



УДК 543.544:577.122

Динамические характеристики сорбции иминокислот и фенилаланина из бинарных растворов н-сульфокатионообменником КУ-2х8

Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Воробьева Е.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Давыдова Е.Г.

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Поступила в редакцию 2.04.2009 г.

Аннотация

Исследована динамика индивидуальной сорбции пролина и гидроксипролина и в присутствии ароматической аминокислоты - фенилаланина на Н-сульфокатионообменнике КУ-2х8. Установлено взаимовлияние аминокислот на динамические характеристики сорбции, проявляющееся в изменении вида выходной кривой и снижении рабочей обменной емкости. Показано, что в процессе сорбции аминокислот из бинарных растворов имеет место как конкурентный, так синергетический механизм сорбции.

Ключевые слова: динамика, сорбция, аминокислота, аминокислота

The Dynamics of individual Sorption of Proline and Hydroxyproline and in the presence of aromatic amino acid - Phenylalanine on KU-2x8 Sulfocation Exchanger in the H-Form is investigated. Interference of amino acids on dynamic characteristics of sorption showing in change of a kind of a target curve and decrease of working exchange capacity is established. It is shown that as competitive so synergetic mechanisms of sorption take place in process of sorption of amino acids from binary solutions.

Key words: the dynamic, the Sorption, the amino acid, the amino acid

Введение

При рассмотрении закономерностей сорбции биологически активных соединений на полимерных ионообменниках необходимо учитывать взаимовлияние компонентов, присутствующих в исходном растворе [1]. В работах [1,2] показано, что при многокомпонентной сорбции органических соединений наблюдается как конкурентный, так и синергический механизмы сорбции. Для практических целей наибольший интерес представляет рассмотрение динамики сорбции аминокислот из растворов, содержащих не только индивидуальные компоненты, но и представляющих их смесь. В данной работе приведены результаты изучения динамики индивидуальной сорбции иминокислот и фенилаланина и их смесей и на Н-сульфокатионообменнике КУ-2х8. Выбор ароматической аминокислоты

обусловлен известными литературными данными о высокой селективности катионообменника к фенилаланину [3].

Эксперимент

Изучение динамики сорбции пролина, гидроксипролина и фенилаланина на Н-сульфокатионообменником КУ-2х8 проводили на колонке диаметром 0,75 см с неподвижным слоем сорбента (раствор пропусклся сверху вниз), при скорости пропускания $1,5 \text{ см}^3/\text{мин}$ [4]. Объем слоя ионообменника составлял $5,0 \text{ см}^3$, диаметр зерен $0,50 - 0,63 \text{ мм}$. Обменная емкость катионообменника, определенная по ионам натрия, равна $4,95 \text{ ммоль/г}$. Сорбцию цвиттерлитов проводили при температуре 295 К и pH исследуемых водных растворов пролина (Pro) - $6,40$, гидроксипролина (Нурго) - $5,90$ и фенилаланина (Phe) - $5,70$, что отвечает области их существования в водном растворе преимущественно в виде биполярных ионов. Объем пропущенного раствора – 500 см^3 .

Через колонку пропускали растворы пролина и оксипролина с концентрацией соответственно $10,0 \text{ ммоль/дм}^3$ и $3,0 \text{ ммоль/дм}^3$ и растворы аминокислот с той же концентрацией с добавлением фенилаланина до концентрации его в исходном растворе $1,0 \text{ ммоль/дм}^3$. Процесс продолжали до тех пор, пока концентрация цвиттерлитов в фильтрате не оставалась постоянной. Спектрофотометрическое определение пролина, гидроксипролина и фенилаланина в растворе проводили на спектрофотометре СФ – 56 при аналитической длине волны $\lambda_{\text{Pro}} = 191 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{Нурго}} = 193 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{Phe}} = 257 \text{ нм}$ ($S_{\text{Phe}} = 4 \times 10^{-5}$; $S_{\text{Pro}} = 3 \times 10^{-6}$ и $S_{\text{Нурго}} = 1,2 \times 10^{-5}$) [5,6].

Ввиду невозможности спектрофотометрического определения исследуемых аминокислот в смеси с фенилаланином (интенсивность поглощения смеси при $191 - 193 \text{ нм}$ не является аддитивной суммой интенсивностей максимумов аминокислот, составляющих смесь), определение содержания пролина (гидроксипролина) осуществляли фотометрически в виде комплексов с медью при 670 нм на КФК-2 [7]. Выходные кривые строили, используя средние концентрации аминокислот, рассчитанные из трех параллельных измерений.

