

## اندازه گیری و مطالعه توزیع پذیری اسیدهای آمینه آرژنین و گلیسین در سامانه دوفازی آبی پلی اتیلن گلیکول و نمک

مژده کربلایی حسینی غیاثوند<sup>۱</sup>، شهلا شهریاری<sup>۱\*</sup>، غلامرضا پازوکی<sup>۲</sup>

۱. گروه مهندسی شیمی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران

۲. دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران، ایران

### چکیده

در این تحقیق توزیع پذیری گلیسین و آرژنین در سامانه‌های دو فازی آبی اندازه گیری شد. سامانه‌های دو فازی آبی مورد مطالعه شامل پلی اتیلن گلیکول با وزن‌های مولکولی ۸۰۰۰ و ۶۰۰۰ (دالتون) و تری سدیم سترات و سولفات سدیم می‌باشند. تاثیر درصدهای مختلف وزنی نمک، پلیمر، دما و خط رابط بر ضرایب توزیع پذیری گلیسین و آرژنین بررسی شدند. نتایج نشان داد که ضرایب توزیع پذیری گلیسین و آرژنین با افزایش درصد وزنی نمک و پلیمر کاهش می‌یابد و با افزایش طول خط رابط توزیع پذیری کاهش می‌یابد. گلیسین در سامانه شامل ۱۰٪ وزنی سولفات سدیم و ۱۵٪ وزنی پلی اتیلن گلیکول (وزن مولکولی ۸۰۰۰ دالتون) در دمای ۳۰۸ K دارای بیشترین ضریب توزیع پذیری ( $0.101 \pm 0.013$ ) در فاز بالا می‌باشد. همچنین آرژنین در سامانه شامل ۱۴٪ وزنی تری سترات سدیم و ۲۵٪ وزنی پلی اتیلن گلیکول (وزن مولکولی ۶۰۰۰ دالتون) در دمای ۳۰۸ K دارای بهترین ضریب توزیع پذیری ( $0.005 \pm 0.059$ ) در فاز پایین می‌باشد.

### مشخصات مقاله

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۳۰ مهر ۱۳۹۹

دریافت پس از اصلاح: ۱۶ خرداد ۱۴۰۰

پذیرش نهایی: ۶ تیر ۱۴۰۰

### کلمات کلیدی:

توزیع پذیری

سامانه دو فازی آبی

پلی اتیلن گلیکول

گلیسین

آرژنین

## ۱- مقدمه

اهمیت زیستی و صنعتی اسیدهای آمینه در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی به خوبی شناخته شده است. اسیدهای آمینه مولکول هایی زیستی هستند که واحدهای سازنده پروتئین ها و پپتیدها می باشند. این مولکولهای زیستی نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی دارند و بسیاری از عملکرد های مهم بدن از جمله ساختار سازی سلولها را انجام میدهند. اسیدهای آمینه نقش ویژه ای در نقل و انتقال و ذخیره سازی مواد غذایی در بدن ایفا می کنند و بر روی عملکرد اندام ها، غدد، تاندون ها و عروق تأثیر می گذارند. همچنین در بهبود زخم ها و ترمیم بافت ها به خصوص در عضلات، استخوان ها، پوست و مو نقش قابل توجهی دارند و برای از بین بردن مواد زائد به وجود آمده در ارتباط با سوخت و ساز بدن بسیار ضروری می باشند و در سلامت بدن نقش مفیدی را بازی می کنند [۱]. گلايسين ساده ترین اسید آمینه در تمام سلول های زنده است. گلايسين نقش مهمی در تنظیم سوخت و ساز، تقویت سیستم ایمنی، واکنش های آنتی اکسیدانی و عملکرد عصبی دارد و در درمان بیماری هایی نظیر سرطان، دیابت، بیماری های قلبی و عروقی و انواع بیماری های التهابی کاربرد فراوانی دارد [۲]. آرژنین یک آلفا اسید آمینه غیر ضروری است که با تقویت عملکرد سامانه دفاعی بدن، رشد تومورها و پیشرفت سرطان را به تاخیر می اندازد و زمان ترمیم و بهبود بافت های آسیب دیده را تسریع می بخشد. همچنین در حذف آمونیاک از بدن، کاهش بیماری های قلبی، کمک به کاهش فشار خون و افزایش توانایی دستگاه تولید مثل بسیار موثر است [۳].

روش های استخراج و جداسازی اسیدهای آمینه از منابع آن که عمدتاً زیستی می باشند متفاوت است. اما آنچه دارای اهمیت ویژه ای است تعیین یک روش جداسازی مناسب و اقتصادی می باشد. در بین روشهای جداسازی روش استخراج مایع - مایع دارای بیشترین پتانسیل، بازده و خلوص می باشد و دارای مزایایی مانند ظرفیت بالاتر و انتخاب پذیری بهتر است. استخراج مایع - مایع روشی برای جداسازی است که اساس آن اختلاف حلالیت جزء مورد نظر در دو حلال غیرقابل امتزاج در یکدیگر است. به نظر می رسد آنچه در این روش دارای اهمیت بسیار بالایی است. ویژگی ها و خصوصیات حلال مورد نظر است. سیستم استخراج با حلال روش مناسبی برای جداسازی گونه مورد نظر از مخلوطی از گونه ها می باشد، اما معایبی مانند سمیت و قابلیت اشتعال حلالهای آلی، عوامل استخراج کننده

مختلف و هزینه ی بالای استفاده از این حلال ها در حجم زیاد باعث شده است که تلاش های زیادی جهت جایگزین کردن سامانه های جدید در کاربرد های صنعتی صورت بگیرد. در طول دهه گذشته، حجم قابل توجهی از تحقیقات بر روی سامانه های دو فاز آبی بوده اند. سامانه های دو فاز آبی به عنوان یک روش تغلیظ یا جداسازی مواد زیستی می تواند یکی از روش های پرکاربرد و مهم برای استخراج اسیدهای آمینه باشد. توزیع پذیری مولکول های زیستی در این سامانه ها با نیروی بین مولکولی صورت میگیرد و امکان توصیف آن توسط مدل های رایج در تعادل مایع - مایع قابل دستیابی است [۴،۵]. سامانه های دو فاز آبی جزو روش های استخراج مایع - مایع قرار دارد و شامل توزیع مولکول های زیستی / املاح / محصولات از یک فاز آبی به فاز دیگر است. به طور معمول این سامانه ها توسط زوج های مختلف حل شونده (پلیمر - پلیمر، پلیمر - نمک یا نمک - نمک) تشکیل می شوند و در حالتی که بالاتر از غلظت های مشخص این حل شونده ها در آب باشد، سیستم به دو فاز تقسیم می شود [۶].

همچنین، به دلیل حضور درصد آب زیاد، این سامانه ها محیطی ملایم و زیست سازگار برای جداسازی مولکولهای زیستی فراهم می کنند [۷]. این سامانه ها نسبت به سایر روشهای جداسازی مزایای ویژه ای دارد که از جمله آن می توان به: قیمت اقتصادی کم، ویسکوزیته پایین، اختلاف چگالی بیشتر بین فاز ها و در دسترس بودن مواد و سهولت کار در آزمایشگاه را نام برد [۸]. پلی اتیلن گلیکول یکی از پلیمرهایی است که در تشکیل سامانه های دو فاز آبی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. پلی اتیلن گلیکول نشان داده است که از نظر زیستی یک ماده ایمن می باشد و سمیت بسیار پایینی دارد [۹،۱۰].

سامانه های دو فاز آبی بر پایه پلیمر - نمک توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. مس ون برلو و همکاران رفتار توزیع پذیری اسیدهای آمینه سرین، گلايسين، آلانین، والین، میتونین، ایزولوسین و فنیل آلانین در سامانه های دو فاز آبی توسط نمک های فرار بی کربنات آمونیوم، کاربامات آمونیوم و محلول آمونیاک و پلی اتیلن گلیکول با وزن های مولکولی ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ را بررسی نمودند [۱۱].

