

УДК 577.112.387

## НЕЙТРАЛИЗАЦИОННЫЙ ДИАЛИЗ СМЕШАННОГО РАСТВОРА ФЕНИЛАЛАНИНА И МИНЕРАЛЬНОЙ СОЛИ: ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ И СКОРОСТИ ПРОТОКА РАСТВОРОВ КИСЛОТЫ И ЩЕЛОЧИ

© 2023 г. М. В. Порожный<sup>а</sup>, \*, В. В. Гиль<sup>а</sup>, А. Э. Козмай<sup>а</sup>

<sup>а</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, 350040 Россия

\*e-mail: porozhnyj@mail.ru

Поступила в редакцию 18.04.2023 г.

После доработки 25.05.2023 г.

Принята к публикации 07.06.2023 г.

Для эффективного разделения и очистки аминокислот, являющихся амфолитами, может быть использован метод нейтрализационного диализа (НД), достоинством которого является возможность управления значением pH раствора без внесения реагентов. Важной задачей является оптимизация параметров процесса НД для обеспечения минимальных потерь аминокислот при их выделении из смешанных растворов. Проведено экспериментальное исследование процесса деминерализации эквимольной смеси фенилаланина и хлорида натрия методом НД. Установлено, что варьирование концентрации и скорости потока растворов кислоты и щелочи в соответствующих камерах диализной ячейки позволяет управлять значением pH обессоливаемого раствора и контролировать величину потерь аминокислоты. Уменьшением концентрации кислоты в два раза (с 0.10 до 0.05 М) удалось добиться сокращения потерь фенилаланина с 18.3 до 16.4%, а использование меньшей скорости потока раствора в кислотной камере (0.75 вместо 1.50 см с<sup>-1</sup>) позволило снизить эти потери до 14.2%. При этом во всех экспериментах значение электропроводности обессоливаемого раствора снижалось на 90%, что позволяет говорить о высокой степени деминерализации и эффективности применяемого метода для выделения фенилаланина из смешанного раствора.

**Ключевые слова:** ионообменная мембрана, нейтрализационный диализ, деминерализация, фенилаланин

**DOI:** 10.31857/S2218117223050085, **EDN:** APXBGL

### 1. ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день аминокислоты находят широкое применение в различных отраслях промышленности в качестве компонентов пищевых добавок, лекарственных препаратов, косметики, кормов для животных и др. Среди способов производства аминокислот выделяют экстракцию из белковых гидролизатов, химический синтез и микробиологический синтез (ферментация с помощью микроорганизмов) [1, 2]. Поскольку в процессе получения аминокислоты зачастую являются компонентами смешанных растворов различных органических и неорганических веществ, неотъемлемым этапом производства аминокислот является их взаимное разделение и очистка. Для этого могут применяться различные методы, включая хроматографию [3–5], капиллярный электрофорез [6, 7], ультра- и нанопермембранную фильтрацию [8–10], а также методы с использованием ионообменных мембран (доннановский диализ, электродиализ) [11–13]. Методы с использованием ионообмен-

ных мембран (ИОМ) представляются весьма перспективными, так как обладают рядом преимуществ, а именно: их легко экстраполировать на промышленные масштабы, а также они позволяют использовать для процесса разделения как разницу в подвижности частиц, так и различие в знаке их заряда. Последний фактор является особо важным в контексте того, что аминокислоты являются амфолитами, то есть вступают в реакции протонирования-депротонирования и в зависимости от pH среды могут менять свой заряд. Таким образом, контролируя значение pH, можно изменять форму аминокислот (положительно заряженная, отрицательно заряженная, цвиттерионная) и управлять процессом их переноса через ИОМ, тем самым добиваясь эффективного выделения аминокислот из мультикомпонентных растворов.

Что касается электродиализного разделения смесей, содержащих аминокислоты, действительно, ряд исследований показывает необходи-

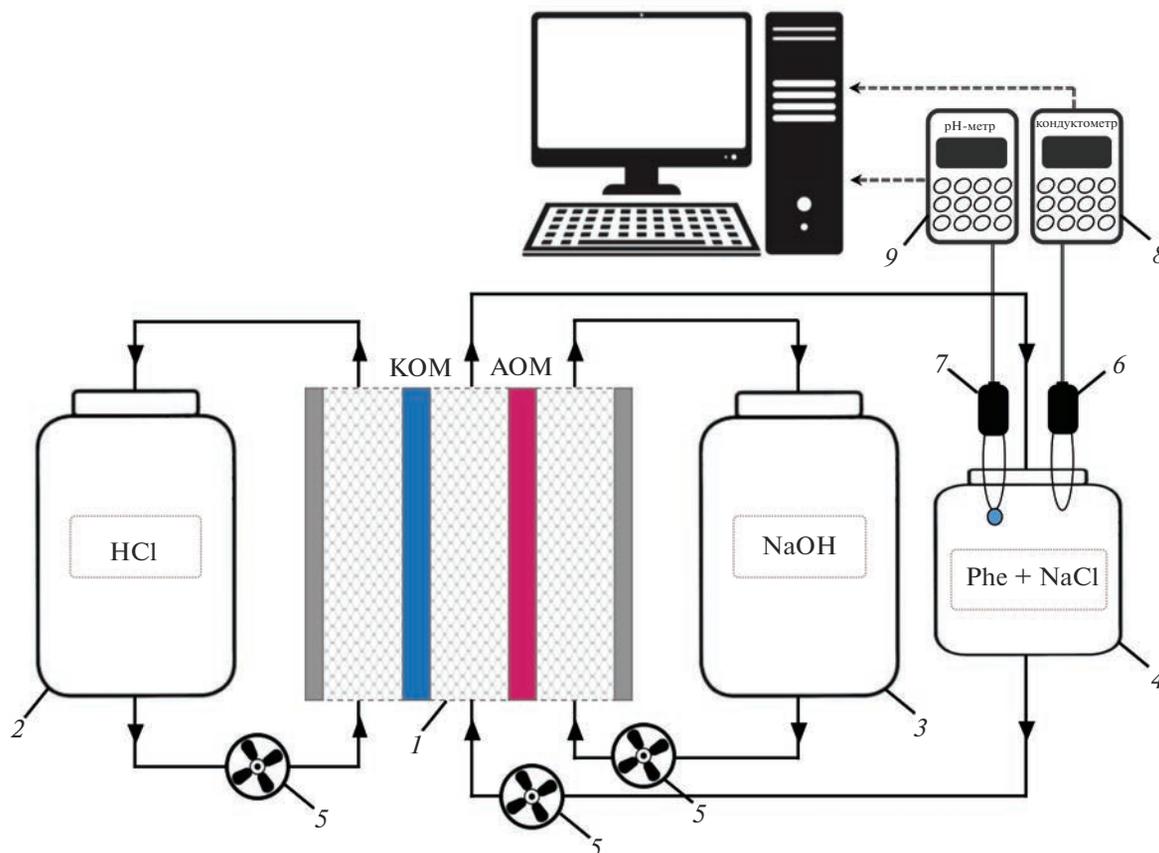
мость контроля рН перерабатываемого раствора. Takai, Yamabe и Seno при исследовании транспорта аминокислот в процессе электродиализа (ЭД) показали, что эти вещества проникают через катионообменную мембрану (КОМ) из раствора с рН ниже, чем изоэлектрическая точка, через анионообменную мембрану (АОМ) из раствора с рН выше, чем изоэлектрическая точка, и не проникают из раствора с рН равным изоэлектрической точке [14]. Kikuchi и соавторы также сообщают о селективном разделении аминокислот с помощью ЭД, когда аминокислоты почти полностью отделялись друг от друга путем корректировки рН раствора [15]. Kumaг и др. показали, что аминокислоты с различными значениями  $pI$  могут быть эффективно разделены при поддержании рН, при котором одна из аминокислот находится преимущественно в нейтральной форме, а другая в заряженной форме [16]. Особенностью ЭД является возможный процесс генерации  $H^+$  и  $OH^-$  ионов, проходящий на межфазной границе мембрана/обедненный раствор как сопряженный эффект концентрационной поляризации [17]. Этот процесс потенциально может быть использован для безреагентного управления значением рН при электродиализной переработке растворов, содержащих аминокислоты. Так, например, в исследовании [18] было показано, что в ЭД с биполярными мембранами генерация  $H^+$  и  $OH^-$  ионов может быть использована для извлечения аминокислоты высокой чистоты из смешанного раствора. Этот метод также показал высокую эффективность как один из этапов многоступенчатой переработки молочной сыворотки, содержащей в своем составе органические кислоты (в частности, молочную и лимонную) [19]. В результате реакции с  $OH^-$  ионами, генерируемыми на биполярной границе, молочная и лимонная кислоты диссоциируют, что интенсифицирует их перенос в условиях наложения электрического поля и позволяет эффективно удалить эти органические кислоты. Генерация  $H^+$  и  $OH^-$  ионов также может приводить к барьерному эффекту, предотвращая нежелательный перенос аминокислоты через ИОМ [20]. Однако, управление процессом генерации ионов  $H^+$  и  $OH^-$  при электродиализном разделении амфолит-содержащих растворов является трудноосуществимым, поэтому контроль рН в таких приложениях, как правило, происходит за счет добавления соответствующих реагентов.

