

# بررسی پارامترهای مؤثر بر استخراج آسکوربیک اسید به کمک نمک‌های سولفات و پلی اتیلن گلیکول در سامانه‌های دوفازی آبی

طاهره جنگجوی شالدهی، حدیثه معصومی، حسین قنادزاده گیلانی\*

هلن حسین پور

گروه مهندسی شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

**چکیده:** سامانه‌های دوفازی آبی یک محیط مناسب برای جداسازی زیست مولکول‌ها فراهم می‌کنند زیرا در این گونه سامانه‌ها، آب به مقدار کافی در همه مرحله‌های فرایند وجود دارد و از سوی دیگر هدف، جداسازی زیست مولکول‌ها و حفظ فعالیت آن‌ها می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی پارامترهای مؤثر بر استخراج آسکوربیک اسید به کمک نمک‌های سولفات و پلیمر پلی اتیلن گلیکول در سامانه‌های دوفازی آبی می‌باشد. اثر وزن مولکولی پلی اتیلن گلیکول (۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول)، نمک‌های ( $MgSO_4$ ،  $Na_2SO_4$ ،  $MnSO_4$ )، غلظت نمک و همچنین اثر pH بر روی تشکیل سامانه دوفازی در دماهای ۳۲ و ۳۷ درجه سلسیوس بررسی شد. نتیجه‌ها نشان داد که با افزایش وزن مولکولی پلیمر، ضریب جداسازی و درصد استخراج آسکوربیک اسید کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش غلظت نمک و دما، ضریب جداسازی و درصد استخراج آسکوربیک اسید افزایش می‌یابد. جداسازی آسکوربیک اسید تا حد زیادی بستگی به نوع نمک دارد. نمک  $MnSO_4$  نسبت به دو نمک دیگر درصد استخراج بالاتری (۳۷/۴) را نشان داد. دیده شد ضریب توزیع پذیری آسکوربیک اسید در pH کم‌تر (pH=5)، بیش‌تر خواهد بود و بیشینه ضریب جداسازی آسکوربیک اسید برای بهترین نمک ( $MnSO_4$ ) ۰/۴۲۳ به دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** سامانه‌های دوفازی آبی، آسکوربیک اسید، پلی اتیلن گلیکول، ضریب جداسازی، نمک‌های سولفات.

**KEYWORDS:** Aqueous two-phase systems, Ascorbic acid, Polyethylene glycol, Separation coefficient, Sulfate salts

## مقدمه

این اسید دارای دو ایزومر راست‌گرد و چپ‌گرد است و تنها شکل ایزومری (L) آسکوربیک اسید دارای فعالیت زیستی است و شکل (D) آن

آسکوربیک اسید یا ویتامین ث از ساده‌ترین ویتامین‌ها است، فرمول بسته آن  $C_6H_8O_6$  و وزن مولکولی آن ۱۷۶/۱۳ گرم بر مول می‌باشد.

\* E-mail: hggilani@guilan.ac.ir

\* عهده دار مکاتبات

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی آسکوربیک اسید

نام متداول	آسکوربیک اسید
فرمول شیمیایی	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>
وزن مولکولی	۱۷۶/۱۳g/mol
نقطه ذوب	۰۱۹۰C
نقطه جوش	۰۵۵۳C
دانسیته	۱/۶۵ g/ml
اسیدی (pKa)	۱۱/۴-۶/۱۰

محلول‌های آبی PEG-8000 و Dextran-500 و الکترولیت‌های قوی NaCl، NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>، NaHSO<sub>4</sub> با سرم آلبومین ارایه کردند. پارامترهای برهم‌کنش، از فشار اسمزی و داده‌های پراکندگی پرتو لیزر محلول‌های آبی دو جزئی و سه جزئی به دست آمدند [۷]. تینتینجر<sup>۴</sup> و همکاران توزیع پذیری اسیدهای آمینه و پپتیدهای با وزن مولکولی پایین را در حضور پلی اتیلن گلیکول و دکستران و محلول نمک‌های KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> و K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> در دمای ۲۰ درجه سلسیوس بررسی کردند [۸].

در سال ۲۰۱۶ میلادی حسین قنادزاده گیلانی و حسین پور اثر نمک‌های سولفات در استخراج آسکوربیک اسید با استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش اثر پارامترهای گوناگون مانند وزن مولکولی PEG، غلظت نمک‌های Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>، MgSO<sub>4</sub>، و MnSO<sub>4</sub> و همچنین دما مورد مطالعه قرار گرفت [۹].

در سال ۲۰۱۸ میلادی حسین قنادزاده گیلانی و حدیثه معصومی اثر نمک‌های فسفات در استخراج مالیک اسید با استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش اثر پارامترهای گوناگون مانند وزن مولکولی PEG، غلظت نمک‌های K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> و NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> و همچنین دما مورد مطالعه قرار گرفت [۱۰].

