KATIONIT KB-4 YORDAMIDA ARALASHMALARDAN LIZINNI AJRATISH

Tursunova G.X.
Sh.Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti dotsenti, PhD
Xudoyberdiyeva L.
Sh.Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti magistri
Ibragimova N.H.
Sh.Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti talabasi

Annotatsiya. Kuchsiz kislotali kationit KB-4 ning aralash H^+- Na^+ shaklida ion almashinish xromatografiyasining qarshi oqimli usuli yordamida “kultural suyuqlik”lar tarkibidan lizinni ajratib olish texnologiyasi keltirilgan. Lizinni ajratib olishning maqbul sharoiti aniqlangan. Shuningdek, taklif etilgan usul ekologik muammolarni hal qilish imkonini berishi va ishlatilgan kationitni qayta tiklash uchun reagentlar sarfini kamaytirishi ko‘rsatilgan.
Kalit so'zlar: Ion almashinish xromatografiyasi, kationit, lizin, kultural suyuqlik, sorbsiya, ekstraksiya.
Аннотация. Представлена технология выделения лизина из «культуральных жидкостей» с использованием противоточного метода ионообменной хроматографии в смешанной H^+-Na^+ форме слабокислотного катионита КБ-4. Определены оптимальные условия извлечения лизина. Также показано, что предлагаемый метод позволяет решить экологические проблемы и сократить расход реагентов на восстановление отработанных катионитов.
Ключевые слова: ионообменная хроматография, катионообменная смола, лизин, культуральная жидкость, сорбция, экстракция.
Abstract. The technology of lysine extraction from the composition of “culture fluids” using the countercurrent method of ion exchange chromatography of weakly acidic cationite KB-4 in the mixed H^+- Na^+ form is presented. The optimal conditions for lysine extraction are determined. It is also shown that the proposed method allows solving environmental problems and reducing the consumption of reagents for the recovery of the used cationite.
Keywords: Ion exchange chromatography, cationite, lysine, culture fluid, sorption, extraction.

Kirish.

Bugungi kunda tibbiyotda [1-3], shuningdek, oziq-ovqat sanoatida aminokislotalar [4,5] keng qo‘llanilmoqda. Sanoatda ko'pchilik aminokislotalar mikrobiologik sintez jarayoni orqali olinadi. Ushbu usul bilan olinadigan aminokislotalar erigan holatda bo'lib, bunday eritma sanoatda “kultural suyuqlik”

ISSN 3030-3907

deb ataladi [6]. Bunday eritmalarda sezilarli miqdorda noorganik va organik aralashmalar (aminokislotalar) mavjud. Shunday aminokislotalardan biri lizindir (2,6-diaminogeksan kislota). Lizinda 2 ta amino va 1 ta karboksil guruhining mavjudligi uing eritmada to‘rt xil holatda bo‘lishini bildiradi [7].