Для эффективного разделения и очистки аминокислот может быть использован метод нейтрализационного диализа (НД) [21], достоинством которого является возможность управления значением рН раствора без внесения реагентов. Эта возможность достигается путем применения одновременно двух процессов доннановского обменного диализа с использованием катионо-

анионообменной мембран (КОМ и АОМ, соответственно), которые образуют камеру обессоливания. Через эту камеру прокачивается перерабатываемый раствор, через соседние камеры – растворы кислоты и щелочи. Благодаря ионному обмену и эффекту доннановского исключения ионы соли удаляются из камеры обессоливания и заменяются на протоны и ионы гидроксила, которые поступают из кислотной и щелочной камер, соответственно, через КОМ и АОМ. Эти ионы вступают в реакцию нейтрализации в камере обессоливания и образуют молекулы воды.

Механизмы переноса ионов сильных электролитов в процессе НД изучены достаточно, чтобы иметь исчерпывающее представление о том, каким образом можно управлять рН обессоливаемого раствора. Ряд экспериментальных и теоретических исследований позволил выявить механизмы изменения значения рН в камере обессоливания [22]; влияние концентрации и объема прокачиваемых растворов соли, кислоты и щелочи на кинетику процесса обессоливания [23, 24]; влияние гидродинамических условий на величины потоков ионов соли [23–25]. Изучение процесса НД более сложных растворов, содержащих органические вещества, показывает эффективность этого метода применительно к разделению слабых кислот и оснований [26], а также к обессоливанию водных растворов сахаридов, молочной сыворотки и глицина [27]. Целесообразность использования НД также продемонстрирована для разделения смешанного раствора фенилаланина и минеральной соли [28–31]. Показано, что таким процессом можно управлять путем целенаправленного подбора ионообменных мембран с определенными характеристиками [29, 30]. При этом отмечается, что природа используемых ИОМ оказывает существенное влияние на значение рН обессоливаемого раствора, что, в свою очередь, определяет форму аминокислоты (положительно заряженная, отрицательно заряженная, цвиттерсионная) и ее потери за счет переноса через ИОМ. В работах [29–31] продемонстрирован эффект, оказываемый концентрацией эквивалентной смеси фенилаланина и хлорида натрия на характеристики процесса, в том числе на изменение рН перерабатываемого раствора. При этом, возможность управления рН обессоливаемого раствора и кинетикой процесса НД за счет варьирования концентрации кислоты и щелочи, а также гидродинамических условий для случая смешанного раствора аминокислоты и минеральной соли, насколько нам известно, еще не исследовалась.

В данной работе проведено экспериментальное исследование процесса деминерализации эквивалентной смеси фенилаланина и хлорида натрия с использованием НД в циркуляционном режиме. Для осуществления процесса НД использованы гомогенные ионообменные мембра-



**Рис. 1.** Схема экспериментальной установки: трехкамерная диализная ячейка (1), состоящая из камеры обессоливания, кислотной и щелочной камер, снабженных сепараторами; емкости с кислотой (2), щелочью (3), обессоливаемым смешанным раствором (4); перистальтические насосы (5); кондуктометрический датчик (6); pH-электрод (7); кондуктометр (8) и pH-метр (9), подключенные к компьютеру.

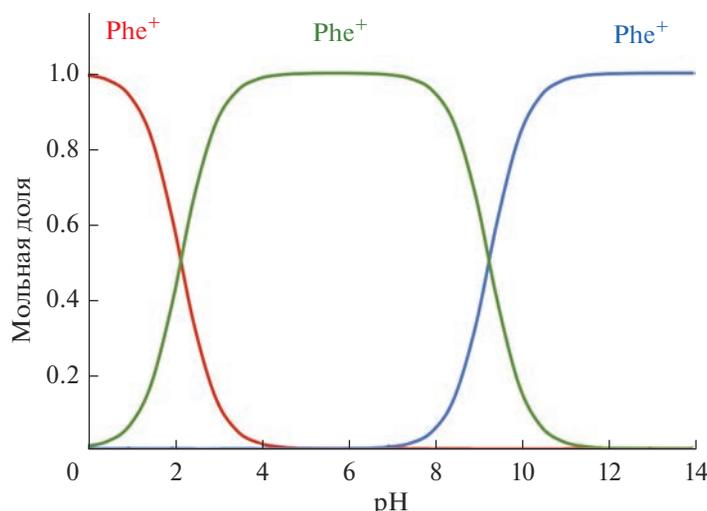
ны CSE и ASE производства ASTOM (Япония). Исследование проведено для достаточно разбавленного раствора: выбранная концентрация соли в исследуемом растворе примерно соответствует средней минерализации сточных вод предприятий пищевой промышленности [32]. Изучено влияние концентрации растворов кислоты и щелочи, а также скорости их протока в соответствующих камерах ячейки на кинетику процесса, степень обессоливания смеси и величину потерь аминокислоты.

## 2. ЭКСПЕРИМЕНТ

### 2.1. Параметры процесса нейтрализационного диализа

Для деминерализации смешанного раствора фенилаланина (Phe) и NaCl с помощью нейтрализационного диализа использована трехкамерная диализная ячейка, состоящая из камер обессоливания, кислотной и щелочной камер, сформированных катионообменной и анионообменной мембранами (рис. 1).

Площадь активной поверхности мембран равнялась  $2.7 \times 2.7$  см<sup>2</sup>. Каждая камера ячейки составляла 0.6 см в толщину и была снабжена сепаратором экструзионного типа, изготовленным из АБС-пластика на 3D принтере Raise3D E2 (Raise3D, Inc., Ирвайн, США) с использованием перистальтических насосов растворы прокачивались через камеры ячейки. Через камеру обессоливания циркулировало 0.5 л смешанного раствора Phe и NaCl, содержащего растворенные компоненты в эквимолярном соотношении (0.02 М Phe + 0.02 М NaCl). Эквимолярное соотношение фенилаланина и соли в растворе рассматривалось с целью обеспечения равенства градиентов концентрации компонентов смеси между камерой обессоливания и кислотной/щелочной камерами диализной ячейки для удобства анализа наблюдаемых эффектов. Исходное значение pH исследуемого раствора находилось в диапазоне от 5.5 до 5.7, что близко к значению изоэлектрической точки фенилаланина  $pI = (pK_1 + pK_2)/2 = 5.76$  [33]. При таких pH мольная доля цвиттерионной



**Рис. 2.** Мольные доли форм фенилаланина (положительно заряженная  $\text{Phe}^+$ , отрицательно заряженная  $\text{Phe}^-$ , цвиттер-ионная  $\text{Phe}^\pm$ ) как функции pH водного раствора.

формы Phe в смешанном растворе практически достигает единицы (рис. 2).

Через кислотную и щелочную камеры прокачивались 2 л раствора HCl и 2 л раствора NaOH, соответственно. В первой серии экспериментов варьировались начальные концентрации кислоты и щелочи, во второй серии – средняя линейная скорость протока растворов в кислотной и щелочной камерах ячейки (табл. 1). При этом в обеих сериях начальная концентрация обессоливаемого смешанного раствора и средняя линейная скорость его протока ( $1.50 \text{ см}^{-1}$ ) не изменялись.

Для приготовления растворов использовались следующие химические реагенты: NaCl (ч. д. а., ЗАО “Вектон”, Санкт-Петербург, Россия), NaOH (ч. д. а., ЗАО “Вектон”, Санкт-Петербург, Россия), HCl (х. ч., АО “ЛенРеактив”, Санкт-Петербург, Россия), L-Фенилаланин (ч. д. а., ООО “Гранхим”, Челябинск, Россия).

В процессе нейтрализационного диализа осуществлялся контроль pH и электропроводности

обессоливаемого раствора посредством pH-метра Эксперт-001 и кондуктометра Эксперт-002 (ООО “Эконикс-Эксперт”, Москва, Россия). Эксперименты проводились при температуре  $25.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ .

Для оценки потерь Phe в процессе НД производился отбор проб обессоливаемого раствора по истечении 12 и 24 ч (в середине и по окончании эксперимента). Концентрация Phe определялась спектрофотометрическим методом на спектрофотометре УФ-1800 (ТМ ЭКОВЬЮ, Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., Шанхай, Китай) при длине волны 259 нм [34]. Величина потерь фенилаланина,  $L$ , определялась согласно следующему уравнению:

$$L = \frac{C_{\text{Phe}}^0 - C_{\text{Phe}}}{C_{\text{Phe}}^0} \times 100\%, \quad (1)$$

где  $C_{\text{Phe}}^0$  – начальная концентрация фенилаланина в обессоливаемом растворе;  $C_{\text{Phe}}$  – концентра-

**Таблица 1.** Параметры процесса НД

Номер эксперимента	Концентрация HCl, $C_{\text{HCl}}^0$ , М	Концентрация NaOH, $C_{\text{NaOH}}^0$ , М	Скорость протока HCl, $v_{\text{HCl}}$ , $\text{см}^{-1}$	Скорость протока NaOH, $v_{\text{NaOH}}$ , $\text{см}^{-1}$
Серия № 1				
Эксперимент № 1	0.10	0.10	1.50	1.50
Эксперимент № 2	0.05	0.10	1.50	1.50
Эксперимент № 3	0.10	0.20	1.50	1.50
Серия № 2				
Эксперимент № 1	0.10	0.10	1.50	1.50
Эксперимент № 2'	0.10	0.10	0.75	1.50
Эксперимент № 3'	0.10	0.10	1.50	2.25

**Таблица 2.** Основные физико-химические характеристики мембран [31]

Мембрана	CSE	ASE
Обменная емкость, ммоль/Г <sub>наб</sub>	1.58	1.93
Влагосодержание, %	42.0	24.4
Электрическая проводимость (в 0.1 М NaCl), мСм см <sup>-1</sup>	7.37	3.77
Электрическая проводимость (в 0.1 М Phe, CSE при pH 0.5, ASE при pH 13.1), мСм см <sup>-1</sup>	5.67	2.32
Электрическая проводимость (CSE в 0.1 М HCl, ASE в 0.1 М NaOH), мСм см <sup>-1</sup>	71.12	6.76
Толщина в набухшем состоянии, мкм	140	150

ция фенилаланина в отобранной пробе обессоливаемого раствора.

### 2.2. Мембраны

Для проведения процесса НД использовались новые коммерческие гомогенные мембраны производства ASTOM (Токио, Япония): катионообменная мембрана CSE и анионообменная мембрана ASE. Полимерная матрица мембраны CSE представляет собой сополимер на основе стирола с функциональными группами  $-\text{SO}_3^-$ ; мембрану ASE, содержащую сильноосновные функциональные группы, производят из сополимера стирола и дивинилбензола [35]. Армирующая сетка в случае обеих мембран изготавливается из смеси полиэтилена и полипропилена. Основные физико-химические характеристики мембран CSE и ASE приведены в табл. 2. В нашей предыдущей работе [31] было показано, что эта пара мембран обладает характеристиками, позволяющими достаточно эффективно проводить процесс разделения смеси фенилаланина и минеральной соли методом НД.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные кинетические зависимости рН и электропроводности обессоливаемого смешанного раствора в процессе НД для первой серии экспериментов, в которой варьировались концентрации кислоты и щелочи в соответствующих камерах ячейки, представлены на рис. 3.

Как видно из рис. 3а, в эксперименте № 1, в котором концентрации и скорости потока растворов кислоты и щелочи в соответствующих камерах ячейки задавались одинаковыми, рН обессоливаемого раствора в начале процесса смещается в область более низких значений относительно начального. Это объясняется различием в скоростях поступления в камеру обессоливания ионов  $\text{H}^+$  через КОМ из кислотной камеры и ионов  $\text{OH}^-$  через АОМ из щелочной камеры в условиях проведенного эксперимента. В работах [22, 23] такое различие подтверждается результатами расчета

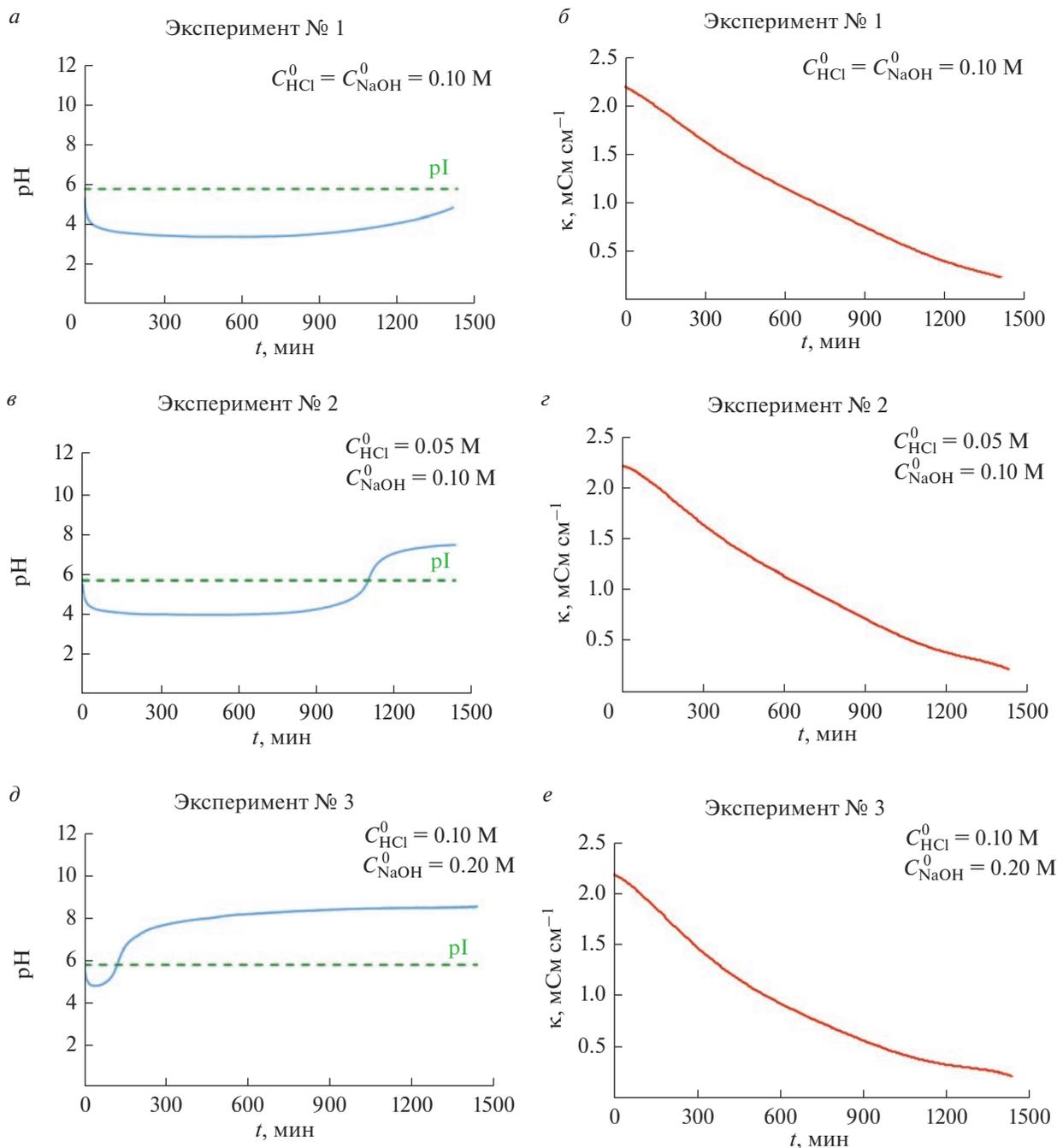
потоков соответствующих ионов через мембраны и прилегающие диффузионные слои для системы НД с аналогичными гомогенными ИОМ производства Astom, Япония (сильнокислотной СМХ и сильноосновной АМХ). При достаточно высокой концентрации обессоливаемого раствора в начале процесса НД лимитирующей стадией является перенос ионов через КОМ и АОМ (внутридиффузионная кинетика), а не через прилегающие диффузионные слои, обращенные в камеру обессоливания. При этом коэффициент взаимодиффузии ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{H}^+$  в КОМ превышает соответствующее значение для пары  $\text{Cl}^-$  и  $\text{OH}^-$  в АОМ, что выражается в больших значениях потоков первых по сравнению со вторыми через соответствующие мембраны.

Для определения коэффициентов взаимодиффузии противоионов в мембране,  $\bar{D}_{ij}$ , может быть использовано следующее уравнение [23]:

$$\bar{D}_{ij} = \frac{\bar{D}_i \bar{D}_j}{\bar{D}_i - \bar{D}_j} \ln \frac{\bar{D}_i}{\bar{D}_j}, \quad (2)$$

где  $\bar{D}_i$ ,  $\bar{D}_j$  – коэффициенты диффузии противоионов  $i$  и  $j$  в мембране, соответственно. Коэффициенты диффузии ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{H}^+$  в мембране CSE и ионов  $\text{Cl}^-$  и  $\text{OH}^-$  в мембране ASE были найдены в нашей предыдущей работе [31] с использованием нестационарной математической модели, описывающей процесс разделения смешанного раствора фенилаланина и хлорида натрия методом нейтрализационного диализа.

Для исследуемых мембран коэффициенты взаимодиффузии противоионов, рассчитанные по уравнению (2), составили  $\bar{D}_{\text{Na}^+\text{H}^+}^{\text{CSE}} = 1.2 \times 10^{-10} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$ ,  $\bar{D}_{\text{Cl}^-\text{OH}^-}^{\text{ASE}} = 7.1 \times 10^{-11} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$ . Полученные значения согласуются с определенными в работе [23] для аналогичных мембран СМХ, АМХ. Большая величина коэффициента взаимодиффузии противоионов в мембране CSE по сравнению с ASE находит подтверждение в значениях электропроводности этих мембран в растворах HCl и NaOH, соответственно, а также в растворе NaCl (табл. 2).



**Рис. 3.** Кинетические зависимости pH (а, в, д) и электропроводности (б, г, е) смешанного раствора в камере обессоливания при различных концентрациях кислоты и щелочи в соответствующих камерах ячейки (указаны на графиках).

По мере снижения концентрации обессоливаемого раствора роль диффузионных слоев в управлении кинетикой процесса переноса растёт и становится сопоставимой с ролью мембран. Коэффициенты взаимодиффузии ионов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  и  $\text{Cl}^-/\text{OH}^-$  в растворе, рассчитанные по уравнению, аналогичному уравнению (2), с использованием коэффициентов диффузии ионов в растворе [36], составляют  $D_{\text{Na}^+\text{H}^+} = 3.0 \times 10^{-9} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$

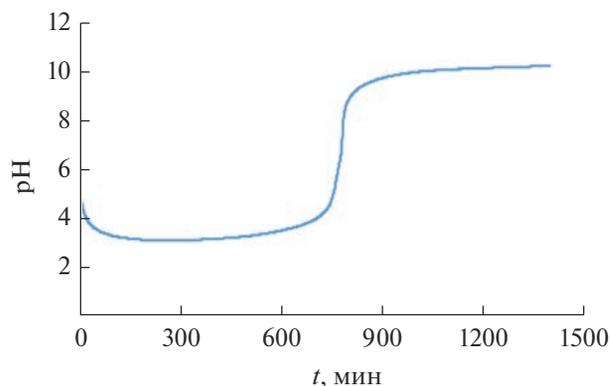
и  $D_{\text{Cl}^-\text{OH}^-} = 3.2 \times 10^{-9} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$  соответственно. Таким образом, потоки ионов через АОМ и КОМ с прилегающими диффузионными слоями, обращёнными в камеру обессоливания, уравниваются. Процесс приходит в стационарное состояние, сопровождаясь практически постоянным значением pH, обусловленным равенством потоков  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  в камеру обессоливания из кислотной и щелочной камер соответственно.

В ходе дальнейшего осуществления процесса НД концентрация обессоливаемого раствора снижается до порогового значения, после достижения которого процессом начинает управлять внешнедиффузионная кинетика, так как лимитирующей стадией становится перенос в диффузионных слоях [22, 37]. Как было указано выше, величина коэффициента взаимодействия в них для пары  $\text{Cl}^-/\text{OH}^-$  больше, чем для пары  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , поэтому на конечной стадии эксперимента № 1 наблюдается тенденция к росту pH. Отметим, что в случае экспериментов по деминерализации методом НД индивидуального раствора хлорида натрия [22, 31], переход главной роли в управлении процессом от внутридиффузионной кинетики к внешнедиффузионной сопровождается более выраженными изменениями pH обессоливаемого раствора (рис. 4). В случае НД смешанного раствора резкий скачок pH не наблюдается (рис. 3а), что обусловлено буферной емкостью фенилаланина, обеспечиваемой реакциями протонирования-депротонирования [28, 31].

За счет более высокой скорости обмена через КОМ по сравнению с АОМ на начальном этапе эксперимента № 1 величина pH обессоливаемого раствора значительно отклоняется от изоэлектрической точки в область более низких значений. Отклонение значений pH от величины pI в ту или иную сторону приводит к переходу Phe из цвиттерной формы в заряженную (рис. 2), что обуславливает потери аминокислоты за счет ее переноса в кислотную или щелочную камеру через КОМ или АОМ, соответственно, в зависимости от знака заряда. В условиях эксперимента № 1 вследствие увеличения мольной доли положительно заряженной формы  $\text{Phe}^+$  и ее переноса через мембрану CSE величина потерь фенилаланина,  $L$ , по окончании эксперимента достигла 18.3% (табл. 3).

Для того, чтобы уменьшить отклонение pH смешанного раствора от изоэлектрической точки необходимо сократить разницу в скоростях поступления ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  через соответствующие мембраны в камеру обессоливания. Этого можно добиться за счет, например, снижения концентрации кислоты, что приведет к уменьшению градиента концентрации ионов  $\text{H}^+$  между кислотной камерой и камерой обессоливания, или повышения концентрации щелочи, которое увеличит градиент концентрации ионов  $\text{OH}^-$  между щелочной камерой и камерой обессоливания. Такой подход реализован в экспериментах № 2 и 3 соответственно.

Использование меньшей начальной концентрации  $\text{HCl}$  в эксперименте № 2 (0.05 М вместо 0.10 М) позволило снизить скорость поступления ионов  $\text{H}^+$  в камеру обессоливания, в результате чего отклонение значений pH смешанного рас-



**Рис. 4.** Кинетическая зависимость pH индивидуального раствора NaCl в камере обессоливания в процессе его деминерализации методом НД ( $C_{\text{NaCl}}^0 = 0.02$  М,  $C_{\text{HCl}}^0 = C_{\text{NaOH}}^0 = 0.10$  М,  $v_{\text{NaCl}} = v_{\text{HCl}} = v_{\text{NaOH}} = 1.50$  см  $\text{c}^{-1}$ ). Адаптировано из [31].

твора от изоэлектрической точки Phe в начале процесса оказалось менее выраженным по сравнению с экспериментом № 1 (рис. 3а, 3в). Когда главная роль в управлении процессом переходит к внешнедиффузионной кинетике (приблизительно после 900 мин), происходит заметный скачок pH, значения которого проходят через изоэлектрическую точку и начинают превышать ее. Однако, это превышение остается менее выраженным, чем отклонение pH от pI в эксперименте № 1. Таким образом, в условиях эксперимента № 2 увеличение мольной доли цвиттерной формы фенилаланина в обессоливаемом растворе на протяжении всего процесса позволило снизить потери фенилаланина до 16.4% (табл. 3) за счет уменьшения переноса заряженных форм Phe через ИОМ.

В эксперименте № 3 начальная концентрация щелочи была увеличена в два раза (0.20 М) по сравнению с экспериментом № 1. В начале процесса вследствие более высокой скорости обмена через КОМ наблюдается небольшое снижение значения pH обессоливаемого раствора (рис. 3д). Однако, достаточно быстро определяющим фактором процесса становится перенос через АОМ, что выражается в резком увеличении pH в камере

**Таблица 3.** Потери фенилаланина в процессе нейтрализационного диализа

Время, ч	Потери фенилаланина, $L$ , %				
	Номер эксперимента				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 2'	№ 3'
12	$9.5 \pm 0.2$	$6.5 \pm 0.1$	$8.1 \pm 0.2$	$5.0 \pm 0.1$	$6.6 \pm 0.1$
24	$18.3 \pm 0.3$	$16.4 \pm 0.3$	$23.0 \pm 0.4$	$14.2 \pm 0.3$	$17.2 \pm 0.3$

обессоливания еще до достижения пороговой концентрации, при которой начинает доминировать внешнедиффузионная кинетика. По-видимому, такое поведение системы обусловлено значительной разницей в величинах градиента концентрации ионов  $\text{OH}^-$  между щелочной камерой и камерой обессоливания и градиента концентрации ионов  $\text{H}^+$  между кислотной камерой и камерой обессоливания. В ходе эксперимента рН достигает достаточно высоких значений (до 8.5), при которых мольная доля отрицательно заряженной формы Phe становится существенной, и, как результат, в конце процесса потери фенилаланина возрастают до 23.0% за счет переноса через АОМ (табл. 3).

