

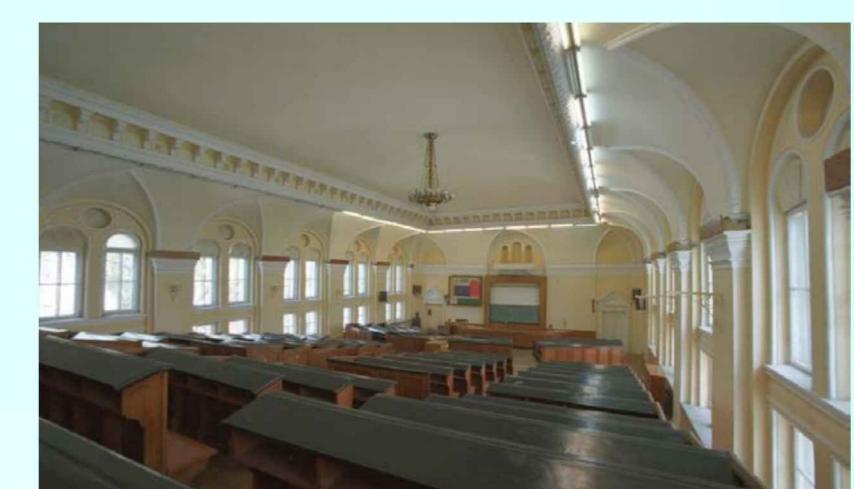
ТВЕРДОФАЗНО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕНЯ ФЕНІЛАЛАНІНУ В ПРИСУТНОСТІ ГІДРОФІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ



О.М. Рахлицька, Т.М. Щербакова, Д.В. Снігур

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
кафедра аналітичної та токсикологічної хімії

65089, Одеса, вул. Дворянська 2; e-mail: elenarahlickaa@gmail.com



Корпус факультету хімії та фармації

Фенілаланін слугує основним джерелом синтезу тирозину - попередника ряду біологічно важливих речовин: гормонів (тироксину адреналіну), деяких пігментів. Фенілаланін рекомендується як лікарський препарати та харчові добавки як антидепресантний, знеболюючий, протимігренозний засіб. Крім того, він покращує інтелектуальні функції, знімає залежність (алкоголь, кофеїн), пригнічує апетит, відновлює пігентацію шкіри та ін. У разі надлишку фенілаланіну розвивається фенілкетонурія. Тому важливо утримати концентрацію фенілаланіну в крові на допустимому безпечному для центральної нервової системи рівні. Визнано безпечним і таким, що не має побічних ефектів, споживання фенілаланіну в кількості від 100 до 500 мг.

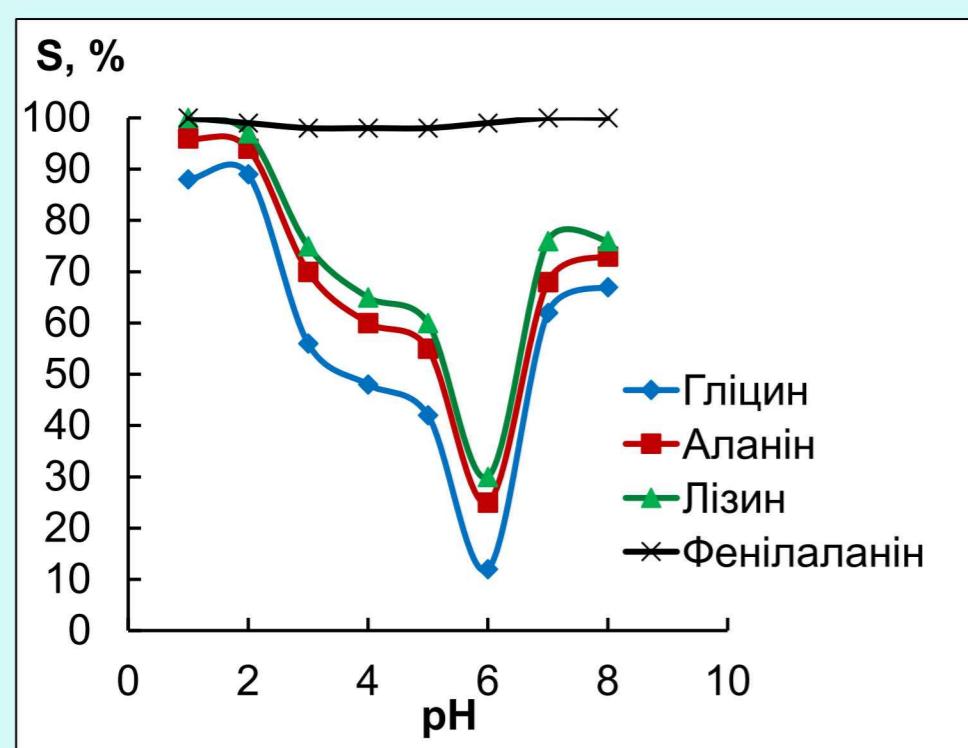
Тому одним із завдань аналітичного контролю амінокислотних об'єктів є надійне, просте та економічно рентабельне визначення фенілаланіну в суміші з іншими амінокислотами. Цього вимагають попередні скринінгові обстеження численних об'єктів на вміст фенілаланіну. Застосування у цих випадках таких фізико-хімічних методів як капілярний електрофорез, обернено-фазова та катіонообмінна ВЕРХ, часто економічно не віправдане та технічно складне.

