

7. *Clarke K.G., Williams P.C., Smit M.S., Harrison S.T.L.* Enhancement and repression of the volumetric oxygen transfer coefficient through hydrocarbon addition and its influence on oxygen transfer rate in stirred tank bioreactors // *Biochem. Eng. J.* 2006. Vol. 28. P. 237.
8. *Boltes K., Caro A., Leton P.* et al. Gas—liquid mass transfer in oil—water emulsions with an airlift bio-reactor // *Chem. Eng. and Proc.* 2008. Vol. 47. P. 2408.
9. *Dagaonkar M.V., Heeres H.J., Beenackers A.A.C.M., Pangarkar V.G.* The application of fine TiO_2 particles for enhanced gas absorption // *Chemical Engineering Journal.* 2003. Vol. 92. P. 151.
10. *Rosu M., Schumpe A.* Influence of surfactants on gas absorption into aqueous suspensions of activated carbon // *Chem. Eng. Science.* 2007. Vol. 62. P. 5458.
11. *Zhang W., Chen G., Li J., Liu J.* Intensification of mass transfer in hollow fiber modules by adding solid particles // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2009. Vol. 48. P. 8655.
12. *Cascaval D., Galaction A.I., Folescu E., Turnea M.* Comparative study on the effects of n-dodecane addition on oxygen transfer in stirred bioreactors for simulated, bacterial and yeasts broths // *Biochem. Eng. J.* 2006. Vol. 31. P. 56.
13. *Stamenković O.S., Lazić M.L., Todorović Z.B.* et al. The effect of agitation intensity on alkali-catalyzed methanolysis of sunflower oil // *Bioresource Technology.* 2007. Vol. 98. P. 2688.
14. *Коренман И.М.* Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М. : Химия, 1975.
15. *Kaya A., Schumpe A.* Surfactant adsorption rather than «shuttle effect»? // *Chem. Eng. Science.* 2005 Vol. 60. P. 6504.

УДК 547.595 + 664.38

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИИ МАРКЕРА БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ – ЖЕЛАТИНА НА ПОРИСТОЙ ПОДЛОЖКЕ ИЗ ЛУБА БЕРЕЗЫ

© 2011 г. **Е.В. Веприкова,**
М.Л. Щипко, **С.А. Кузнецова,**
Б.Н. Кузнецов

Институт химии и химической технологии СО РАН, г. Красноярск

Введение

Разработка современных биокаталитических технологий для разных отраслей промышленности — актуальное и быстро развивающееся направление. Применение биокатализаторов позволяет получать разные химические вещества, в том числе пищевого и медицинского назначения [1— 6].

Один из путей повышения стабильности и активности биокатализаторов — их адсорбционная иммо-

билизация на твердых подложках. Для реализации этого направления был разработан активный катализатор, получаемый сорбцией глюкоамилазы на мезопористом углеродном носителе «Сибунит» [2]. Целесообразность применения этого носителя была показана при иммобилизации нитрилгидратазы [4]. Эффективность действия биокатализаторов на подложках из природного сырья продемонстрирована в процессе инверсии сахарозы [7].

Использование древесных отходов при получении подложек для иммобилизации ферментов и микроорганизмов позволяет снизить себестоимость биокатализаторов. Существенное сокращение себестоимости подложек из доступного растительного сырья достигается, если технология их получения не содержит энергоемких стадий карбонизации и

Веприкова Е.В. – канд. техн. наук, науч. сотрудник. Тел.: (391) 244-91-20. E-mail: veprikova2@mail.ru.

Щипко М.Л. – гл. науч. сотрудник.

Кузнецова С.А. – докт. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Тел.: (391) 249-54-81. E-mail: ksa@icct.ru.

Кузнецов Б.Н. – докт. хим. наук, зав. лаборатории каталитической химии угля и биомассы. Тел.: (391) 249-48-94. E-mail: bnk@icct.ru.

активации. В частности, сорбент, полученный обработкой разбавленным раствором NaOH луба березы, проявляет высокую сорбционную активность в отношении веществ разной природы и по свойствам не уступает полифепану — промышленному сорбенту из гидролизного лигнина [8, 9].

К важным свойствам, определяющим возможность использования подложек для адсорбционной иммобилизации биокатализаторов, относится их способность сорбировать молекулы белковой природы. Поэтому на стадии предварительной оценки перспектив применения новых видов подложек для биокатализаторов целесообразно тестировать их сорбционные свойства по маркерным веществам белковой природы — например, желатину.

Цель данной работы — оценка возможности использования пористой подложки из луба березы для иммобилизации катализаторов белковой природы на примере сорбции желатина.

