

اثر نمک‌های فسفات در استخراج مالیک اسید به وسیله‌ی سامانه‌ی دو فاز آبی

حادثه معصومی، حسین قنادزاده گیلانی*⁺

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده: از آن جایی که نیاز به روش‌های نوین جداسازی برای خالص سازی مولکول‌های زیستی در صنایع زیست‌فناوری رو به افزایش است، روش‌های به کار گرفته بایستی سریع و انتخاب‌گر بوده و قابلیت کارکرد در مقیاس صنعتی را نیز داشته باشند. سامانه‌های دو فاز آبی روش ارزشمندی برای جداسازی و خالص سازی مولکول‌های زیستی و کربوکسیلیک اسیدها به شمار می‌روند، جداسازی مولکول‌های زیستی و کربوکسیلیک اسیدها توسط این روش بسیار انتخاب‌گر بوده و تغلیظ و خالص سازی نسبی را در یک مرحله انجام می‌دهد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر تغییر جرم مولکولی پلی اتیلن گلیکول، pH، غلظت و نوع نمک در سامانه‌های دو فاز آبی پلیمر/نمک می‌باشد در این پژوهش، سامانه‌های دو فاز آبی گوناگون شامل پلی اتیلن گلیکول با جرم مولکولی ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول و نمک‌های دی پتاسیم هیدروژن فسفات (K_2HPO_4) دی آمونیوم هیدروژن فسفات ($(NH_4)_2HPO_4$) و سدیم دی هیدروژن فسفات (NaH_2PO_4) در pHهای گوناگون در دمای ۲۰ درجه سلسیوس برای استخراج مالیک اسید مورد استفاده قرار گرفتند. پس از بررسی عامل‌های تأثیرگذار بر سامانه، بهترین شرایط عملیاتی برای استخراج مالیک اسید شامل پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ و ۲۵ درصد وزنی سدیم دی هیدروژن فسفات در pH=۵ تعیین شد. در این شرایط ضریب توزیع پذیری ۰/۸۵ و درصد استخراج ۸۰٪ به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: مالیک اسید؛ ضریب توزیع پذیری؛ درصد استخراج؛ سامانه‌ی دو فاز آبی؛ پلی اتیلن گلیکول، نمک‌های فسفات.

KEYWORDS: Malic acid; Partition coefficient; Percentage of extraction; Aqueous two-phase system; Polyethylene glycol; Phosphate salt.

مقدمه

در سیب [۲] و سایر میوه‌ها [۳] است. مالیک اسید در فرایند تخمیر توسط باکتری ای - کولای^(۲) تولید می‌شود [۴]. مالیک اسید با عنوان اسید سیب، هیدروکسی بوتان دیویک اسید^(۳) و

مالیک اسید^(۱) یک اسید آلی آلفا - هیدروکسی [۱] دو ظرفیتی [۲] به شکل گردی متبلور یا دانه‌ای سفید رنگ است که گاهی با عنوان اسید میوه نیز به آن اشاره می‌شود که به دلیل وجود این اسید

*عهدہ دار مکاتبات

+E-mail: hggilani@gmail.com

(۱) Malic acid

(۳) Hydroxybutanedioic acid

(۲) Escherichia Coli

استفاده کردند و بیشترین درصد استخراج مالیک اسید معادل ۹۲٪ دیده شد [۱۴].

گا و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر ویژگی‌های جذب مالیک اسید با استفاده از روش کروماتوگرافی تبادل یونی پرداختند. مقدار بهینه جذب مالیک اسید در پژوهش آن‌ها در دمای ۳۰°C معادل با ۰/۳۴۵ گرم بر گرم به دست آمد [۱۵].