Sanoatda mikrobiologik sintez jarayonida eritmaning pH qiymatini bir xil holatda saqlash qiyinligi sababli, lizinning ancha qismi texnologik eritma sifatida yo‘qoladi, Bu esa texnologlar oldidagi muammo hisoblanadi, shuning uchun lizin chiqindilardan ion almashinish xromatografiyasi yordamida ajratiladi. Bu usulda lizinni olish uchta bosqichdan iborat: lizinni kultural suyuqlik tarkibidan kationit yordamida sorbsiyalash, ionitni kultural suyuqlikdan yuvish va mahsulot eritmasidan lizinni desorbsiyalash. Ko‘pchilik izlanishlarda [8] neytral muhitda (pH=7) NH_4^+ shaklida bo‘lgan kationit KU-2joylashgan kolonkadan muvozanat hosil bo'lguncha kultural suyuqlik o'tkaziladi. Jarayon davomida har 1 kg ionitga 60-80 g lizin sorbsiyalanadi. Jarayonning 2-bosqichida kationit suv bilan yuviladi, 3-bosqichda lizin 0,5-5,0% NH_4OH eritmasi bilan desorbsiyalanadi. Natijada 80-90% gacha lizin desorbsiyalanadi. . Mualliflar [9] kultural suyuqlikdan lizinni ajratib olish usulini taklif qildilar, uning mohiyati suyuqlikni sulfat kislota bilan pH 1,6-1,9 gacha kislotalashdan iborat bo‘lib, so‘ngra sovutilgan suyuqlik ammoniy ko‘rinishidagi KU-2-8 kationit bilan ion almashinish kolonkasidan o‘tkaziladi va kationit 4,5% NH_4OH eritmasi bilan desorbsiyalanadi. Bu usullarning asosiy kamchiliklari: birinchidan, kationitlarni kultural suyuqlikdan yuvish uchun ko‘p miqdorda suvning sarflanishidir, ikkinchidan, lizinning desorbsiyasi ammiakning kuchli suvli eritmasi yordamida amalga oshiriladi, bu binolarning gaz bilan ifloslanishi, shuningdek, mahsulot eritmasidan ortiqcha ammiakni olib tashlash va suvni yuvish kabi muammolarni keltirib chiqaradi. Shunday kamchiliklarni bartaraf etish uchun mazkur ishda kultural suyuqliklar tarkibidan lizinni ajratib olishning yangi uslubi ishlab chiqilgan.

Tajribaviy qism. Barcha tajribalar kuchsiz kislotali kationit KB-4 da olib borildi. Kationit KB-4 gel shaklida bo’lib, granulalari o’lchami 0,45-1,35 mm.ni tashkil etdi Tajribalar konussimon tuzilishli kolonkada olib borildi. Aralashma tarkibidagi lizin miqdori spektrofotometrik usulda, vodorod va gidroksil ionlari kontsentratsiyalari potentsiometrik titrlash, natriy ionlari alanga fotometriya usullarda aniqlandi. Tajribalarning boshlang’ich qismida kationitning Na^+ va H^+ ko’rinishlari uchun dinamik usulda almashinish sig’imlari aniqlandi va uning solishtirma kattaliklari hisoblandi. Olingan natijalar 1-jadvalda keltirilgan.

1-Jadval

Kationit KB-4 ning solishtirma kattaliklari

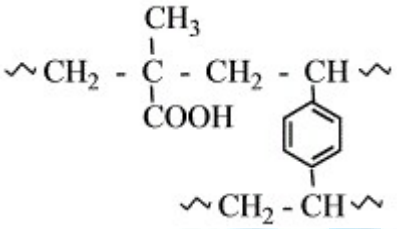
Ion ko’rinishi	E/m_{AR}, mg-ekv/g	E/V_{AR}, mg-ekv/g	P_i, g/ml

ISSN 3030-3907

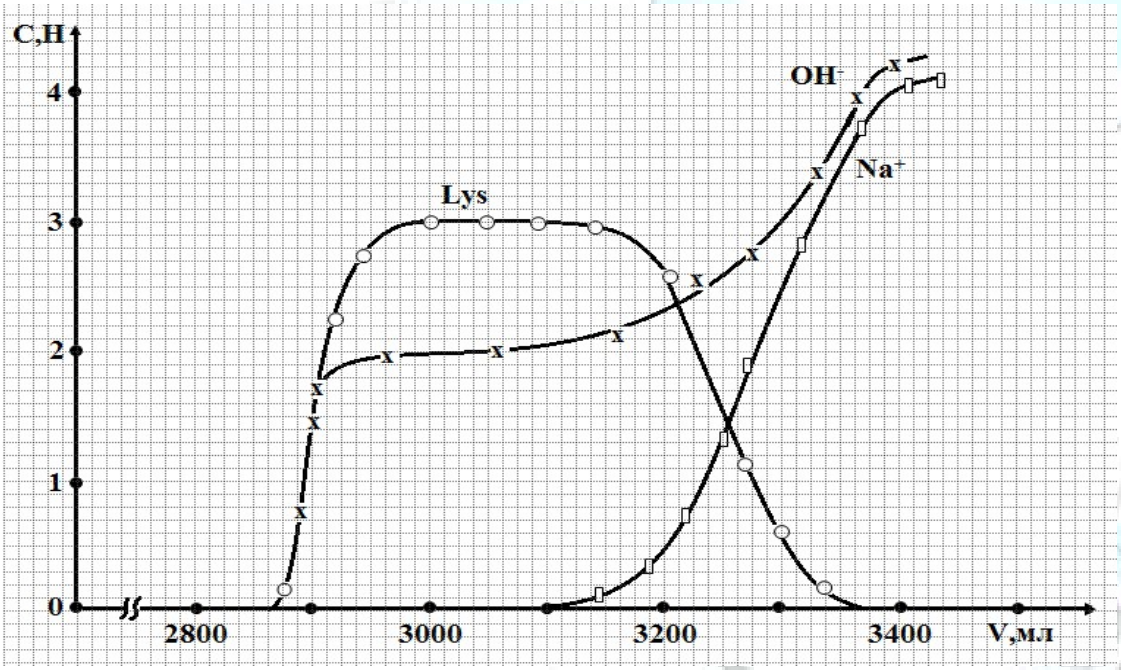
H^+	9,141	12,640	1,383
Na^+	7,611	16,667	2,190

