

## توسعه تئوری محلول فضای خالی بر اساس مفهوم ترکیب موضعی برای استخراج پروتئین با استفاده از سامانه‌های میسلی معکوس

شهریار عصفوری<sup>۱\*</sup>، سیده لادن سعیدی<sup>۲</sup>

بوشهر، دانشگاه خلیج فارس، دانشکده نفت، گاز و پتروشیمی، گروه مهندسی شیمی (osfour@pgu.ac.ir)  
بوشهر، دانشگاه خلیج فارس، دانشکده نفت، گاز و پتروشیمی، گروه مهندسی شیمی (seyedeladansaeedi@yahoo.com)

### چکیده

به منظور مطالعه رفتار فازی مولکول‌ها در طی فرایند جداسازی زیستی توسط سامانه‌های میسلی معکوس سه مدل ترمودینامیکی با ادغام مفاهیم تئوری محلول فضای خالی و مدل ترکیب موضعی سیال توسعه داده شد. همچنین برای بررسی چگونگی عملکرد مدل‌های توسعه داده شده، این مدل‌ها بر روی داده‌های آزمایشگاهی استخراج پروتئین آلبومین سرم گاوی توسط سامانه میسلی معکوس متشکل از ماده فعال سطحی ستیل تری متیل آمونیوم برمایید اعمال گردید. نتایج نشان داد که مدل‌های ترمودینامیکی توسعه داده شده به خوبی قادر هستند که تغییرات غیر ایده‌آلی سامانه که در اثر تغییر pH محلول آبی صورت می‌گیرد را به خوبی در محدوده pH بین ۶.۱ تا ۹.۱ تبیین نمایند. ضمن اینکه این مدل‌ها قادر هستند که از روند افزایشی استخراج پروتئین حاصل از افزایش غلظت ماده فعال سطحی نیز پیروی نمایند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که تطابق خوبی بین ضرایب توزیع پروتئین محاسبه شده و داده‌های آزمایشگاهی وجود دارد.

### مشخصات مقاله

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۳۱ اردیبهشت ۱۳۹۲  
دریافت پس از اصلاح: ۲۴ آبان ۱۳۹۲  
پذیرش نهایی: ۹ آذر ۱۳۹۲

کلمات کلیدی:

مدل ترمودینامیکی،  
میسلی معکوس،  
جداسازی زیستی،  
نانو سامانه،  
ضریب توزیع

## ۱- مقدمه

یکی از فرایندهایی که در هزینه تولید محصولات زیستی نقش بسزایی ایفا می‌کند فرایند جداسازی و خالص‌سازی محصولات تولید شده می‌باشد [۱]. از بین فرایندهای متنوع جداسازی و خالص‌سازی مواد زیستی، فرایند جداسازی با استفاده از میسل‌های معکوس به علت ویژگی‌های این سامانه‌ها روشی منحصر به فرد به شمار می‌آید. میسل‌های معکوس، خودسامانه‌های کروی شکل نانومتری هستند که از تجمع مولکول‌های مواد فعال سطحی پس از حل شدن این مولکول‌ها در حلال آلی شکل می‌گیرند. این سامانه‌ها خودبه‌خود در توده فاز آلی تشکیل می‌شوند و به لحاظ ترمودینامیکی پایدار هستند. نحوه‌ی قرار گیری مولکول‌های مواد فعال سطحی در ساختار کروی شکل میسل معکوس به گونه‌ای است که گروه قطبی و آب‌دوست سر آنها به سمت هسته‌ی آبی و دنباله غیرقطبی و آب‌گریز این مولکول‌ها به سمت توده‌ی فاز آلی است [۲]. از این رو میسل‌های معکوس قادر به انحلال ترکیبات آب‌دوست، مانند پروتئین [۳]، در هسته‌ی آبی درون خود هستند و از طریق دنباله‌های آب‌گریز مولکول‌های مواد فعال سطحی از تغییر شکل و خواص این مواد ممانعت به عمل می‌آورند [۴]. تا کنون علاوه بر جداسازی پروتئین، از این نانوسامانه‌ها به عنوان نانوراکتور برای تولید نانوذرات در اندازه‌های مختلف [۵] و همچنین جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات با ارزش دارویی مانند پنی‌سیلین نیز استفاده شده است [۶]. بدین سبب ارائه مدل‌های ترمودینامیکی که بتوانند تعادلات فازی مولکول‌های زیستی را در این سامانه‌ها پیش‌بینی کنند برای طراحی واحدهای پایین دستی بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

تا کنون چندین مدل ترمودینامیکی برای بیان توزیع پروتئین بین فاز آبی و فاز میسلی معکوس ارائه شده است که بر اساس آخرین دسته‌بندی صورت گرفته [۷]، این مدل‌ها به سه دسته مدل‌های تعامل جرمی<sup>۱</sup>، مدل‌هایی بر مبنای به حداقل رساندن تغییرات انرژی آزاد گیبس و مدل‌های جذب سطحی تقسیم‌بندی شده‌اند. ویژگی مدل‌های تعامل جرمی در نظر گرفتن یک واکنش شیمیایی شبه تعادلی برای انحلال پروتئین در فاز میسلی معکوس و تشکیل کمپلکس پروتئین-میسلی معکوس می‌باشد [۸-۱۰]. وول و هاتون<sup>۲</sup> اولین مدل تعامل جرمی را در سال ۱۹۸۹ ارائه نمودند [۱۰]. در این

مدل فرض شد که مولکول‌های درون محلول با تعدادی از میسل‌های تشکیل شده که خالی هستند برهم‌کنش می‌کنند تا کمپلکس پروتئین-میسلی تشکیل شود و با استفاده از ثابت تعادل این واکنش غلظت پروتئین موجود در دو فاز را تعیین کردند.