Экспериментальная часть

Исследованная пористая подложка (сорбент) была получена обработкой луба березы 2 %-ным NaOH по методике [8]. Сорбент представляет порошкообразный материал с частицами размером менее 250 мкм и влажностью 4,5 %. Содержание основных компонентов в нем, % от массы а.с.с. — абсолютно сухого сорбента — суммарного количества легко- и трудно-гидролизующих полисахаридов, — $26,4 \pm 0,3$, лигнина — $49,5 \pm 0,3$, водорастворимых веществ — $3,7 \pm 0,2$, золы — $1,6 \pm 0,2$.

В качестве вещества — маркера, моделирующего ферменты белковой природы, использовали желатин марки П-11 (ГОСТ 11293-89). Сорбцию желатина на сорбенте проводили из модельных водных и водно-солевых растворов при pH от 2,0 до 7,5. Во всех сериях экспериментов отношение навески сорбента к объему модельного раствора составляло 80 мг к 10 мл. Концентрацию желатина до и после сорбции определяли с помощью биуретанового реактива [10]. Показатель сорбции рассчитывали как отношение разности между исходным и остаточным количеством желатина в растворе к массе навески сорбента. Значения pH в кислой области создавали с помощью HCl, а в щелочной области — с помощью NaOH. Концентрацию желатина варьировали от 0,03 до 3,0 %. Сорбцию проводили при непрерывном перемешивании на лабораторном приборе «АВУ-6с» (120 ± 10 колебаний в минуту). Сорбционное равно-

весие устанавливалось за 7,5; 2,5; 2,0 ч при, соответственно, pH = 2,0; 7,5; 4,5.

Влияние хлоридов натрия и калия на сорбцию желатина изучали, варьируя их концентрацию в растворах от 0 до 2,5 %. При исследовании влияния двухзарядных катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} на сорбцию желатина использовали модельные растворы, содержащие, %: 0,9 NaCl, 0,2 CaCl_2 и 0,2 MgCl_2 . Кинетику сорбции желатина изучали при 22 и 37 °C. Приводимые в работе результаты — усредненные значения по трем измерениям.

Результаты и обсуждение

Желатин — полидисперсная смесь полипептидов — типичный амфотерный полиэлектролит с изоэлектрической точкой при pH = $4,8 \pm 0,5$. Известно, что максимальная сорбция таких веществ наблюдается вблизи изоэлектрической точки [11]. Следовательно, в кислом растворе, при pH < 4,8, этот маркер заряжен положительно, а при более низких pH — отрицательно. В кислых и щелочных модельных растворах поверхность сорбента будет приобретать положительный или отрицательный заряд. Можно предположить, что эффекты электростатического взаимодействия с поверхностью сорбента будут влиять на сорбцию желатина.

Изменение значений pH сильно влияет на сорбцию желатина из водных растворов как при фоновых электролитах, так и в их отсутствие (рис. 1). Без электролитов сорбция желатина на сорбенте из растворов с pH = 2,0 и 7,5 не происходит (см. рис. 1, кр. 1). Это объясняется эффектом электростатического

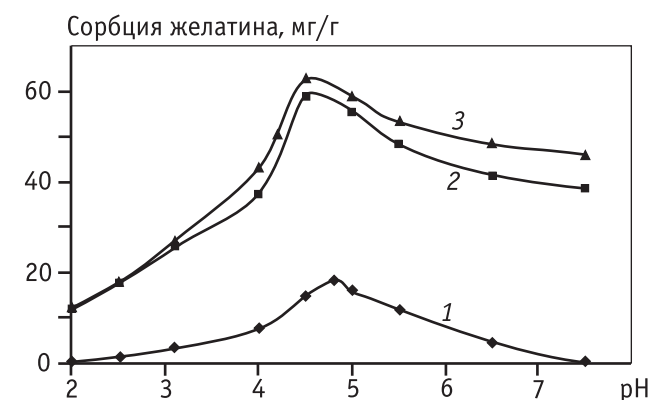


Рис. 1. Влияние pH на сорбцию желатина из 0,6 %-ного раствора сорбентом из луба березы (при $t = 22$ °C, $\tau_{\text{конт}} = 2$ ч): 1 — в отсутствие фоновых электролитов; 2 — в 0,9 % NaCl; 3 — в 0,9 % NaCl, 0,2 % CaCl_2 и 0,2 % MgCl_2

отталкивания одноименно-заряженных поверхностей сорбента и макромолекул желатина.