توزیع پذیری اسیدهای آمینه آلانین، والین و لوسین در سامانه های دو فاز آبی شامل پلی پروپیلن گلیکول و سولفات

سامانه‌های دو فاز آبی شامل پلیمر- نمک می باشد. همچنین به منظور تعیین بهترین شرایط جهت جداسازی آرژنین و گلیسین اثرات پارامترهایی مانند: دما، درصد وزنی نمک، درصد وزنی پلیمر و وزن مولکولی پلیمر بر روی ضریب توزیع پذیری گلیسین و آرژنین مورد بررسی قرار گرفته است. سامانه دو فاز آبی مورد مطالعه در این تحقیق شامل پلی اتیلن گلیکول با وزن های مولکولی ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ دالتون و نمک های سولفات سدیم و تری سیترات سدیم می باشد.

## ۲- مواد و روش تحقیق

### ۲-۱ مواد مورد استفاده

در این تحقیق نمک های سولفات سدیم و تری سدیم سیترات و اسید آمینه های ال-آرژنین و گلیسین با خلوص ۹۹٪ از شرکت مرک و پلی اتیلن گلیکول با جرم مولی ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ دالتون با خلوص ۹۹٪ از شرکت سیگما-آلدریج تهیه گردید.

### ۲-۲ روش تحقیق

#### ۲-۲-۱ تعیین منطقه دوفازی

به منظور بررسی رفتار فازی سامانه‌های دو فاز آبی از نمودار فازی استفاده می‌شود. نمودارهای فازی مرز بین منطقه تک فازی و منطقه دوفازی همچنین درصد اجزای تعادلی در دو فاز را مشخص می‌کنند. در این پژوهش برای انجام آزمایش‌ها نقاطی در محدوده دو فازی، بر اساس داده های گزارش شده در منحنی فازی در مقالات انتخاب گردید. از نمودار دو فاز برای سامانه پلی اتیلن گلیکول با وزن های مولکولی ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ دالتون و نمک سدیم سیترات استفاده شده است [۲۰]. همچنین از نمودار دو فاز مربوط به سامانه متشکل از پلی اتیلن گلیکول و نمک سولفات سدیم استفاده شده است [۲۱].

#### ۲-۲-۲ تعیین ضریب توزیع پذیری اسیدهای آمینه

ضریب توزیع پذیری اسید آمینه ( $K_{AA}$ ) به صورت نسبت غلظت اسید آمینه در فاز غنی از پلیمر (فاز بالا) به فاز غنی از نمک (فاز پایین) می باشد که توسط رابطه زیر محاسبه میگردد: [۲۲].

$$K_{AA} = \frac{[AA]_T}{[AA]_B} \quad (1)$$

T و B به ترتیب نشان دهنده، فاز بالا و فاز پایین می باشند. برای آماده سازی سامانه‌های دو فاز آبی شامل پلی اتیلن گلیکول- نمک و بررسی میزان توزیع پذیری اسیدهای آمینه در این سامانه‌ها و بررسی عوامل موثر بر روی توزیع پذیری

منیزیم در دمای ۲۹۸/۱۵ کلوین توسط صلابت و همکاران مورد بررسی قرار گرفت [۱۲]. همچنین صلابت و همکاران توزیع پذیری اسید آمینه تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین را در سامانه‌های دوفازی آبی بر پایه پلیمر و نمک های معدنی مطالعه کردند [۱۳]. میرسیاقی و همکاران میزان توزیع پذیری اسید آمینه ال- لیزین منوهیدروکلرید را در سامانه‌های دوفازی آبی شامل پلی اتیلن گلیکول با وزن های مولکولی ۴۰۰۰ یا ۱۰۰۰۰ و دو نمک شامل دی پتاسیم هیدروژن فسفات و تری سدیم سیترات اندازه گیری نمودند. اثرات دما، pH، غلظت نمک و پلیمر، وزن مولکولی پلیمر و نوع نمک بر روی توزیع پذیری ال- لیزین هیدروکلرید در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت [۱۴]. همچنین صلابت و همکاران رفتار توزیع پذیری اسید آمینه میتونین را در سامانه دوفازی آبی بر پایه پلیمر و نمک های سدیم فسفات بررسی نمودند و اثرات طول خط رابط، نوع نمک، دما و اثر توابع ترمودینامیکی نظیر آنتالپی، آنتروپی وانرژی گیبس را بر روی ضریب توزیع پذیری بررسی کردند [۱۵]. دراگانا و همکاران رفتار توزیع پذیری یازده اسیدهای آمینه (گلیسین، آلانین، لوسین، فنیل آلانین، لیزین، آرژنین، هیستیدین، اسید آسپارتیک، اسید گلوتامیک، گلوتامین و سرین) را در سامانه‌های دوفازی آبی بر پایه پلیمر/پلیمر بررسی نمودند و یک مدل جدید برای ضرایب توزیع پذیری در سامانه های دو فاز آبی پلیمر / پلیمر ارائه دادند [۱۶].

در این تحقیق از یک سامانه دو فاز آبی بر پایه پلیمر و نمک استفاده شده است. نمکهای سولفات سدیم و تری سدیم سیترات به علت عدم سمیت انتخاب شدند [۱۷]. این نمک ها دارای ویژگیهایی همچون زیست تخریب پذیر، حلالیت عالی، میزان واکنش پذیری کم و پایداری مناسب میباشند [۱۸، ۱۹]. اگرچه تا کنون توجه فراوانی به کاربرد سامانه های دو فاز آبی بر پایه پلیمر- نمک بر روی انواع مولکولهای زیستی صورت گرفته است، با این وجود تاثیر پارامترهای مختلف در سامانه‌های پلی اتیلن گلیکول به همراه نمک های آلی و معدنی برای اسیدهای آمینه گلیسین و آرژنین محدود بوده است. مطابق دانش ما و بررسی مقالات منتشر شده در زمینه اسیدهای آمینه گلیسین و آرژنین در سامانه‌های دو فاز آبی، تحقیقی در خصوص اثر نمکهای تری سدیم سیترات و سولفات سدیم و اثر دماهای مختلف بر روی این دو اسید آمینه گزارش نشده است [۱۶، ۱۱]. از طرفی با توجه به اینکه مطالعه و شناخت رفتار توزیع پذیری اسیدهای آمینه کمک زیادی به جداسازی و خالص سازی آن ها خواهد نمود، لذا هدف در این تحقیق بررسی توزیع پذیری اسیدهای آمینه گلیسین و آرژنین توسط

### ۳- نتایج و بحث

هدف از این تحقیق بهبود کارایی استخراج و توزیع پذیری اسیدهای آمینه گلايسين و آرژنین در سامانه‌های دوفازی آبی است. در این مطالعه اثر درصد وزنی اجزای تشکیل دهنده دو فاز و دما بر روی توزیع پذیری اسیدهای آمینه بررسی گردید. هدف از این کار دست یابی به حالت بهینه سامانه به هدف طراحی و پیشنهاد یک سامانه کاری برای جداسازی این اسیدهای آمینه می‌باشد. در این تحقیق ضریب توزیع پذیری گلايسين و آرژنین به عنوان مولکول‌های زیستی پر کاربرد در صنایع غذایی و دارویی در سه دمای مختلف ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ کلوین در چند سامانه مختلف دو فازی آبی به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت: پلیمر ۶۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۸۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰ + سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰ + سولفات سدیم + آب. تاثیر پارامترهایی نظیر درصدوزنی نمک، درصدوزنی پلیمر و دما بر روی ضریب توزیع پذیری اسیدهای آمینه مورد بررسی قرار گرفته است.