Обсуждение результатов

Полученные выходные кривые сорбции индивидуальных пролина и гидроксипролина представлены на рис.1. Сорбционный фронт ионов аминокислот представляет собой традиционную форму «волны». Наблюдаемый вид выходных кривых при 295 К для обеих аминокислот характеризуется резким ростом c/c_0 на начальном участке и замедлением по мере заполнения ионообменника аминокислотой.

Обострение фронта сорбции на начальном участке кривой может быть связано с механизмом взаимодействия аминокислоты с катионообменником, реализующимся как за счет электростатических сил, так и образования водородных связей, дисперсионных и гидрофобных взаимодействий [1,8]. Размывание конечного участка сорбционного фронта, вероятно, обусловлено замедлением диффузии аминокислоты внутри зерна ионообменника в результате образования ассоциатов и уменьшения объема гранул сорбента при увеличении количества сорбата в ионообменнике [3,9].

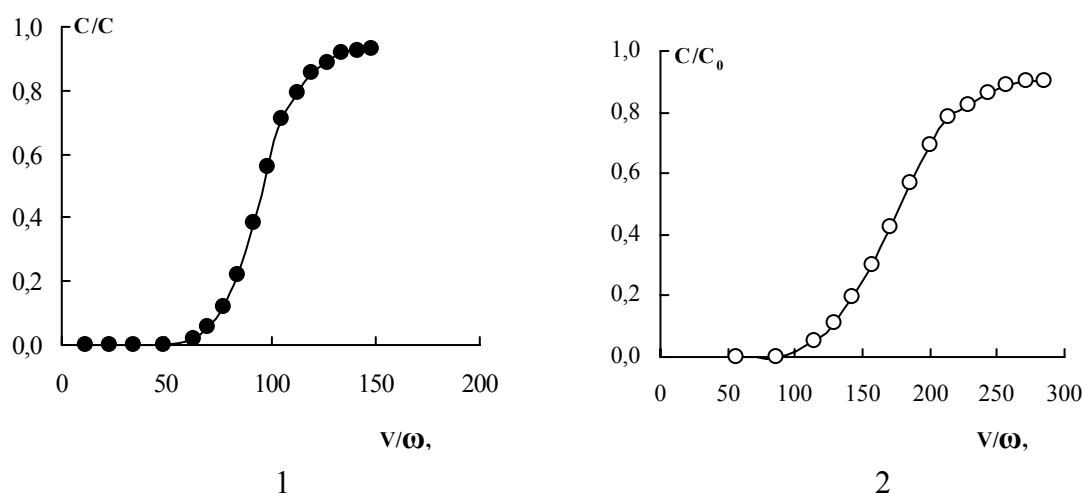


Рис. 1. Выходные кривые сорбции аминокислот при $T = 295$ К: пролина (1) и гидроксипролина (2) из растворов с $C_{\text{Pro}} = 10,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, pH=6,4; $C_{\text{Нурго}} = 3,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, pH=5,9

Все нестационарные кинетические процессы при приближении к равновесию постепенно замедляются, предельная величина замечаемой скорости определяется чувствительностью эксперимента и его возможной длительностью [2,10,11]. Поэтому приближение концентрации аминокислот на выходе из колонки к концентрации раствора, поступающего в колонку, не означает полного насыщения ионообменника аминокислотой. Установлено, что динамическая обменная емкость «до проскока» для пролина и гидроксипролина составляет соответственно - 1,70 и 1,12 ммоль/г, полная обменная емкость – 3,37 и 2,14 ммоль/г. При этом степень использования ионообменника для Pro = 62,80 %, Нурго - 60,10 % .

Величина коэффициента диффузии (\bar{D}) составляет $1,18 \cdot 10^{-7}$ и $9,89 \cdot 10^{-8}$ см²/с для пролина и гидроксипролина соответственно [12]. Большая гидрофильность гидроксипролина [13] способствует увеличению количества молекул воды в координационной сфере, а также, большей вероятности образования ассоциатов аминокислоты, что обуславливает меньшую подвижность по сравнению с пролином.