Максимальная сорбция (18,25 мг/г) наблюдается при pH = 4,8, практически совпадающем с pH изоэлектрической точки желатина. Отметим, что чувствительность сорбции желатина к изменениям pH может быть обусловлена также конформационными изменениями его молекул, свойственными биологическим полиэлектролитам [11].

Введение в желатинсодержащие растворы 0,9 % NaCl в качестве фонового электролита существенно увеличивает сорбцию в исследованном интервале pH вследствие экранирования солью электростатического отталкивания, характерного для изучаемых модельных систем (см. рис. 1, кр. 2). Наиболее важно для исследованного сорбента повышение сорбции желатина из модельных растворов: с pH = 2,0 и 7,5 до 12,0 и 38,31 мг/г соответственно.

Вывод об экранирующем действии фонового электролита подтверждает увеличение сорбции желатина сорбентом из луба березы с ростом концентрации NaCl (числитель) и KCl (знаменатель) при разных pH (концентрация желатина 0,6 %, $\tau_{\text{конт}} = 2$ ч, $t = 22$ °C):

pH.....	2,0	6,5	7,5
Сорбция желатина, мг/г, при концентрации соли, %:			
0	0/0	4,4/4,5	0/0
0,1	5,3/5,1	19,9/19,9	11,8/11,7
0,4	9,1/9,2	35,6/35,4	28,9/28,7
0,9	12,0/11,8	41,3/41,2	38,3/38,4
1,5	12,6/11,8	44,4/44,6	40,5/40,6
2,5	13,9/13,8	47,7/47,5	43,5/43,4

Из приведенных данных видно, что сорбция желатина не зависит от природы исследованных однозарядных катионов и практически одинакова для модельных растворов с NaCl и KCl при разных pH. Максимальное увеличение сорбционной емкости сорбента по желатину наблюдается при концентрации солей от 0 до 0,9 %. В этом случае наиболее эффективно экранируются электростатические взаимодействия, препятствующие сорбции желатина. Существенно меньший прирост сорбции для концентраций NaCl и KCl более 0,9 % может быть обусловлен уменьшением влияния электрических взаимодействий и повышением роли конкуренции за активный центр в адсорбционном слое [11].

Введение в модельные растворы желатина дополнительно к NaCl ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} также приводит к увеличению сорбции (см. рис. 1, кр. 3). Было ус-

тановлено, что эффект влияния ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} проявляется при pH > 3,1. Присутствие этих ионов в небольших количествах (0,2 %) по сравнению с NaCl (0,9 %) в модельном растворе с pH = 7,5 приводит к увеличению сорбции желатина до 45,8 мг/г. При их отсутствии в растворе сорбируется только 38,3 мг/г желатина. Сорбция желатина из растворов с pH = 2,0 не зависит от природы изученных катионов (см. приведенные данные и рис. 1). Увеличение его сорбции при pH = 7,5 в присутствии двухзарядных катионов может быть обусловлено и простой электрической нейтрализацией, и специфическим влиянием таких ионов. В частности, возможно образование химических соединений при взаимодействии катионов с функциональными группами желатина.

Максимальная сорбция желатина в изученных водно-солевых растворах наблюдается при pH = 4,5. Сравнение pH максимальной сорбции в водном растворе и водно-солевых растворах показывает незначительный сдвиг максимума в кислую область в присутствии фоновых электролитов (см. рис. 1).

Для процесса сорбции желатина из модельных растворов в присутствии солей характерно существенное увеличение сорбции при понижении кислотности до pH = 4,5 (см. рис. 1, кр. 2 и 3). Например, сорбент извлекает желатин в количестве 12,2 и 62,6 мг/г при pH 2,0 и 4,5 соответственно (модельный раствор содержит смеси NaCl, CaCl_2 , MgCl_2). Такая зависимость сорбции желатина от pH модельной среды имеет важное практическое значение для выбора условий иммобилизации веществ белковой природы на пористой подложке.

Из рис.2 видно, что максимальная сорбция желатина достигается при pH = 4,5. Сорбция желатина в щелочной модельной среде существенно превышает значения, достигаемые в кислой среде. Изотермы сорбции, полученные при разных pH, несколько разнятся: на изотерме сорбции при pH = 2,0 наблюдается достаточно пологий участок при равновесных концентрациях желатина выше 10 г/л, в этом случае повышение равновесной концентрации раствора сопровождается незначительным увеличением сорбции; для изотерм, полученных при pH = 4,5 и 7,5, характерен крутой подъем в области равновесных концентраций желатина до 0,76 и 0,77 г/л соответственно; дальнейшее повышение равновесных концентраций сопровождается более плавным ростом сорбции. Наблюдаемые отличия могут определяться разными конформациями желатина и степенями