Bu erda: V_{AR} –A qarshi ionga ega bo'lgan ionit matritsasi hajmi, ml; m_{AR} – A qarshi ionga ega bo'lgan ionit matritsasi massasi g; ρi, - quritilgan ionit zichligi, g/ml.

Kationit KB-4 elementar zvenosining tuzilishi quyidagicha:



Olingan natijalar tahlili. Kationit KB-4 ning solishtirma kattaliklari aniqlangandan so'ng ion almashinish kolonkasi aralash Na^+- H^+ ko'rinishidagi kationit KB-4 bilan to'ldirildi va kolonka orqali V=5ml/min tezlik bilan lizinning 40g/l kontsentratsiyali eritmasi o'tkazildi. Eritmaning pH ko'rsatkichi 3,5 ga keltirildi. Kolonka balandligi bo'yicha joylashgan jo'mraklardan namunalar olinib, Na^+, H^+, OH^- va Lys ionlari bo'yicha analiz qilindi. Kolonkada muvozanat qaror topgandan so'ng, sorbtsiyalangan lizin 20% li NaOH eritmasi bilan desorbsiyalandi. Kolonkadan ajralib chiqayotgan filtrat ionlar bo'yicha analiz qilindi. Olingan natijalar 1-rasmda keltirilgan.



Rasm-1. NaOH eritmasi bilan lizinni desorbtsiya jarayonida ajralib chiqayotgan eritmada ionlar kontsentratsiyasining taqsimlanishi.

Oqib tushayotgan filtrat tarkibida kolonkaning erkin hajmiga teng hajmda suv, keyin toza holdagi lizin ajralib chiqdi. Ajralib chiqayotgan lizin svitter-ion shaklida bo'lib, izoelektrik nuqta holatida va uning kontsentratsiyasi 35 % ga,

ISSN 3030-3907

eritmaning pH ko'rsatkichi esa 9,8 ga teng bo'ldi. Bunda lizin to'la desorbsiyalandi. Olingan lizinning eritmasi tarkibidagi aralashmalar miqdori 0,05g/l ni tashkil etdi.

Ma'lumki, kationit KB-4 matritsasi organik birikmalarni deyarli sorbtsiyalamaydi, bu esa kationitni yuvish jarayonida suvni kam sarflanishiga olib keladi. Shuning uchun mazkur usulda lizinni desorbsiyasi jarayonida ajralib chiqayotgan suv kationitni aralashmadan yuvish jarayoniga etarli bo'ldi. Bu esa lizinni anorganik aralashmalardan ajratib olish texnologiyasini osonlashtirdi, suvni sarflashni va chiqindilarni hosil bo'lishini kamaytirdi. Jarayon davomida kolonkaga lizin eritmasi yuborilgandan so'ng, kationit orqali natriy gidroksidning kontsentrlangan eritmasi o'tkazilib, lizin desorbsiyalanadi. Bunday ishlov berilgandan so'ng kationit natriy-lizin-vodorod ko'rinishidagi aralash holatga keladi. Natriy gidroksid eritmasi bilan ta'sirlashganda kolonka ichida quyidagi reaktsiyalar sodir bo'ladi:

