

УДК 54.066

UDC 54.066

02.00.00 Химические науки

Chemical sciences

**ИЗУЧЕНИЕ АДСОРБЦИИ НА КРАХМАЛЕ  
ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ,  
ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КОРНЯ ХРЕНА С ЦЕЛЮ  
СОЗДАНИЯ ЭНТЕРОСОРБЕНТА С  
АНТИОКСИДАНТНЫМИ СВОЙСТВАМИ**

**TO THE STUDY OF ADSORPTION OF  
ENZYME-ANTIOXIDANTS ON STARCHES  
DERIVED FROM HORSERADISH TO CREATE  
ENTEROSORBENT WITH ANTIOXIDANT  
PROPERTIES**

Капизова Альфия Мансуровна  
к.х.н., доцент

Kapizova Alfiya Mantsurovna  
Cand. Chem. Sci, docent

Садомцева Ольга Сергеевна  
к.х.н., доцент  
*Астраханский государственный университет,  
г. Астрахань*

Sadomtseva Olga Sergeevna  
Cand.Chem.Sci, docent

Реснянская Анна Станиславовна  
к.х.н., доцент  
*Астраханский государственный архитектурно-  
строительный университет, г. Астрахань*

Resnyanskaya Anna Stanislavovna  
Cand. Chem. Sci, docent  
*Astrakhan State Architecture Construction University,  
Astrakhan*

Арсланова Альбина Сабировна  
Учитель химии высшей категории  
*МБОУ г. Астрахани «Гимназия №4»*

Arslanova Albina Sabirovna  
Chemistry teacher of the highest category  
*MBEE of Astrakhan «Gymnasium №4»*

Статья посвящена изучению сорбции ферментов-антиоксидантов, содержащихся в корне хрена на крахмале с целью создания энтеросорбента с антиоксидантными свойствами. Для достижения поставленной цели нами были изучены изотермы сорбции, рассчитаны константы, термодинамические параметры (изменение энтальпии, энтропии и изобарно-изотермического потенциала); изучена кинетика сорбции ферментов-антиоксидантов на крахмале и рассчитаны основные характеристики. На основе полученных экспериментальных данных был разработан способ получения энтеросорбента - антиоксиданта на основе крахмала. Готовый сорбент представляет собой белый порошок с запахом и без вкуса. В воде и биологических жидкостях не растворяется. Энтеросорбент может быть использован для защиты желудочно-кишечного тракта человека и животных от самых разнообразных пероксидов и окислителей. Результаты данной работы станут основой для изучения антиоксидантных свойств полученного энтеросорбента

The article is devoted to studying adsorption of enzymes, antioxidants contained in horseradish root on starch to create enterosorbent with anti-oxidant properties. For this goal, we have studied adsorption isotherm calculated constants, thermodynamic parameters (change of enthalpy, entropy, and isobaric-isothermal potential); sorption kinetics of enzyme-antioxidants on starch and calculate the main characteristics. The method of producing of enterosorbent - antioxidant on based starches has been developed based on the experimental data. The ready sorbent is a white powder having no taste and smell. Insoluble in biological fluids and water. It is the solid component. The enterosorbent can be used to protect the gastrointestinal tract of humans and animals against a wide variety of oxidants and peroxide. The results of this work will form the basis for the study of the antioxidant properties of the resulting enterosorbent

Ключевые слова: ФЕРМЕНТЫ-АНТИОКСИДАНТЫ, ЭНТЕРОСОРБЕНТ, ЭНТЕРОСОБЕНТ-АНТИОКСИДАНТ

Keywords: ENZYME-ANTIOXIDANTS, ENTEROSORBENT, ENTEROSOBENT ANTIOXIDANT

Одним из способов защиты населения от различных оксидантов является использование энтеросорбентов, в состав которых входят и мощные биологические антиоксиданты.

Энтеросорбенты – особая группа медицинских препаратов, которые связывают присутствующие внутри желудочно-кишечного тракта экзогенные и эндогенные соединения, надмолекулярные клетки и структуры с профилактической или лечебной целью. Мощность энтеросорбента зависит от способности его поглощать как можно большее количество бактерий, токсичных веществ, металлов. Естественно, чем она выше, тем больше таких соединений удерживает препарат.