پورتو<sup>۵</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۹ میلادی به بررسی استخراج آسکوربات اکسیداز از کدو تنبل توسط روش پیوسته در تماس دهنده دیسک دوار سوراخ دار با استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی پرداختند [۱۱]. آسکوربات اکسیداز توسط سامانه‌های دو فاز آبی سیترات/PEG در یک ستون دوار حاوی دیسک‌های سوراخ دار تخلیص می‌شود. شرایط بهینه شامل: PEG با وزن مولکولی ۲۰۰۰۰ g/mol، غلظت ۱۰ درصد وزنی به وزنی پلیمر و غلظت ۲۵ درصد وزنی به وزنی سیترات می‌باشد. نتیجه‌های پژوهش شامل ضریب توزیع پذیری ۳/۳۵، بازده استخراج ۵۴/۹۸ درصد و فاکتور تخلیص ۱/۴۶ شد که رضایت بخش بود.

این روش از برتری‌های کاربردی بسیاری بهره می‌برد. این فرایند می‌تواند به صورت پیوسته در جریان‌های متقابل به کار رود و به آسانی به مقیاس بزرگ افزایش پیدا کند [۱۲].

سامانه‌های دو فاز آبی هنگامی تشکیل می‌شوند که محلول‌های دو ماده هیدروفیل (پلیمر - نمک یا الکل - نمک) با هم ترکیب شده و غلظت آن‌ها از میزان مشخصی فراتر رود [۱۳]. تمایل به تشکیل سامانه دو فاز آبی می‌تواند به صورت قدرت آگریزی نیز تعریف کرد. دما همچنین تأثیر مهمی بر ترکیب دو فاز و تفکیک مولکول‌ها در این دو فاز دارد [۱۴]. ویژگی‌های

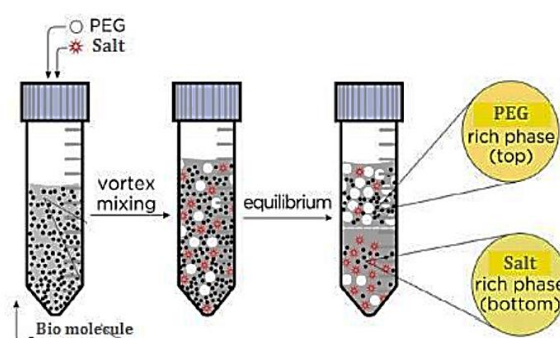
دارای چنین ویژگی نمی‌باشد. آسکوربیک اسید از نظر شیمیایی از مشتق‌های قندها است و بیوستتر آن از گلوکز و گالاکتوز و یا مشتق‌های آن‌ها انجام می‌شود [۱]. جدول ۱، ویژگی‌های فیزیکی این اسید را بیان می‌کند. امروزه به ندرت می‌توان فرایند شیمیایی را یافت که نیاز به خالص‌سازی اولیه مواد خام و یا جداسازی نهایی فرآورده‌هایی از فرآورده‌های جانبی به دست آمده از واکنش، نداشته باشد. قسمت بیش‌تر هزینه‌های مربوط به یک فرایند صرف انجام جداسازی‌های وابسته می‌شود. پس انتخاب روش مناسب جهت جداسازی بسیار دارای اهمیت است [۲]. استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی روشی قوی و کارآمد برای استخراج یون‌های فلزی، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، اسیدهای آلی و آنتی‌اکسیدان‌ها به حساب می‌آید [۳]. سامانه‌های دو فاز آبی از اختلاط دو پلیمر مانند پلی اتیلن گلیکول (PEG) و دکستران (DEX) و یا یک پلیمر و یک نمک در محلول آبی تشکیل می‌شود. برای اولین بار سامانه‌های مبتنی بر پلیمرهای محلول در آب، در زیست فناوری کاربرد پیدا کرد که از آن برای جدایش پروتئین‌ها، سلول‌ها و ویروس‌ها استفاده شد. سامانه‌های مبتنی بر پلیمرهای محلول در آب برای جدایش مواد فعال زیستی در مقیاس صنعتی به کار رفته‌اند [۴]. سامانه‌های دو فاز آبی بیش از ۴۱ سال است که به منظور جداسازی مواد زیستی مانند سلول‌ها، آنزیم‌ها و پروتئین‌ها به کار برده می‌شوند. داسیلو و میلر<sup>۱</sup> رفتار فازی مایع - مایع سامانه چهار جزئی آب - اوره - پلی اتیلن گلیکول - پتاسیم فسفات را برای PEG با وزن‌های مولکولی ۱۴۵۰، ۳۵۰۰ و ۱۰۰۰۰ بررسی نمودند و رفتار توزیع پذیری مواد زیستی لیزوزیم و گالاکتوزیداز کاتالاز در این سامانه را اندازه‌گیری نمودند [۵]. آلبرتسون<sup>۲</sup> (۱۹۸۶ میلادی) که پیشرو در جدایش سلول‌های میکروبی و ویروس‌ها بود، کارهای اولیه را بر روی سامانه‌های دو فاز آبی انجام داد [۶]. هاینس<sup>۳</sup> و همکاران در سال ۱۹۸۹ میلادی یک مدل ترمودینامیک مولکولی برای پیش بینی ویژگی‌های ترمودینامیکی سامانه‌های دو فاز آبی بین