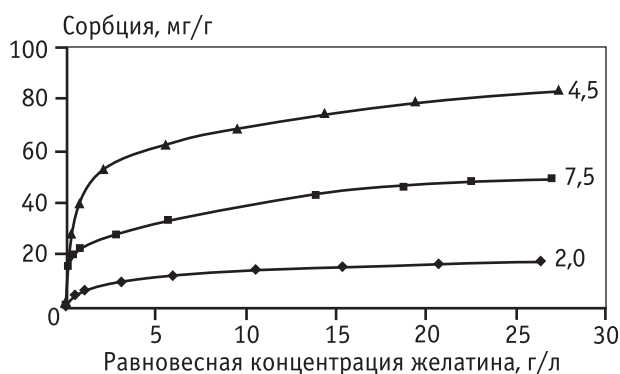


Рис. 2. Изотермы сорбции желатина из 0,6 %-ных модельных растворов (концентрации, %: NaCl – 0,9, CaCl₂ – 0,2, MgCl₂ – 0,2), $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$, при разных pH (у кривых)

влияния электростатических взаимодействий на сорбцию при разных pH.

Возможность применения сорбента из луба березы в качестве подложки для иммобилизации веществ белковой природы определяется не только сорбционной емкостью, но и скоростью сорбции. Поэтому кинетические исследования важны для оценки перспектив использования сорбента. Была изучена кинетика сорбции желатина из растворов с pH = 2,0, 4,5 и 7,5 при 22 и 37 °C (рис. 3, а, б). В качестве фоновых электролитов использовали смесь хлоридов натрия (0,9 %), кальция (0,2 %) и магния (0,2 %).

Как следует из рис. 3, при pH = 2,0 и 7,5 и 22 °C на кинетических кривых наблюдается начальный индукционный период, наиболее выраженный при pH = 2,0. Сорбция желатина при pH = 2,0, имеющая практический интерес, достигается только через 2 ч контакта и составляет 11,8 мг/г. В щелочном растворе желатин сорбируется быстрее, и через 1 ч его сорбция уже составляет 35,4 мг/г. Сорбционное равновесие в этом случае достигается быстрее (через 2,5 ч) по сравнению с кислым раствором. Было установлено, что для достижения равновесия при pH = 2,0 требуется 7,5 ч, равновесная сорбция в этом случае составляет 18,1 мг/г. В модельном растворе с pH = 4,5 сорбционное равновесие достигается за 1,5–2 ч при более высоких значениях сорбции в исследованном временном интервале.

Повышение температуры до 37 °C приводит к исчезновению начального индукционного периода на кинетических кривых при pH = 2,0 и 7,5 (см. рис. 3). Независимо от pH модельных растворов наблюдается увеличение сорбции желатина в течение всего исследованного временного интервала, сокращается время достижения равновесия: до 2 ч в щелочном растворе

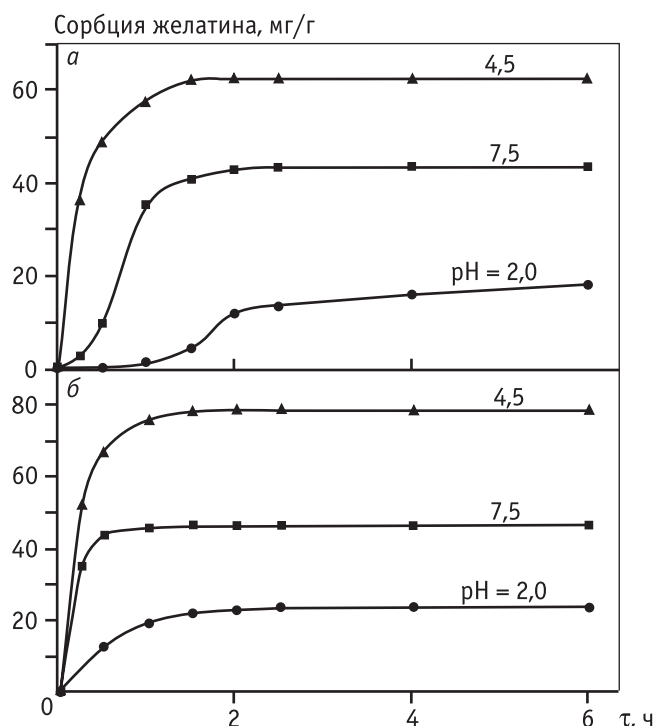


Рис. 3. Кинетические кривые сорбции желатина из 0,6 % раствора при 22 °C (а) и 37 °C (б)

и до 2,5 ч в кислом. Наблюдаемые изменения сорбции при повышении температуры можно объяснить увеличением скорости диффузии. При повышении температуры изменения конформаций молекул могут привести к повышению сорбции желатина [11].