گوک و همکاران در سال ۲۰۱۲ میلادی بر ویژگی‌های تعادلی، سینتیکی و ترمودینامیکی خالص سازی مالیک اسید با استفاده از جاذب LDH^(۷) پرداختند. در این پژوهش، درصد حذف مالیک اسید در دمای ۲۵°C به میزان ۹۶/۷۳٪ گزارش شده است [۱۶]. سامانه های دو فاز آبی از مخلوط دو پلیمر محلول در آب یا یک پلیمر و نمک محلول در آب در درجه گرما و غلظت مناسب به دست می‌آید. هم چنین به دلیل انتخاب‌گری در جداسازی، پایداری در بازه‌ی وسیعی از pH، غیر سمی، غیر قابل اشتعال، پیوسته بودن عملیات، راندمان بالا، زمان و انرژی فرایندی کم، اهمیت ویژه‌ای در سال‌های اخیر پیدا کرده‌اند [۱۷]. به طور معمول در این سامانه‌ها از پلی اتیلن گلیکول^(۸) که پلیمری غیرسمی، غیر قابل اشتعال و غیر فرار است و به سادگی در محلول‌های نمکی تولید سامانه‌های دو فاز آبی می‌کند و با محیط زیست نیز سازگار است، استفاده می‌شود. انتخاب سامانه‌های دوفازی آبی بستگی به نوع ماده و شرایط اقتصادی دارد و به دلیل قیمت و گرانروی بالای سامانه‌های پلیمر - پلیمر، سامانه‌های پلیمر - نمک برتری داده می‌شوند. سامانه‌های دوفازی آبی در شرایط ترمودینامیکی ویژه‌ای، از ترکیب دو محلول از درشت مولکول‌های گوناگون، یک درشت مولکول و یک الکترولیت ایجاد می‌شود. سامانه‌های پلیمر - الکترولیت برای استفاده آسان تر هستند، زیرا هزینه و گرانروی فازها کم‌تر است و در مدت زمان کوتاه‌تری جدا می‌شوند [۱۸].

توزیع پذیری مولکول‌ها در سامانه‌های دو فاز آبی متأثر از عامل‌هایی مانند نوع پلیمر و نمک، جرم مولکولی و غلظت پلیمر، غلظت نمک، pH و دما می‌باشد [۱۹]. در این پژوهش، عامل‌های گوناگون مانند جرم مولکولی پلیمر، pH و غلظت نمک مورد بررسی قرار گرفت.

سوکسینیک اسید^(۱) نیز شناخته می‌شود و یک مولکول متقارن است. فرمول شیمیایی آن C₄H₆O₅ و جرم مولکولی ۱۳۴ g/mol می‌باشد. مالیک اسید در فرم آنیونی مالات، به عنوان یک واسطه در چرخه اصلی تولید انرژی بیوشیمیایی سلول‌ها، یعنی چرخه کربس یا چرخه سیتریک اسید که در میتوکندری انجام می‌شود، نقش کلیدی دارد [۱]. این اسید در ترکیب با منیزیم می‌تواند در درمان بیماری فیبرومیالژیا^(۲) مؤثر باشد. هم چنین در بسیاری از فرآورده‌های مراقبتی پوست و مو کاربرد دارد. همچنین، مالیک اسید به طور گسترده در صنایع پلیمری، غذایی، دارویی، کشاورزی و نساجی به کار می‌رود [۳، ۵، ۶].

استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی روشی قوی و کارآمد برای استخراج یون‌های فلزی [۷] و هم چنین زیست مولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، اسیدهای آلی و آنتی اکسیدان‌ها محسوب می‌شود. چنین سامانه‌هایی نخستین بار توسط بیجرینک^(۳) در سال ۱۸۹۸ میلادی بررسی شد. او دیده کرد، در صورتی که محلول‌های آبی ژلاتین، آگار و نشاسته با یکدیگر مخلوط شوند، یک مخلوط کدر ایجاد می‌نماید و ایجاد دو فاز می‌نماید [۸]. پنجاه سال بعد توسط دو برای^(۴) و بویر - کاونوکی^(۵) مطالعه‌های منظمی بر روی زوج‌های متفاوتی از پلیمرها در محلول‌های آبی و غیر آبی شامل آن‌ها صورت گرفت. نتیجه‌های این آزمایش‌ها به روشنی نشان داد که امتزاج‌ناپذیری بین پلیمرها و در نتیجه تشکیل دو فاز با حلال یکسان در این سامانه‌ها یک پدیده کلی است [۹]. پس از مدتی آلبرتسون^(۶) این سامانه‌ها را برای جداسازی سلول‌های گیاهی به کار برد [۱۰]. کشف آلبرتسون زمینه توسعه این روش را فراهم آورد به طوری که از آن پس، این سامانه‌ها را برای جداسازی مواد گوناگون گیاهی، جانوری [۱۱]، سلول‌ها [۱۲] و ویروس‌ها [۱۳] و میکروارگانیزم‌ها [۱۳] روش‌های گوناگونی برای استخراج مالیک اسید از محیط آبی وجود دارد، که شامل: استخراج مایع - مایع، تبادل یونی و جذب می‌باشد [۱۶-۱۴].