Мета даної роботи – розробка твердофазно-спектрофотометричної методики визначення мікроконцентрацій фенілаланіну в суміші гідрофільних амінокислот (аланіну, гліцину, лізину, аспарагінової кислоти), після його попереднього сорбційного концентрування та виділення з використанням диметилхлорсиланаеросилу (ДМХСА) та наступного визначення методом спектроскопії дифузного відбиття (СДВ). Вирішення зазначененої проблеми можливе із застосуванням організованої системи (ОС) ДМХСА – полярний розчинник. Використання останньої засноване на поєднанні екстракційного та сорбційного процесів для тонкого поділу речовин з близькими фізико-хімічними властивостями, а також застосування сучасних сканер-технологій, кольорометрії та СДВ для прямого визначення амінокислоти на поверхні отриманих концентратів.

Фізико-хімічні характеристики компонентів гетерогенної системи та кількісні характеристики сорбції на поверхні ДМХСА

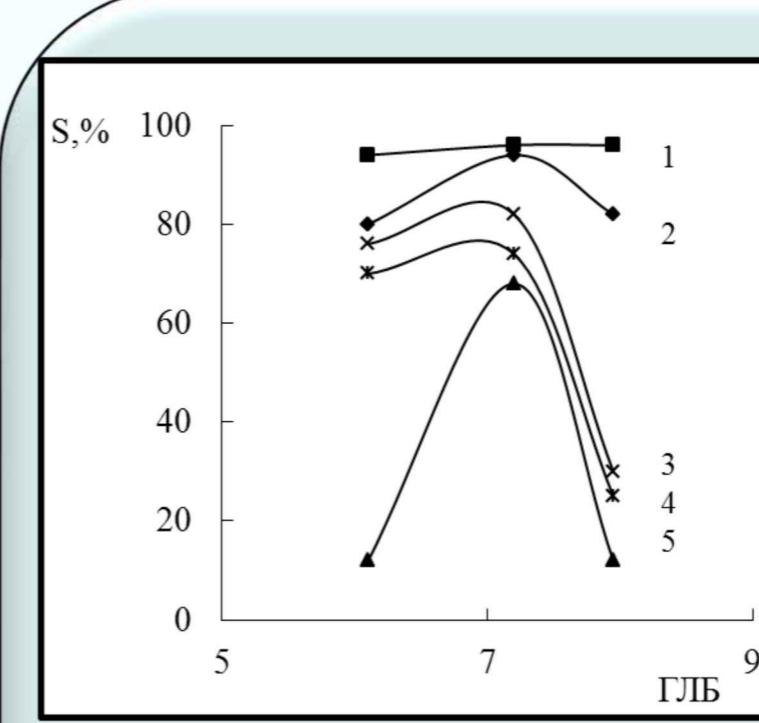
Характеристика сорбентів					Характеристика Сорбату та розчинника-гідрофілізатора				Ступінь сорбції (S, %) при pH 6		
Аеросил, Поверхневі групи	S _{уд.} , м ² /г	pH _{T.H.3}	C _{ОН-груп} ммол/м ²	K _{дис} ¹	K _{дис} ²	Сорбат	Формула	M моль/л	ГЛБ	A-300	ДМХСА
ДМХСА $\begin{array}{c} \text{Si-OH} \\ \\ \text{SiO-Si} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \text{Cl} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	300	2,5-3,5	0,05	$2,5 \pm 0,1 \cdot 10^{-6}$	$5,8 \pm 0,2 \cdot 10^{-7}$	Гліцин	$\text{H}_2\text{N}-\text{H}_2\text{C}-\text{COOH}$	75,07	10,33	46	12
						Лізин	$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$	146,19	9,83	57	30
						Аланін	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COOH}$	89,09	9,85	53	30
						Фенілаланін	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$	165,19	7,00	95	100

Залежність ступеню сорбції (S) амінокислот на поверхні ДМХСА-етанол від pH середовища

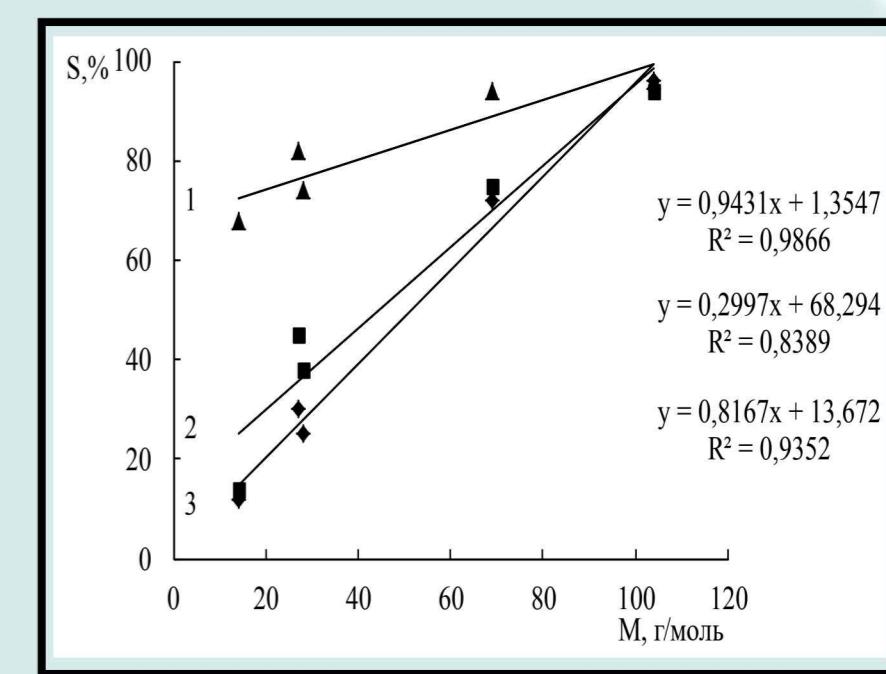


Розчинник	ε	Донорне число	Акцепторне число	ГЛБ
Вода	78,5	18	54,8	-
Етанол (Et)	24,3	19,6	37,9	7,95
Ацетонітрил (AcN)	48,9	28,9	19,3	6,1
Диметилсульфоксид (DMSO)	38,0	14,1	10,8	7,2

Аналіз залежностей ступеня сорбції амінокислот від pH з використанням ОС показав можливість виділення фенілаланіну із суміші зазначених амінокислот при pH_{опт} 6 ($m_{\text{сорбенту}} = 0,5$ г, $t = 30$ хв.) з подальшим його визначенням з нінгідрином безпосередньо у фазі ОС методом СДВ ($\lambda = 560$ нм, лінійність градуювального графіку $1,73 \cdot 10^{-5}$ – $3,15 \cdot 10^{-4}$ моль/дм³). Встановлено, що шар розчинника-гідрофілізатора (етанол, ацетонітрил) бере активну участь в екстракційно-сорбційних процесах на поверхні ДМХСА, а гідрофільно-ліпофільний баланс молекул розчинника впливає на ступінь сорбції амінокислот. Розроблена методика випробувана під час аналізу амінокислотного комплексу (Essential Amino).



Залежність ступеню сорбції (S) при pH=6 фенілаланіну (1), лізину (2), аланіну (3) та гліцину (4) від ГЛБ розчинників-гідрофілізаторів Et, (7,95) AcN (6,1), DMSO (7,2)



Вплив молекулярної маси радикалу амінокислот на ступінь їх сорбції при pH=6 для ДМХСА-AcN (1); ДМХСА-DMSO (2); ДМХСА-Et (3)

Результати сорбційно-спектрофотометричного визначення мікрокількостей фенілаланіну з нінгідрином при використанні ОС (ДМХСА – Et)

Модельні розчини (введено фенілаланіна), мкг/мл	Амінокислота	Склад суміші фенілаланін : амінокислота	Найдено фенілаланіна, мкг/мл
1	Аспарагінова кислота	1:10	0,90 ± 0,2
10		1:1	9,50 ± 0,9
20		10:1	22,0 ± 2,9
1	Гліцин	1:10	0,95 ± 0,3
10		1:1	9,80 ± 0,4
20		10:1	22,0 ± 4,9
1	Аланін	1:10	0,95 ± 0,4
10		1:1	9,90 ± 0,6
20		10:1	21,0 ± 1,9
1	Суміш амінокислот	1 : 1 : 1 : 1	1,10 ± 0,2

Колорометрична тест-шкала для візуально-колориметрического визначення фенілаланіну з нінгідрином на поверхні ДМХСА-етанол



C ₀ мкг/мл	Стандартна шкала	Координати кольору		
		Яскравість каналу R	Яскравість каналу G	Яскравість каналу B
1		115	60	115
5		113	70	116
10		87	52	94
12		74	37	81
15		67	45	109
20		82	51	121
50		28	8	61