Сорбент из луба березы достаточно быстро сорбирует желатин при 37 °C в исследованных модельных растворах (см. рис. 3). Причем наибольший рост сорбции с увеличением температуры происходит в растворе с pH = 2,0. Уже через 1 ч сорбент извлекает 82 % от равновесной сорбции желатина. При 22 °C для достижения такого же значения сорбции требуется не менее 3,5 ч.

Сравнение кривых при 22 и 37 °C на рис. 3 показывает, что максимальная сорбция желатина происходит в модельном растворе с pH = 4,5 при 37 °C. Это позволяет считать данные условия оптимальными для иммобилизации белковых веществ на сорбенте из луба березы.

Заключение

Изучена сорбция маркерного вещества — желатина на сорбенте из луба березы с целью оценки возможности его использования в качестве подложки для иммобилизации ферментов — катализаторов

белковой природы. Исследованы влияния pH, температуры, природы и концентрации фоновых электролитов на сорбцию желатина из модельных растворов. Показано, что максимальная сорбционная емкость по желатину достигается при pH = 4,5.

Полученные результаты указывают на потенциальную возможность использования сорбента из березового луба в качестве подложки для иммобилизации ферментов и микроорганизмов.

Литература

1. *Лысогорская Е.Н., Рослякова Т.В., Беляева А.В.* и др. Получение и биокаталитические свойства трипсина, иммобилизованного на криогеле поливинилового спирта // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. № 3. С. 270.
2. *Коваленко Г.А., Перминова Л.В., Сапунова Л.И.* Гетерогенные биокатализаторы для получения сахаристых крахмалопродуктов — патоки и сиропов разного углеводного состава // Катализ в промышленности. 2010. № 2. С. 61.
3. *Артемов А.В., Попов В.О., Королева О.В.* и др. Перспективы использования ферментативного катализа в текстильной промышленности // Катализ в промышленности. 2006. № 1. С. 42.
4. *Максимова Ю.Г., Демаков В.А., Максимов А.Ю., Овечкин Г.В.* Каталитические свойства нитрилгидратазы, иммобилизованной на оксидах алюминия и углеродсодержащих адсорбентах // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 4. С. 416.
5. *Клабуновский Е.И.* Последние достижения в применении каталитического асимметрического синтеза в практической медицине и агрохимии // Катализ в промышленности. 2006. № 4. С. 52.
6. *Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Грегирчак П.Н.* Использование иммобилизованных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. № 1. С. 58.
7. *Коваленко Г.А., Перминова Л.В., Плаксин Г.В.* и др. Иммобилизованные дрожжевые мембраны как биокатализаторы процесса инверсии сахарозы // Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. № 4. С. 454.
8. Пат. 2311954 (РФ). Энтеросорбент и способ его получения / С.А. Кузнецова, М.Л. Щипко, Б.Н. Кузнецов и др. 2007.
9. *Веприкова Е.В., Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Щипко М.Л.* Свойства и применение сорбционных материалов из луба коры березы // Журнал Сибирского федерального университета. Химия. 2008. № 3. С. 286.
10. *Полюдек-Фабини Р., Бейрих Т.* Органический анализ. Л.: Химия, 1981.
11. *Джэйлс Ч., Ингрэм Б., Ключи Дж.* и др. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел / Под ред. Г. Парфита, К. Рочестера. М.: Мир, 1986.

УДК 544.47

«ХИМРЕАКТОР» НА ДУНАЕ

© 2011 г. **А.С. Носков**

Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск

5–9 сентября 2010 в Вене прошла XIX Международная конференция по химическим реакторам «Химреактор-19». Конференция была включена в план мероприятий Европейской Федерации по химическим технологиям. Основным организатором конференции традиционно стал Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН. Соорганизаторами выступили Российский центр науки и культуры (РЦНК)

Носков А.С. – докт. хим. наук, профессор, зам. директора по научной работе ИК СО РАН. E-mail: noskov@catalysis.ru.

в Вене, Федеральное агентство «Россотрудничество», Министерство образования и науки Российской Федерации, Научный совет по теоретическим основам химической технологии РАН и Научный совет по катализу ОХНМ РАН.

Конференция «Химреактор» имеет глубокие традиции, восходящие к Всесоюзным совещаниям по моделированию химических реакторов 1960-х гг. Она проводится раз в два года в крупных научных, производственных и культурных центрах мира. XIX Международную конференцию по химическим реакторам решили провести в Вене.