مالماری و همکاران در سال ۱۹۹۳ میلادی بر روی بازیافت مالیک اسید که در خروجی‌های صنایع وجود داشتند، مطالعه نمودند. آن‌ها از روش استخراج مایع - مایع با کمک حلال‌های تری ایزواکتیل آمین + تری بوتیل فسفات + دو دکان در دمای ۲۹۸ کلوین

(۱) Succinic acid

(۲) Fibromyalgia

(۳) Beijerinck

(۴) Dobry

(۵) Boyer-Kawenoki

(۶) Albertsson

(۷) Layered Double Hydroxide

(۸) Poly ethylene glycol

بخش تجربی**مواد شیمیایی**

پلی اتیلن گلیکول (PEG) با جرم مولکولی ۴۰۰۰ g/mol (PEG4000) با خلوص ۹۹٪، PEG8000 با خلوص ۹۹٪، K_2HPO_4 با خلوص ۹۸٪، NaH_2PO_4 با خلوص ۹۸٪ و محلول ۰/۰۵ نرمال هیدروکسید سدیم با خلوص ۹۵٪ از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. مالیک اسید با درجه خلوص ۹۶٪ نیز از شرکت مرک آلمان تهیه شد. برای محلول سازی از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد.

دستگاه‌ها

در این پژوهش، از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ g ساخت شرکت AND برای توزین مواد، آون ساخت شرکت Earth Group One برای خشک نمودن ظرف‌ها و نمک‌ها، انکوباتور ساخت شرکت Binder برای گرمخانه گذاری سامانه‌های دوفازی آبی و pH متر ساخت شرکت Jenway استفاده شد.

روش انجام آزمایش‌ها

محلول‌های پلیمری با غلظت ۳۰ درصد وزنی و محلول‌های نمکی با غلظت ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد وزنی ساخته شد. حجم‌هایی مساوی از محلول‌های پلیمر و نمک ۴ میلی لیتر برای سامانه‌های دوفازی انتخاب شد [۲۰]. به منظور جداسازی مالیک اسید در سامانه‌های دوفازی آبی، ۰/۲ گرم اسید به سامانه‌ی دوفازی افزوده شد. پس از اختلاط کامل، مخلوط برای جداسازی فازها و برقراری تعادل به طور ساکن در دمای موردنظر قرار گرفت. پس از به تعادل رسیدن فازها، حجم‌های تعادلی اندازه گیری شد. هم چنین، نمونه برداری از فاز بالا و پایین به دقت توسط سرنگ صورت گرفت. پس از نمونه‌گیری از هر فاز، آنالیز مالیک اسید به کمک سود ۰/۰۵ نرمال و شناساگر فنول فتالین انجام گرفت [۲۱].

روش‌های آنالیز

جداسازی و خالص سازی مالیک اسید در سامانه‌های دوفازی آبی توسط عامل‌های متعددی نظیر نسبت حجمی فازها و ضریب توزیع پذیری مالیک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. این پارامترها به صورت زیر تعریف شدند [۲۲].

نسبت حجمی فازها: نشان دهنده نسبت حجم تعادلی فاز بالا V_t به حجم تعادلی فاز پایین V_b است، و با V_r نشان داده می‌شود (معادله (۱)).

$$V_r = \frac{V_t}{V_b} \quad (1)$$

ضریب توزیع‌پذیری مالیک اسید: نشان دهنده نسبت غلظت اسید در فاز بالا C_t به غلظت اسید در فاز پایین C_b می‌باشد. ضریب تفکیک اسید از معادله (۲) محاسبه می‌شود.

$$K = \frac{C_t}{C_b} \quad (2)$$

هم چنین، غلظت‌ها در فاز بالا و پایین به ترتیب از معادله‌های (۳) و (۴) محاسبه می‌شوند:

$$C_t = \frac{N_{NaOH} \times M_{\text{مالیک اسید}} \times V_t \times 2}{V_t'} \quad (3)$$

$$C_b = \frac{N_{NaOH} \times M_{\text{مالیک اسید}} \times V_b \times 2}{V_b'} \quad (4)$$

درصد استخراج: برای تعیین این عامل، نیاز به دانستن نسبت حجمی فازها و ضریب توزیع‌پذیری می‌باشد. این پارامتر در معادله (۵) آورده شده است.

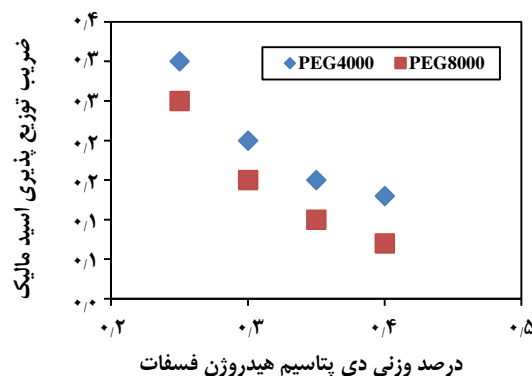
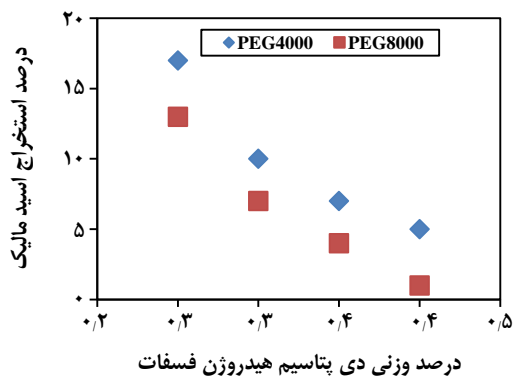
$$\% Y = \frac{K \times V_r}{1 + (K \times V_r)} \quad (5)$$