**Целью работы** явилось изучение адсорбции ферментов-антиоксидантов, полученных из корня хрена, на крахмале и создание энтеросорбента.

Для достижения поставленной цели было необходимо:

-изучить изотермы сорбции, рассчитать константы, термодинамические параметры (изменение энтальпии, энтропии и изобарно-изотермического потенциала);

- изучить кинетику сорбции ферментов-антиоксидантов на крахмале и рассчитать основные характеристики;

- разработать способ получения энтеросорбента - антиоксиданта на основе крахмала

### **Изучение статической сорбции антиоксидантов на крахмале**

*Изотермы сорбции.* В 30 конических колбочек емкостью 100 см<sup>3</sup> вносили от 0 до 30 см<sup>3</sup> вытяжки хрена, от 30 до 0 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и по 1 г крахмала. Встряхивали 1 час, давали отстояться, отбирали 10 см<sup>3</sup> осветленной верхней части раствора в другие 30 конических колбочек емкостью 100 см<sup>3</sup>. В отобранные пробы вносили 1 см<sup>3</sup> 0,05 М раствора пероксида водорода, 5 см<sup>3</sup> 1 %-ного раствора иодида калия, 2 см<sup>3</sup> 2 н. серной кислоты, 2 капли 1%-ного раствора молибдата аммония и 3 капли 1%-ного раствора крахмала. Через 1 мин оттитровывали выделившийся йод 0,02 н. раствором тиосульфата натрия. Опыты проводили при температурах 278, 288 и 298К. По результатам титрования строили изотермы сорбции, для

чего на графиках по вертикальной оси откладывали значения сорбции  $\Gamma$  (Е/г), а по горизонтальной – значения равновесных активностей, которую рассчитывали по формуле:

$$[E] = \frac{(V_0 - V_i) \cdot E \cdot C}{V_{\text{выт.}} \cdot m}$$

где  $V_0$  – объем водной вытяжки, оттитрованной тиосульфатом натрия, до сорбции, см<sup>3</sup>;  $V_i$  – объем водной вытяжки, оттитрованной тиосульфатом натрия, после сорбции, см<sup>3</sup>;  $C$  – концентрация раствора тиосульфата натрия (0,02 н.);  $V_{\text{выт.}}$  – рабочий объем водной вытяжки;  $m$  – масса сорбента (1 г),  $E$  – исходная активность водной вытяжки.

$$\Gamma = E - [E]$$

На рис. 1 приведены изотермы адсорбции ферментов-антиоксидантов на крахмале.

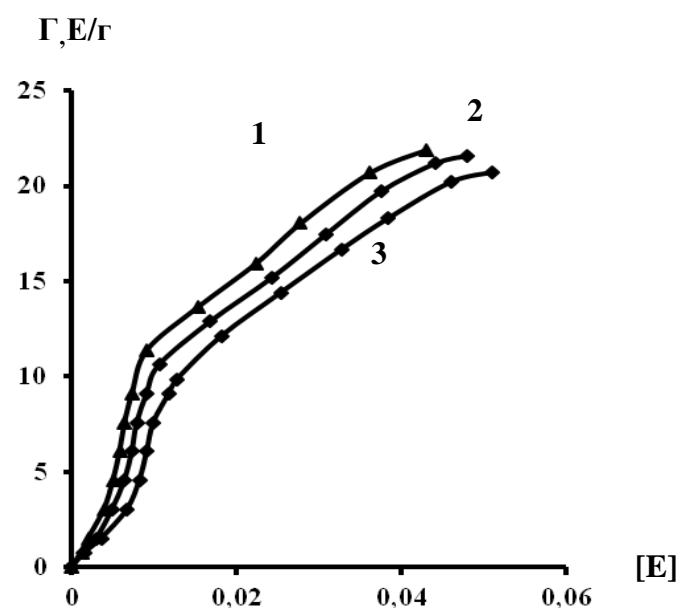


Рис. 1. Изотермы сорбции ферментов-антиоксидантов на крахмале из водной вытяжки хрена: 1- 298 К, 2 - 288 К, 3 - 278 К

Вид экспериментальных изотерм соответствует типу S-2, для которых применимо уравнение Фрумкина [1]:

$$B \cdot C = \frac{\theta}{1-\theta} \exp(-2 \cdot a \cdot \theta)$$

где  $B$  – константа сорбции;  $C$  – равновесная концентрация сорбата в растворе, величина  $C$  нами заменена на величину  $[E]$ ;  $\theta$  – степень заполнения

поверхности сорбента, которая определяется из отношения  $\Gamma/\Gamma_\infty$  при данной равновесной концентрации;  $\mathbf{a}$  – аттракционная постоянная, характеризующая энергию взаимодействия между адсорбированными молекулами.

Константа  $\mathbf{a}$  в уравнении (2) зависит от энергии взаимодействия между молекулами сорбата (пероксидазы,  $E_{A-A}$ ), молекулами растворителя в адсорбционном слое (воды,  $E_{S-S}$ ), и молекулами сорбата и растворителя ( $E_{A-S}$ ). Величину  $\mathbf{a}$  можно рассчитать по формуле [2]:

$$\mathbf{a} = - (6 E_{A-S} - 3E_{A-A} - 3E_{S-S})$$

В нашем случае, пероксидаза (и каталаза) образуют между собой водородные связи. Это относится так же к молекулам воды и соединениям воды и пероксидазы (каталазы). В таком случае, при подстановке в уравнение (3) численных величин  $E_{A-A}$ ,  $E_{A-S}$  и  $E_{S-S}$  величина  $\mathbf{a}$  равна нулю, а уравнение (2) становится более простым (уравнение Ленгмюра) :

$$\mathbf{V} \cdot \mathbf{C} = \frac{1}{1 - \theta} ; \quad \mathbf{V} \cdot [\mathbf{E}] = \frac{\theta}{1 - \theta}$$

Изотермы на рис.1 действительно описываются уравнением Фрумкина, но дело в том, что между адсорбированными молекулами, преобладающим видом связи являются водородные связи.

Расчеты  $\Gamma_\infty$  и констант сорбции  $K_{278}$ ,  $K_{288}$ ,  $K_{298}$  проводили с использованием уравнения Ленгмюра в прямолинейной форме:

$$\frac{1}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_\infty} + \frac{1}{\Gamma_\infty \cdot K} \cdot \frac{1}{c}$$

Для этого строили график в координатах обратной величины сорбции от обратной величины равновесной активности. Отрезок, отсекаемый от оси ординат  $1/\Gamma_\infty$ , а тангенс угла наклона прямой:  $tg\alpha = 1/\Gamma_\infty \cdot K$ .

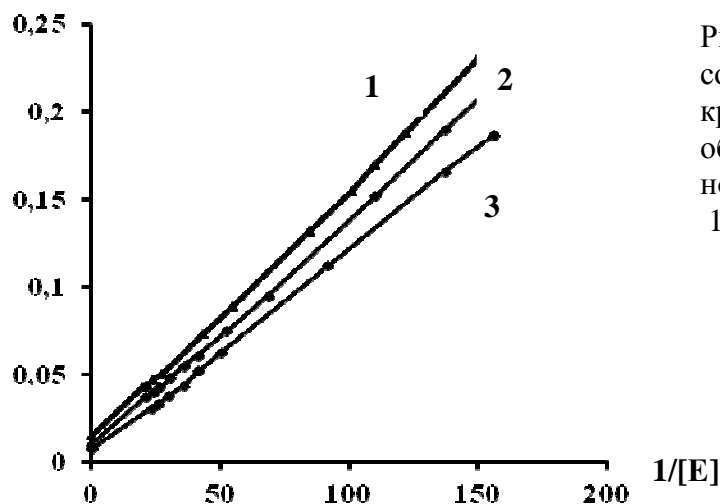


Рис. 2. Зависимость обратной величины сорбции ферментов-антиоксидантов на крахмале из водной вытяжки хрена от обратной величины равновесной активности.

1 – 278 К; 2 – 288 К; 3 – 298 К.

Различие в адсорбции при разных температурах позволило рассчитать термодинамические характеристики адсорбции: изменение энтальпии ( $\Delta H$ ), изобарно-изотермического потенциала ( $\Delta G$ ) и энтропии ( $\Delta S$ ), необходимые для трактовки механизма адсорбции.

Эффективность сорбционных процессов можно оценить по изменению энтальпии адсорбции. Энтальпию адсорбции ( $\Delta H$ ) рассчитывали с использованием уравнения

$$\Delta H = \frac{RT_i T_k \ln \frac{K_k}{K_i}}{T_k - T_i}$$

где  $T_i$  и  $T_k$  – две температуры,  $K_i$  и  $K_k$  – соответствующие им константы адсорбции.

Величина изобарно-изотермического потенциала  $\Delta G$  была рассчитана с использованием уравнения:

$$\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln B$$

По формуле:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

рассчитаны величины изменения энтропии сорбции для трех температур.

Результаты расчетов приведены в табл. 1.

Таблица 1.

**Основные термодинамические характеристики сорбции  
ферментов-антиоксидантов на крахмале**

Т, К	Константы сорбции, В	$\Gamma_{\infty}$ , Е/г	$-\Delta H$ , кДж/моль	$-\Delta G_{298}$ , кДж/моль	$-\Delta S_{298}$ , Дж/моль·К
278	6,06	66,7	17,9	4,46	42,7
288	7,58				
298	9,99				

Как видно из табл. 1., сорбционная емкость крахмала по отношению к ферментам-антиоксидантам находится на высоком уровне. Термодинамические характеристики сорбции убедительно свидетельствуют об образовании между сорбентом и сорбатом достаточно прочных связей.

Отрицательные значения изменений изобарно-изотермического потенциала и энтальпии свидетельствуют о самопроизвольном экзотермическом процессе.

**Изучение кинетики сорбции антиоксидантов на крахмале**

В чисто прикладном плане изучение кинетики сорбции дает возможность судить о времени, при котором практически все сорбируемое вещество будет поглощено сорбентом.

*Порядок выполнения работы.* Изучение скорости сорбции антиоксидантов проводили при трех температурах. В колбу емкостью 1000 см<sup>3</sup> вносили 500 см<sup>3</sup> вытяжки хрена и 20 г крахмала. Одновременно включали секундомер, содержимое колбы интенсивно перемешивали, отбирая по 10 см<sup>3</sup> осветленной верхней части раствора в конические колбы емк. 250 см<sup>3</sup>. Пробы отбирали тотчас (до внесения энтеросорбента) и через 10, 20, 30, 60, 120, 240, 360 с. Определяли содержание ферментов-антиоксидантов по методике, описанной в предыдущих опытах.

Результаты опытов приведены на рис. 3.

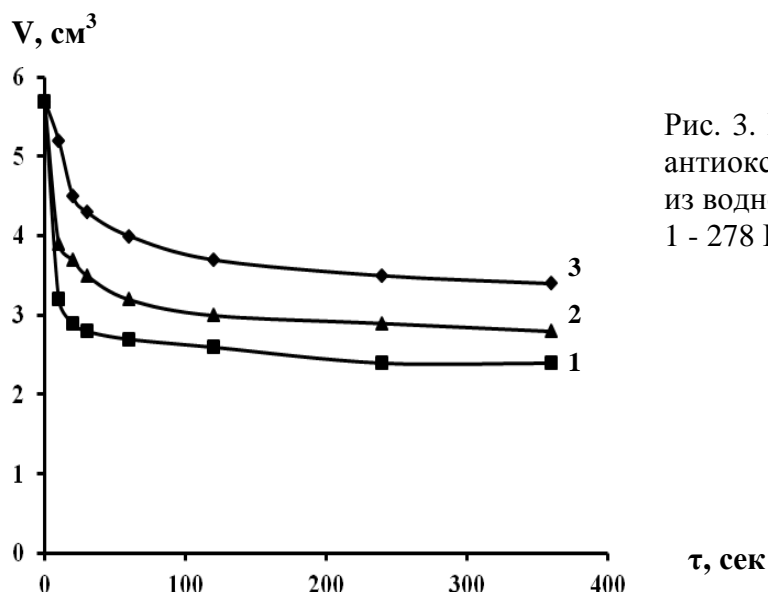


Рис. 3. Кинетика сорбции ферментов-антиоксидантов на крахмале из водной вытяжки хрена. 1 - 278 К, 2- 288 К, 3 - 298 К

Процесс сорбции представляет собой бимолекулярную реакцию, которую, в связи с избытком одного из компонентов - сорбента, можно представить как односторонний процесс, подчиняющийся кинетическому уравнению первого порядка.

Константы скоростей сорбции рассчитывали по уравнению:

$$K_i = \ln \frac{V_0}{V_i}$$

где  $V_0$  – объем титранта до начала сорбции ( $\tau = 0$ );  $V_i$  – объем титранта, затраченного по истечении времени  $\tau_i$ .

По данным кинетики сорбции были рассчитаны средние константы скоростей сорбции  $K_{278}$ ,  $K_{288}$  и  $K_{298}$ .

Используя уравнение Аррениуса в линейной форме

$$\ln K = \ln PZ_0 - \frac{E_{акт}}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

и рассчитанные значения констант скоростей сорбции, был построен графика в координатах «  $\ln K - 1/T$  »

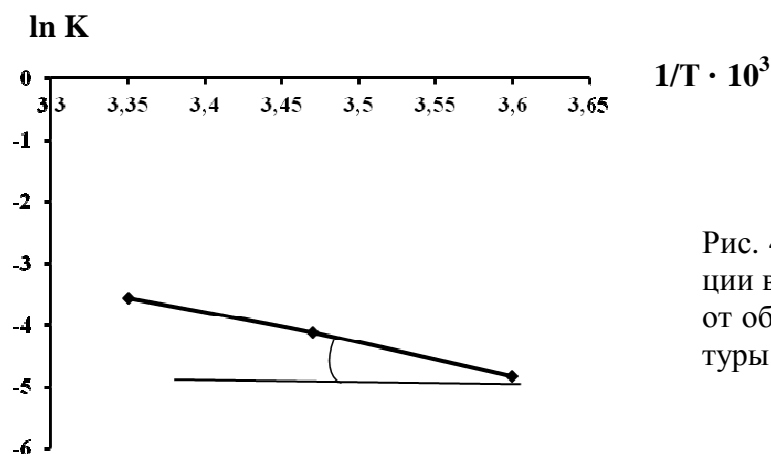


Рис. 4. Зависимость  $\ln K$  сорбции вытяжки хрена на крахмале от обратной величины температуры

Прямая (рис. 4.) отсекает от вертикальной оси отрезок, численно равный логарифму предэкспоненциального фактора ( $\ln PZ_0$ ) в уравнении Аррениуса:

$$K = PZ_0 \cdot e^{-E_{акт} / RT}$$

Тангенс угла наклона этой прямой:

$$tg \varphi = -\frac{E_{акт}}{R},$$

отсюда

$$E_{акт} = -R \cdot tg \varphi$$

С использованием уравнения Эйринга были рассчитаны изменения энтропии активации формирования активированного комплекса  $\Delta S^\#$  [3]:

$$\ln PZ_0 = 10,36 + \ln T + \frac{\Delta S^\#}{R}$$

Результаты расчетов приведены в табл. 2.

Таблица 2.

Основные характеристики кинетики сорбции ферментов - антиоксидантов на крахмале

T, K	Константы скоростей сорбции $K \cdot 10^2, c^{-1}$	$E_{акт},$ кДж/моль·K	$\ln PZ_0$	$-\Delta S^\#_{298},$ Дж/моль·K
278	0,8	31,16	3,3	106,1
288	1,8			
298	2,8			



Как видно из рис. 3., для сорбционных процессов при различных температурах характерен достаточно крутой начальный участок изотермы кинетики сорбции, уже в течение первых 5-30 минут контакта сорбируется подавляющее количество ферментов-антиоксидантов.

Изменение энтропии активации формирования активированного адсорбционного комплекса меньше чем изменение энтропии сорбции для случая наступления равновесия. Это означает, что механизм сорбции включает в себя две стадии. Первая стадия — это стадия закрепления антиоксиданта на сорбенте, согласно данным работы. Так как изменение энтропии для двух процессов отличается на небольшую величину, то возможным вариантом более устойчивого соединения является присоединение других групп к такому же кластеру.

С практической точки зрения важнейшим результатом является то, что ферменты-антиоксиданты с сорбента не вымываются водой. Это, в свою очередь, обеспечивает длительное функционирование антиоксиданта, так как он прочно закреплен на достаточно крупных частицах сорбента. Это позволяет использовать комплекс сорбент - антиоксидант как энтеросорбент.

Энтеросорбент на крахмале в воде и биологических жидкостях не растворяется, это твёрдый компонент, вероятно, его использование может ограничиваться защитой желудочно-кишечного тракта человека и животных от самых разнообразных пероксидов и окислителей.

### **Получение энтеросорбента**

Для получения энтеросорбента - антиоксиданта 2 кг тонкоизмельченного корня хрена вымачивали в 10 дм<sup>3</sup> воды в течение 5 часов. Водная вытяжка содержит практически все ферменты - антиоксиданты. В водную вытяжку, освобожденную от хрена, вносили крахмал в соотношении 5:1.

Выдерживали смесь при постоянном перемешивании 5 часов при температуре от 5 до 10° С, далее фильтровали через бязевые фильтры.

Водную вытяжку отбрасывали, а полученный мокрый сорбент переносили на стеклянную поверхность так, чтобы стекло лежало с небольшим (4–5°) наклоном. При этом избыток влаги легко сходит с сорбента. Сорбент высушивали в токе воздуха при 20-25° С до влажности около 5%.

Готовый сорбент представляет собой белый порошок с запахом и без вкуса. В воде и биологических жидкостях не растворяется.

Результаты данной работы станут основой для изучения антиоксидантных свойств полученного энтеросорбента.

### **Литература**

1. Нечаев Е. А. Хемосорбция органических веществ на оксидах и металлах // Х.: Высшая школа. Из-во при Харьк. ун-те, 1989. С. 144.
2. Мельвин-Хьюз Э. А. Физическая химия. Кн.1. Пер. с англ. // М.: Изд-во иностранной литературы, 1962. С. 520.
3. Алыкова Т. В., Алыков Н. М., Асанова Д. Р., Салмахаева А. М. Создание и изучение энтеросорбентов с жесткофиксированными антиоксидантами, обладающими ферментативными свойствами // Межвузовский сборник научных статей «Научный потенциал регионов на службу модернизации», Астрахань: ГАОУ АО ВПО «АИСИ», 2012. - №2 (3). С. 56-60

### **References**

1. Nechaev E. A. Hemosorbicija organicheskikh veshhestv na oksidah i metallah // H.: Vysshaja shkola. Iz-vo pri Hark. un-te, 1989. S. 144.
2. Mel'vin-H'juz Je. A. Fizicheskaja himija. Kn.1. Per. s angl. // M.: Izd-vo inostranoj literatury, 1962. S. 520.
3. Alykova T. V., Alykov N. M., Asanova D. R., Salmahaeva A. M. Sozdanie i izuchenie jenterosorbentov s zhestkofiksirovannymi antioksidantami, obladajushhimi fermentativnymi svojstvami // Mezhvuzovskij sbornik nauchnyh statej «Nauchnyj potencial regionov na sluzhbu modernizacii», Astrahan': GAOU AO VPO «AISI», 2012. - №2 (3). S. 56-60