#### ۳-۱-۱ توزیع پذیری گلايسين

##### ۳-۱-۱-۱ بررسی تاثیر درصد وزنی پلیمر:

داده‌های تجربی توزیع پذیری گلايسين و تاثیر درصدهای وزنی مختلف پلیمر در جدول ۱ گزارش شده است. درصد وزنی نمک سولفات سدیم و تری سیترات سدیم به ترتیب ۱۰٪ و ۱۴٪ است. نتایج برای هر دو وزن مولکولی پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ و دو نمک تری سدیم سیترات و سولفات سدیم گزارش شده است. کلیه آزمایشات با سه تکرار انجام شد و میانگین ضریب توزیع پذیری و انحراف معیار (STDEV) در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج تجربی نشان داد که در هر چهار سامانه: پلیمر ۶۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۸۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰ + سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰ + سولفات سدیم + آب در دماهای ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ کلوین با افزایش درصد وزنی پلیمر، ضریب توزیع پذیری گلايسين کاهش پیدا می‌کند. دلیل این کاهش تاثیر دو عامل مختلف افزایش آبگریزی فاز غنی از پلیمر و کاهش حجم قابل دسترس در این فاز است. با افزایش طول زنجیر پلیمر برای یک غلظت مشخص، تعداد گروه‌های هیدروکسیل کمتری در دسترس است و در نتیجه آبگریزی فاز غنی از پلیمر افزایش می‌یابد [۷]. از طرفی گلايسين یک اسید آمینه ای است که با آب پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. بنابراین

اسیدهای آمینه از یک راهکار مشخص استفاده شده است. یک نقطه کاری در ناحیه دو فازی برای اندازه گیری ضریب توزیع پذیری اسیدهای آمینه در نظر گرفته شد. براساس تجارب قبلی قوانین زیر برای تعیین ترکیب اجزای مخلوط (نقطه کاری) در نظر گرفته شد: الف) نقطه کار در ناحیه مایع - مایع (نه مایع جامد) انتخاب شد. ب) به منظور سهولت در جداسازی دو فاز و نمونه گیری از دو فاز، نقطه کار براساس حجم یکسان فازهای بالا و پایین تعیین گردید. ج) زمان جداسازی فازهای بالا و پایین وابسته به فاصله نقطه کار تا نقطه بحرانی بر روی منحنی بینودال است. د) اگر حجم فاز با ویسکوزیته بالا (فازغنی از پلیمر) از فاز با ویسکوزیته کمتر (فاز غنی از نمک) بیشتر باشد زمان جدایش بین دوفاز افزایش خواهد یافت [۲۳].

بدین منظور برای هر سامانه درصد وزنی پلیمر و نمک، نوع نمک، دما و وزن های مولکولی پلیمر ثابت می‌باشد و در هر یک از این سامانه‌ها با تغییر یکی از این عوامل و ثابت نگه داشتن بقیه عوامل اثر تغییر متغیر مستقل مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس ابتدا نمونه‌های مختلفی شامل وزن های مختلف نمک و پلی اتیلن گلیکول و وزن تقریبی ۰/۰۱ اسید آمینه به همراه حجم مشخصی از آب دیونیزه با استفاده از ترازوی چهار رقم اعشار (مارک مکس مدل ADAM ساخت کشور کره جنوبی) ساخته شد. سپس با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۵ دقیقه همزده شد تا سامانه دو فازی شود. سامانه دو فازی آبی تشکیل شده برای رسیدن به حالت تعادل ۲۴ ساعت در حالت سکون در آن حرارتی (مدل ممرت ساخت کشور آلمان) در دماهای ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ کلوین قرارداد شد تا دو فاز به طور کامل از هم جدا شوند. سپس فازهای بالا و پایین به کمک پیپت پاستور جدا شد و در شیشه های سرپوش دار جداگانه جهت اندازه گیری pH و تعیین توزیع پذیری ریخته شد. میزان غلظت اسیدهای آمینه در هر دو فاز بالا و پایین با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (ساخت شرکت شیمادزو آلمان مدل UV ۱۸۰۰) در طول موج ماکزیمم، برای گلايسين (۲۰۰ نانومتر) و برای آرژنین (۲۰۷ نانومتر) اندازه گیری گردید.

به منظور تکرار پذیری و بررسی صحت و دقت نتایج از هر محلول حداقل سه نمونه تهیه گردید و انحراف معیار داده ها مورد بررسی قرار گرفت.

## اندازه گیری و مطالعه توزیع پذیری اسیدهای آمینه آرژنین و گلیسین در سامانه دوفازی آبی پلی اتیلن گلیکول و نمک

سديم بيشتر از يك است. اين امر نشان مي دهد كه تغيير نوع نمك بر روي توزيع پذيري اين اسيد آمينه تاثير مي گذارد. لازم به ذكر است كه آنيون اين دو نمك متفاوت هستند اما كاتيون هاي آنها مشترك است. مطابق با سري هافميستر نمك تری سدیم سیترات با داشتن آنیون با سه بار منفی در مقایسه با نمک سولفات سدیم با داشتن آنیون با دو بار منفی دارای توانایی اثر خروج نمک بیشتری است. در نتیجه آنیون های با بار یونی منفی بیشتر نسبت به آنیون های با بار کمتر آب پوشی بیشتری دارند و باعث آب زدایی سریع تر پلیمر می شود.

با افزایش درصد وزنی پلی اتیلن گلیکول، تمایل مهاجرت گلیسین به فاز غنی از نمک افزایش پیدا می کند. افزایش غلظت گلیسین در فاز پایین باعث کاهش ضریب توزیع پذیری آن می شود.

مطابق داده های تجربی گزارش شده در جدول ۱ مشاهده می شود که ضریب توزیع پذیری گلیسین در سامانه دوفازی آبی شامل پلی اتیلن گلیکول و نمک تری سدیم سیترات کمتر از یک است. در حالی که ضریب توزیع پذیری گلیسین در سامانه دوفازی آبی شامل پلی اتیلن گلیکول و نمک سولفات

جدول (۱) اثر درصدهای وزنی مختلف پلیمر بر روی توزیع پذیری گلیسین در درصد وزنی ثابت نمکها

فاز پایین pH	فاز بالا pH	انحراف معیار	توزیع پذیری	pH پایین	pH بالا	انحراف معیار	توزیع پذیری	وزن پلیمر (%)	دما (k)
تری سدیم سیترات (۱۴٪ درصد وزنی)					(Da) ۸۰۰۰ = وزن مولکولی پلیمر				
۷/۶۷	۷/۷۰	۰/۰۰۱	۰/۱۴۳	۷/۸۲	۷/۶۱	۰/۰۰۵	۰/۱۳۸	۱۵	۲۹۸
۷/۶۲	۷/۷۷	۰/۰۰۱	۰/۰۹۵	۷/۷۷	۷/۶۶	۰/۰۰۵	۰/۰۹۶	۲۰	۲۹۸
۷/۶۳	۷/۷۹	۰/۰۰۱	۰/۰۶۹	۷/۸	۷/۷۸	۰/۰۰۲	۰/۰۶۴	۲۵	۲۹۸
۷/۶۰	۷/۷۸	۰/۰۰۴	۰/۱۲۹	۸/۱۱	۷/۸۹	۰/۰۰۳	۰/۱۱۹	۱۵	۳۰۳
۷/۶۶	۷/۷۲	۰/۰۰۲	۰/۰۸۶	۸/۱	۷/۹۱	۰/۰۳۲	۰/۱۱۲	۲۰	۳۰۳
۷/۶۵	۷/۸۲	۰/۰۰۱	۰/۰۵۷	۸/۱۲	۷/۹۲	۰/۰۰۷	۰/۰۵۸	۲۵	۳۰۳
۷/۵۹	۷/۹۱	۰/۰۰۹	۰/۱۲۶	۷/۹۲	۷/۸۶	۰/۰۰۹	۰/۱۱۱	۱۵	۳۰۸
۷/۶۱	۷/۹۴	۰/۰۰۴	۰/۰۹	۸/۱	۷/۹۱	۰/۰۰۱	۰/۰۷۵	۲۰	۳۰۸
۷/۵۸	۷/۸۳	۰/۰۰۰	۰/۰۶۳	۸/۱۲	۷/۷	۰/۰۰۳	۰/۰۵۷	۲۵	۳۰۸
سولفات سدیم (۱۰٪ درصد وزنی)									
۸/۱۶	۷/۸۶	۰/۰۸۳	۱/۷۹۱	۸/۲۷	۶/۹۵	۰/۰۸۳	۱/۵۶۳	۱۵	۲۹۸
۸/۰۱	۷/۷۵	۰/۲۲۳	۱/۶۲۱	۸/۱۱	۷/۱۳	۰/۰۹۴	۱/۴۶۴	۲۰	۲۹۸
۸/۰۳	۷/۳۸	۰/۰۴۰	۱/۵۸۲	۷/۹۲	۷/۱۴	۰/۰۳۶	۱/۴۲۶	۲۵	۲۹۸
۷/۷۶	۷/۶۳	۰/۱۶۶	۱/۸۱۹	۷/۰	۷/۵۲	۰/۲۴۸	۱/۶۸۵	۱۵	۳۰۳
۷/۵۲	۷/۴۱	۰/۰۰۰	۱/۵۶۸	۷/۰۴	۷/۲۳	۰/۰۶۶	۱/۶۵۲	۲۰	۳۰۳
۷/۷۲	۷/۳۸	۰/۱۵۴	۱/۴۶۲	۶/۸۶	۶/۹۹	۰/۱۱۸	۱/۴۴۵	۲۵	۳۰۳
۷/۹۹	۷/۵۶	۰/۱۰۱	۲/۰۱۳	۷/۷۰	۷/۹۸	۰/۰۱۸	۱/۴۵۶	۱۵	۳۰۸
۷/۸۱	۷/۴۰	۰/۰۶۱	۱/۷۶۴	۷/۴۵	۷/۸۱	۰/۱۵۱	۱/۴۳۲	۲۰	۳۰۸
۷/۶۷	۷/۲۹	۰/۰۳۰	۱/۷۰۳	۷/۶۸	۷/۳۴	۰/۲۵۸	۱/۲۷۶	۲۵	۳۰۸