نتیجه‌ها و بحث**اثر جرم مولکولی پلیمر بر استخراج اسید مالیک**

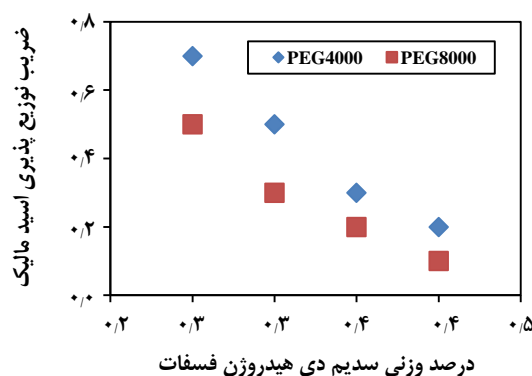
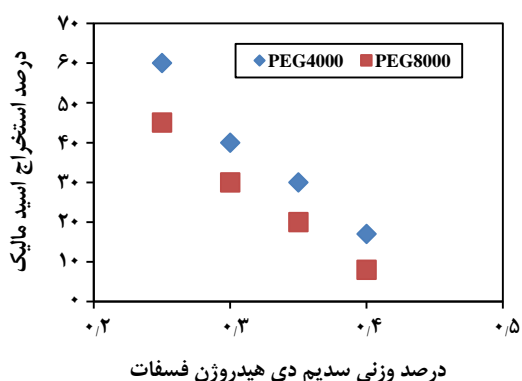
شکل‌های ۱ و ۲ اثر جرم مولکولی PEG را بر ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج مالیک اسید نشان می‌دهد. نتیجه‌ها نشان داد که با افزایش جرم مولکولی پلیمر، درصد استخراج و ضریب توزیع‌پذیری کاهش یافت. دو عامل مؤثر روی جداسازی مالیک اسید برای PEG احتمال می‌رود [۲۳، ۲۴].

۱- براساس نظریه حجم آزاد، با افزایش جرم مولکولی PEG حجم تعادلی مالیک اسید در فاز غنی از PEG کاهش می‌یابد و این اسید به فاز غنی از نمک تمایل پیدا می‌کند.

۲- با افزایش جرم مولکولی، طول زنجیره PEG و در نتیجه، اثر آب‌گریزی آن افزایش می‌یابد. بنابراین با افزایش جرم مولکولی پلیمر، اثر نیروهای بین مولکولی پلیمر و مالیک اسید کم‌تر می‌شود و اسید به فاز غنی از نمک تمایل پیدا می‌کند. با توجه به شکل ۱، بیش‌ترین میزان ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج به ترتیب ۰/۳ و ۱۶٪ می‌باشد. هم چنین در شکل ۲، بیش‌ترین میزان ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج به ترتیب ۰/۷ و ۶۵٪ می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه (الف) ضریب توزیع پذیری و (ب) درصد استخراج مالیک اسید در حضور PEG4000 و PEG8000 در دمای ۲۰ درجه سلسیوس.



شکل ۲- مقایسه (الف) ضریب توزیع پذیری و (ب) درصد استخراج مالیک اسید در حضور PEG4000 و PEG8000 در دمای ۲۰ درجه سلسیوس.

موجب دهیدراته شدن (حذف مولکول آب) اسید می‌شود [۲۵]. این ویژگی نمک‌زایی یون‌های نمک و دهیدراته کردن اسید باعث گسترش ناحیه‌های آب‌گریزی اسید می‌شود. افزایش غلظت نمک تا حدی می‌تواند موجب کاهش حجم آزاد در فاز نمکی شده و باعث حرکت اسید به فاز پلیمری می‌شود، ولی در غلظت‌های بالای نمک ویژگی نمک‌زایی آن موجب ترسیب اسید در فصل مشترک دو فاز و سبب کاهش ضریب توزیع‌پذیری و به تبع آن کاهش راندمان استخراج می‌شود [۲۶].

