроль. — 2009. — Т. 13, № 4. — С. 169—173.
4. Определение водорастворимых витаминов в премиксах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / И.В. Власова [и др.] // Завод. лаб. Диагностика материалов. 2007. Т. 73, № 9. С. 25—27.
5. Зыков А. В. Экстракционное разделение витаминов группы В синтетическими водорастворимыми полимерами / А. В. Зыков, Я. И. Коренман, Н. Я. Мокшина // Аналитика и контроль. — 2011. — Т. 15, № 1. — С. 96—101.

6. Ионнообменные методы очистки веществ / под ред. Г. А. Чикина и О. Н. Мягкова. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 1984. — 372 с.
7. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот / В. Ф. Селеменев и [др.]. — Воронеж: Изд-во РИЦ ЕФ ВГУ, 2003. — 300 с.
8. Москвин Л. М. Мембранные методы разделения веществ в аналитической химии / Л. М. Москвин, Т. Г. Никитина // Журн. аналит. химии. — 2004. — Т.59, №1. — С. 6—22.
9. Агеев Е. П. Мембранные процессы разделения / Е. П. Агеев // Критические технологии. Мембраны. — 2001. — №9. — С.42—56.
10. Extraction of amphoteric amino acids by electromembrane process / H. Grib [et al.] // J. Chem. Technol. and Biotechnol. — 1998. — V. 73, № 1. — P. 64—70.
11. Богер А. М. Конверсия бетаина из солянокислых солей электродиализом с ионитовыми мембранами / А. М. Богер, Т. И. Стручалина, В. В. Котов // Известия Академии наук Киргизской ССР. — 1989. — №4. — С. 20—25.
12. Исследование процесса глубокой очистки аминокислот от минеральных примесей электродиализом с ионнообменными мембранами / В. И. Заболоцкий [и др.] // Журн. прикл. химии. — 1986. — Т. 59, №1. — С.140—145.
13. Electromembrane processes for demineralization of phenylalanine solutions / S. Resbert [et al.] // Desalination. — 1998. — V.120. №3. — P. 235—245.
14. Elisseeva T. V. Demineralization and separation of amino acids by electrodialysis with ion-exchange membranes / T. V. Elisseeva, V. A. Shaposhnik, I. G. Luschik // Desalination. 2002. V. 149, №1—3. P. 405—409.
15. Облегченная электромиграция биполярных ионов в растворах глицина через ионоселективные мембраны / В. А. Шапошник [и др.] // Электрохимия. — 2001. — Т. 37. №2. — С. 195—201.
16. Мулдер М. Введение в мембранную технологию / М. Мулдер. — М.: Мир, 1999. — 513с.
17. Николаев Н. И. Диффузия в мембранах / Н. И. Николаев. — М.: Химия, 1980. — 232 с.
18. Facilitated extraction and facilitated transport of non ionic permeates through ion-exchange membrane / M. Metayer [et al.] // J. Membr. Sci. — 1991. — Vol. 61, — P. 191—213.
19. Распределение концентрации аминокислот при диффузии через катионообменную мембрану / В. И. Васильева [и др.] // Журн. физ. химии. — 2000. — Т.74, №5. — С. 937—941.
20. Облегченный перенос неэлектролитов через ионнообменные мембраны: концентрационная поляризация и скорость определяющая стадия переноса в трубчатой мембранной системе / М. Метайе [и др.] // Электрохимия. — 2002. — Т. 38, №8. — С. 977—988.
21. Облегченная диффузия аминокислот в анионообменных мембранах / В. И. Васильева [и др.] // Журн. физ. химии. — 2003. — Т. 77, №6. — С. 1129—1132.
22. Хванг С.-Т. Мембранные процессы разделения / С.-Т. Хванг, К. Каммермейер — М.: Химия, 1981. — 464 с.
23. Разделение фенилаланина и глюкозы диализом с сульфокатионообменной мембраной / В. И. Васильева [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. — 2002. — Т. 2, Вып. 5—6. — С. 525—535.
24. Заболоцкий В. И. Физико-химические свойства профилированных гетерогенных ионнообменных мембран / В. И. Заболоцкий, С. А. Лоза, М. В. Шарафан // Электрохимия. — 2005. — Т.41. №10. — С. 1185—1192.
25. Гельферих Ф. Иониты: основы ионного обмена / Ф. Гельферих — М.: Изд-во Иностран. лит., 1962. — 490 с.
26. Manecke G. Trennung von Elektrolyten und Nicht-elektrolyten mit Hilfe von ionenaustauscher / G. Manecke, H. Heller // Z. Elektrochem. — 1957. — V.61. №1. — S. 150—158.
27. Рожкова М. В. Разделение минеральных солей и неэлектролитов (этиленгликоля) диализом через ионнообменные мембраны / М. В. Рожкова, А. Г. Рожкова, Е. В. Бутырская // Журнал аналит. химии. — 2007. — Т. 62. №8. — С. 790—796.
28. Способ профилирования гетерогенных ионнообменных мембран. Пат. 2284851 Рос. Федерация; № 2005101531/15; заявл. 24.01.2005; опубл. 10.10.2006, Бюл. № 28. 4 с.
29. Березина Н. П. Физико-химические свойства ионнообменных материалов: практикум / Н. П. Березина. — Краснодар: изд-во Кубанского гос. ун-та, 1999. — 82 с.

Голева Елена Алексеевна — аспирант кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета; тел.: (915) 5460174, (473) 220-8828, e-mail: vorobjeva_ea@mail.ru

Васильева Вера Ивановна — д.х.н., профессор кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета; тел.: (473) 22787410; (910) 2494370, e-mail: viv155@mail.ru

Голева Elena A. — the post-graduate student of analytic chemistry department of chemical faculty, Voronezh State University; tel.: (915) 5460174, (473) 220-8828, e-mail: vorobjeva_ea@mail.ru

Vasil'eva Vera I. — Dr. Sc. Chem. The professor of analytic chemistry department of chemical faculty, Voronezh State University; tel.: (473) 22787410; (910) 2494370, e-mail: viv155@mail.ru