Получены выходные кривые сорбции пролина и оксипролина из раствора, содержащего фенилаланин (рис.3). Установлено, что эффективность процесса поглощения ионообменником индивидуальной ароматической аминокислоты составляет 71,20%. По данным, представленным в работе [3], коэффициент диффузии фенилаланина равен $\bar{D}_{\text{Phe}}^{295} = 4,78 \cdot 10^{-8}$ см²/с.

Присутствие в растворе пролина и оксипролина существенно изменяет ход процесса сорбции фенилаланина, что проявляется в некотором обострении фронта сорбции в начальный период процесса и размывании среднего и конечного участков. При $c/c_0=0,7$ (сорбция из смеси с пролином) и при $c/c_0=0,5$ (сорбция из смеси с гидроксипролином) на выходной кривой наблюдается плато, указывающее на видимое завершение процесса. Однако при дальнейшей сорбции происходит увеличение концентрационного отношения ($c/c_0 \rightarrow 1$).

Необычная форма выходной кривой фенилаланина может быть обусловлена изменением кинетических характеристик в процессе сорбции, в результате образования в катионообменнике ассоциатов ароматической аминокислоты [3]. Наблюдается уменьшение емкости по Phe до “проскока” в 3,0 и 2,5 раза при сорбции из смеси с пролином и гидроксипролином соответственно.

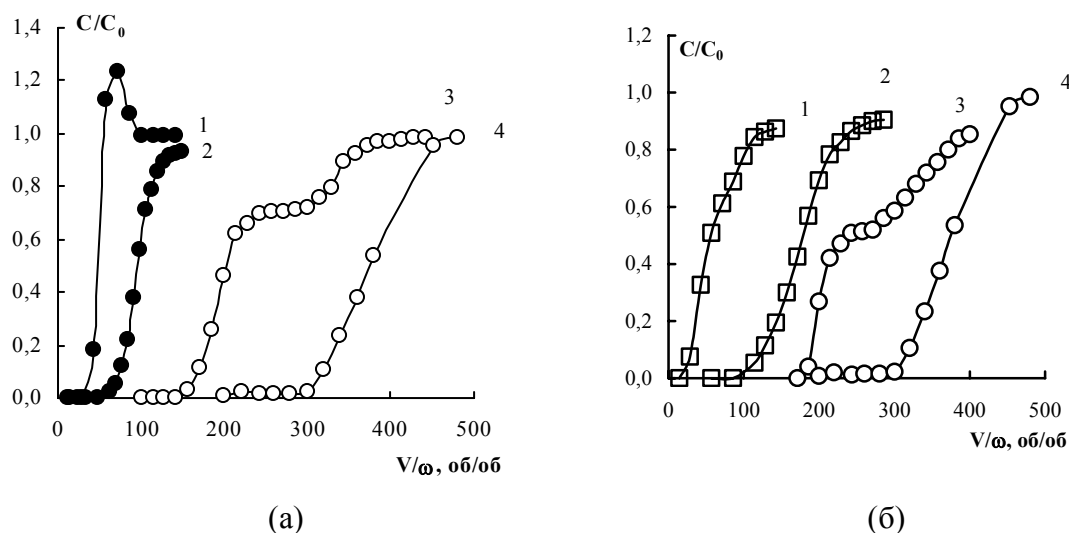


Рис. 3. Выходные кривые сорбции пролина и фенилаланина (а) гидроксипролина и фенилаланина (б) на сульфокатионообменнике КУ-2х8: 1 – пролина и оксипролина из бинарного раствора аминокислота + Phe^\pm ; 2 – пролина и оксипролина из раствора индивидуальной аминокислоты с $C_{\text{Pro}} = 10,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, $C_{\text{Hyp}} = 3,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³; 3 – фенилаланина из бинарного раствора аминокислота + Phe^\pm ; 4 – фенилаланина из раствора индивидуальной аминокислоты с $C_{\text{Phe}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³

Наличие в растворе ароматической аминокислоты проявляется (рис.3) в обострении фронта сорбции аминокислот на начальном и конечном участках выходных кривых, снижении динамической обменной емкости до проскока соответственно для Pro и Hypro в 1,7 и 3,0 раза. Следует отметить некоторое размывание конечного участка кривой для гидроксипролина, обусловленное, вероятно, более низкими коэффициентами диффузии по сравнению с пролином. Согласно экспериментальным данным, “проскок” фенилаланина наблюдается раньше, когда концентрация аминокислот в фильтрате практически не изменяется и приближается к концентрации исходного раствора. Таким образом, проведение процесса сорбции в данных условиях позволил получить раствор аминокислоты, не содержащий ароматическую аминокислоту.