اثر pH بر استخراج اسید مالیک

برای مطالعه تأثیر pH بر میزان استخراج مالیک اسید pH سامانه‌های دو فاز PEG4000 و نمک‌های دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات و سدیم دی‌هیدروژن فسفات در بازه‌ی ۵ تا ۸ تنظیم شد. برای تنظیم pH=۵ از محلول بافری کاکودیلیک اسید^(۲) و نیز برای

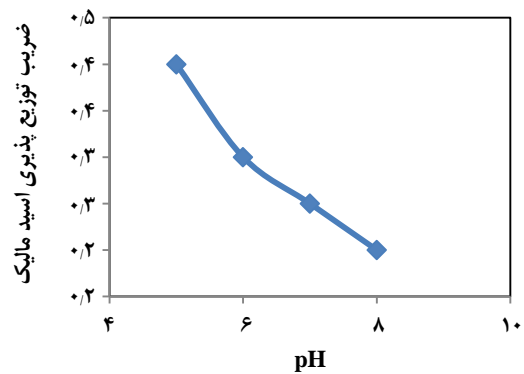
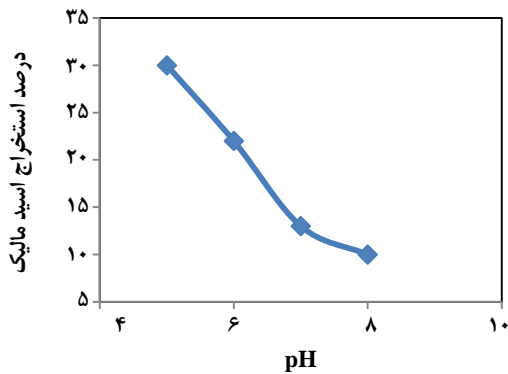
در هر دو شکل ۱ و ۲، بیش‌ترین ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج در PEG4000 که وزن مولکولی کم‌تری دارد، دیده شد.

اثر غلظت نمک بر استخراج مالیک اسید

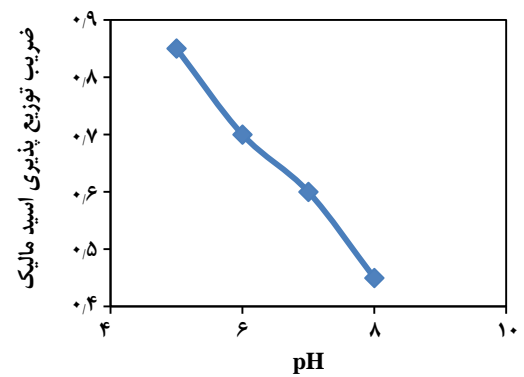
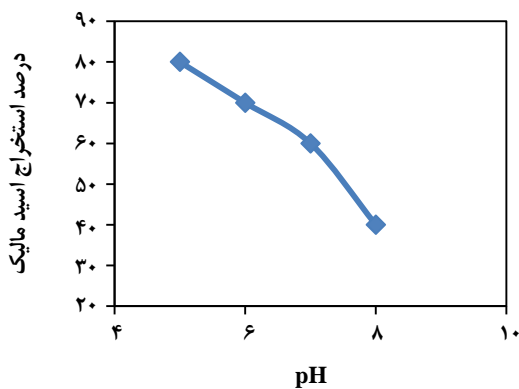
برای بررسی اثر غلظت نمک بر میزان استخراج مالیک اسید در شرایط یکسان، غلظت محلول نمکی از ۲۵ تا ۴۰ درصد وزنی افزایش داده شد. نتیجه‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نمک، درصد استخراج اسید به طور محسوسی کاهش پیدا کرد (شکل‌های ۱ و ۲). افزایش غلظت نمک در فاز پایین روی بر هم کنش‌های آب‌گریزی اسید و فاز پلیمری تأثیر می‌گذارد، وقتی که ضریب توزیع‌پذیری اسید در فاز پلیمری بیشینه باشد، یعنی توازن مناسبی بین آب‌گریزی پلیمر و ویژگی نمک‌زایی (آب‌پوشی)^(۱) نمک وجود دارد. از آن جا که یون‌های نمک با گروه‌های باردار با بار مخالف اسید برهم کنش دارند و با تشکیل لایه‌های دوتایی از گروه‌های یونی

(۱) Salting-out

(۲) Cacodylic acid



شکل ۳- بررسی اثر pH بر (الف) ضریب توزیع پذیری و (ب) درصد استخراج K₂HPO₄.



شکل ۴- بررسی اثر pH بر (الف) ضریب توزیع پذیری و (ب) درصد استخراج NaH₂PO₄.