4 Tint<sup>(۱)</sup> Da Silva & Meirelles5 Port<sup>(۳)</sup> Hynes

(۵) Porto

(۲) Albertsson

(۴) Tintinger



شکل ۱- روند جدایی فازها و تشکیل سامانه دو فاز آبی

پلیمر پلی اتیلن گلیکول (PEG) با وزن‌های مولکولی ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ از شرکت مرک آلمان مورد استفاده قرار گرفتند. آب دوبار تقطیر، از سامانه تقطیر تجاری تهیه شد و برای آماده سازی همه محلول‌ها در مراحل آزمایش استفاده شد. محلول‌های مادر ۳۰ درصد وزنی PEG با وزن مولکولی ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول تهیه شدند. همچنین محلول‌های نمکی شامل سولفات منگنز و منیزیم با درصد‌های وزنی ۲۰، ۲۵، ۳۰ و سدیم سولفات با درصد‌های وزنی ۵، ۲۰، ۲۵ ساخته شد. برای بررسی میزان استخراج آسکوربیک اسید در سامانه‌های دوفازی آبی، حجم‌های مساوی از فاز پلیمری و فاز نمکی انتخاب شد. مخلوط‌های تهیه شده هر کدام جداگانه به درون سل‌های شیشه‌ای منتقل شده و توسط مگنت و همزن مغناطیسی به مدت ۳ ساعت هم‌زده شدند. دمای سامانه توسط یک حمام آب در طول هر آزمایش ثابت نگه داشته شد. به میزان ۲۸ میلی‌گرم اسید به سامانه افزوده شد و بعد از اختلاط کامل، برای جداسازی فازها و برقراری حالت تعادل به طور ساکن در دمای موردنظر به مدت ۳ ساعت قرار گرفت. پس از به تعادل رسیدن فازها، حجم‌های تعادلی اندازه‌گیری شد. همچنین نمونه‌برداری به میزان ۱ میلی‌لیتر از فاز بالا و فاز پایین به دقت توسط سرنگ انجام گرفت و به کمک سود ۰/۰۵ نرمال و شناساگر فنل فتالین تیتراسیون آسکوربیک اسید صورت گرفت.

### (ب) آنالیز

استخراج آسکوربیک اسید در سامانه‌های دوفازی آبی توسط عوامل گوناگونی مانند نسبت حجمی فازها ( $V_f$ )، ضریب توزیع‌پذیری یا جداسازی آسکوربیک اسید (K) و درصد استخراج آسکوربیک اسید (Y%) مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۰]. این پارامترها به صورت زیر تعریف شده‌اند:

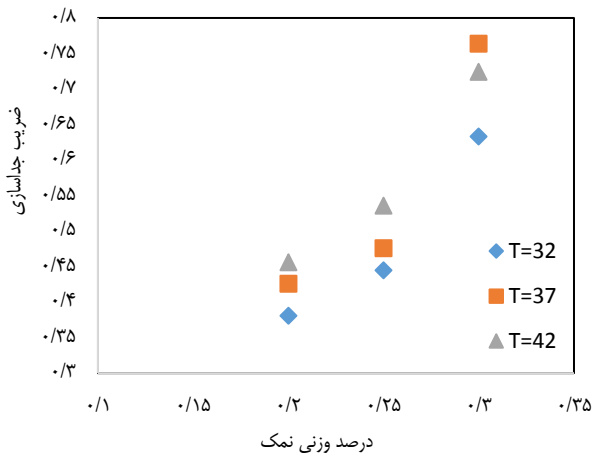
فازها تحت تأثیر غلظت و نوع اجزای تشکیل‌دهنده فازها قرار می‌گیرد ولی با افزایش میزان درشت مولکول‌ها، خواص فازها به غلظت ویژگی‌های آن‌ها نیز وابسته می‌شود [۱۵]. سامانه‌های دوفازی آبی نسبت به سامانه‌های استخراج با حلال، سامانه‌های پاک‌تر و اقتصادی‌تر می‌باشند [۱۶، ۴]. جدایش میان فازها سریع‌تر انجام می‌پذیرد و فصل مشترک میان دوفاز روشن‌تر به نظر می‌رسد [۱۷]. همچنین به دلیل قیمت و گرانبوی بالای سامانه‌های پلیمر - پلیمر، سامانه‌های پلیمر - نمک برتری داده می‌شود. پدیده جدایی فازها را می‌توان با استفاده از تئوری‌های ویژگی‌های ترمودینامیکی اجزا توصیف کرد. نیروی محرکه لازم برای فرایند جدایی سامانه‌های پلیمر - پلیمر - حلال، آنتالپی مرتبط با برهم کنش اجزا با یکدیگر و نیز کاهش آنتروپی ناشی از جداسازی اجزا، در خلال جدایی فازها است. آب نیز به عنوان حلال قادر به ایجاد پیوندهای غیر اشتراکی با پلیمر می‌باشد که این امر توصیف کمی پدیده جدایی را بسیار دشوار می‌کند. هم چنین به دلیل افزایش برهم کنش اجزا، با افزایش اندازه مولکول‌ها، جدایی فاز در این سامانه‌ها با توجه به اندازه بزرگ مولکول‌ها و اتلاف کم آنتروپی، در غلظت‌های پایین پلیمر اتفاق می‌افتد. رفتار فازی محلول‌های آبی پلیمری هم چنین تحت تأثیر حضور نمک‌ها قرار می‌گیرند که این تأثیر به نوع و غلظت نمک بستگی دارد. اغلب، غلظت بالای نمک در یک سامانه پلیمر - آب باعث جدایی فازی می‌شود که در آن یک فاز غنی از نمک و با غلظت کم پلیمر با یک فاز دیگر غنی از پلیمر و با غلظت کم نمک در حال تعادل می‌باشند [۱۸]. در مورد تأثیر نسبی نمک‌های گوناگون در جدایی فازها نیز می‌توان گفت که توزیع آنیون‌ها نسبت به توزیع کاتیون‌ها سهم بیشتری در تأثیر نمک دارند. آنیون‌های چند ظرفیتی مانند  $\text{HPO}_4^-$  و  $\text{SO}_4^{2-}$  هم در سامانه‌های دارای پلی اتیلن گلیکول بیش‌ترین تأثیر را در جدایی فازها دارند [۱۹].