در دسته دوم مدل‌های ترمودینامیکی، پارامترهای ساختمانی نانوسامانه‌های میسل معکوس در نظر گرفته شده و مدل‌ها براساس به حداقل رساندن تغییرات انرژی آزاد گیبس می‌باشند. براتکو و همکاران<sup>۳</sup> در سال ۱۹۸۸ با استفاده از مدل پوسته-هسته و حل معادله غیرخطی پواسن-بلتزن، توزیع پروتئین را بین دو فاز آبی و میسلی معکوس ارزیابی کردند [۱۱]. همچنین برونو و همکاران<sup>۴</sup> در سال ۱۹۹۰ با فرض وابسته بودن توزیع پروتئین به برهم‌کنش‌های بین دیواره بردار داخلی میسل‌های معکوس و مولکول‌های بردار پروتئین، یک مدل ترمودینامیکی ارائه کردند [۱۲]. در دسته سوم، مدل‌هایی قرار دارند که بر مبنای جذب سطحی، توزیع پروتئین بین میسل‌های معکوس و فاز آبی را توصیف کرده‌اند. در این دسته از مدل‌های ترمودینامیکی، میسل معکوس به عنوان یک محل خالی فرض می‌شود که قادر است مولکول‌های پروتئین را بر روی سطح خود جذب نماید. برندانی<sup>۵</sup> و همکاران در سال ۱۹۹۴ بر مبنای مدل جذب لانگمویر تعادل پروتئین بین فاز آبی و میسلی معکوس را بیان نمودند [۱۳]. حق‌طلب و عصفوری نیز در سال ۲۰۰۳ مدل جذب بر مبنای تئوری محلول فضای خالی<sup>۶</sup> (VST) را برای سامانه‌های دوفازی آبی و میسلی معکوس بکار بردند [۱۴]. بدین ترتیب که آنها مشابه جذب گاز بر روی بستر جامد از مدل لانگمویر توسعه یافته توسط معادله ویلسون استفاده نموده [۱۵] و توزیع پروتئین بین دو فاز را پیش‌بینی کردند. هر کدام از این مدل‌ها دارای ویژگی‌های خاصی بوده و چه بسا برخی از آنها در بکارگیری فرضیات با یکدیگر نیز در تقابل باشند؛ که این امر می‌تواند به دلیل پیچیدگی ماهیت فرایند انتقال پروتئین و عوامل مؤثر بر آن باشد. مدل‌هایی که بر مبنای تعامل جرمی ارائه گردیده‌اند اگر چه از اصول اولیه ترمودینامیکی استفاده نکرده‌اند ولی به لحاظ ساختاری و مدل‌سازی قادر به ارائه فرمولاسیون‌هایی نسبتاً ساده‌ای برای بیان تعادل پروتئین بین فاز میسلی معکوس و فاز آبی می‌باشند. تئوری‌های بکار رفته در مدل‌های

<sup>3</sup> Bratko and Luzar<sup>4</sup> Bruno and Luisi<sup>5</sup> Brandani<sup>6</sup> Vacancy Solution Theory (VST)<sup>1</sup> Mass action<sup>2</sup> Woll and Hatton

$$\mu_i^{(aq)} = \mu_i^{0(aq)} + RT \ln \gamma_i^{(aq)} x_i^{(aq)} \quad (1)$$

مشابه کار حق‌طلب و عصفوری [۱۴]، برای محاسبه پتانسیل شیمیایی پروتئین در محلول فضای خالی از تساوی زیر که بر اساس کار قبلی سووانین<sup>۴</sup> و دنر<sup>۵</sup> [۱۶] در جذب گاز بر روی سطح زئولیتی الهام گرفته شده است، استفاده می‌شود:

$$\mu_i^{(rm)} = \mu_i^{0(rm)} + RT \ln \gamma_i^{(rm)} x_i^{(rm)} + \pi \bar{a}_i \quad (2)$$

در این تساوی،  $\pi$  فشار اسمزی میسل معکوس و  $\bar{a}_i$  نیز سطح مولی جزئی جزء  $i$  در فاز میسلی معکوس می‌باشد. از آنجا که در توده فاز آبی، فضاهای خالی بسیار رقیق است عبارت دوم سمت راست تساوی (۱) برای فضای خالی حلال ناچیز خواهد بود. با استفاده از شرط تعادل، رابطه زیر برای جزء ۲ که فضای خالی حلال می‌باشد بدست می‌آید:

$$\pi = -\frac{RT}{\bar{a}_2} \ln(\gamma_2^{(rm)} x_2^{(rm)}) \quad (3)$$

با استفاده از مفهوم تقسیم سطح<sup>۶</sup> که توسط لوکاسن ووریندر<sup>۷</sup> [۱۷] ارائه شده است، کسر مولی مازاد سطحی،  $\theta_1$ ، به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$x_1^{(rm)} = \frac{n_1^{(rm)}}{n_1^{(rm)max}} = \theta_1 \quad (4)$$