اثر نوع نمک بر استخراج مالیک اسید

شکل‌های ۵ و ۶ تأثیر نوع نمک مورد استفاده در تشکیل سامانه‌های دو فاز آبی را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل ۵ دیده می‌شود، بیش‌ترین درصد استخراج مربوط به نمک NaH₂PO₄ (۶۰٪) می‌باشد. هم‌چنین در شکل ۶، بیش‌ترین درصد استخراج مربوط به نمک NaH₂PO₄ (۳۰٪) می‌باشد. در نتیجه، نمک NaH₂PO₄، سامانه دو فاز آبی کارآمدتری نسبت به سامانه متشکل از K₂HPO₄ و (NH₄)₂HPO₄ بود. تفاوت دیده شده در ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج مالیک اسید را به عنوان تابعی از نوع فازهای تشکیل دهنده سامانه، می‌توان به ویژگی‌های گوناگون سامانه‌های دو فاز آبی تشکیل شده نسبت داد. یکی از این ویژگی‌ها، اثر نمک‌زایی نمک بر PEG می‌باشد. NaH₂PO₄ اثر نمک‌زایی قوی‌تری نسبت به K₂HPO₄ و (NH₄)₂HPO₄ در سامانه دو فاز آبی داشت. در واقع زمانی که یون‌های یک نمک مقدار انرژی آزاد گیبس

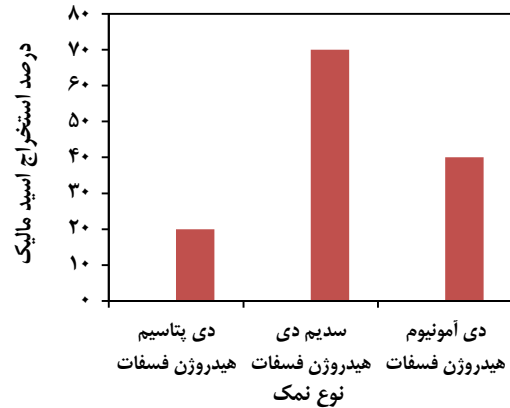
تنظیم pH=۸ از سود استاندارد ۰/۱ نرمال استفاده شد. نتیجه‌ها نشان داد که با افزایش pH از ۵ تا ۸ ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج کاهش یافت (شکل‌های ۳ و ۴).

این بدان معنی است که با افزایش pH، مالیک اسید بیش‌تری در فاز غنی از نمک تجمع یافت. در pH=۵ بیش‌ترین میزان جداسازی به دست آمد (شکل‌های ۳ و ۴). با توجه به شکل ۳، ضریب توزیع‌پذیری از K=۰/۴ تا K=۰/۲۵ و نیز درصد استخراج از Y=۳۰٪ تا Y=۱۰٪ در حین pH از ۵ تا ۸ کاهش یافتند. هم‌چنین، در شکل (۴)، ضریب توزیع‌پذیری از K=۰/۸۵ تا K=۰/۵ و نیز درصد استخراج از Y=۸۰٪ تا Y=۵۰٪ در زمان افزایش pH از ۵ تا ۸ کاهش یافتند. همان‌گونه که نتیجه‌ها نشان دادند، افزایش PH سبب کاهش ضریب توزیع‌پذیری و درصد استخراج می‌شود.

در نتیجه pH=۵ برای سامانه‌های دو فاز استخراج مالیک اسید مناسب تشخیص داده شد.

جدول ۱- مقایسه درصد استخراج مالیک اسید به روش سامانه‌های دو فاز آبی با سایر روش‌های جداسازی در شرایط بهینه.

نام پژوهشگر	سال پژوهش	روش جداسازی	درصد جذب (%)
مالماری و همکاران [۱۴]	۱۹۹۳	استخراج مایع - مایع	۹۳
گا و همکاران [۱۵]	۲۰۱۲	کروماتوگرافی تبادل یونی	۹۴٫۷۸
گوک و همکاران [۱۶]	۲۰۱۲	جذب	۹۶٫۷۳
کار حاضر	۲۰۱۷-۲۰۱۸	سامانه دو فاز آبی	۸۰



شکل ۶ - اثر نوع نمک بر درصد استخراج مالیک اسید در حضور PEG8000 در دمای ۲۰ درجه سلسیوس.

شکل ۵ - اثر نوع نمک بر درصد استخراج مالیک اسید در حضور PEG4000 در دمای ۲۰ درجه سلسیوس.