$$R^-Lys^+ + NaOH = RNa + Lys \quad (1)$$

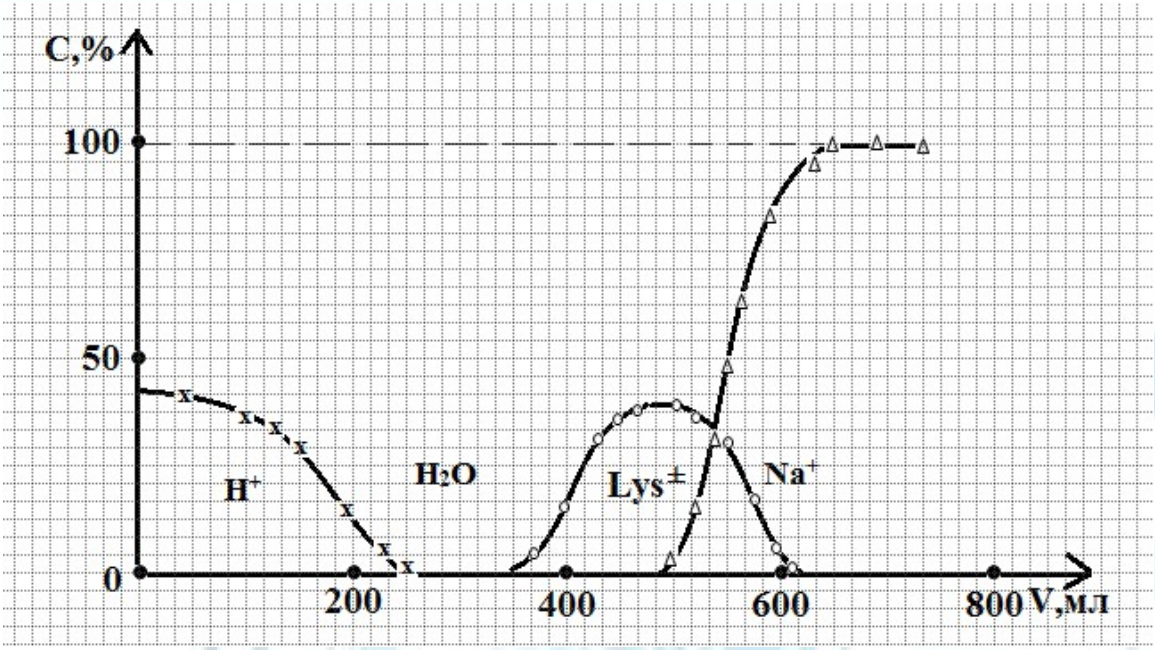
$$R^-H^+ + NaOH = RNa + H_2O \quad (2)$$

$$R^-H^+ + Lys = R^-Lys^+ \quad (3)$$

Bu erda R- polimer matritsasi.