$$x_2^{(rm)} = \frac{n_2^{(rm)}}{n_2^{(rm)max}} = 1 - \theta_1 \quad (5)$$

$$\bar{a}_1 = \bar{a}_2 = \frac{A}{n_1^{(rm)max}} \quad (6)$$

در تساوی‌های بالا  $n_1^{(rm)}$  و  $n_1^{(rm)max}$  به ترتیب بیانگر مول‌های جذب شده و حداکثر مول‌های جذب شده جزء ۱ در فاز میسلی معکوس می‌باشند.  $A$  نیز معرف کل سطح فعال می‌باشد. مفهوم تقسیم سطح که نشان دهنده فاز جذب شده است، به گونه‌ای خواهد بود که سطح مولی جزئی جذب شونده و فضای خالی، ثابت و برابر با یک باشند. با تقسیم صورت و مخرج تساوی‌های (۴) و (۵) بر حجم سامانه‌ی آلی،  $V^{oil}$ ، می‌توان این تساوی‌ها را بر حسب غلظت نوشت:

$$x_1^{(rm)} = \frac{C_1^{(rm)}}{C_1^{(rm)max}} = \theta_1 \quad (7)$$

$$x_2^{(rm)} = \frac{C_2^{(rm)}}{C_2^{(rm)max}} = 1 - \theta_1 \quad (8)$$

دسته دوم بسیار پیچیده است و شکل نهایی این مدل‌ها صریح و ساده نبوده و همین امر باعث عدم بکارگیری این مدل‌ها در محاسبات مهندسی می‌شود. با این وجود مدل‌های مذکور تنها مدل‌هایی هستند که پارامترهای هندسی سامانه میسلی معکوس را در خود گنجانده‌اند. برخلاف مدل‌های دسته اول، مدل‌هایی که بر مبنای جذب ارائه شده‌اند بر اساس اصل تعادل فازی و برابری پتانسیل شیمیایی اجزا در دو فاز در حال تعادل ارائه گردیده‌اند. لیکن معمولاً این مدل‌ها در بیان برهم‌کنش‌های موجود در سامانه میسلی معکوس از مدل‌های مفهومی که منطبق بر واقعیت‌های فیزیکی سامانه باشد استفاده نکرده‌اند.

اگرچه که تا کنون مدل‌های ترمودینامیکی زیادی برای توصیف تعادلات فازی سامانه‌های بخار-مایع و مایع-مایع معمولی توسعه داده شده است، لیکن تعدد و تنوع این مدل‌ها برای توصیف سامانه‌های مایع-مایع میسلی معکوس بسیار اندک می‌باشد. در این مطالعه تلاش شده است تا مدل جذب بر مبنای تئوری محلول فضای خالی با استفاده از مدل‌های ترکیب موضعی<sup>۱</sup> ضریب فعالیت دو مایع غیر تصادفی<sup>۲</sup>، NRTL و حالت مرجع عامل غیر تصادفی<sup>۳</sup> توسعه داده شود و سپس بر اساس داده‌های ترمودینامیکی موجود دقت مدل‌های توسعه داده شده مورد ارزیابی قرار گیرد.

## ۲- مدل‌سازی ترمودینامیکی

در این مطالعه برای مدل‌سازی توزیع پروتئین بین فاز آبی و فاز میسلی معکوس تئوری محلول فضای خالی توسعه داده می‌شود. بدین منظور فرض می‌شود که هر محلول فضای خالی محیطی مجازی متشکل از مکان‌های خالی متعددی است و ماده حل شونده می‌تواند در این مکان‌های خالی قرار گرفته و این فضاها را اشغال نماید. لذا هنگامی که توده فاز آبی حاوی پروتئین با فاز میسلی معکوس در تماس قرار می‌گیرد، مولکول‌های پروتئین از فاز آبی جدا شده و در مکان‌های خالی موجود در محلول فضای خالی، میسل‌های معکوس، قرار می‌گیرند. از این جهت می‌توان انتظار داشت که پس از حصول حالت تعادل، پتانسیل شیمیایی پروتئین، جزء  $i$  بین توده فاز آبی و محلول فضای خالی برابر باشد. پتانسیل شیمیایی پروتئین در فاز آبی از رابطه زیر قابل محاسبه می‌باشد:

<sup>4</sup> Suwanayen

<sup>5</sup> Danner

<sup>6</sup> Dividing Surface

<sup>7</sup> Lucassen-Reynder

<sup>1</sup> Local Composition

<sup>2</sup> Non-Random Two Liquid

<sup>3</sup> Non-Random Factor

با سطوح فعال جاذب استفاده کرد. با انتخاب مدل‌های ترکیب موضعی ضریب فعالیت و انجام محاسبات ریاضی مورد نیاز، غلظت تعادلی پروتئین در فاز آبی با استفاده از مدل‌های NRTL، NRTL-NRF و Wilson-NRF به ترتیب به شکل زیر بدست می‌آیند:

$$[P]^{aq} = \left[ \frac{\theta_1}{b(1-\theta_1)} \right] \quad (13)$$

$$\text{Exp} \left( \frac{\tau_{12} G_{12}^2}{(G_{12}-1)} \times \left[ \frac{1}{(1+\theta_1(G_{12}-1))^2} - 1 \right] + \frac{2\tau_{21} G_{12}}{(1-G_{12})} \times \left[ \frac{G_{21}}{2(G_{21}+\theta_1(1-G_{21}))^2} - \frac{1}{2G_{21}} \right] \right)$$