که به علت هزینه پایین و ویژگی‌های سمی اندک طی سال‌های اخیر رشد چشمگیری داشته و از انواع گوناگون این روش، سامانه‌های دو فاز آبی شامل نمک‌های آلی و معدنی و پلیمرها است. در پژوهش حاضر، از سامانه‌های دو فاز گوناگون شامل نمک‌های دی پتاسیم هیدروژن فسفات و سدیم دی هیدروژن فسفات به همراه پلی اتیلن گلیکول با جرم مولکولی ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ گرم بر مول بر استخراج مالیک اسید از محلول‌های رقیق آبی مورد مطالعه قرار گرفت و اثر عامل‌های گوناگون شامل جرم مولکولی پلیمر، غلظت نمک، نوع نمک و pH مورد بررسی قرار گرفت. دیده شد که در هر دو سامانه، با افزایش جرم مولکولی پلیمر، غلظت نمک و pH سامانه، ضریب توزیع پذیری و درصد استخراج کاهش می‌یابد. هم‌چنین، درصد استخراج برای دو سامانه دارای سه نمک مورد نظر به صورت $\text{NaH}_2\text{PO}_4 > \text{K}_2\text{HPO}_4$ می‌باشد.

افزون بر این، در جدول ۱، درصد استخراج مالیک اسید با استفاده از سامانه‌های دو فاز آبی با روش‌های جذب، استخراج مایع - مایع و کروماتوگرافی تبادل یونی مقایسه شده است.

آب پوشی^(۱) بالاتری (منفی‌تری) دارند، می‌توانند مولکول‌های آب بیش‌تری را هیدراته کنند و توانایی نمک‌زایی بیش‌تری از خود نشان می‌دهند. در نتیجه تعداد مولکول‌های آب کم‌تری برای هیدراته کردن مولکول‌های مالیک اسید باقی می‌ماند و سبب تجمع و راه‌یابی مولکول‌های مالیک اسید به فاز بالا که غنی از پلیمر است، می‌شود. به عبارت دیگر انرژی آزاد گیبس آب پوشی یون سدیم (-365 kJ/mol) نسبت به پتاسیم (-295 kJ/mol) بیش‌تر است [۲۷].

نتیجه گیری

جداسازی و خالص‌سازی فرآورده‌های شیمیایی فرایندی است که می‌توان از آن به عنوان مهم‌ترین بخش یک زنجیره واکنش‌های شیمیایی نام برد و به همین دلیل پژوهش و پژوهش در راستای بهبود این فرایند هیچ‌گاه متوقف نمی‌شود. نتیجه این پژوهش‌ها، راه‌های متنوع و گوناگون جداسازی بوده است که تا به امروز ابداع شده و توسعه یافته‌اند. یکی از مناسب‌ترین این روش‌ها، استفاده از سامانه‌های آبی است

(۱) Gibbs Free Hydration Energy

	ضریب توزیع‌پذیری		فهرست نمادها
K			حجم نمونه فاز پایین
V _r	نسبت حجمی فازها	V _t '	حجم نمونه فاز بالا
% Y	درصد استخراج	V _b '	حجم تعادلی فاز بالا
PEG	Poly ethylene glycol	V _t	حجم تعادلی فاز پایین
		V _b	غلظت اسید در فاز بال
		C _t	غلظت اسید در فاز پایین
		C _b	

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۰

مراجع

- [1] Uslu H., Kırbaşlar Ş.İ., **Extraction of Aqueous of Malic Acid by Trioctylamine Extractant in Various Diluents**, *Fluid Phase Equilibria*, **287(2)**: 134-140 (2010).
 - [2] Dilley D.R., **Purification and Properties of Apple Fruit Malic Enzyme**, *Plant Physiology*, **41(2)**: 214-220 (1966).
 - [3] Chi Z., Wang Z., Wang G., Khan I., Chi Z., **Microbial Biosynthesis and Secretion of L-Malic Acid and Its Applications**, *Critical Reviews in Biotechnology*, **36(1)**: 99-107 (2016).
 - [4] Zeikus J., Jain M., Elankovan P., **Biotechnology of Succinic Acid Production and Markets for Derived Industrial Products**, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **51(5)**: 545-552 (1999).
 - [5] Mondala A.H., **Direct Fungal Fermentation of Lignocellulosic Biomass into Itaconic, Fumaric, and Malic Acids: Current and Future Prospects**, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **42(4)**: 487-506 (2015).
 - [6] Uslu H., Kırbaşlar S.I.S., **Purification of L-Malic Acid from Aqueous Solution by a Method of Reactive Extraction**, *Journal of Chemical & Engineering Data*, **54(10)**: 2819-2826 (2009).
 - [7] Khayati G., Gilani H.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)**: 601-608 (2016).
 - [8] Diamond A., Hsu J., "Aqueous Two-Phase Systems for Biomolecule Separation, in *Bioseparation*". Springer. p. 89-135 (1992).
 - [9] Dobry A. Boyer-Kawenoki F., **Phase Separation in Polymer Solution**, *Journal of Polymer Science*, **2(1)**: 90-100 (1947).
- [۱۰] مدرس ح، الیاسی ع، ایلی م، جدایی آلفا آمیلاز و سرم آلبومین گاوی در سیستم های دو فاز پلی اتیلن گلیکول و نمک های فسفات در آب. *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۲) ۲۵: ۱۷ تا ۲۹ (۱۳۸۵)
- [11] Albertsson P.-Å., Cajarville A., Brooks D., Tjerneld F., **Partition of Proteins in Aqueous Polymer Two-Phase Systems and the Effect of Molecular Weight of the Polymer**, *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **926(1)**: 87-93 (1987).
 - [12] Albertsson P.-Å., **Separation of Particles and Macromolecules by Phase Partition**. *Endeavour*, **1(2)**: 69-74 (1977).

