

ПОГЛОЩЕНИЕ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ СИЛЬНООСНОВНЫМ АНИОНООБМЕННИКОМ В СРЕДАХ С КОНКУРИРУЮЩИМИ ИОНАМИ

В. Ф. Селеменев¹, Е. В. Ланцузская¹, А. В. Крисилов², Г. Ю. Орос¹, Г. Ю. Харченко³

¹ - ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, г. Воронеж

² - ЗАО «Инновационный центр Бирюч», г. Бирюч

³ - ФГБОУ ВПО Воронежский государственный педагогический университет, г. Воронеж

Поступила в редакцию 19.05.2015 г.

Аннотация. Методом квантово-химического моделирования вычислены размер, объем и дипольный момент биполярного иона глутаминовой кислоты. Исследована сорбция компонентов нативного раствора производства глутаминовой кислоты сильноосновным макропористым анионообменником АВ-17-2П в динамических условиях. Установлено, что порядок элюирования компонентов зависит от ионной формы сорбента. Измерена величина набухания анионообменника в нативном растворе. Для обесцвечивания нативного раствора глутаминовой кислоты рекомендована Cl-форма анионита.

Ключевые слова: квантово-химическое моделирование, глутаминовая кислота, анионообменник, нативный раствор, динамика сорбция.

Abstract. The glutamic acid bipolar ion length, volume and dipole momentum and are calculated by quantum chemical modelling. The sorption of glutamic acid native solution components by strong anion-exchanger AV-17-2P in dynamics is investigated. It is found that the components elution sequence is dependent on the sorbent ionic form. The anion-exchanger swelling in native solution was measured. For the glutamic acid native solution depigmentation the Cl-form of anion-exchanger is recommended.

Key words: quantum chemical modelling, glutamic acid, anion-exchanger, native solution, sorption dynamics.

Ежегодное производство глутаминовой кислоты по разным оценкам составляет от 700 до 1500 тыс. т. в год [1]. Глутаминовая кислота и ее соли находят широкое применение как в пищевой промышленности, так и в медицине при лечении заболеваний в неврологической, терапевтической, психиатрической и хирургической клинике. Широкое применение в пищевой, фармацевтической индустрии, в косметике и водоподготовке находят и поли(γ -глутаминовая) кислота – водорастворимый анионный биоразлагаемый полимер [2-3].

В классическом процессе глутаминовую кислоту получают методом микробиологического синтеза, затем следуют стадии центрифугирования, осветления на углях, ионообменной очистки, выпаривания, кристаллизации [4]. В последнее время предложены «зеленые» процессы произ-

водства глутаминовой кислоты с применением мембранных модулей [5-6].

Взаимодействия в системе, содержащей ионообменник, аминокислоту и воду являются достаточно сложными. Установлено, что в этих условиях происходит обычный ионный обмен при использовании растворов, содержащих катионную или анионную форму аминокислоты в растворе при соответствующей величине pH [7, 8]. При контакте с солевыми формами ионитов растворов, содержащих цвиттерионную форму аминокислоты, наблюдается распределение цвиттериона между фазами сорбента и раствора. Поглощение аминокислоты водородной формой катионита и гидроксильной формой анионита осуществляется по механизму протолиза, то есть при взаимодействии цвиттериона с противоионом ионообменника образуется катион или анион аминокислоты в фазе ионообменника [9, 10]. В работах [11-12]

© Селеменев В. Ф., Ланцузская Е. В., Крисилов А. В., Орос Г. Ю., Харченко Г. Ю., 2015

установлено, что сорбция глутаминовой кислоты слабоосновным анионообменником DIAION WA30 описывается изотермой Лэнгмюра.

Рядом авторов [13-14] установлен факт сверхэквивалентной сорбции аминокислот как результат протекания процессов ионного обмена и адсорбции. Предложен механизм аминокарбоксильного цепочечного взаимодействия сорбированных молекул аминокислот, объясняющий стабилизацию пересыщенных растворов аминокислот ионитом и сверхэквивалентную сорбцию цвиттерлитов [14]. В работах [15-16] показана возможность сверхэквивалентной сорбции глутаминовой кислоты катионообменником за счет не обменного поглощения.