شکل ۱، روند جدایی فازها و تشکیل سامانه دوفازی آبی را نشان می‌دهد. در این پژوهش، استخراج آسکوربیک اسید در سامانه‌های دوفازی آبی به کمک نمک‌های سولفات با درصد‌های وزنی گوناگون و پلیمر پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس بررسی شده است و اثرهای پارامترهای گوناگون بر درصد استخراج آسکوربیک اسید و ضریب جداسازی آن مورد مطالعه قرار گرفت.

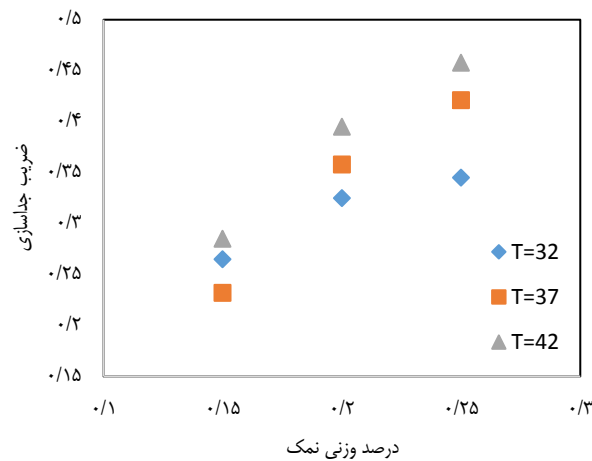
### بخش تجربی

#### الف) روش آزمایش

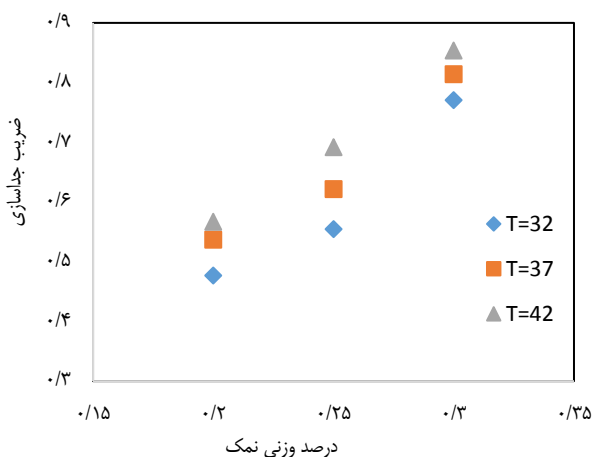
برای تهیه سامانه‌های دوفازی آبی در این پژوهش، نمک‌های منگنز سولفات ( $\text{MnSO}_4$ )، سدیم سولفات ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) و منیزیم سولفات ( $\text{MgSO}_4$ )،



شکل ۲- اثر دما بر ضریب جداسازی نمک منیزیم سولفات در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس و PEG4000



شکل ۳- اثر دما بر ضریب جداسازی نمک دی سدیم سولفات در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس و PEG4000



شکل ۴- اثر دما بر ضریب جداسازی نمک منگنز سولفات در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس و PEG4000

$$K = \frac{C_{\text{فاز بالا}}}{C_{\text{فاز پایین}}} \quad (1)$$

$$V_r = \frac{V_{\text{فاز بالا}}}{V_{\text{فاز پایین}}} \quad (2)$$

$$\%Y = \frac{K \times V_{\text{کاهیده}}}{1 + K \times V_{\text{کاهیده}}} \times 100 \quad (3)$$

که فاز بالا و  $C_{\text{فاز پایین}}$  به ترتیب غلظت اسید در فاز بالا (غنی از پلیمر) و غلظت اسید در فاز پایین (غنی از نمک) می‌باشند. همچنین فاز بالا و  $V_{\text{فاز پایین}}$  به ترتیب حجم فاز بالا و حجم فاز پایین هستند.