Отметим, что потери Phe по истечении первых 12 ч осуществления процесса НД в эксперименте № 3 оказались несколько ниже, чем в эксперименте № 1. Это объясняется меньшим отклонением рН от изоэлектрической точки на протяжении практически всей первой половины эксперимента № 3 по сравнению с аналогичным промежутком времени для эксперимента № 1. При этом в следующие 12 ч это отклонение в случае эксперимента № 3 становится более значительным, способствуя росту потерь фенилаланина и приводя в результате к их максимальной величине среди всех экспериментов серии (табл. 3).

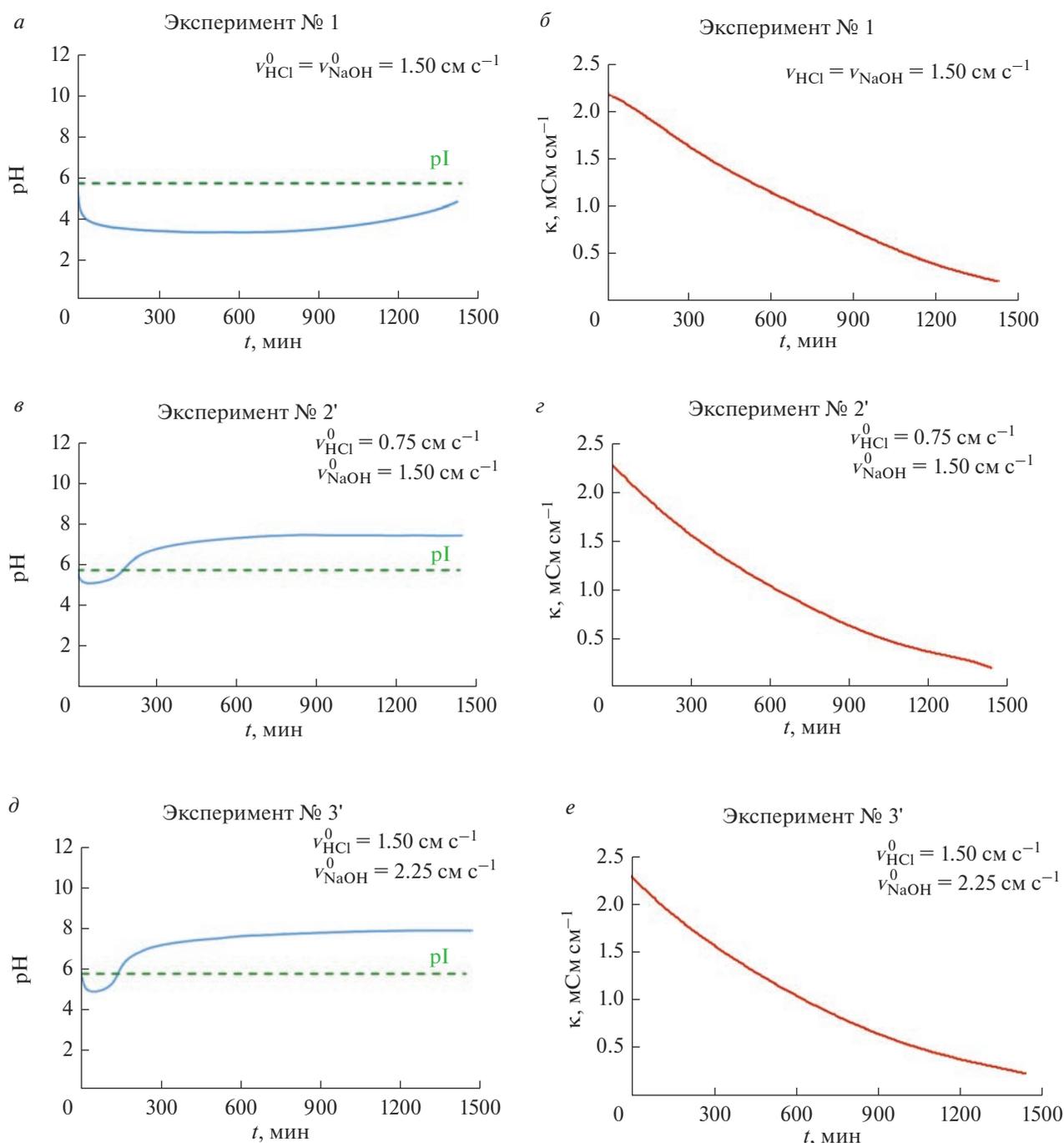
По изменению значения электропроводности обессоливаемого раствора можно судить о степени его деминерализации, поскольку это изменение определяется главным образом разницей концентраций ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в начале и конце эксперимента. Влияние заряженных форм фенилаланина на электропроводность является несущественным, так как, во-первых, значения их коэффициентов диффузии в растворе на порядок меньше соответствующих значений для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , во-вторых, их концентрация в условиях всех экспериментов серии остается достаточно низкой даже при увеличении их мольной доли вследствие отклонений рН от изоэлектрической точки. Что касается ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$ , то их влияние на изменение электропроводности к моменту завершения процесса НД также пренебрежимо мало. Коэффициенты диффузии этих ионов в растворе превышают соответствующие значения для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , и их вклад в электропроводность обессоливаемого раствора мог бы быть весомым, однако, разница концентраций ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  в начале и конце эксперимента настолько незначительна, что их влиянием на изменение электропроводности можно пренебречь. За 24 ч проведения процесса НД во всех трех экспериментах значение электропроводности обессоливаемого раствора (рис. 3б, 3г, 3е) снизилось с 2.2 до 0.2 мСм  $\text{см}^{-1}$  (на 90%), что позволяет говорить о высокой степени деминерализации в каждом случае и эффектив-

ности применяемого метода для выделения фенилаланина из смешанного раствора.

Еще одной стратегией для уменьшения отклонения рН смешанного раствора от изоэлектрической точки за счет сокращения разницы в скоростях поступления ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  в камеру обессоливания может быть варьирование скорости протока раствора кислоты или щелочи через соответствующие камеры ячейки. Так, снижение скорости протока кислоты должно привести к увеличению толщины диффузионного слоя, прилегающего к КОМ со стороны кислотной камеры, тем самым замедляя перенос ионов  $\text{H}^+$  в камеру обессоливания. Напротив, результатом повышения скорости протока щелочи будет уменьшение толщины диффузионного слоя, прилегающего к АОМ со стороны щелочной камеры, вследствие чего скорость поступления ионов  $\text{OH}^-$  в камеру обессоливания должна возрасти. Кинетические зависимости рН и электропроводности обессоливаемого смешанного раствора в процессе НД для второй серии экспериментов, в которой варьировалась скорость протока раствора кислоты или щелочи, представлены на рис. 5.