Целью настоящей работы было исследование сорбции глутаминовой кислоты высокоосновным макропористым анионообменником в средах с конкурирующими ионами. В исследуемом растворе помимо глутаминовой кислоты присутствовали хлорид-, сульфат- и фосфат-ионы, а также окрашенные вещества. Такая сложная система представляет теоретический интерес, поскольку селективность ионообменника к компонентам зависит от ионной силы раствора [17]. Практическая значимость заключается в том, что эти сахара и соли являются компонентами ферментационного бульона при производстве глутаминовой кислоты и должны быть удалены для получения чистого продукта [18].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектами исследования являлись нативный раствор глутаминовой кислоты и высокоосновный макропористый анионообменник АВ-17-2П в Cl^- или OH^- формах.

Глутаминовая (2-аминопентандиовая) кислота относится к аминокарбоновым кислотам и имеет структурную формулу:



Изоэлектрическая точка ее лежит в кислой области рН (3.22), а в нейтральной среде она существует в виде аниона [19].

Оптимизацию геометрии структуры глутаминовой кислоты осуществляли методом квантово-химического моделирования с использованием пакета программ Гауссиан 2003 [20]. Расчеты проводились методом функционала плотности, применялся функционал B3LYP и базис 6-31G(d,p). Для описания влияния водной среды использовалась модель поляризуемого континуума IEFPCM. Для молекул с гибкими цепями влияние среды

может привести к изменению углов связей и модификации конформации по сравнению со структурой молекулы внутри кристалла или в газовой фазе.

Исследуемый высокоосновный макропористый анионообменник АВ-17-2П содержит четвертичные аммониевые группы в стирол-дивинилбензольной матрице [21]. Анионит АВ-17-2П, подготовленный к работе по общепринятой методике [22], имел полную динамическую обменную емкость (ПДОЕ) равную 6.12 мг-экв/г и набухаемость 6.20 мл/г. Физико-химические характеристики анионита определены по ГОСТУ [23].

В работе использовали глутаминовую кислоту марки «фармакопейная». При экспериментах был использован имитат нативного раствора, получаемого после микробиологического синтеза. Как было выяснено ранее, растворы после микробиологического синтеза содержат помимо аминокислоты ряд солей и окрашенные вещества. Цветность сахарных продуктов в основном обуславливается тремя группами веществ, содержащихся в них: продуктами щелочного распада инвертного сахара, меланоидинами и карамелями [10,24]. Фильтрат анализировали на содержание сухих веществ, хлорид-, сульфат- и фосфат-ионов, глутаминовой кислоты, измеряли рН и цветность растворов.

Аналитический контроль аминокислоты осуществляли методом бумажной хроматографии [25], хлорид-ионов — титриметрически по методу Мора [26], ионов водорода — титриметрически с фенолфталеином [27].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведена оптимизация геометрии структуры глутаминовой кислоты на основе результатов квантово-химического моделирования. Длина биполярного иона 7.51 Å, молярный объем 98.055 см³/моль, дипольный момент 10.28 Дебай. Объем, занимаемый молекулой, определяется не только координатами атомов, но и распределением электронной плотности. Мы определяли объем внутри изоповерхности электронной плотности 0.001 e-/Å³, ограничивающей область локализации электронов (рис. 1).

На рис. 2, 3 представлены выходные кривые сорбции компонентов нативного раствора анионообменником.

Анализ полученных кривых показывает, что на колонке наблюдается хроматографическое разделение компонентов раствора в соответствии с

селективностью к аниониту. Наименее селективные Cl^- -ионы вытесняются в фильтрат первыми. Затем идет глутаминовая кислота, фосфат- и сульфат-ионы. Практически с первых фракций наблюдается проскок, а затем постепенное нарастание цветности вытекающего раствора.