## نتیجه و بحث

### الف) اثر دما

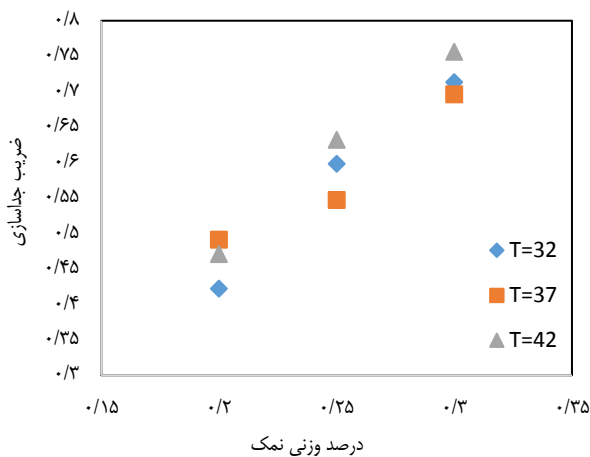
برای بررسی اثر دما بر ضریب جداسازی آسکوربیک اسید، شکل ۲ تا شکل ۷ به دست آمده است. نتیجه‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهد که در بیشتر نمونه‌ها با افزایش دما ضریب جداسازی نیز افزایش می‌یابد. در واقع می‌توان گفت که هر گروه اتیلن در ساختار PEG با ۱۴ مولکول آب برهم کنش می‌کند که حاصل این برهم کنش تشکیل ساختاری است که نسبت به تغییر دما بسیار حساس می‌باشد. با افزایش مقدار کمی از دما، مولکول‌های آب از نزدیکی سطح آبگریز مولکول PEG دور می‌شوند و همین منجر به بهبود برهم کنش بین اسید و PEG می‌شود که سرانجام باعث افزایش ضریب جداسازی می‌گردد [۲۱]. همچنین اثر دما بر درصد استخراج آسکوربیک اسید در جدول ۲ آورده شده است.

### ب) اثر غلظت نمک

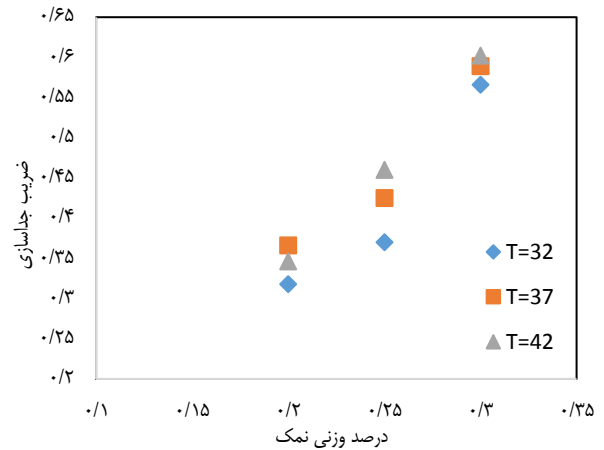
با توجه به شکل ۲ تا شکل ۷، با افزایش غلظت نمک، ضریب جداسازی آسکوربیک اسید افزایش می‌یابد. شاید بتوان این افزایش را این‌گونه توصیف کرد که با افزایش غلظت نمک، قدرت یونی سامانه افزایش می‌یابد. در سامانه‌های دوفازی نمک‌ها تمایل متفاوت به فاز بالا و پایین دارند. تقسیم شدن نامتقارن نمک در این سامانه‌ها در این دوفاز، باعث تقسیم شدن آسکوربیک اسید در دو فاز می‌شود، در نتیجه روی ضریب جداسازی اثر می‌گذارد. تمایل اسید به فاز بالا و پایین به علت نیروهای الکترواستاتیکی متفاوت است. بنابراین ضریب جداسازی خود به خود تابعی از نوع و غلظت نمک مورد استفاده خواهد بود. همچنین با توجه به جدول ۲، درصد استخراج آسکوربیک اسید با افزایش غلظت نمک‌های سولفات مورد استفاده در این پژوهش، افزایش می‌یابد.

جدول ۲- مقادارهای درصد استخراج اسید آسکوربیک در سامانه‌های دوفازی آبی در شرایط گوناگون

درصد وزنی نمک	درصد استخراج اسید آسکوربیک (PEG4000)			نوع نمک	درصد استخراج اسید آسکوربیک (PEG8000)		
	۳۳°C	۳۷°C	۴۲°C		۳۳°C	۳۷°C	۴۲°C
۲۰	۲۱,۹۹	۲۳,۹۷	۲۴,۷۲	MgSO <sub>4</sub>	۱۸,۲۱	۲۰,۳۹	۱۹,۲۷
۲۵	۲۴,۰۱	۲۴,۹۹	۲۷,۲۸		۲۰,۱۰	۲۲,۹۳	۲۴,۳۶
۳۰	۳۰,۷۰	۳۳,۸۶	۳۴,۴۵		۲۷,۵۰	۲۸,۹۰	۲۹,۳۵
				Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
۱۵	۱۵,۴۶	۱۳,۹۵	۱۶,۲۳		۱۳,۳۴	۱۴,۹۹	۱۵,۸۲
۲۰	۱۷,۸۸	۲۰,۷۵	۲۱,۴۲		۱۵,۴۶	۱۸,۰۴	۱۹,۶۸
۲۵	۱۹,۰۰	۲۲,۰۰	۲۴,۲۸		۱۷,۷۰	۲۰,۷۹	۱۹,۹۰
				MnSO <sub>4</sub>			
۲۰	۲۶,۸۶	۲۸,۹۸	۲۹,۸۴		۲۲,۵۵	۲۴,۱۹	۲۴,۱۹
۲۵	۲۹,۳۹	۳۰,۶۳	۳۳,۵۶		۲۶,۴۱	۲۴,۷۱	۲۴,۷۱
۳۰	۳۳,۳۸	۳۶,۳۰	۳۷,۴۱		۳۰,۳۱	۳۰,۱۴	۳۰,۱۴