В эксперименте № 2' по сравнению с экспериментом № 1 скорость протока раствора  $\text{HCl}$  в кислотной камере была снижена до 0.75  $\text{см}^{-1}$  (вместо 1.50  $\text{см}^{-1}$ ). Как и в других описанных выше экспериментах, в начале процесса наблюдается небольшое снижение значения рН обессоливаемого раствора (рис. 5в) вследствие более высокой скорости обмена через КОМ. Однако, увеличение толщины диффузионного слоя у поверхности КОМ, обращенной в кислотную камеру, приводит к существенному уменьшению градиента концентрации ионов  $\text{H}^+$  между кислотной камерой и камерой обессоливания. При этом градиент концентрации ионов  $\text{OH}^-$  между щелочной камерой и камерой обессоливания обеспечивает достаточно высокую скорость их переноса через АОМ, что становится определяющим фактором процесса и выражается в росте значения рН смешанного раствора. В процессе НД по мере увеличения концентрации ионов  $\text{OH}^-$  в камере обессоливания, их поток из щелочной камеры уменьшается вследствие снижения градиента концентрации. В результате потоки ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  из соответствующих камер становятся сопоставимыми, сопровождаясь практически постоянным значением рН (около 7.5). Относительно малое отклонение величины рН от изоэлектрической точки на протяжении всего эксперимента обуславливает снижение потерь фенилаланина до 14.2% (табл. 3).

В условиях эксперимента № 3' (скорость протока  $\text{NaOH}$  составляла 2.25  $\text{см}^{-1}$ ,  $\text{HCl}$  — 1.50  $\text{см}^{-1}$ ) закономерности процесса переноса ионов и соответствующее поведение рН обессоливаемого раствора (рис. 5д) схожи с наблюдаемыми в экспери-



**Рис. 5.** Кинетические зависимости pH (а, в, д) и электропроводности (б, г, е) смешанного раствора в камере обессоливания при различных скоростях протока кислоты и щелочи через соответствующие камеры ячейки (указаны на графиках).

менте № 2'. Определяющим фактором процесса становится перенос через АОМ, так как градиент концентрации ионов  $\text{OH}^-$  между щелочной камерой и камерой обессоливания превышает градиент концентрации ионов  $\text{H}^+$  между кислотной камерой и камерой обессоливания. По-видимому, различия соответствующих градиентов в экспериментах № 2' и 3' обуславливают чуть более за-

метное отклонение pH от изоэлектрической точки в последнем случае (pH достигает значения 7.8). Как результат, потери фенилаланина в эксперименте № 3' оказались выше, чем в эксперименте № 2', и составили 17.2% (табл. 3). В целом, за счет изменения скорости протока кислоты или щелочи удалось добиться снижения потерь Phe по сравнению с экспериментом № 1. При этом, в

экспериментах № 2' и 3' значение электропроводности обессоливаемого раствора (рис. 5г, 5е) за 24 ч проведения процесса НД снижается на 90%, что свидетельствует о высокой степени деминерализации смешанного раствора, как и в первой серии экспериментов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено экспериментальное исследование процесса деминерализации эквимольной смеси фенилаланина и хлорида натрия методом нейтрализационного диализа. Изучено влияние концентрации растворов кислоты и щелочи, а также скорости их протока в соответствующих камерах ячейки на кинетику процесса, величину потерь аминокислоты и степень обессоливания смеси.

Потери фенилаланина в процессе НД происходят за счет переноса его заряженных форм в кислотную или щелочную камеру диализной ячейки через КОМ или АОМ и напрямую зависят от величины отклонения значения рН от изоэлектрической точки аминокислоты в ту или иную сторону. Показано, что при одинаковых концентрациях и скоростях протока кислоты и щелочи рН в камере обессоливания значительно отклоняется от рI в область более низких значений, что обусловлено более высокой скоростью обмена через КОМ по сравнению с АОМ в исследуемой системе. В таких условиях увеличение мольной доли положительно заряженной формы Phe<sup>+</sup> приводит к существенным потерям аминокислоты по окончании эксперимента (18.3%).

Уменьшение отклонения рН смешанного раствора от рI достигается путем сокращения разницы в скоростях поступления ионов Н<sup>+</sup> и ОН<sup>-</sup> через соответствующие мембраны в камеру обессоливания. Установлено, что варьирование концентрации и скорости протока растворов кислоты и щелочи позволяет управлять скоростью обмена через ионообменные мембраны вследствие изменения градиентов концентрации ионов Н<sup>+</sup> между кислотной камерой и камерой обессоливания и ионов ОН<sup>-</sup> между щелочной камерой и камерой обессоливания. Так, уменьшением концентрации кислоты в два раза (0.05 вместо 0.10 М) удалось добиться сокращения потерь фенилаланина до 16.4%, а использование меньшей скорости протока раствора в кислотной камере (0.75 вместо 1.50 см с<sup>-1</sup>) позволило снизить эти потери до 14.2%.

При этом во всех экспериментах значение электропроводности обессоливаемого раствора снижалось на 90%, что позволяет говорить о незначительном влиянии предпринятых изменений условий НД на эффективность деминерализации эквимольной смеси Phe и NaCl при их существенном влиянии на рН.