$$[P]^{aq} = \left[ \frac{\theta_1}{b(1-\theta_1)} \right] \quad (14)$$

$$\text{Exp} \left( \frac{\tau_{12} G_{12}^2}{(G_{12}-1)} \times \left[ \frac{1}{(1+\theta_1(G_{12}-1))^2} - 1 \right] + \frac{2\tau_{21} G_{12}}{(1-G_{12})} \times \left[ \frac{G_{21}}{2(G_{21}+\theta_1(1-G_{21}))^2} - \frac{1}{2G_{21}} \right] + 2(\tau_{21}-\tau_{12})\theta_1 \right)$$

$$[P]^{aq} = \left[ \frac{\theta_1}{b(1-\theta_1)} \right] \times \left[ \frac{1+\theta_1(\beta_{12}-1)}{\beta_{21}(\beta_{21}+\theta_1(1-\beta_{21}))} \right]^Z \quad (15)$$

$$\text{Exp} \left[ Z \left( \frac{\beta_{21}}{\beta_{21}+\theta_1(1-\beta_{21})} - \frac{\beta_{12}}{1+\theta_1(\beta_{12}-1)} + (\beta_{12}-1) - 2\theta_1 \ln(\beta_{21}\beta_{12}) \right) \right]$$

با مقایسه تساوی‌های بالا و معادله جذب لانگمویر می‌توان دریافت که عبارت نمایی ظاهر شده در سمت راست تساوی‌های بالا به عنوان ضریب تصحیح معادله جذب لانگمویر برای بیان غیرایده‌آلی جذب در سامانه‌های میسلی معکوس می‌باشد. ضریب توزیع پروتئین طبق تعریف به صورت غلظت پروتئین در فاز میسلی معکوس به غلظت پروتئین در فاز آبی بیان می‌شود:

$$K = \frac{[P]^{(rm)}}{[P]^{(aq)}} \quad (16)$$

پارامتر ضریب توزیع پروتئین به عنوان شاخصه‌ای برای میزان جداسازی پروتئین از فاز آبی توسط فاز میسلی معکوس مطرح می‌باشد. هر چقدر مقدار این پارامتر بیشتر باشد به منزله افزایش میزان جداسازی پروتئین از فاز آبی و تمایل این مولکول زیستی برای حضور در فاز میسلی معکوس خواهد بود.

### ۳- نتایج و بحث

به منظور توسعه مدل محلول فضای خالی، این مدل با استفاده از معادلات ضریب فعالیت ترکیب موضعی NRTL، NRTL-NRF و Wilson-NRF توسعه داده می‌شود. بدین منظور با وارد کردن مفهوم کسر مولی مازاد سطحی در این معادلات ضریب فعالیت، معادلات فوق برای فضای خالی توده فاز میسلی معکوس به شکل زیر توسعه داده می‌شوند:

- معادله ضریب فعالیت NRTL، [۱۸]:

$$\ln \gamma_2^{(rm)} = \theta_1^2 \left[ \tau_{12} \left( \frac{G_{12}}{1+\theta_1(G_{12}-1)} \right)^2 + \frac{\tau_{21} G_{21}}{(G_{21}+\theta_1(1-G_{21}))^2} \right] \quad (9-الف)$$

- معادله ضریب فعالیت NRTL-NRF، [۱۹]:

$$\ln \gamma_2^{(rm)} = \theta_1^2 \left[ \tau_{12} \left( \frac{G_{12}}{1+\theta_1(G_{12}-1)} \right)^2 + \frac{\tau_{21} G_{21}}{(G_{21}+\theta_1(1-G_{21}))^2} \right] - \theta_1^2 (\tau_{21} - \tau_{12}) \quad (9-ب)$$

- معادله ضریب فعالیت Wilson-NRF، [۲۰]:

$$\ln \gamma_2^{(rm)} = Z \left( \ln \Gamma_{22} + \theta_1 (\Gamma_{12} - \Gamma_{21}) + \theta_1^2 \ln(\beta_{21}\beta_{12}) \right) \quad (9-ج)$$

در تساوی‌های بالا  $G_{ij}$  و  $\Gamma_{ij}$  به صورت زیر تعریف شده‌اند:

$$G_{ij} = \text{Exp}(-\alpha \tau_{ij}) \quad (10)$$

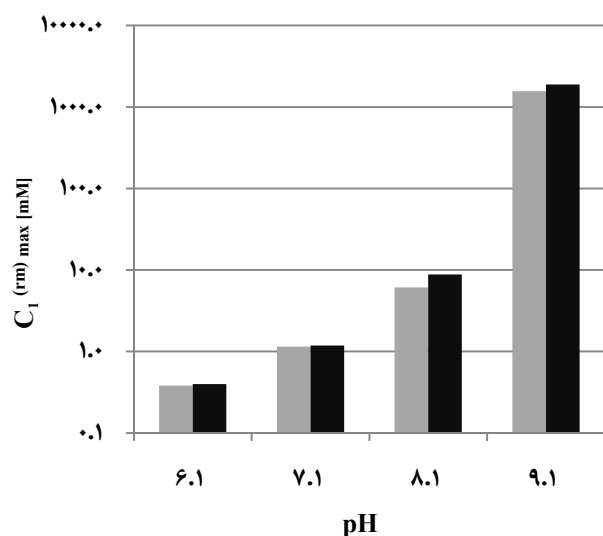
$$\Gamma_{ij} = \frac{\beta_{ij}}{\sum_{k=1, k \neq j}^n x_k \beta_{kj} + 1} \quad (11)$$