### ۲-۱-۳ بررسی تاثیر درصد وزنی نمک

تکرار انجام شد و میانگین ضریب توزیع پذیری و انحراف معیار (STDEV) در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده در دماهای ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ کلین مشاهده می شود که ضریب توزیع پذیری گلیسین با افزایش درصد وزنی

ضرایب توزیع پذیری اسیدهای آمینه گلیسین و آرژنین در درصدهای وزنی مختلف دو نمک تری سدیم سیترات و سولفات سدیم زمانی که درصد وزنی پلی اتیلن گلیکول در ۲۰٪ ثابت است در جدول ۲ گزارش شده است. کلیه آزمایشات با سه

آنیون های با ظرفیت بیشتر نسبت به آنیون های با ظرفیت کمتر آبیوشی بیشتری دارند و باعث آب زدایی سریعتر پلیمر می گردد [۸].

سدیم سیترات دارای آنیون سه ظرفیتی و سولفات سدیم دارای آنیون دو ظرفیتی است. گلیسین یک اسید آمینه خاصی است که زنجیره جانبی ندارد بلکه به جای زنجیره جانبی فقط یک اتم هیدروژن دیگر به کربن آلفا متصل است. در نتیجه ویژگی های قطبی یا الکترونگاتیوی قابل توجهی ندارد. به عبارت دیگر گلیسین دارای هر دو سر آبگریز و آب دوست است که فاقد زنجیره جانبی است. بنابراین وقتی قدرت یونی سامانه به علت نوع نمک تغییر می کند رفتار توزیع پذیری گلیسین نیز تغییر می یابد .

نمک در سامانه های پلیمر ۶۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۸۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰ + سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰ + سولفات سدیم + آب کاهش می یابد. این نشان می دهد که با افزایش غلظت نمک قدرت یونی در فاز پایین افزایش می یابد. از آنجایی که در سامانه های حاوی نمک تری سدیم سیترات ضریب توزیع پذیری گلیسین کمتر از یک است، نشان دهنده تمایل مهاجرت گلیسین به فاز پایین یعنی فاز غنی از نمک می باشد. در صورتی که در سامانه های حاوی نمک سولفات سدیم ضریب توزیع پذیری گلیسین از یک بیشتر است که نشان دهنده تمایل مهاجرت گلیسین به فاز بالا یعنی فاز غنی از پلیمر می باشد. دلیل آن می تواند نوع نمک سولفات سدیم نسبت به نمک تری سدیم سیترات باشد. زیرا با افزایش بار آنیون ویسکوزیته محلول آبی نمک افزایش می یابد.

جدول (۲) اثر تغییر درصدهای مختلف وزنی نمک ها بر روی توزیع پذیری گلیسین در درصد وزنی ثابت پلیمر (۲۰٪)

فاز پایین pH	فاز بالا pH	انحراف معیار	توزیع پذیری	وزن نمک (%)	دما (k)
سولفات سدیم					
تری سدیم سیترات					
۶۰۰۰ (Da) = وزن مولکولی پلیمر					
۷/۸۰	۷/۴۰	۰/۰۵۶	۱/۴۰۸	۱۰	۲۹۸
۸/۱۲	۷/۲۷	۰/۰۵۹	۱/۳۲۷	۱۲	۲۹۸
۸/۸۳۵	۷/۲۲	۰/۰۰۲	۱/۳۲۴	۱۴	۲۹۸
۷/۳۰	۷/۲۴	۰/۰۰۱	۱/۵۴۱	۱۰	۳۰۳
۷/۶۷	۷/۱۶	۰/۱۳۱	۱/۵۳۵	۱۲	۳۰۳
۷/۴۷	۷/۵۶	۰/۰۰۴	۱/۴۲۴	۱۴	۳۰۳
۷/۵۶	۷/۲۲	۰/۰۳۰	۱/۴۸۰	۱۰	۳۰۸
۷/۷۱	۷/۱۸	۰/۱۱۱	۱/۴۱۱	۱۲	۳۰۸
۷/۹۹	۷/۷۴	۰/۰۱۷	۱/۳۷۲	۱۴	۳۰۸
۸۰۰۰ (Da) = وزن مولکولی پلیمر					
۷/۹۰	۷/۱۴	۰/۰۸۵	۱/۵۲۲	۱۰	۲۹۸
۸/۱۰	۷/۰۰	۰/۰۷۰	۱/۵۱۵	۱۲	۲۹۸
۸/۱۴	۷/۷۰	۰/۰۳۰	۱/۵۱۴	۱۴	۲۹۸
۷/۵۶	۷/۰۴	۰/۱۷۷	۱/۷۹۱	۱۰	۳۰۳
۷/۶۳	۷/۵۰	۰/۱۳۸	۱/۶۹۹	۱۲	۳۰۳
۷/۸۰	۷/۶۷	۰/۱۰۱	۱/۶۴۸	۱۴	۳۰۳
۷/۳۳	۷/۱۲	۰/۰۴۲	۱/۷۹۸	۱۰	۳۰۸
۷/۴۲	۷/۴۳	۰/۰۴۳	۱/۵۷۵	۱۲	۳۰۸
۷/۷۵	۷/۶۲	۰/۰۱۰	۱/۵۷۰	۱۴	۳۰۸

نمک در فاز پایین باعث به دام انداختن تعداد بیشتری از مولکول‌های گلیسین می‌شود که منجر به کاهش توزیع پذیری گلیسین می‌گردد.

#### ۳-۱-۴ بررسی تاثیر خط رابط

یکی از پارامترهای مهم برای ارزیابی خواص سامانه‌های دوفازی آبی جهت اختلاف ترکیب دو فاز در حال تعادل، طول خط رابط است. برای ارزیابی تاثیر خط رابط بر توزیع پذیری اسیدهای آمینه نقاط مختلفی با غلظت‌های مختلف اجزا در منطقه دوفازی انتخاب شد. طول خط رابط مطابق رابطه زیر تابعی از ترکیب غلظت اجزا در فازهای بالا و پایین می‌باشد که با تغییر هریک از این پارامترها می‌توان تمایل اسید آمینه را به هریک از فازهای بالا و پایین اصلاح نمود.

$$TLL (\%) = \sqrt{(W_1^T - W_1^B)^2 + (W_2^T - W_2^B)^2} \quad (2)$$

که در آن  $W_1^T$  و  $W_1^B$  به ترتیب درصد وزنی جز  $i$  در فاز بالا و فاز پایین و  $TLL$  طول خط رابط را نشان می‌دهند. خط رابط که دارای واحد درصد وزنی می‌باشد، معیاری برای دوری و یا نزدیکی به نقطه بحرانی است.

در جدول ۳ مقادیر خطوط رابط و ضرایب توزیع پذیری گلیسین در درصدهای وزنی مختلف نمک و پلیمر در دمای ۲۹۸ کلون گزارش شده است. با توجه به جدول ۳ در تمامی سامانه‌ها با افزایش طول خط رابط ضرایب توزیع پذیری در درصدهای وزنی مختلف نمک و پلیمر کاهش یافته است. همچنین در تمامی سامانه‌ها در درصدهای وزنی مختلف پلیمر (زمانی که درصد وزنی نمک ثابت است) با کاهش  $\alpha$  (نسبت جرم فاز بالا به جرم کل)، ضرایب توزیع پذیری گلیسین کاهش پیدا کرده؛ در صورتی که در درصدهای وزنی مختلف نمک (زمانی که درصد وزنی پلیمر ثابت است) با افزایش  $\alpha$  توزیع پذیری کاهش یافته است.