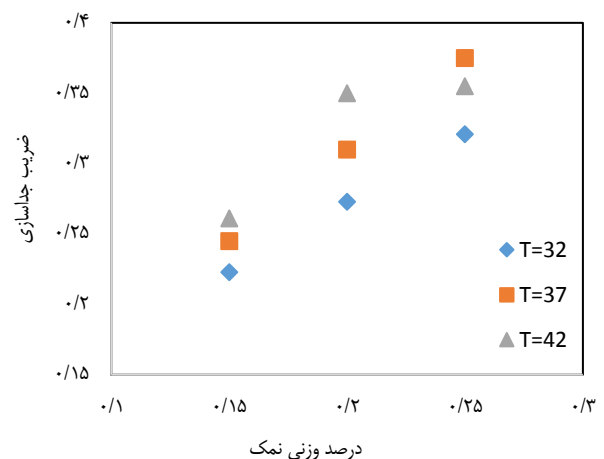
شکل ۷- اثر دما بر ضریب جداسازی نمک منگنز سولفات در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس و PEG8000



شکل ۵- اثر دما بر ضریب جداسازی نمک منیزیم سولفات در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس و PEG8000

### پ) اثر وزن مولکولی PEG

جداسازی بیومولکول‌ها در سامانه‌های دوفازی آبی بستگی شدیدی به وزن مولکولی PEG استفاده شده در سامانه دارد. اثر آب‌گریزی PEG با افزایش طول آن که در واقع افزایش وزن مولکولی آن است افزایش پیدا می‌کند. همانطور که در شکل ۲ تا شکل ۷ دیده می‌شود با افزایش وزن مولکولی PEG ضریب جداسازی کاهش می‌یابد. براساس نظریه حجم آزاد، با افزایش وزن مولکولی PEG حجم قابل دسترس برای آسکوربیک اسید در فاز غنی از PEG کمتر می‌شود، بنابراین حلالیت آسکوربیک اسید در این فاز کاهش می‌یابد و این اسید به فاز غنی از نمک تمایل پیدا می‌کند [۲۲، ۲۳]. در جدول ۲ مقادارهای گوناگون درصد استخراج اسید آسکوربیک با PEG های گوناگون به دست آمده است.



شکل ۶- اثر دما بر ضریب جداسازی نمک دی سدیم سولفات در دماهای ۳۲، ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس و PEG8000

جدول ۳- اثر pH سامانه بر ضریب جداسازی آسکوربیک اسید در سامانه‌های دوفازی آبی

pH	ضریب جداسازی آسکوربیک اسید (PEG4000)			ضریب جداسازی آسکوربیک اسید (PEG8000)		
	MgSO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	MnSO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	MnSO <sub>4</sub>
۵	۰٫۳۱۱	۰٫۲۷۱	۰٫۴۲۳	۰٫۲۹۳	۰٫۲۴۸	۰٫۳۸۱
۶	۰٫۳۰۵	۰٫۲۱۶	۰٫۳۸۳	۰٫۲۷۳	۰٫۲۰۸	۰٫۳۲۳
۷	۰٫۲۵۶	۰٫۱۹۳	۰٫۳۱۱	۰٫۲۰۴	۰٫۱۶۸	۰٫۲۷۱