Bu reaksiyalar natijasida natriy gidroksid eritmasining to'liq demineralizatsiyalanishi sodir bo'ladi. Reaktsiyalar natijasida hosil bo'layotgan suv kolonka bo'ylab desorbilanayotgan lizin sohasidan oldinda bo'ladi va o'z oqimida kationitni aralashmadan tozalab boradi. Bu jarayon esa kolonkada hosil bo'layotgan lizin soxasini barqaror bo'lishiga olib keladi, chunki reaksiya asosida kationitdan desorbsiyalanayotgan lizin qayta zaryadlanib, kationitning vodorod ko'rinishi orqali 3-reaksiya asosida yana sorbtsiyalanadi. Bu hodisa kolonka bo'ylab suvning va lizinning turli tezlikda harakatlanishiga olib keladi. Natijada kationitning yuvish bosqichining sifatli o'tishini va desorbsiyalanish sohasida lizin kontsentratsiyasining oshishiga imkon yaratadi. Bu esa lizinning to'yingan eritmasini mahsulot sifatida olishga keltiradi. Keltirilgan har uchala reaktsiyalarda muvozanat o'ng tomonga siljigan bo'ladi. Shuning uchun kolonka bo'ylab ion almashinish jarayonlarida statsionar sohalar hosil bo'ladi. Olingan natija 2-rasmda keltirilgan. Statsionar soha hosil qilish bilan boradigan ion almashinish jarayonlarini qarshi oqimli uskunalarda olib borish qo'zg'almas qatlamli usulga nisbatan afzalliklarga ega. Lizinni anorganik moddalar bo'lgan aralashmalardan ajratib olishda qarshi oqimli uskunalardan foydalanish oqava suvlarning hosil bo'lishini to'liq oldini oladi. Bunday jarayonda kolonkaning yuqori qismidan suv bilan bir necha marta suyultirilgan lizin aralashmasi ajratib olinadi va bu eritma yana lizinni sorbsiyalanish jarayoniga yuboriladi.

ISSN 3030-3907



Rasm-2. Kationit KB-4 ning aralash natriy-lizin-vodorod ko'rinishidan natriy gidroksid eritmasi bilan lizinni desorbtsiyalanish jarayonining chiqish egri chiziqlari.

Kolonkaning pastki qismidan natriy ko'rinishidagi kationit ajralib chiqadi va bu kationit yana sorbsiya bosqichiga yuboriladi. Kolonkaning o'rta qismidan tozalangan lizin eritmasi ajratib olinib, bug'latish uskunasiga yuboriladi. 3-rasmda qarshi oqimli uskunada lizinni ajratib olish jarayoni ko'rsatilgan. Olingan natijalardan quyidagilarni xulosa qilish mumkin: aralash natriy-vodorod ko'rinishida eritmaning pH ko'rsatkichi 3.5 bo'lganda, kationit KB-4 yordamida anorganik moddalar tutgan aminokislotalar aralashmasi tarkibidan lizinni to'liq ajratish mumkinligi aniqlandi. Bunda olingan eritma tarkibidagi lizin kontsentratsiyasi 16-18 marta oshdi va kationit lizin bo'yicha maksimal solishtirma sig'imga ega bo'ldi. Shuningdek, kationit KB-4 matritsasiga organik birikmalar deyarli sorbtsiyalanmaydi, bu esa kationitni yuvish bosqichida suvni kam sarflanishiga olib keldi. Undan tashqari lizinni desorbsiyasi jarayonida ajralib chiqayotgan suv kationitni aralashmadan yuvish jarayoniga etarli bo'ldi. Bu esa lizinni aralashmadan ajratib olish texnologiyasini osonlashtirdi, suvni sarflashni va chiqindilarni hosil bo'lishini kamaytirdi.

Qarshi oqimli jarayondan foydalanib, kationit KB-4 ning aralash Na^+- H^+ ko'rinishida lizinni KS tarkibidan ajratib olishning maqbul sharoitini aniqlash uchun kolonkaga yuborilayotgan KS eritmasining pH-ko'rsatkichi, lizinni desorbilanish bosqichida ishqor eritmasining kontsentratsiyasi, ionitning aralash ion ko'rinishida Na^+ va H^+ ionlarining o'zaro nisbati kabi parametrlarga bog'liqligini o'rganishga doir tajribalar o'tkazildi [24]. Olingan natijalar 2-4-jadvallarda keltirilgan.