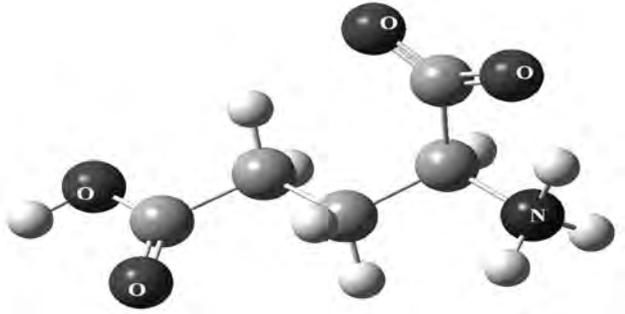
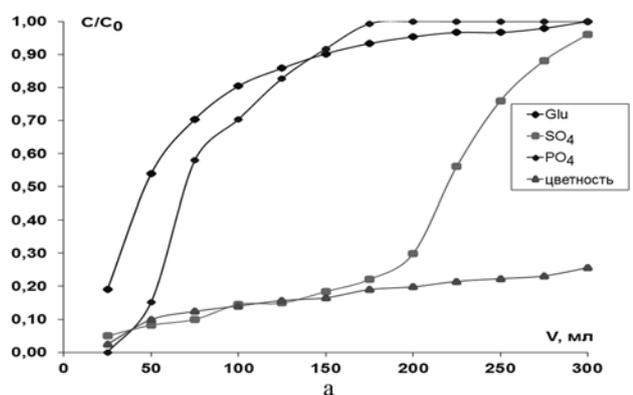


Рис. 1. Оптимизированная структура биполярного иона глутаминовой кислоты.

При использовании анионита в солевой форме наблюдается значительное увеличение концентрации хлорид-ионов в первых порциях фильтрата до величины, превышающей в 8-10 раз исходную концентрацию по данному иону за счет вытеснения его из твердой фазы анионита. Содержание хлорид-ионов в очищенных растворах глутаминовой кислоты может быть уменьшено за счет отсека первых порций элюата, разбавленных по аминокислоте (рис. 2а, 3). Повышение концентрации хлорид-ионов в фильтрате после пропускания имитата нативного раствора через анионит в OH^- -форме значительно меньше и обусловлено лишь его концентрацией в исходном растворе (рис. 3).

На рис. 4 показано изменение величины рН во фракциях фильтрата. На смоле в Cl^- форме величина рН не изменялась и составляла ≈ 5.5 . При ионном обмене на смоле в OH^- -форме происходит



вытеснение гидроксильных ионов в раствор, что находит отражение в изменении рН.

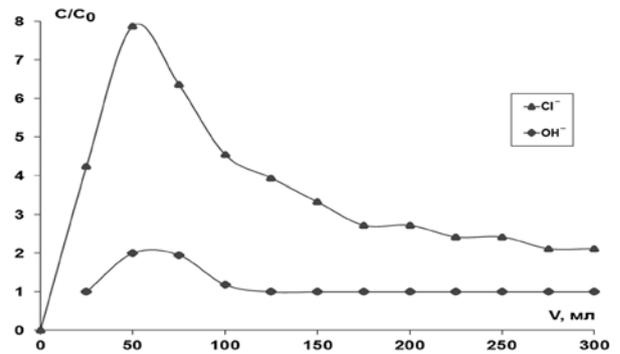


Рис. 3. Выходные кривые сорбции хлорид-ионов из нативного раствора на ионообменнике АВ-17-2П в Cl^- и OH^- -форме.

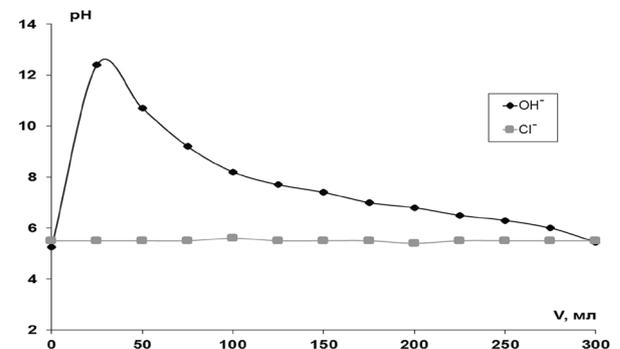


Рис. 4. Контроль величины рН при сорбции конкурирующих ионов на ионообменнике АВ-17-2П в Cl^- и OH^- -форме.