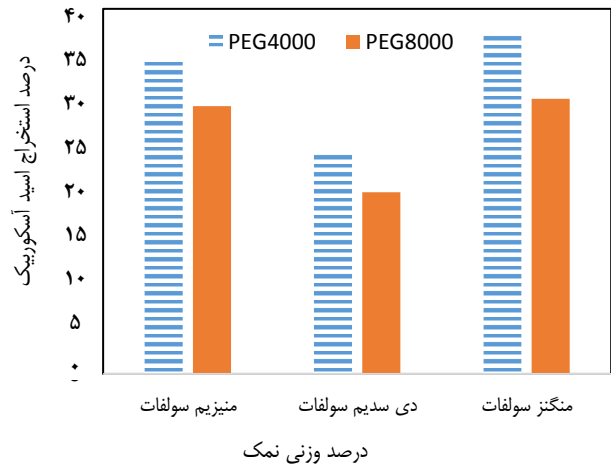
### ت) اثر pH

برای بررسی اثر pH بر ضریب جداسازی آسکوربیک اسید، آزمایش‌ها در دمای ۳۲ درجه سلسیوس و پلی اتیلن گلیکول با وزن‌های مولکولی ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول با غلظت ۳۰ درصد وزنی به وزنی و نمک‌های مورد استفاده در این پژوهش با غلظت ۲۰ درصد وزنی به وزنی، در مقدارهای pH های گوناگون ۵، ۶ و ۷ انجام شده است و نتیجه‌های آن‌ها در جدول ۳ آمده است. همان گونه که دیده می‌شود با افزایش pH، ضریب جداسازی آسکوربیک اسید کاهش می‌یابد. شاید بتوان گفت که در pH های اسیدی، آسکوربیک اسید جداسازی پذیر نیست و در شکل جداسازی ناپذیر خود دارای بار خنثی است و فاز بالا که دارای سطح آبگریزی است می‌تواند هسته‌های پنج اتمی آسکوربیک اسید را جذب کند. ولی هرچقدر pH سامانه افزایش پیدا کند آسکوربیک اسید تفکیک می‌شود و دارای بار مثبت می‌شود که منجر به رفتن اسید به فاز پایین می‌شود [۲۵].

### نتیجه‌گیری

یکی از جذاب‌ترین روش‌های جداسازی، استفاده از سامانه‌های دوفازی آبی است. سامانه‌های دوفازی آبی به دلیل انتخاب پذیری در جداسازی زیست مولکول، پایداری در بازه گسترده ای از pH، غیرسمی بودن، اشتعال ناپذیری، راندمان بالا و انرژی فرایندی کم، اهمیت ویژه‌ای در سال‌های اخیر پیدا کرده‌اند. در این پژوهش، از سامانه‌های دوفازی آبی گوناگون شامل نمک‌های منیزیم سولفات، سدیم سولفات و منگنز سولفات و پلیمرهای پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول بر روی استخراج آسکوربیک اسید با استفاده از این سه سامانه مورد بررسی قرار گرفت. دیده شد که در هر سه سامانه با افزایش وزن مولکولی پلیمر، درصد استخراج آسکوربیک اسید کاهش یافت. با افزایش دما و افزایش غلظت نمک، ضریب جداسازی و درصد استخراج آسکوربیک اسید افزایش یافت. همچنین درصد استخراج آسکوربیک اسید برای سه سامانه دارای سه نمک به صورت  $MnSO_4 > MgSO_4 > Na_2SO_4$  می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۱/۲۶



شکل ۸- اثر نوع نمک بر درصد استخراج آسکوربیک اسید در دمای ۴۲ درجه سلسیوس

### پ) اثر نوع نمک

تأثیر نوع نمک‌ها بر روی استخراج آسکوربیک اسید در شکل ۸ نشان می‌دهد که جداسازی آسکوربیک اسید تا حد زیادی بستگی به نوع نمک دارد. نمک سولفات منگنز نسبت به دو نمک دیگر درصد استخراج بالاتری را نشان می‌دهد. این امر می‌تواند به علت پدیده اثر خروج نمک در این سامانه‌ها باشد. توانایی اثر خروج نمک به بار یونی، شعاع هیدراتاسیون و تعاملات ویژه کاتیون و آنیون نمک با پلی اتیلن گلیکول بستگی دارد [۲۴]. از آنجایی که نمک‌های مورد بحث همگی دارای آنیون‌های یکسانی هستند، بنابراین اثر خروج نمک ممکن است به علت شعاع آب‌پوشی، اندازه کاتیون‌ها و بار یونی کاتیون‌های متفاوتی مانند منگنز و منیزیم و سدیم باشد. شعاع کاتیونی این نمک‌ها به ترتیب ۱۱۶، ۸۶، ۸۱ pm است و دیده می‌شود که اثر خروج نمک با کاهش اندازه کاتیون افزایش می‌یابد. بار یونی کاتیون‌های آب‌پوشی هر نمک می‌تواند سبب پدیده خروج نمک شود. همان گونه که دیده شد یون‌های دو ظرفیتی  $Mg^{2+}$  و  $Mn^{2+}$  تأثیر بیشتری در جداسازی آسکوربیک اسید نسبت به یون تک ظرفیتی  $Na^+$  دارند.