ثوابت  $\beta_{ij}$  و  $\tau_{ij}$  نیز پارامترهای قابل تنظیم مدل می‌باشند. معادله جذب گیبس برای تعادل پروتئین بین فاز آبی و فاز میسلی معکوس، همانند تعادل بخار-مایع به صورت زیر می‌باشد:

$$RT d \ln [P]^{aq} = \frac{A}{n_1^{(rm)}} d\pi \quad (12)$$

با مشتق‌گیری از تساوی (۳) که از برابری پتانسیل‌های شیمیایی میان دو فاز آبی و میسلی معکوس بدست آمده است و جایگذاری آن در معادله جذب گیبس، یک رابطه دیفرانسیلی برای غلظت پروتئین در فاز آبی حاصل می‌شود. برای حل این تساوی باید از یک مدل ضریب فعالیت، متناسب

نتیجه حداکثر غلظت پروتئینی که می‌تواند بر روی سطوح فعال جذب شوند نیز با افزایش مواجه شده است. همچنین به طور مشابه، افزایش غلظت ماده فعال سطحی موجب شده است که احتمال تشکیل سطوح فعال افزایش یابد. مشابه مدل ترمودینامیکی VST این روند در خصوص سایر مدل‌های ترمودینامیکی توسعه داده شده نیز مشاهده گردید. روند تغییرات  $C_1^{(rm)max}$  مربوط به سایر مدل‌های ترمودینامیکی در پیوست ب نشان داده شده است.



شکل (۱): تغییرات  $C_1^{(rm)max}$  مدل ترمودینامیکی NRTL نسبت به pH محلول آبی در غلظت‌های ۲۰ میلی مولار (■) و ۳۰ میلی مولار از ماده فعال سطحی

شکل (۲) نشان دهنده نتایج مدل ترمودینامیکی NRTL توسعه داده شده و مقایسه آن با داده‌های آزمایشگاهی می‌باشد. مقایسه شکل‌های (الف) و (ب) در pHهای متفاوت نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ماده فعال سطحی، ضریب توزیع پروتئین بین فاز میسلی معکوس و فاز آبی افزایش یافته است. ضمن اینکه افزایش pH نیز موجب بهبود فرایند استخراج شده است. این پدیده‌ها نیز می‌توانند در اثر افزایش پتانسیل جذب فاز میسلی ناشی از افزایش مکان‌های فعال جاذب و نیروهای الکترواستاتیکی انجام شده باشند. نکته حائز اهمیت پیروی روند نتایج حاصل از مدل ترمودینامیکی توسعه داده شده با داده‌های آزمایشگاهی از یک طرف، و از طرف دیگر تطابق بسیار خوب نتایج با داده‌های آزمایشگاهی می‌باشد.

برای تعیین پارامترهای قابل تنظیم مدل‌های ترمودینامیکی، از داده‌های آزمایشگاهی استخراج پروتئین آلومین سرم گاوی ( $M_w=67000$  Da و  $pI=4.7$ ) از فاز آبی توسط سامانه میسلی معکوس CTAB استفاده گردید [۱۴]. این سامانه میسلی معکوس از انحلال ماده فعال سطحی کاتیونی ستیل تری متیل آمونیوم برماید<sup>۱</sup> در حلال ایزواکتان-۱-هگزانول به نسبت حجمی ۴ به ۱ تشکیل شده است. برای مشاهده اثر غلظت ماده فعال سطحی در استخراج پروتئین و همچنین، به منظور مقایسه مدل‌های توسعه یافته اخیر با مدل ترمودینامیکی VST از داده‌های مربوط به دو سطح متفاوت از غلظت ماده فعال سطحی ۲۰ و ۳۰ میلی مولار استفاده گردید. علاوه بر این، برای بررسی توانایی مدل‌های ترمودینامیکی مورد نظر در تبیین رفتار فازی پروتئین با تغییر شرایط نیروهای الکترواستاتیکی محلول، از داده‌های مربوط به چهار pH مختلف فاز آبی حاوی پروتئین در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد.

همچنین به منظور بدست آوردن پارامترهای قابل تنظیم این مدل‌های ترمودینامیکی و مقایسه نتایج با مدل VST، تابع هدف زیر با استفاده از الگوریتم نلد-مید<sup>۲</sup> کمینه‌سازی شد. از آنجا که انتظار می‌رود پارامترهای قابل تنظیم مدل‌های فوق به نوعی نمایانگر برهم‌کنش‌های بین اجزای موجود در محلول باشند و با توجه به این موضوع که تغییر در pH محلول می‌تواند منجر به تغییر این برهم‌کنش‌ها شود لذا تابع هدف مورد نظر به ازای مقادیر مختلف غلظت ماده فعال سطحی در هر pH به طور مجزا برازش گردید.

$$\sigma = \left( \frac{\sum_{i=1}^N \left( \frac{K_i^{exp} - K_i^{cal}}{K_i^{exp}} \right)^2}{N} \right)^{0.5} \quad (17)$$

پارامترهای قابل تنظیم بهینه شده مدل‌های ترمودینامیکی ضریب فعالیت در چهار pH متفاوت در جدول الف-۱ پیوست نشان داده شده است. شکل (۱) تغییرات  $C_1^{(rm)max}$  مدل NRTL نسبت به pH محلول آبی در غلظت-های ۲۰ و ۳۰ میلی مولار ماده فعال سطحی را نشان می‌دهد. همانگونه که انتظار می‌رود با افزایش pH محلول آبی و فاصله گرفتن از نقطه ایزوالکتریک پروتئین، نیروهای الکترواستاتیکی بین پروتئین و میسل‌های معکوس کاتیونی افزایش یافته در

<sup>1</sup> Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)

<sup>2</sup> Nelder-Mead

جدول (۱): متوسط خطای نسبی مدل‌های ترمودینامیکی در چهار سطح pH متفاوت (۶.۱، ۷.۱، ۸.۱ و ۹.۱)

متوسط خطای نسبی				غلظت ماده فعال سطحی (میلی مولار)
Wilson-NRF	Wilson (VST)	NRTL-NRF	NRTL	
٪۱۱.۶	٪۹.۷	٪۹.۶	٪۹.۷	۲۰
٪۱۲.۲	٪۱۰.۶	٪۱۲.۹	٪۱۰.۵	۳۰

#### ۴- نتیجه‌گیری

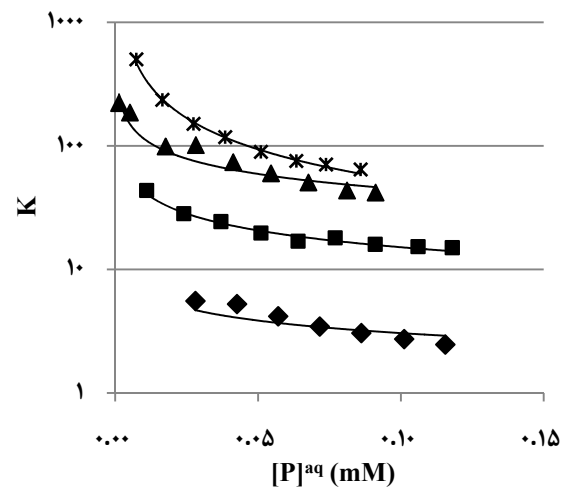
توسعه مدل‌های ترمودینامیکی که برای نخستین بار بر مبنای استفاده همزمان مفاهیم تئوری فضای خالی و ترکیب موضعی انجام گردید نشان داد که مدل‌های حاصل به خوبی توانایی بیان رفتار تعادل فازی پروتئین بین فاز آبی و میسلی معکوس را دارا می‌باشند. مشاهده شد که مدل‌های ترمودینامیکی توسعه یافته به خوبی قادر هستند که اثر برهم‌کنش‌های موجود در نانوسامانه‌های میسلی معکوس که متأثر از تغییر pH محلول است را بیان کنند. تبعیت مدل‌های توسعه یافته اخیر از مفاهیم فیزیکی حاکم بر نانوسامانه‌های میسلی معکوس مانند ازدیاد درصد استخراج ناشی از افزایش pH و غلظت ماده فعال سطحی از جمله نکات حائز توجه و مزایای این مدل‌ها می‌باشد. از طرف دیگر دقت این مدل‌ها در حدی است که نه تنها آنها را با مدل VST قابل مقایسه کرده بلکه در مورد مدل توسعه یافته NRTL نتایج بهتری نیز حاصل شده است؛ به گونه‌ای که در غلظت ۲۰ میلی‌مولار ماده فعال سطحی خطای نسبی این مدل به ۹.۶٪ کاهش یافته است. علاوه بر این از مقایسه نتایج چنین استنباط می‌شود که بر خلاف سامانه‌های الکترولیتی، انتخاب حالت مرجع فاکتور غیرتصادفی موجب افزایش صحت نتایج حاصل از مدل نگردیده است.

#### علائم اختصاری و نمادها

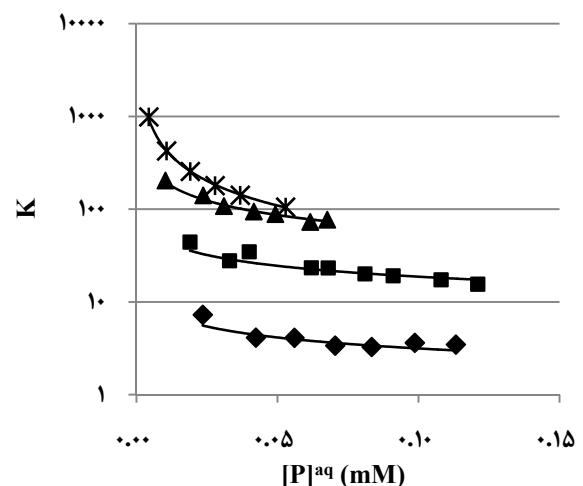
$\bar{a}$	سطح مولی جزء (m <sup>2</sup> /kmol)
$G$	تابع برهم‌کنش اجزا در مدل‌های NRTL و NRTL-NRF
$K$	ضریب توزیع پروتئین
$N$	تعداد داده‌های آزمایشگاهی
$[P]$	غلظت پروتئین (میلی مولار)
$R$	ثابت جهانی گازها (J/mol.K) (۸.۳۱۴)
$T$	دمای سامانه (K)
$x$	ترکیب یک جزء

نتایج نشان می‌دهد که هر سه مدل ترمودینامیکی توسعه داده شده به خوبی از روند تغییرات ضریب توزیع پروتئین بین فازهای آبی و میسلی معکوس نسبت به pH و غلظت ماده فعال سطحی تبعیت می‌نمایند. جدول ۱ نیز نشان دهنده متوسط درصد خطای نسبی نتایج حاصل از هر یک از این مدل‌ها در چهار سطح pH فاز آبی می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که تنها دقت مدل‌های توسعه یافته اخیر با مدل ترمودینامیکی VST قابل مقایسه می‌باشد بلکه در این خصوص مدل ترمودینامیکی NRTL دارای خطای نسبی کمتری نیز می‌باشد.

(الف)



(ب)



شکل (۲): نتایج حاصل از مدل ترمودینامیکی NRTL و داده‌های آزمایشگاهی ضریب توزیع پروتئین آلبومین سرم گاوی در غلظت‌های مختلف ماده فعال سطحی: (الف) ۲۰ و (ب) ۳۰ میلی‌مولار (pH=۹.۱: ✕, pH=۸.۱: ▲, pH=۷.۱: ■, pH=۶.۱: ◆)

زیرنویس‌ها

جزء

$I$

جزء ۱ یا ۲

$I, 2$

بالانویس‌ها

فاز آبی

$aq$

محاسبه شده

$cal$

آزمایشگاهی

$exp$

بیشینه

$max$

فاز میسلی معکوس

$rm$

مرجع

$o$

حروف یونانی

پارامتر تساوی ۱۰ (برابر با ۰.۱)

$\alpha$

پارامتر قابل تنظیم تساوی ۹-ج

$\beta$

پارامتر تساوی ۹-ج

$\Gamma$

ضریب فعالیت

$\gamma$

کسر مولی مازاد سطحی

$\theta$

پتانسیل شیمیایی (J/mol)

$\mu$

فشار اسمزی میسل معکوس (N/m)

$\pi$

پارامتر برهم‌کنش اجزا در تساوی های ۹-الف و ۹-ب

$\tau$

مراجع

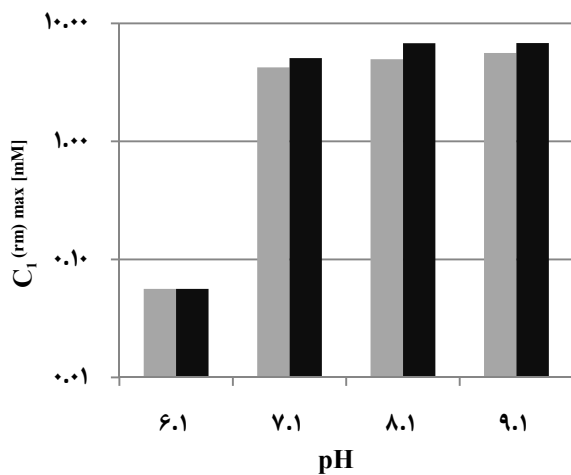
- [6] J. H. Vera, H.R. Rabie and T. Suyyagh, "Reverse micellar extraction of proteins using dioctyldimethyl ammonium chloride", *Sep. Sci. Technol.*, 32(2), 241–257.
- [7] A. Haghtalab and Sh. Osfour (2004), "A simple complexation model and the experimental datafor protein extraction using reverse micellar systems", *Iran. J. Biotechnol.*, 2( 2), 106–112.
- [8] J.M. Woll and T. A. Hatton (1989), "A simple phenomenological thermodynamic model for protein partitioning in reversed micellar systems", *Bioprocess Eng.*, 4(5), 193–199.
- [9] H. R. Rabie and J. H. Vera (1998), "A simple model for reverse micellar extraction of proteins", *Sep. Sci. Technol.*, 33( 8), 1181–1193.
- [10] S. N. Ashrafzadeh and M. K. Khoshkbarchi (1998), "Modeling and Experimental Data for the Reverse Micellar Extraction of Proteins Using a New Surfactant", *Sep. Sci. Technol.*, 33(16), 2579–2595.
- [11] D. Bratko, A. Luzar and S. H. Chen (1988), "Electrostatic model for protein/reverse micellar complexation", *J. Chem. Phys.*, 89(1) 545–550.
- [12] P. Bruno, M. Caselli, P. L. Luisi, M. Maestro and A. Traini (1990), "A simplified thermodynamic model for protein by uptake reverse micelles: theoretical and experimental results", *J. Phys. Chem.*, 94(15), 5908– 5917.
- [13] S. Brandani, V. Brandani and G. D. Giacomo (1994), "A thermodynamic model for protein partitioning in reversed micellar systems", *Chem. Eng. Sci.*, 49(21), 3681–3686..
- [14] A. Haghtalab and Sh. Osfour (2003), "Vacancy solution theory for partitioning of protein in reverse micellar systems", *Sep. Sci. Technol.*, 38(3), 553–569.
- [15] M. M. Dubinin (1977), New results in investigations of equilibria and kinetics of adsorption of gases on zeolites, 4<sup>th</sup> International Conference on Molecular sieves, University of Chicago, April 18–22.
- [16] S. Suwanyuen and R. P. Danner (1980), "A gas adsorption isotherm equation based on vacancy solution theory", *AIChE J.*, 26(1), 68–76.
- [17] E. H. Lucassen-Reynders (1976), "Adsorption of surfactant monolayers at gas/liquid and liquid/liquid interfaces", *Prog. Surf. Membr. Sci.*, 10, 253–360.
- [18] H. Renon and J. M. Prausnitz (1968), "Local Compositions in Thermodynamic Excess Functions For Liquid Mixtures." *AIChE J.*, 14(1), 135–142.
- [19] A. Haghtalab and J. H. Vera (1988) "A Nonrandom factor model for the excess Gibbs free energy of electrolyte solutions." *AIChE J.*, 34(5) 803-813.
- [20] R. Sadeghi (2005), "New local composition model for electrolyte solutions.", *Fluid Phase Equilibria.*, 231, 53-60.
- [1] G. R. Pazuki, A. A. Rohani, and A. Dashtizadeh (2005), "Correlation of the mean ionic activity coefficients of electrolytes in aqueous amino acid and peptide systems", *Fluid Phase Equilib*, 231, 171–175.
- [2] G. Marcozzi (1991), "Protein extraction by reverse micelles: a study of the factors affecting the forward and backward transfer of alpha-chymotrypsin and its activity", *Biotechnol. Bioeng.*, 38(10), 1239–1246.
- [3] P. L. Luisi, M. Giomini, M. P. Pileni, and B. H. Robinson (1988), "Reversed micelles as hosts for proteins and small molecules", *Biochim. Biophys. Acta.* 947(1) 209–246.
- [4] K. E. Goklen, and T. A. Hatton (1987), "Liquid–liquid extraction of low molecular proteins by selective Solubilization in reversed micelles", *Sep. Sci. Technol.*, 22( 2–3), 831–841.
- [5] Eastoe, J. Hollamby, M.J. Hudson, L., "Recent advances in nanoparticle synthesis with reversed micelles", *Adv. Colloid Interface Sci.*, 128–130, pp. 5–15, 2006.

**پیوست ب:** روند تغییرات حداکثر غلظت قابل استخراج پروتئین از سامانه آبی توسط میسل‌های معکوس نسبت به pH فاز آبی در دو سطح متفاوت از غلظت ماده فعال سطحی

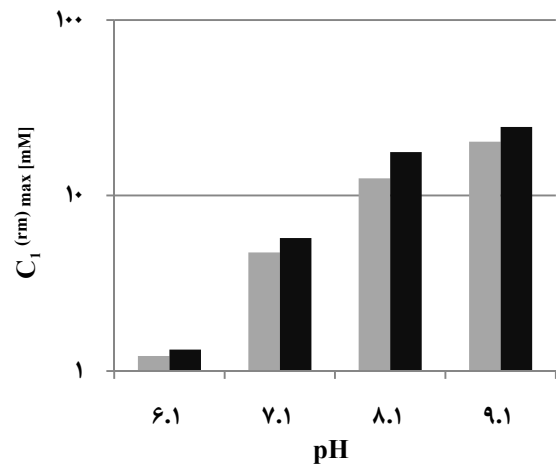
**پیوست الف:** پارامترهای قابل تنظیم بهینه شده مدل‌های ترمودینامیکی NRTL، NRTL-NRF، Wilson-NRF و Wlison در جدول الف-۱ نشان داده شده است:

جدول الف-۱: مقادیر پارامترهای قابل تنظیم مدل‌های ترمودینامیکی ضریب فعالیت

pH	NRTL			NRTL-NRF			Wilson-NRF		
	$\tau_{12}$	$\tau_{21}$	b	$\tau_{12}$	$\tau_{21}$	b	$\beta_{12}$	$\beta_{21}$	b
۶.۱	-۰.۰۲۷	۱.۹۸۴	-۱.۳۶	۰.۵۱۵	۲.۱۱۹۰	۱۳.۵۰۰	۰.۹۷	۱.۵۶	۱۰.۰۰
۷.۱	-۰.۰۰۶	۰.۰۰۱	-۱۰۵۸.۱۷	-۰.۶۷۸	-۲۴۰.۰۹۰	۵۸.۰۰۲	۱.۰۰	۱.۵۸	۱۲.۶۷
۸.۱	-۰.۰۰۹	۰.۰۰۹	-۱۵۳۷.۴۰	-۰.۰۸۳	-۰.۰۰۰۲	۴۳.۸۵۰	۱.۲۹	۰.۴۷	۷۰.۳۷
۹.۱	۱۱.۶۳۰	-۳۳.۲۴۰	-۱۴.۲۸	۱۰.۸۷۸	۲۴.۰۸۲۰	۰.۰۰۱	۲۷۱.۹۹	۱۶۸.۰	۲۲.۰۰



(ب)



(الف)

شکل ب-۱: تغییرات  $C_1^{(rm)max}$  مدل‌های ترمودینامیکی نسبت به pH محلول آبی در غلظت‌های ۲۰ میلی مولار (■) و ۳۰ میلی مولار از ماده فعال سطحی: الف) مدل Wilson-NRF و ب) مدل NRTL-NRF



# Development of Vacancy Solution Theory Based on Local Composition Concept for Protein Extraction Using Reverse Micellar System

Shahriar Osfouri<sup>1, \*</sup>, Seyede Ladan saeedi<sup>2</sup>

1. Department of Chemical Engineering, Faculty of Oil, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr (osfouripgu.ac.ir)
2. Department of Chemical Engineering, Faculty of Oil, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr (seyedeladansaeedi@yahoo.com)

---

## ABSTRACT

Three thermodynamic models were developed by combining vacancy solution theory and local composition concept with the aim of phase behavior study of biomolecules in separation process using reverse micellar system. Also, to check the capability of the developed models, each one has been applied to the experimental data of reverse micellar extraction of bovine serum albumin were composed of cetyl tri methyl ammonium bromide surfactant. The results showed that the developed models are able to express the non-ideality of the system due to the variation of aqueous pH. Moreover, these models are able to follow the increasing trend of protein extraction due to increasing of surfactant concentration. Furthermore, the results showed that the calculated protein partition coefficients are in good agreement with the experimental data.

All right reserved.

---

## ARTICLE INFO

---

Article history:

Received: May 21, 2013

Revised: November 15, 2013

Accepted: November 30, 2013

---

Key words:

Thermodynamic model,

Reverse micelle,

Bioseparation,

Nanosystem,

Partition coefficient

---

\* Corresponding author