ISSN 3030-3907

2-Jadval

Lizinni KS tarkibidan ajratib olish jarayoniga eritmaning rN ko'rsatkichining ta'siri

Tajriba	Ion ko'rinish	pH	NaOH kons.%	Desorb Lys, %	Lys, 100 g Ionitga nisbatan
1	Na^+ - H^+ (4:1 nisbat)	3.0	20	32	11
2	Na^+ - H^+ (4:1 nisbat)	4.0	20	33	12
3	Na^+ - H^+ (4:1nisbat)	3.5	20	35	13

3-jadval

Ionitning turli aralash ion ko'rinishining KS tarkibidan lizinni ajratib olish jarayoniga bog'liqligi

Tajriba	Ion ko'rinish	pH	NaOH kons. %	Desorb. Lys, %	Lys, 100 g ionitga nisbatan
1	Na^+-H^+ (1:1nisbat)	3.5	20	29	10
2	Na^+ - H^+ (2:1nisbat)	3.5	20	31	11
3	Na^+ - H^+ (4:1nisbat)	3.5	20	35	13

4-jadval

Lizinni KS tarkibidan ajratib olish jarayoniga NaOH eritmasi kontsentratsiyasining ta'siri

Tajriba	Ion ko'rinish	pH	NaOH kons. %	Desorb. Lys, %	Lys, 100 g ionitga nisbatan
1	Na^+-H^+ (1:1nisbat)	3.5	16	32	12
2	Na^+ - H^+ (2:1 nisbat)	3.5	14	30	11
3	Na^+ - H^+ (4:1 nisbat)	3.5	20	35	13

Xulosa. Olingan natijalardan quyidagilarni xulosa qilish mumkin: aralash natriy-vodorod (4-1 nisbatda) ko'rinishida eritmaning pH ko'rsatkichi 3.5 bo'lganda va NaOH kontsentratsiyasi 20 % bo'lganda, kationit KB-4 yordamida KS tarkibidan lizinni to'liq ajratish uchun maqbul sharoitlar mavjud ekanligi aniqlangan. Bunda, olingan eritma tarkibida lizin kontsentratsiyasi 18-20 marta oshgan va kationit lizin bo'yicha maksimal solishtirma sig'imga ega bo'lgan. Shuningdek, kationit KB-4 matritsasi organik birikmalarni deyarli sorbilamaydi,

ISSN 3030-3907

bu esa ionitni yuvish jarayonida suv sarfini kamaytiradi. Lizinni desorbsiyasi jarayonida ajralib chiqayotgan suv, ionitni kultural suyuqlikdan yuvish uchun etarli bo'lgan. Bu esa lizinni KSdan ajratib olish texnologiyasini soddalashtirib, suv sarfini va chiqindilarni kamaytirishga yordam beradi. Shuningdek, kerakli uskunalar sonini ikki baravarga, oqava suv miqdorini esa 7-9 baravarga kamaytirish imkonini yaratadi.

Adabiyotlar

1. Жеребцов Н.А., Попова Т.Н., Артюхов В.Г. Биохимия. – Воронеж: Изд-во Воронежского госуниверситета, 2002.– 96 с.

2. Poboży E., Czarkowska W., Trojanowicz M. Determination of amino acids in saliva using capillary electrophoresis with fluorimetric detection // J. Biochem. And Biophys. Meth. – 2006. – V. 67. – P. 37-47.

3. Introduction to HPLC, Shimadzu LC World Talk Special Issue Volume1, Japane, 2008. – P. 2-27.

4. Нечаев А.П., Кочеткова А.А., Зайцев А.Н. Пищевые добавки. – М.:Колос, 2002. – 132 с.

5. Фаустов А.С. и др. Лизин-одна из самых незаменимых аминокислот в обеспечении полноценного питания. – Воронеж: ВГУ, 2003. – 88 с.

6. Новиков Д.А. Выделение и очистка продуктов биотехнологии.– Минск: БГУ, 2014. – 256 с.

7. Абрамова З.И. Введение в генетическую инженерию. – Казань: Казанский университет, 2008. – 169 с.

8. Воржев В.Ф., Стекольникова Н.М., Стекольников Ю.А. Способ выделения лизина микробиологического синтеза // Патент Р.Ф. 2007136778/15. 27.02.2010

9.Liu, L., et al. "Determination of free and total lysine in foods by high-performance liquid chromatography." 2008. *Food Chemistry*, 107(4), 1539-1544.

ISSN 3030-3907