## مراجع

- [1] "Safety (MSDS) Data for Ascorbic Acid", Oxford University., Retrieved 2007-02-21(2005).
- [2] Treybal, R. E., "Mass Transfer Operation, Liquid-liquid Extraction". *Mc Graw-Hill Company*, New York, (1951).
- [3] Ghanadzadeh Gilani HKhayati G., Safari Keyvani, Z., *Extraction of Cu(II) Ions from Aqueous Media Using PEG/Sulphate Salt Aqueous Two-Phase System*, *Separation Science and Technology*, **51(4)**: (2016).
- [4] Rozen, V.M., Safiulina, A.M., Shkinev K., *Problems of Phase Formation in the Polyethylene Glycol-Inorganic Salt Water Systems at Metal Extraction: I. Selected Anions Including Phase Separation*, *Radiochemistry*, **43(6)**: 558-561. (2001)
- [5] da Silva, L.M., Meirelles, A.J.A., *PEG+Potassium Phosphate+Urea Aqueous Two-Phase Systems: Phase Equilibrium and Protein Partitioning*, *J. Chem. Eng. Data* **46**: 251 (2001)
- [6] Osseo – Asare, X., Zeng. K., *Partition of Pyrite in Aqueous Biphasic Systems*, *Int. J. Miner Process*, **58**: 319-330. (2000)
- [7] Hynes, C.A., Blanch, H.W., Prauznits, J.M., *Thermodynamic Properties of Aqueous Two-Phase Polymer Systems Containing Salts and Proteins*, *Fluid Phase Equilib.***53**: 463-478. (1989)
- [8] Tintinger, R., Zhu, J., Grossmann, C., Maurer, G., *Partitioning of Some Amino Acids and Low Molecular Mass Peptides an Aqueous Two-Phase Systems of Polyethylene Glycol and Dextran in the Presence of Small Amounts of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Buffer at 293K: Experimental Results and Correlation*, *J. Chem. Eng. Data*. **42**: 975. (1997)
- [۹] قنادزاده گیلانی، حسین، حسین پور، هلن، "بررسی اثر نمک‌های سولفات در استخراج اسید آسکوربیک با استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی"، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد تهران واحد شمال. (۱۳۹۵)
- [۱۰] قنادزاده گیلانی، حسین، معصومی، حدیثه، "بررسی اثر نمک‌های فسفات در استخراج اسید مالیک با استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی"، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان. (۱۳۹۷)
- [11] Porto T. S., Marques P. P., Porto C. S., Moreira, K. A., *Extraction of Ascorbate Oxidase from Cucurbita maxima by Continuous Process in Perforated Rotating Disc Contactor Using Aqueous Two-Phase Systems*, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **160**:1057-1064. (2010)
- [12] da Costa, A.R., dos Reis Coimbra, J.S., Ferreira, L.A., Mrcos, J.C., Santoc, I.J.B., Saldana, M.D., Teixeira J.A.C., *Partitioning of Bovine Lactoferrin in Aqueous Two-Phase System Containing Polyethylene Glycol and Sodium Citrate*. *Food and Bioproducts Processing*, **95**: 118-124 (2015).
- [13] SE, R.A.G., Aznar, M., *Prediction of Phase Equilibrium of Aqueous two Phase Systems Water + Poly (Ethylene Glycol)+ Salt*. *Latin American Applied Research*, **31**: 427-432 (2001).
- [14] Albertsson, P.A., "Partition of Cell Particles and Macromolecules", Wiley Interscience, (1986).
- [15] Hart, R.A., Ogez, J.R., Builder, S.E., *Use of Multifactorial Analysis to Develop Aqueous Two-Phase Systems for Isolation of Non- Native IGF-1*. *Bioseparations*, **5**: 113-121, (1995).

- [16] Osseo – Asare, X., Zeng K., [Partition of Pyrite in Aqueous Biphasic Systems](#), *Int.J.Miner Process*, **58**: 319-330. (2000)
- [17] Liu, W., Gaob, X., Tang, Y., Wang, R., [On the Extraction and Separation of Iodide Complex of Cadmium\(II\) in Propyl-Alcohol Ammonium Sulfate Aqueous Biphasic System](#), *Separation and Purification Technology*, **50**: 263-266 (2006)
- [18] Albertsson, P.K., Tjerneld, F., Walter, H., Johnsson, G., [Aqueous Two-Phase Systems](#), *Methods Enzymol*, Academic Press. San Diego, CA 228, 11. (1994)
- [19] Huddleston, J.G., Ottomar, K.W., Ngonyani, D.M., Lyddiat, A., [Influences of Systems and Molecular Parameters upon Fraction of Intracellular Proteins from Saccharomyces by Aqueous Two-Phase Partition](#). *Enzyme Microb. Technol.* **13**: 24-32. (1991)
- [20] Raja, S., Ramachandra Murty, V., Thivaharan, V., Rajasekar, V., [Aqueous Two Phase Systems for the Recovery of Biomolecules; A Review](#), *Science and Technology*, **1**: 7-16 (2011).
- [21] David, S., Soane, D.S., [Polymer Applications for Biotechnology](#), Prentice Hall, 204-240. (1992)
- [22] Zaslavsky, B.Y., [“Aqueous Two-Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications”](#). Marcel Dekker Inc., New York (1992)
- [23] Macros, J.C., Fonseca, L.P., Ramalho, M.T., Cabral, J.M.S., [Partial Purification of Penicillin Acylase from Escherichia Coli in \(Polyethylene Glycol\)- Sodium Citrate Aqueous Two-Phase Systems](#), *J. Chem. B.*, **734**: 15-22 (1999)
- [24] Anathha Padmanabhhan, K.P., Goddard, E.D., [Aqueous Biphasic Foundation in Polyethylene Oxide- Inorganic Salt Systems](#), *Langmuir*, **3**: 25. (1987)
- [25] Laurence, R., Weartherley, I., [“Engineering Process for Bioseparation”](#), Butterworth- Heinemann Ltd. (1994)