Замена ионной формы анионита приводит к изменению характера сорбции фосфат-ионов. Если на Cl^- -форме анионита фосфат-ионы появляются в фильтрате значительно раньше сульфатов, то на OH^- -форме проскок этих ионов в фильтрат наблюдается практически одновременно.

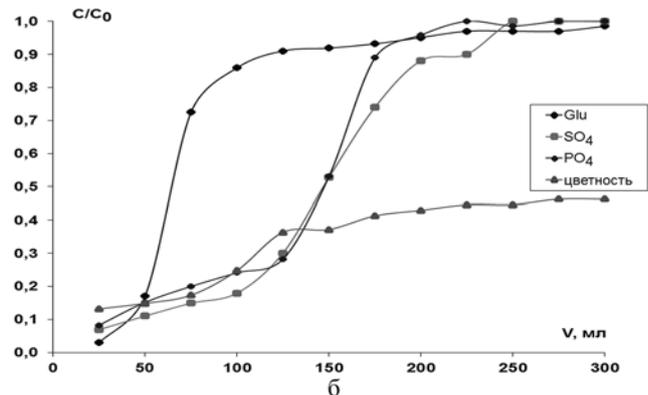


Рис. 2. Выходные кривые сорбции конкурирующих ионов на ионообменнике АВ-17-2П в Cl^- (а) и OH^- -форме (б).

Это может быть объяснено следующим образом. При проведении процесса на солевой форме рН вытекающего раствора не меняется и составляет 5.5. При таком значении рН фосфат-ионы представлены преимущественно в виде одновалентных ионов H_2PO_4^- и сорбция их на анионите по сравнению с двухвалентными сульфат-ионами происходит хуже. При использовании анионита в ОН-форме величина рН первых порций фильтрата значительно выше исходной (рис. 4), а затем постепенно снижается. Это способствует смещению диссоциации фосфорной кислоты в сторону образования ионов с большей валентностью HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} . В результате сорбция этих ионов улучшается и проскок их в фильтрат наступает несколько позже.

Кроме того, следует отметить, что при сорбции на солевой форме фронты сорбции всех ионов размыты, а для гидроксильной формы на выходных кривых наблюдаются более четкие перегибы.

Величина рН раствора оказывает влияние также и на сорбцию глутаминовой кислоты. Для анионита в солевой форме при неизменном значении рН раствора фронт сорбции размыт (рис. 2а), а для ОН-формы анионита выходная кривая имеет более четкий перегиб и проскок глутаминовой кислоты наступает позже (рис. 2б). Это связано с тем, что в щелочной среде увеличивается доля одно- и двухзарядных анионов глутаминовой кислоты, что и приводит к улучшению сорбции ее на анионите из первых порций раствора.

Размывание сорбционного фронта (рис. 2а) возможно при наличии необменных процессов в системе: образования водородных связей, дисперсионных и гидрофобных взаимодействий и образовании ассоциатов [10, 18, 28]. Образование ассоциатов более вероятно для биполярных ионов, имеющих высокий дипольный момент и присутствующих в системе с анионообменником в Cl-форме.

На рис. 2 приведены также результаты по сорбции окрашенных веществ из нативного раствора. На хлоридной форме анионита цветность элюата меньше, а фронт сорбции размыт, на гидроксильной форме цветность элюата выше, а перегиб выходной кривой более явный. Таким образом, сорбция окрашенных веществ более эффективно протекает на анионообменнике в Cl-форме, раствор обесцвечивается на 83%, а на гидроксильной форме – только на 66%.

Нами было зафиксировано изменение набухаемости анионита в нативном растворе. Анионо-

обменник АВ-17-2П, подготовленный к работе по общепринятой методике, имел набухаемость 6.20 мл/г, в нативном растворе – 5.98 мл/г. При сорбции компонентов нативного раствора происходит дегидратация ионообменника. Обезвоживание ионообменников при сорбции аминокислот описано в литературе [9, 10, 29, 30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, хлоридная форма анионита АВ-17-2П, лучше сорбируя красящие вещества, почти не сорбируют минеральные ионы. Считается, что главным компонентом, ухудшающим кристаллизацию глутаминовой кислоты, являются красящие вещества. Исходя из этого, лучшей для обесцвечивания нативного раствора глутаминовой кислоты является Cl-форма анионита.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Часть I — СПб: Мир и Семья, 2002. — 988 с.
2. Bajaj Ishwar. Poly (glutamic acid) – An emerging biopolymer of commercial interest / Ishwar Bajaj, Rekha Singhal // *Bioresource Technology*. — 2011. — Vol. 102, Iss. 10. — P. 5551–5561.
3. Shih Ing-Lung. The production of poly-(γ -glutamic acid) from microorganisms and its various applications / Ing-Lung Shih, Yi-Tsong Van // *Bioresource Technology*. — 2001. — Vol. 79, Iss. 3. — P. 207–225.
4. Взаимодействие фруктозы и глутаминовой кислоты в лимоннокислых средах / В.Ф. Селеменов [и др.] // *Изв. ВУЗов. Пищевая технология*. — 1977. — №5. — С. 165-167.
5. Kumar R. Production and purification of glutamic acid: A critical review towards process intensification / R. Kumar, D. Vikramachakravarthi, P. Pal // *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. — 2014. — Vol. 81. — P. 59–71.
6. Pal P. Fermentative production of glutamic acid from renewable carbon source: Process intensification through membrane-integrated hybrid bio-reactor system / P. Pal, D. Vikrama Chakravorty, R. Kumar // *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. — 2015. — Vol. 92. — P. 7–17.
7. Seno M. The ion-exchange behavior of some neutral aminoacids / M. Seno, T. Iamabe // *Bull. Chem. Soc. Japan*. — 1960. — Vol. 33, Iss. 11. — P. 1532-1538.