- [13] Albertsson P.-Å., "Partition of Cell Particles and Macromolecules in Polymer Two-Phase Systems, in *Advances in Protein Chemistry*", Elsevier. p. 309-341 (1970).
- [14] Malmay G., Veizer A., Robert A., Molinier J., Mourgues J., Conte T., *Recovery of Tartaric and Malic Acids from Dilute Aqueous Effluents by Solvent Extraction Technique*, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental and Clean Technology*, **60(1)**: 67-71 (1994).
- [15] Gao Q., Pan C., Liu F., Lu F., Wang D., Zhang J., Zhu Y., *Adsorption Characteristics of Malic Acid from Aqueous Solutions by Weakly Basic Ion-Exchange Chromatography*. *Journal of Chromatography A*, **1251**: 148-153 (2012).
- [16] Gök A., Gök M., Aşçı Y., Lalikoglu M., *Equilibrium, Kinetics And Thermodynamic Studies for Separation of Malic Acid on Layered Double Hydroxide (LDH)*. *Fluid Phase Equilibria*, **372**: 15-20 (2014).
- [17] Walter H., Johansson G., Brooks D.E., *Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems: Recent Results*, *Analytical Biochemistry*, **197(1)**: 1-18 (1991).
- [18] Zaslavsky B.Y., *Bioanalytical Applications of Partitioning in Aqueous Polymer Two-Phase Systems*. *Analytical Chemistry*, **64(15)**: 765A-773A (1992).
- [19] Khayati G., *Optimization of Propionic Acid Extraction by Aqueous Two-Phase System Using Response Surface Methodology*, *Chemical Engineering Communications*, **200(5)**: 667-677 (2013).
- [۲۰] قنادزاده گیلانی ح.، جنگجوی شالدهی ط.، معصومی ح.، بررسی پارامترهای مؤثر بر استخراج آسکوربیک اسید به کمک نمک‌های سولفات و پلی اتیلن گلیکول در سامانه‌های دوفازی آبی. تشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۳) ۳۹: ۱۶۳ تا ۱۷۰ (۱۳۹۹)
- [۲۱] یزدان بخش م.، اشرف تالش س.، خیاطی غ.، قنادزاده گیلانی ح.، "بررسی اثر نمک‌های سولفات در استخراج اسید پروپیونیک با استفاده از سیستم‌های دوفازی آبی"، دانشگاه گیلان (۱۳۹۲).
- [22] Wongmongkol N., Prichanont S., *Partition of Alkaline Protease in Aqueous Two-Phase Systems of Polyethylene Glycol 1000 and Potassium Phosphate*, *Korean Journal of Chemical Engineering*, **23(1)**: 71-76 (2006).
- [23] Zaslavsky B.Y., "Aqueous Two-Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications". CRC Press (1994).
- [24] Marcos J.C., Fonseca L.P., Ramalho M.T., Cabral J.M.S., *Partial Purification of Penicillin Acylase from Escherichia coli in Poly (ethylene glycol)-Sodium Citrate Aqueous Two-Phase Systems*. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **734(1)**: 15-22 (1999).
- [25] Öztürk B., "Immobilization of Lipase from Candida Rugosa on Hydrophobic and Hydrophilic Supports", İzmir Institute of Technology (2001).

- [26] Nandini K., Rastogi N., [Liquid-Liquid Extraction of Lipase Using Aqueous Two-Phase System](#), *Food and Bioprocess Technology*, **4**(2): 295-303 (2011).
- [27] Marcus Y., [Thermodynamics of Solvation of Ions. Part 5.—Gibbs Free Energy of Hydration at 298.15 K](#). *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, **87**(18): 2995-2999 (1991).