Таким образом, проведенное исследование показало перспективность предлагаемых способов для управления процессом нейтрализационного диализа смешанного раствора аминокислоты и минеральной соли. Дальнейшее более детальное изучение влияния концентрации растворов кислоты и щелочи, а также скорости их протока на механизмы переноса в системе НД позволит подобрать оптимальные условия процесса, обеспечивающие минимальные потери аминокислоты.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-79-00114, <https://rscf.ru/project/21-79-00114/>.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *D'Este M., Alvarado-Morales M., Angelidaki I.* // *Biotechnol. Adv.* 2018. V. 36. № 1. P. 14–25.
2. *Ikeda M.* Amino acid production processes. In: *Microbial production of l-amino acids.* Springer, Berlin, Heidelberg, 2002.
3. *Alia K.B., Nadeem H., Rasul I., Azeem F., Hussain S., Siddique M.H., Muzammil S., Riaz M., Nasir S.* Separation and purification of amino acids. In: *Applications of ion exchange materials in biomedical industries.* Springer, Cham, 2019.
4. *Zadmard R., Tabar-Heydar K., Imani M.* // *J. Chromatogr. Sci.* 2015. V. 53. № 5. P. 702–707.
5. *Kupnik K., Knez Ž., Primožič M., Leitgeb M.* // *Sep. Purif. Rev.* 2022. V. 52. № 1. P. 58–74.
6. *Chiu T.-C.* // *Anal. Bioanal. Chem.* 2013. V. 405. № 25. P. 7919–7930.
7. *Giuffrida A., Maccarrone G., Cucinotta V., Orlandini S., Contino A.* // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1363. P. 41–50.
8. *Vyas B.B., Ray P.* // *Desalination.* 2015. V. 362. P. 104–116.
9. *Ecker J., Raab T., Harasek M.* // *J. Membr. Sci.* 2012. V. 389. P. 389–398.
10. *Timmer J.M.K., Speelmans M.P.J., van der Horst H.C.* // *Sep. Purif. Technol.* 1998. V. 14. № 1–3. P. 133–144.
11. *Wang G., Zhang C., Sun M., Zhang X., Wu C., Wu Y.* // *Sep. Purif. Technol.* 2017. V. 188. P. 539–547.
12. *Eliseeva T., Kharina A.* // *Membranes.* 2022. V. 12. № 7. Art. № 665.
13. *Sato K.* // *J. Membr. Sci.* 2008. V. 309. P. 175–181.
14. *Takai N., Yamabe T., Seno M.* // *The Journal of the Society of Chemical Industry, Japan.* 1964. V. 67. № 6. P. 893–895.
15. *Kikuchi K., Gotoh T., Takahashi H., Higashino S., Dranoff J.S.* // *J. Chem. Eng. Jpn.* 1995. V. 28. P. 103–109.
16. *Kumar M., Tripathi B.P., Shahi V.K.J.* // *Chem. Technol. Biotech.* 2010. V. 85. P. 648–657.
17. *Nikonenko V.V., Pismenskaya N.D., Belova E.I., Sizat Ph., Hugué P., Pourcelly G., Larchet Ch.* // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2010. V. 160. P. 101–123.

18. Lin X., Pan J., Zhou M., Xu Y., Lin J., Shen J., Gao C., van der Bruggen B. // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2016. V. 55. № 10. P. 2813–2820.
19. Merkel A., Ashrafi A.M., Ečer J. // *J. Membr. Sci.* 2018. V. 555. P. 185–196.
20. Shaposhnik V.A., Eliseeva T.V. // *J. Membr. Sci.* 1999. V. 161. № 1–2. P. 223–228.
21. Igawa M., Echizenya K., Hayashita T., Seno M. // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1987. V. 60. P. 381–383.
22. Kozmai A., Chérif M., Dammak L., Bdiri M., Larchet C., Nikonenko V. // *J. Membr. Sci.* 2017. V. 540. P. 60–70.
23. Chérif M., Mkacher I., Dammak L., Ben Salah A., Walha K., Grande D., Nikonenko V. // *Desalination.* 2015. V. 361. P. 13–24.
24. Chérif M., Mkacher I., Dammak L., Ben Salah A., Walha K., Nikonenko V., Korchane S., Grande D. // *Desalination and Water Treatment.* 2016. V. 57. № 31. P. 14403–14413.
25. Sato K., Yonemoto T., Tadaki T. // *J. Chem. Eng. Jpn.* 1993. V. 26. № 1. P. 68–74.
26. Igawa M., Tanabe H., Ida T., Yamamoto F., Okochi H. // *Chemistry Letters.* 1993. V. 22. P. 1591–1594.
27. Bleha M., Tishchenko G.A. // *J. Membr. Sci.* 1992. V. 73. P. 305–311.
28. Kozmai A., Goleva E., Vasil'eva V., Nikonenko V., Pismenskaya N. // *Membranes.* 2019. V. 9. Art. № 171.
29. Сауд А.М., Васильева В.И., Голева Е.А., Акберова Э.М., Козлов А.Т. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. № 6. С. 749–759.
30. Васильева В.И., Сауд А.М., Акберова Э.М. // Мембраны и мембранные технологии. 2021. Т. 11. № 2. С. 110–118. [Vasil'eva V.I., Saud A.M., Akberova E.M. // *Membranes and Membrane Technologies.* 2021. V. 3. № 2. P. 98–106.]
31. Порожный М.В., Козмай А.Э., Мареев А.А., Гиль В.В. // Мембраны и мембранные технологии. 2022. Т. 12. № 5. С. 351–364. [Porozhnyy M.V., Kozmai A.E., Mareev A.A., Gil V.V. // *Membranes and Membrane Technologies.* 2022. V. 4. № 5. P. 306–318.]
32. Durán A., Monteagudo J.M., Sanmartín I., Gómez P. // *Ultrason. Sonochem.* 2013. V. 20. P. 785–791.
33. Lide D.R. *Handbook of Chemistry and Physics.* Boca Raton, FL: CRC Press, 2005.
34. Васильева В.И., Сауд А.М. // Аналитика и контроль. 2022. Т. 26. № 3. С. 222–234.
35. Chen G.Q., Wei K., Hassanvand A., Freeman B.D., Kentish S.E. // *Water Research.* 2020. V. 175. Art. № 115681.
36. Robinson R.A., Stokes R.H. *Electrolyte solutions.* 2nd Revised ed. NY: Dover Publications Inc., 2003. 588 p.
37. Denisov G.A., Tishchenko G., Bleha M., Shataeva L. // *J. Membr. Sci.* 1995. V. 98. P. 13–25.

## Neutralization Dialysis of Phenylalanine and Mineral Salt Mixed Solution: Effect of Concentration and Flow Rate of Acid and Alkali Solutions

M. V. Porozhnyy<sup>1,\*</sup>, V. V. Gil<sup>1</sup>, and A. E. Kozmai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kuban State University, Krasnodar, 350040 Russia

\*e-mail: porozhnyj@mail.ru

Amino acids that are ampholytes can be effectively separated and purified by the method of neutralization dialysis (ND), whose advantage is the ability to control the pH value of the solution without adding reagents. An important task is to optimize the parameters of the ND process to ensure minimal losses of amino acids during their isolation from mixed solutions. An experimental study of the process of demineralization of the phenylalanine and sodium chloride equimolar mixture by the ND method was carried out. It is established that varying the concentration and flow rate of acid and alkali solutions in the corresponding compartments of the dialysis cell allows for regulating the pH value of the solution being desalted and controlling the amount of amino acid loss. Halving the acid concentration (from 0.10 to 0.05 M) allowed reducing the losses of phenylalanine from 18.3 to 16.4%, and using a lower solution flow rate in the acid compartment (0.75 instead of 1.50 cm s<sup>-1</sup>) made it possible to reduce these losses to 14.2%. At the same time, in all experiments, the electrical conductivity of the desalted solution decreased by 90%, which suggests a high degree of demineralization and the effectiveness of the method used to isolate phenylalanine from the mixed solution.

**Keywords:** ion-exchange membrane, neutralization dialysis, demineralization, phenylalanine