Полученные закономерности сорбции цвиттерлитов из бинарных растворов могут быть обусловлены большим сродством сульфокатионообменника к ароматической аминокислоте [3]. По мере прохождения раствора через слой сорбента фенилаланин постепенно вытесняет аминокислоту в раствор. Можно предположить, что в начале процесса многокомпонентной сорбции реализуется конкурентный механизм сорбции, что позволяет выделить аминокислоту из смеси [14,15].

Появление в фильтрате пролина в концентрации, превышающей его содержание в исходном растворе в 1,2 раза, является результатом дополнительной сорбция аминокислоты за счет образования в ионообменнике ассоциатов Phe-Pro (рис.4). По мере прохождения раствора по колонке с сорбентом фенилаланин вытесняет пролин из ионообменника, так как селективность последнего к ароматической аминокислоте значительно выше [3]. Наблюдается концентрирование Pro в катионообменнике за счет образования ассоциатов, и затем, проскок его в фильтрат с концентрацией, превышающей исходную. Возможность взаимодействий аминокислот друг с другом, как в растворе, так и в ионообменнике вызывает

синергизм сорбции цвиттерлитов из бинарных растворов и проявляется в увеличении суммарной сорбционной емкости катионообменника в 1,3 раза, по сравнению с сорбцией индивидуальных компонентов (рис.5) [16].

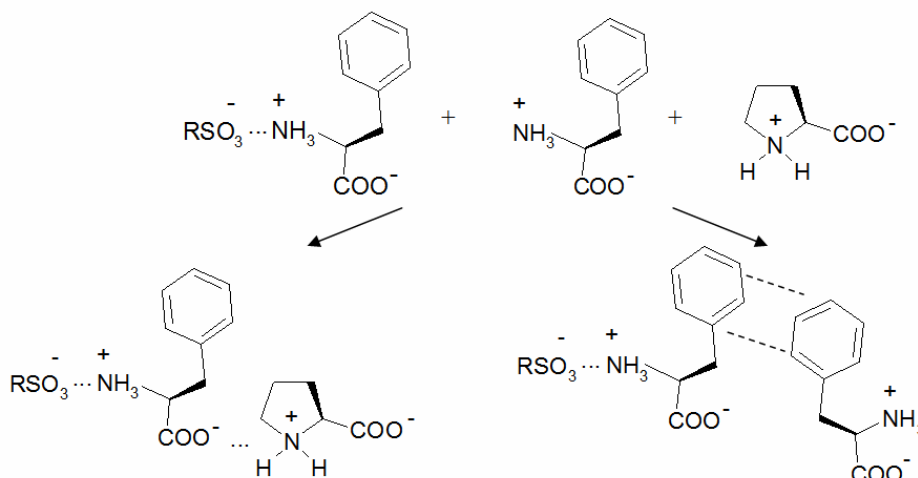


Рис.4. Схема синергетического механизма сорбции на примере системы катионообменник – Pro[±] – Phe[±]