8. Seno M. The ion-exchange sorption of aminoacids / M. Seno, T. Yamabe // Bull. Chem. Soc. Japan. — 1961. — Vol. 34, Iss.7. — P.1021-1028.
9. Самсонов Г.В. Ионный обмен. Сорбция органических веществ / Г.В.Самсонов, Е.Б. Тростянская, Г.Е. Елькин. — Л.: Наука, 1969. — С. 196-200.
10. Селеменев В.Ф. Обменные процессы и межмолекулярные взаимодействия в системе ионит-вода-аминокислота: дисс. д-ра хим. наук / В.Ф. Селеменев. — Воронеж, 1993. — 587 с.
11. Yoshida H. Adsorption of glutamic acid on weakly basic ion exchanger: Equilibria / H. Yoshida, N.Kishimoto // Chemical Engineering Science. — 1995. — Vol. 50, Iss. 14. — P. 2203-2210.
12. Frey D.D. Mechanism for glutamic acid adsorption on a weak-base ion exchanger / D.D. Frey // Chemical Engineering Science. — 1997. — Vol. 52, Iss. 7. — P. 1227–1231.
13. Муравьев Д.Н. Ионообменное изотермическое пересыщение растворов аминокислот / Д.Н. Муравьев // Журн. физ. химии. — 1979. — Т. 30, №2. — С.438-441.
14. Муравьев Д.Н. Исследование сверхэквивалентной сорбции цвиттерлитов / Д.Н. Муравьев, О.Н. Обрезков // Журн. физ. химии. — 1986. — Т.47, № 2. — С. 396-400.
15. Орос Г.Ю. О механизме поглощения глутаминовой кислоты катионитом КУ-2в Н⁺форме / Г.Ю. Орос, В.Ф. Селеменев // Теория и практика сорбционных процессов. — Воронеж: изд-во ВГУ, 1976. — №11. — С.22-25.
16. Селеменев В.Ф. Поглощение глутаминовой кислоты сульфокатионитами/ В.Ф. Селеменев, Г.Ю. Орос, Л.А. Огнева // Журн. физ. химии. — 1985. — Т.46, №8. — С.1992-1995.
17. Moreira M. J. Kinetic studies for sorption of amino acids using a strong anion-exchange resin: Effect of ionic strength / M. J. Moreira, L.M. Ferreira // J. Chromatogr. A. — 2005. — Vol. 1092, Iss. 1. — P. 101–106.
18. Самсонов Г.В. Сорбционные и хроматографические методы физико-химической биотехнологии / Г.В. Самсонов, А.Т. Меленевский. — Л: Наука, 1986. — 225с.
19. Справочник биохимика / Досон Р. [и др.] — М.: Мир, 1991. — 543с.
20. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.V. et al. Gaussian 03, Revision C.02. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
21. Иониты: каталог. — Черкассы, 1975. — 36с.
22. Полянский Н.Г. Методы исследования ионитов / Н.Г. Полянский, Г.В. Горбунов, Н.Л. Полянская — М.: Химия, 1976. — С. 306-309.
23. Иониты. Методы определения обменной емкости / ГОСТ 20255. 1-74, ГОСТ 20255. 2-74.
24. Окрашенные вещества сахаросодержащих растворов сорго / Орос Г.Ю. [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. — 2010. — Т. 10, Вып. 4. — С. 598-602.
25. Хайс И.М. Хроматография на бумаге / И.М. Хайс, К.М. Мацек. — М.: ИЛ, 1962. — 436 с.
26. Уильямс У.Дж. Определение анионов / У.Дж. Уильямс. — М.: ИЛ, 1982. — С. 294.
27. Золотов Ю.А. Основы аналитической химии / Ю.А.Золотов. — М.: Высшая школа, 1999. — 351с.
28. Самсонов Г.В. Термодинамические, кинетические, динамические особенности ионного обмена с участием ионов органических веществ / Г.В.Самсонов // Ионный обмен. — Москва, 1981. — С. 126.
29. Крисилова Е.В. Гидратация катионообменных мембран, сорбирующих основные аминокислоты / Е. В. Крисилова, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев // Журн. физ. химии. — 2009. — Т.83, №11. — С.2145-2147.
30. Крисилова Е.В. Сорбция аргинина и лизина гомогенной катионообменной мембраной МФ-4СК / Е.В. Крисилова, Т.В. Елисеева, В.Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. — 2009. — Т.9, Вып.5. — С. 671-676.

*Воронежский государственный университет
Селеменев В.Ф., д.х.н., заведующий кафедрой
аналитической химии*

*Ланцуская Е.В., к.х.н., старший научный сотрудник
кафедры аналитической химии*

*Орос Г.Ю., к.х.н., ведущий инженер кафедры
аналитической химии*

*Voronezh State University
Selemenev V. F., Doctor of Chemistry, the head of
Department of Analytical Chemistry*

*Lantsuzskaya E. V., Ph.D., senior researcher of
Department of Analytical Chemistry*

*Oros G. Yu., Ph.D., lead engineer of Department
of Analytical Chemistry*

Селеменев В. Ф., Ланцузская Е. В., Крисилов А. В., Орос Г. Ю., Харченко Г. Ю.

ЗАО «Инновационный центр Бирюч»

Крисилов А.В., к.ф.-м.н., старший научный сотрудник

JSC "IC Biruch"

Krisilov A. V., Ph.D., senior researcher

Воронежский государственный педагогический университет

Харченко Г.Ю., к.х.н., доцент кафедры химии

Voronezh State Pedagogical University

Kharchenko G. Yu., Ph.D., Associate Professor, Dept. of Chemistry