تاثیر سه دمای مختلف ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ کلون بر روی ضریب توزیع پذیری گلیسین در درصدهای وزنی مختلف دو پلیمر با وزن‌های مولکولی ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ زمانی که درصد وزنی نمک سولفات سدیم ۱۰٪ و نمک تری سدیم سیترات ۱۴٪ ثابت است در جدول ۱ گزارش شده است. داده‌های تجربی بر اساس سه تکرار میباشد و عدم قطعیت در انتهای جدول نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که در چهار سیستم پلیمر ۶۰۰۰+ تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۸۰۰۰+ تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰+ سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰+ سولفات سدیم + آب افزایش دما روند معنی‌دار و چشمگیری بر توزیع پذیری گلیسین نداشته است. اثر دما بر روی توزیع پذیری مولکول‌های زیستی و آنزیم‌ها پیچیده است، زیرا ترکیب اجزا در هر فاز، اثرات الکتروستاتیک و اثر آب‌گریزی با دما همراه هستند. دما اثر غیرمستقیمی بر روی آنتروپی مولکول‌های آب در برخورد آن‌ها با پلیمر دارد و می‌تواند توزیع پذیری مولکول زیستی را تحت تاثیر قرار دهد [۲۴].

همانطور که در جدول ۲ گزارش شده است داده‌های تجربی تاثیر سه دمای مختلف ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ کلون بر توزیع پذیری گلیسین در درصدهای وزنی مختلف دو نمک تری سدیم سیترات و سولفات سدیم وقتی درصد وزنی پلیمرها در ۲۰٪ ثابت است، نشان می‌دهد که در سه سامانه پلیمر ۸۰۰۰+ تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰+ سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰+ سولفات سدیم + آب افزایش دما تاثیر مستقیم و چشمگیری بر مقدار توزیع پذیری گلیسین نداشته است. در صورتی که در سامانه پلیمر ۶۰۰۰+ تری سدیم سیترات + آب افزایش دما سبب کاهش ضریب توزیع پذیری گلیسین شده است. دما می‌تواند باعث تغییر در حلالیت اجزاء وزنی ترکیب های فازهای بالا و پایین در حال تعادل شود. به همین دلیل می‌توان گفت که با افزایش دمای سامانه درصد وزنی نمک در فاز پایین افزایش و در فاز بالا کاهش پیدا می‌کند. افزایش غلظت

جدول (۳) خطوط رابط در درصدهای وزنی مختلف سامانه‌ها برای اسیدآمینه گلایسین در خوراک در دمای ۲۹۸ کلون

خطوط رابط									
توزیع پذیری	آلفا	طول خط رابط	غلظت نمک(%)	غلظت پلیمر(%)	توزیع پذیری	آلفا	طول خط رابط	غلظت نمک(%)	غلظت پلیمر(%)
پلیمر ۸۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب					پلیمر ۶۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب				
۰/۱۴۳	۰/۵۶۴	۴۰/۸۷۲	۱۴/۰۵۰	۱۵/۰۳۹	۰/۱۳۸	۰/۵۶۶	۱۴/۰۹۳	۱۴/۰۱۹	۱۵/۰۱۹
۰/۰۹۵	۰/۵۱۳	۴۸/۵۶۷	۱۴/۰۴۶	۲۰/۰۲۷	۰/۰۹۶	۰/۴۹۷	۱۴/۰۳۳	۲۰/۰۸۸	۲۰/۰۸۸
۰/۰۶۹	۰/۴۳۹	۵۳/۸۱۸	۱۴/۰۷۴	۲۰/۰۶۷	۰/۰۶۴	۰/۴۳۵	۱۴/۰۳۱	۲۵/۰۰۸	۲۵/۰۰۸
۰/۱۸۳	۰/۳۷۹	۴۷/۶۱۳	۱۰/۰۹۲	۲۰/۰۹۷	۰/۱۶۸	۰/۳۶۸	۱۰/۰۹۵	۲۰/۱۲۹	۲۰/۱۲۹
۰/۱۲۴	۰/۴۳۸	۴۲/۴۶۹	۱۲/۰۳۲	۲۰/۰۷۱	۰/۱۳۲	۰/۴۴۴	۱۲/۰۷۱	۲۰/۰۹۶	۲۰/۰۹۶
۰/۰۹۶	۰/۴۸۵	۴۷/۴۷۲	۱۴/۰۳۲	۲۰/۱۲۱	۰/۰۹۱	۰/۵۰۸	۱۴/۱۵۶	۲۰/۱۰۴	۲۰/۱۰۴
پلیمر ۸۰۰۰ + سولفات سدیم + آب					پلیمر ۶۰۰۰ + سولفات سدیم + آب				
۰/۴۰۱	۰/۵۰۷	۳۶/۲۸۲	۱۰/۰۷۵	۱۵/۰۶۲	۱/۵۶۳	۰/۵۶۲	۳۸/۰۷۹	۱۵/۰۳۷	۱۵/۰۳۷
۰/۳۶۲	۰/۴۷۵	۴۲/۶۵۹	۱۰/۰۳۷	۲۰/۰۵۴	۰/۴۶۴	۰/۴۹۴	۴۳/۹۶۵	۱۹/۹۹۷	۱۹/۹۹۷
۰/۳۴۴	۰/۴۳۱	۴۹/۶۹۰	۱۰/۰۶۳	۲۵/۱۱۱	۱/۴۲۶	۰/۴۳۵	۴۹/۶۶۱	۲۵/۰۸۰	۲۵/۰۸۰
۱/۵۲۲	۰/۴۸۸	۴۳/۶۳۱	۱۰/۰۳۹	۲۰/۰۳۴	۱/۴۰۸	۰/۴۸۴	۴۳/۸۹۲	۲۰/۱۱۶	۲۰/۱۱۶
۱/۵۱۵	۰/۵۳۴	۴۷/۹۷۳	۱۲/۰۳۹	۱۹/۹۶۳	۱/۳۲۷	۰/۵۰۶	۴۷/۲۸۴	۲۰/۰۷۴	۲۰/۰۷۴
۱/۵۱۴	۰/۵۵۰	۵۱/۶۹۳	۱۴/۱۴۹	۲۰/۰۷۹	۱/۳۲۴	۰/۵۲۰	۴۸/۸۵۸	۲۰/۰۸۲	۲۰/۰۸۲

عدم قطعیت:  $u(\text{wt.\%}) = \pm 0.03$ ;  $u(100\text{TLL}) = \pm 0.02$ 

## ۲-۳ توزیع پذیری آرژنین

## ۲-۳ بررسی نتایج تاثیر درصد وزنی پلیمر

بازده جداسازی و استخراج در یک سامانه دوفازی آبی ارتباط زیادی به درصد اجزای تشکیل دهنده دوفاز همجوار دارد. با تغییر درغلظت پلیمر میتوان افزایش یا کاهش توزیع پذیری مولکول زیستی را مورد ارزیابی قرار داد. نتایج توزیع پذیری آرژنین در درصدهای وزنی مختلف پلیمر وقتی درصد وزنی نمک سولفات سدیم ۱۰٪ و نمک تری سدیم سیترات ۱۴٪ ثابت است در جدول ۴ گزارش شده است. کلیه آزمایشات با سه تکرار انجام شد و میانگین ضریب توزیع پذیری و انحراف معیار (STDEV) در جدول ۴ ارائه شده است. داده های تجربی نشان می دهد که در سامانه های پلیمر ۶۰۰۰ + تری سدیم

سیترات + آب، پلیمر ۸۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰ + سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰ + سولفات سدیم + آب ضریب توزیع پذیری آرژنین با افزایش درصد وزنی پلیمر کاهش می یابد. اگرچه تغییر غلظت پلیمر در سامانه های دو فازی - آبی توزیع مولکول های زیستی در دوفاز را تغییر می دهد. افزایش غلظت پلیمر موجب اختلاف بیشتر تعداد کل مولکول ها در دو فاز و در نتیجه هدایت جزء مورد نظر به یک فاز خاص می شود [۷]. آرژنین آب دوست ترین اسید آمینه است [۲۵]. فاز پایین (فاز غنی از نمک) در مقایسه با فاز بالا (فاز غنی از پلیمر آبدوست تر) می باشد. تمایل آرژنین به فاز غنی از نمک (فاز پایین) نشان دهنده تعاملات مطلوب بین نمک و آرژنین است. آرژنین به دلیل داشتن عامل آمیدی که یک گروه آب



**اندازه گیری و مطالعه توزیع پذیری اسیدهای آمینه آرژنین و گلیسین در سامانه دوفازی آبی پلی اتیلن گلیکول و نمک**

دارای بار خالص مثبت است. این اسید آمینه دارای گروه R قطبی و بار خالص مثبت است.

دوست است یک اسید آمینه قطبی به شمار می‌رود. بنابراین آرژنین تمایل به مهاجرت به فاز غنی از نمک دارد و با افزایش درصد وزنی پلیمر به فاز غنی از آب دوست تر است مهاجرت می‌کند. آرژنین جزء اسید آمینه‌های بازی است و در pH خنثی

**جدول (۴) اثر درصدهای وزنی مختلف پلیمر بر روی توزیع پذیری آرژنین در درصد وزنی ثابت نمک ها**

فاز پایین pH	فاز بالا pH	انحراف معیار	توزیع پذیری	وزن پلیمر (%)	دما (k)	فاز پایین pH	فاز بالا pH	انحراف معیار	توزیع پذیری	وزن مولکولی پلیمر	
تری سدیم سیترات (۱۴٪ درصد وزنی)						(Da) = ۸۰۰۰ وزن مولکولی پلیمر					
۹/۸۳	۹/۰۱	۰/۰۰۸	۰/۱۴۶	۹/۸۶	۸/۸۴	۰/۰۰۰	۰/۱۳۸	۱۵	۲۹۸	۶۰۰۰	
۹/۸۷	۹/۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۹۹	۹/۹۱	۸/۸۲	۰/۰۰۲	۰/۰۹۰	۲۰	۲۹۸	۶۰۰۰	
۹/۸۶	۹/۲۹	۰/۰۰۱	۰/۰۶۷	۹/۸۱	۸/۹۳	۰/۰۰۱	۰/۰۷۹	۲۵	۲۹۸	۶۰۰۰	
۹/۹۰	۹/۲۳	۰/۰۱۷	۰/۱۳۹	۱۰/۰۵	۹/۲۰	۰/۰۰۳	۰/۱۲۶	۱۵	۳۰۳	۶۰۰۰	
۹/۹۲	۹/۳۴	۰/۰۰۹	۰/۰۹۶	۱۰/۰۲	۹/۲۴	۰/۰۰۰	۰/۰۸۸	۲۰	۳۰۳	۶۰۰۰	
۹/۷۴	۹/۳۱	۰/۰۰۵	۰/۰۶۴	۱۰/۰۳	۹/۲۵	۰/۰۰۴	۰/۰۶۱	۲۵	۳۰۳	۶۰۰۰	
۹/۸۵	۹/۱۴	۰/۰۱۰	۰/۱۳۵	۱۰/۰۳	۹/۴۳	۰/۰۰۶	۰/۱۱۵	۱۵	۳۰۸	۶۰۰۰	
۹/۸۱	۹/۱۶	۰/۰۰۵	۰/۰۸۳	۱۰/۰۴	۹/۴۷	۰/۰۰۰	۰/۰۷۶	۲۰	۳۰۸	۶۰۰۰	
۹/۷۹	۹/۲۳	۰/۰۰۹	۰/۰۶۴	۹/۹۶	۹/۰۸	۰/۰۰۵	۰/۰۵۹	۲۵	۳۰۸	۶۰۰۰	
سولفات سدیم (۱۰٪ درصد وزنی)											
۱۰/۸۲	۹/۵۷	۰/۰۱۶	۰/۴۰۱	۱۰/۰۲	۹/۱۱	۰/۰۳۸	۰/۴۱۵	۱۵	۲۹۸	۶۰۰۰	
۱۰/۸۴	۹/۵۹	۰/۰۰۴	۰/۳۶۲	۱۰/۰۵	۸/۷۵	۰/۰۳۸	۰/۴۱۳	۲۰	۲۹۸	۶۰۰۰	
۱۰/۸۰	۹/۶۱	۰/۰۱۰	۰/۳۴۴	۱۰/۰۷	۸/۸۳	۰/۰۶۰	۰/۳۰۷	۲۵	۲۹۸	۶۰۰۰	
۱۰/۵۴	۹/۵۳	۰/۰۹۲	۰/۹۸۰	۱۰/۱۲	۹/۲۰	۰/۰۰۶	۰/۳۳۸	۱۵	۳۰۳	۶۰۰۰	
۱۰/۴۹	۹/۳۴	۰/۰۸۶	۰/۸۶۳	۱۰/۰۷	۸/۹۷	۰/۰۹۱	۰/۲۲۹	۲۰	۳۰۳	۶۰۰۰	
۱۰/۷۴	۹/۲۸	۰/۰۷۰	۰/۸۲۲	۱۰/۱۱	۸/۸۰	۰/۰۷۷	۰/۱۹۵	۲۵	۳۰۳	۶۰۰۰	
۱۰/۴۳	۹/۴۶	۰/۰۰۹	۰/۵۰۶	۱۰/۰۴	۹/۲۸	۰/۰۶۳	۰/۶۴۳	۱۵	۳۰۸	۶۰۰۰	
۱۰/۶۸	۹/۳۴	۰/۰۸۸	۰/۵۰۵	۱۰/۱۴	۹/۵۴	۰/۰۸۴	۰/۶۴۰	۲۰	۳۰۸	۶۰۰۰	
۱۰/۵۱	۹/۳۲	۰/۰۱۱	۰/۵۰۵	۱۰/۰۷	۹/۵۹	۰/۱۵۶	۰/۶۳۹	۲۵	۳۰۸	۶۰۰۰	

**۲-۲-۳ بررسی نتایج تاثیر درصد وزنی نمک**

۸۰۰۰+ سولفات سدیم + آب منجر به کاهش ضریب توزیع پذیری آرژنین می‌گردد. کاهش ضریب توزیع پذیری آرژنین بیانگر آن است که غلظت آن در فاز غنی از نمک (فاز پایین) افزایش پیدا می‌کند. با توجه به ساختار مولکولی آرژنین این اسید آمینه از یک گروه آلفا آمینو، یک گروه اسید آلفا کربوکسیلیک و یک زنجیره مستقیم آلیفاتیک تشکیل شده است. آرژنین به علت وجود گروه آمید قطبی و آمینواسیدی آبدوست است [۲۴] به همین دلیل به فاز پایین که شامل نمک است مهاجرت بیشتری میکند. نقطه ایزوالکتریک آرژنین ۱۰/۷۵ می باشد [۲۶].

نتایج میزان توزیع پذیری آرژنین در درصدهای وزنی مختلف دو نوع نمک وقتی درصد وزنی پلیمرها ۲۰٪ ثابت است در جدول ۵ گزارش شده است. کلیه آزمایشات با سه تکرار انجام شد و میانگین ضریب توزیع پذیری و انحراف معیار (STDEV) در جدول ۵ ارائه شده است. آرژنین دارای ضریب توزیع پذیری کمتر از یک است و نشان دهنده این است که به فاز پایین یعنی فاز غنی از نمک تمایل دارد. داده های تجربی حاکی از آن است که با افزایش درصد وزنی نمک در چهار سامانه پلیمر ۶۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۸۰۰۰ + تری سدیم سیترات + آب، پلیمر ۶۰۰۰ + سولفات سدیم + آب و پلیمر



**اندازه گیری و مطالعه توزیع پذیری اسیدهای آمینه آرژنین و گلیسین در سامانه دوفازی آبی پلی اتیلن گلیکول و نمک**

در جدول ۶ مقادیر خطوط رابط و ضرایب توزیع پذیری آرژنین در درصدهای وزنی مختلف نمک و پلیمر در دمای ۲۹۸ کلوین گزارش شده است. داده های تجربی بر اساس سه تکرار میباشد و عدم قطعیت در انتهای جدول ۶ نشان داده شده است. با توجه به جدول ۶ در همه سامانهها با افزایش طول خط رابط ضرایب توزیع پذیری در درصدهای وزنی مختلف نمک و پلیمر کاهش پیدا کرده است. همچنین در همه سامانهها در درصدهای وزنی مختلف پلیمر (زمانی که درصد وزنی نمک ثابت است) با کاهش  $\alpha$  (نسبت جرم فازبالا به جرم کل)، ضرایب توزیع پذیری آرژنین کاهش یافته؛ در صورتی که در درصدهای وزنی مختلف نمک (زمانی که درصد وزنی پلیمر ثابت است) با افزایش  $\alpha$ ، توزیع پذیری کاهش یافته است.

دما می تواند اثر مستقیم یا غیر مستقیم بر آنژیوم مولکول های آب در واکنش با پلیمر را داشته باشد. بنابراین توزیع پذیری آرژنین را تحت تاثیر قرار می دهد بدین صورت که گاهی اوقات افزایش دما با کاهش ضریب توزیع پذیری رابطه دارد (مانند سامانه پلیمر ۶۰۰۰+ تری سدیم سترات+ آب) و گاهی افزایش دما تاثیر مستقیم بر روند توزیع پذیری نخواهد داشت مانند سه سامانه دیگر (پلیمر ۸۰۰۰+ تری سدیم سترات+ آب، پلیمر ۶۰۰۰+ سولفات سدیم + آب و پلیمر ۸۰۰۰+ سولفات سدیم + آب).

**۴-۲-۳ بررسی تاثیر خط رابط**

**جدول (۶) خطوط رابط در درصدهای وزنی مختلف سامانهها برای اسید آمینه آرژنین در خوراک در دمای ۲۹۸ کلوین**

خطوط رابط									
توزیع پذیری	آلفا	طول خط رابط	غلظت نمک (%)	غلظت پلیمر (%)	توزیع پذیری	آلفا	طول خط رابط	غلظت نمک (%)	غلظت پلیمر (%)
پلیمر ۶۰۰۰+ تری سدیم سترات+ آب					پلیمر ۸۰۰۰+ تری سدیم سترات+ آب				
۰/۱۴۶	۰/۵۴۸	۴۰/۱۶۵	۱۴/۵۴۲	۱۵/۰۶۴	۰/۱۳۸	۰/۵۰۷	۳۸/۲۷۴	۱۴/۲۷۶	۱۵/۲۲۴
۰/۰۹۹	۰/۴۷۷	۴۶/۴۳۵	۱۴/۲۲۴	۲۰/۱۳۳	۰/۰۹۰	۰/۴۴۵	۴۵/۰۴۳	۱۴/۱۱۸	۲۰/۰۰۷
۰/۰۶۷	۰/۴۲۸	۵۳/۶۸۳	۱۴/۰۸۱	۲۵/۱۱۲	۰/۰۷۹	۰/۳۹۲	۵۲/۲۰۳	۱۴/۱۵۸	۲۵/۱۷۸
۰/۱۸۲	۰/۳۴۰	۳۶/۵۹۳	۱۰/۱۵۰	۰/۰۹۳	۰/۱۷۷	۰/۳۴۸	۳۷/۰۳۲	۱۰/۱۱۳	۲۰/۱۳۸
۰/۱۲۱	۰/۴۱۱	۴۱/۵۰۸	۱۲/۳۲۴	۲۰/۰۵۹	۰/۱۲۲	۰/۴۲۴	۴۲/۰۱۳	۱۲/۱۸۴	۲۰/۰۷۱
۰/۱۰۴	۰/۵۰۹	۴۷/۱۰۸	۱۴/۱۵۰	۲۰/۰۸۷	۰/۰۹۶	۰/۴۶۸	۴۵/۹۹۵	۱۴/۱۵۵	۲۰/۰۸۴
پلیمر ۶۰۰۰+ سولفات سدیم + آب					پلیمر ۸۰۰۰+ سولفات سدیم + آب				
۱/۷۹۱	۰/۵۸۳	۳۹/۹۰۸	۱۰/۰۲۶	۱۵/۰۰۴	۰/۴۱۵	۰/۶۱۳	۳۷/۵۴۰	۱۰/۱۰۴	۱۵/۱۹۱
۱/۶۲۱	۰/۵۱۶	۴۵/۴۱۸	۱۰/۲۹۳	۲۰/۰۷۶	۰/۴۱۳	۰/۵۵۲	۴۷/۱۸۷	۱۰/۰۴۳	۲۰/۰۸۳
۱/۵۸۲	۰/۴۳۶	۵۰/۲۲۰	۱۰/۱۵۷	۲۵/۰۷۶	۰/۳۰۷	۰/۵۳۶	۵۱/۹۰۸	۱۰/۰۷۱	۲۵/۰۳۷
۰/۴۷۰	۰/۵۱۵	۴۵/۰۸۷	۱۰/۰۹۱	۲۰/۰۹۰	۰/۴۸۸	۰/۵۴۲	۴۶/۷۱۷	۱۰/۱۷۲	۲۰/۱۰۸
۰/۴۴۹	۰/۵۳۶	۴۶/۷۶۷	۱۲/۰۷۹	۲۰/۱۰۸	۰/۴۷۱	۰/۶۱۹	۵۰/۵۴۳	۱۲/۲۲۶	۲۰/۱۶۱
۰/۳۵۹	۰/۵۳۹	۵۰/۴۵۱	۱۴/۰۹۹	۲۰/۰۴۹	۰/۲۹۳	۰/۶۵۰	۵۲/۲۶۷	۱۴/۰۴۵	۲۰/۰۴۹

عدم قطعیت:  $u(\text{wt.\%}) = \pm 0.02$ ;  $u(100\text{TLL}) = \pm 0.04$

## ۴- نتیجه گیری

طول خط رابط باعث کاهش توزیع پذیری اسیدهای آمینه در سامانه دوفازی آبی مورد مطالعه شده است.

نتایج نشان داد که سامانه دوفازی آبی شامل ۱۰ درصد وزنی نمک سولفات سدیم و ۱۵ درصد وزنی پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۸۰۰۰ دالتون در دمای ۳۰۸ درجه کلونین دارای بیشترین ضریب توزیع پذیری گلیسین در فاز بالا میباشد. بنابراین میتواند به عنوان سیستم بهینه برای گلیسین در مقایسه با سایر سیستم ها انتخاب شود. اسید آمینه آرژنین تمایل به مهاجرت به فاز پایین را دارد بنابراین بیشترین غلظت آن در فاز پایین مربوط به سیستم شامل ۱۴ درصد وزنی نمک تری سترات سدیم و ۲۵ درصد وزنی پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۶۰۰۰ دالتون در دمای ۳۰۸ درجه کلونین میباشد که به عنوان سیستم بهینه برای این اسید آمینه انتخاب شد .

در این تحقیق ، توزیع پذیری اسیدهای آمینه گلیسین و آرژنین با استفاده از چهار سامانه دوفازی آبی شامل پلی اتیلن گلیکول ( ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ ) و دو نمک تری سدیم سترات و سولفات سدیم گزارش شده است. اثر درصدهای وزنی پلیمر، درصدهای وزنی نمک ، دماهای مختلف و خط رابط بر روی توزیع پذیری گلیسین و آرژنین بررسی شد. داده های تجربی نشان داد که با افزایش درصد وزنی پلیمر و نمک، ضرایب توزیع پذیری گلیسین و آرژنین کاهش داشت. پارامتر دما در برخی از سیستم ها اثر مستقیم داشته و با افزایش دما ضرایب توزیع پذیری کاهش یافته است در صورتی که در برخی از سیستم ها دما تاثیر معنی داری بر روند توزیع پذیری نداشته است. افزایش

## مراجع

- Recovery of Biomolecules”, Science and Technology, 1(1), 7-16.
- [9] Anisha A, souza D & Ranjita Shegokar (2016) “Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications”, Journal of Expert Opinion on Drug Delivery, 13:9, 1257-1275.
- [10] Harris J.M (2013) “Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical applications”, Department of Chemistry, University of Alabama in Huntsville.
- [11] Mos van Berlo, Marcel Ottens, Karel Ch.A.M. Luyben, Luuk A.M. van der Wielen (2000) “Partitioning behavior of amino acids in aqueous two-phase systems with recyclable volatile salts”, Journal of Chromatography B, 743, 317-325.
- [12] Salabat A , Abnosi M.H, and Bahar A.R (2007) “Amino acids partitioning in aqueous two-phase system of polypropylene glycol and magnesium sulfate”, Journal of Chromatography B, 858, 234-238.
- [13] Alireza Salabat, Mohammad H. Abnosi, and Ahmad Motahari (2008) “Investigation of Amino Acid Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems Containing Polyethylene Glycol and Inorganic Salts”, Journal of Chem. Eng. ,53(9), 2021-2018.
- [14] Mirsiaghi M , Pazuki Gh , Vossoughi M , and Iran Alemzadeh (2010) “Partitioning of L-Lysine Monohydrochloride in Aqueous Two-phase systems of poly(ethylene glycol) and Dipotassium Hydrogen Phosphate or Trisodium Citrate 5-Hydrate”, Journal of Chem. Eng., 55, 3005-3009.
- [15] Alireza salaat, Rahmat sadeghi, Somayeh Tiani Moghadam, Bahman Jamehbozorg (2011) “Partitioning of L-methionine in aqueous two-phase systems containing poly(propylene glycol) and sodium phosphate salts”, Journal of Chem. Thermodynamics 43, 1525-1529.
- [1] Joyce Irene Boye and Chockry Barbana (2012), Protein Processing in Food and Bioproduct Manufacturing and Techniques for Analysis, Published by John Wiley & Sons, Inc.
- [2] Weiwei Wang , Zhenlong Wu , Zhaolai Dai , Ying Yang , Junjun Wang , Guoyao Wu (2013) “Glycine metabolism in animals and humans: implications for nutrition and health”, Journal of Amino Acids, 45, 463-477.
- [3] Stechmiller JK, Childress B, Cowan L (2005) “Arginine supplementation and wound healing”, Nutrition in Clinical Practice, 20 (1), 52-61.
- [4] Shahla Shahriari, Sara Ghayour Doozandeh, and Gholamreza Pazuki (2012) “Partitioning of Cephalexin in Aqueous Two-Phase Systems Containing Poly(ethylene glycol) and Sodium Citrate Salt at Different Temperatures”, Journal of Chemical Engineering, 57, 256-262.
- [5] Iqbal M , Tao Y, Xie S, Zhu Y, Chen D, Wang X, Huang L, Peng D, Sattar A, Shabbir M. A. B, Hussain H. I, Ahmed S, Yuan Z ( 2016 ) “ Aqueous two-phase system (ATPS): an overview and advances in its applications”, Biol. Proced. Online 2016, 18, 1-18.
- [6] Behrad ghasemzadeh, shahla shahriari, gholamreza pazuki (2019) “Efficient separation of curcumin using tetra butyl phosphonium bromide /carbohydrates (sorbitol, fructose) aqueous two-phase system”, Journal of Fluid Phase Equilibria , 498, 51-58.
- [7] Tahereh Ebrahimi and Shahla Shahriari (2016) “Extraction of Betanin Using Aqueous Two-Phase Systems”, Journal of Chemical Society of Japan, 89, 565-572.
- [8] Raja S, Ramachandra Murty V, Thivaharan V, Rajasekar V, Ramesh V (2011) “Aqueous Two Phase Systems for the

- [16] Dragana P.C de Barros, Sara R.R Compos, Pedro P.Maderia, Ana M.Azevedo, Antonio M.Baptista, M.Raquel Aires-Barros (2014) "Modeling the partitioning of amino acids in aqueous two phase systems", *Journal of Chromatography A*, 1329,52-60.
- [17] Helmold von Plessen, Hoechst Aktiengesellschaft (2012) "Sodium Sulfates", Frankfurt/Main, Federal Republic of Germany.
- [18] Kang J, Hua X, Yang R, Chen Y, Yang H (2015) "Characterization of natural low-methoxyl pectin from sunflower head extracted by sodium citrate and purified by ultrafiltration", *Journal of Food Chem*,1;180,98-105.
- [19] Aedma M, Timpmann S, Ööpik V (2015) "Dietary sodium citrate supplementation does not improve upper-body anaerobic performance in trained wrestlers in simulated competition-day conditions", *Journal of Applied Physiol*,115(2),387-96.
- [20] Ana Glyk, Tomas Scheper, and Sascha Biutel (2014) "Influence of Different Phase-forming Parameters on the Phase Diagram of Several PEG-Salt Aqueous Two-phase Systems", *Journal of Chemical Engineering*, 59,850-859.
- [21] Shahla Shahriari, Manouchehr Vossoughi, Vahid Taghikhani, Ali Akbar Safekordi and Iran Alemzadeh (2010) "Experimental Study and Mathematical Modeling of Partitioning of  $\alpha$ -Amylase and Amyloglucosidase in PEG-Salt Aqueous Two-Phase Systems", *Journal of Chemical and Engineering*,55, 4968-4975.
- [22] Atousa Yazdabadi, Shahla Shahriari, Mania Salehifar (2019) "Extraction of caffeine using aqueous two-phase systems containing ionic liquid and sorbitol", *Journal of Fluid Phase Equilibria*, 502, 112287.
- [23] T. Abolghasembeyka, Sh. Shahriari , M. Salehifar (2017) "Extraction of stevioside using aqueous two-phase systems formed by choline chloride and  $K_3PO_4$ ", *Journal of Food and Bioproducts Processing*,102, 107-115.
- [24] K. Naganagouda, V. H. Mulimani, *Process Biochem* (2008) "Aqueous two-phase extraction (ATPE): an attractive and economically viable technology for downstream processing of *Aspergillus oryzae*  $\alpha$ -galactosidase", *Journal of Process Biochemistry*, 43 (11), 1293-1299.
- [25] Matsuyuki Shirota, Takashi Ishida, and Kengo Kinoshita (2008) "Effects of surface-to-volume ratio of proteins on hydrophilic residues: Decrease in occurrence and increase in buried fraction", *Journal of Protein Science* ,17,1596-1602.
- [26] Saranya Sundarraj, Samuel Justin Selvaraj Joseph, Vijay Solomon Rajadurai and Paul Wilson (2018) "L-arginine directed and ultrasonically aided growth of nanocrystalline hydroxyapatite particles with tunable morphology", *Journal of Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering*,538,270-279.

# Measurement and Study of Partitioning of Arginine and Glycine in Aqueous Two-Phase Systems Containing Polyethylene Glycol and Salt

Mozhdeh Karbalaee Hosseini Ghasvand<sup>1</sup>, Shahla Shahriari<sup>1\*</sup>, Gholamreza Pazuki<sup>2</sup>

1. Department of Chemical Engineering, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Chemical Engineering, Biotechnology Group, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

---

## ABSTRACT

In this study, the partitioning of glycine and arginine in aqueous two-phase systems (ATPSs) was measured. The aqueous two-phase systems containing polyethylene glycol with molecular weights of 8000 and 6000 (Da) and trisodium citrate and sodium sulfate were investigated. The effect of different weight percentages of salt, the weight percentages of polymer, and temperature on the partitioning of glycine and arginine at ambient pressure was investigated. The results showed that the partition coefficients of glycine and arginine decreased with an increasing weight percentage of salt and polymer. Also, as the tie line length increases, the partitioning of amino acids decreases. The results showed that glycine in ATPS containing sodium sulfate (10 wt%) and polyethylene glycol (15 wt%, molecular weight 8000 Da) at 308 K has the highest partition coefficient in the top phase ( $2.013 \pm 0.101$ ). Also, arginine in ATPS containing sodium triscitrate (14 wt%) and polyethylene glycol (25 wt%, molecular weight 6000 Da) at 308 K has the best partition coefficient ( $0.059 \pm 0.005$ ) in the bottom phase.

---

## ARTICLE INFO

---

### Article history:

Received: October 20, 2020

Received in revised form: June 6, 2021

Accepted: June 27, 2021

---

### Key words:

Partitioning

Aqueous two-phase system

Polyethylene Glycol

Glycine

Arginine

---

All right reserved.

\* Corresponding author  
shahla\_shahriari@yahoo.com

---