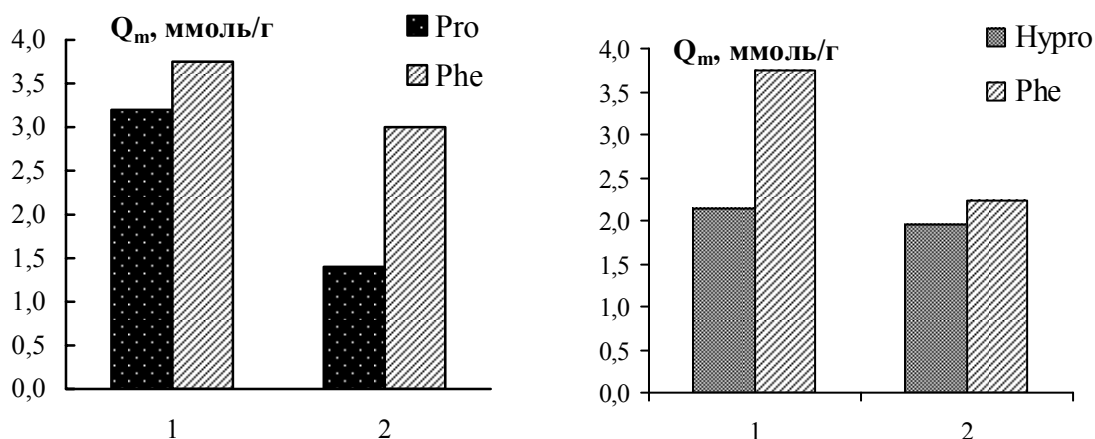


Рис. 5. Количество поглощенной аминокислоты при сорбции из индивидуальных растворов (1) и бинарных смесей (2)

Список литературы

1. Самсонов Г.В., Меленевский А.Т. Сорбционные и хроматографические методы физико-химической биотехнологии. – Л.: Наука, 1986. – 225 с.
2. Демин А.А., Могилевская А.Д., Самсонов Г.В. Изменения избирательности в процессе многокомпонентной сорбции белков // Журн. прикл. химии. – 1996. – Т.69. – Вып. 1. – С.31.
3. Котова Д.Л. Структурно-обусловленные межчастичные взаимодействия при сорбции аминокислот на сшитом катионообменнике : автореф. дисс. ... д-ра хим. наук / Д.Л. Котова. – Воронеж, 2004. – 40 с.
4. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов. – М.: Химия, 1976. – 208 с.

5. Бернштейн Н.Я., Каминский Ю.А. Спектрофотометрический анализ в физической химии. - Л.: Химия, 1986. - 186 с.
6. Давыдова Е.Г., Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Селеменев В.Ф. // Журн. анал. химии. – 2005. –Т.60, №8. – С.802.
7. Определение аминокислот в виде комплексов с медью / Е.Р. Рошаль [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 1980. – Т. 2, № 1. – С. 110-114.
8. Котова Д.Л., Рожнова О.И., Селеменев В.Ф., Бейлина Д.С. // Журн. физ. химии. - 2001. Т.75. №7. С.1292.
9. Гельферих Ф. Иониты. Основы ионного обмена. – М.: Изд-во Иностран. лит., 1962. - 490 с.
10. Самсонов Г.В. Термодинамические, кинетические и динамические особенности ионного обмена с участием ионов органических веществ / Ионный обмен. – М., 1981. - С. 126-137.
11. Самуэльсон О. Ионообменные разделения в аналитической химии. – М. : Химия, 1966. – 416 с.
12. Котова Д.Л., Давыдова Е.Г., Крысанова Т.А. Влияние температуры на динамические характеристики сорбции пролина и гидроксипролина Н-сульфокатионообменником КУ-2х8 // Сорбционные и хроматографические процессы. Т.9. Вып.2. 2009. С.241-246.
13. Головина Е.А., Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Давыдова Е.Г., Селеменев В.Ф. // Журн. физ. химии. – 2005. – Т.79, №2. – С.258.
14. Katti A.M., Huang J.X., G. Guiochon Prediction of the elution bands of proteins in preparative liquid chromatography // Biotechnol. Bioeng. – 1990. – V. 36. – P. 288-292.
15. Demin A.A., Melenevsky A.T., Papukova K.P. The effect of the concentration of ionogenic groups in the sorbent on the separation of protein mixtures // J. Chromatogr. – 2003. – V. 1006. – P.185-193.
16. Демин А.А. Влияние синергетических эффектов на процессы разделения белков в ионообменной хроматографии // Журн. приклад. химии. – 2001. – Т.74. – Вып. 4. – С.625-629.

Котова Диана Липатьевна – проф. кафедры аналитической химии, д.х.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)208-932

Давыдова Екатерина Геннадьевна – ассистент кафедры неорганической химии, к.х.н., Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж,

Крысанова Татьяна Анатольевна – доцент кафедры аналитической химии, к.х.н., Воронежский государственный университет, г. Воронеж,

Воробьева Елена Алексеевна – магистрант кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, г. Воронеж,

Kotova Diana L. – the professor of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh, e-mail: kris_SL_TN@mail.ru

Davydova Ekaterina G. – the assistant of department of inorganic chemistry, The Voronezh State Technological Academy, Voronezh,

Krysanova Tatyana A. – the lecturer of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh,

Vorob'eva Elena A. – the student of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh,