

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИЗИНА В СМЕШАННЫХ РАСТВОРАХ α -АМИНОКИСЛОТ

Пысина М.В., Чернова Р.К., Гаврилова Ю.Ю.

Национальный Исследовательский Саратовский государственный университет
им. Н.Г.Чернышевского, г.Саратов, Астраханская 83

Email — pysina87@mail.ru

В процессе производства α -аминокислот, при диагностических исследованиях, изготовлении и проверке подлинности фармпрепаратов, востребованы специфические реакции на отдельные α -аминокислоты. В настоящее время специфические реакции известны для аргинина (реактив Сакагучи); гистидина и тирозина (реактив Паули); триптофана и пролина (изатин, реактив Эрлиха); цистеина (нитропруссид натрия). Для лизина специфических цветных реакций не описано. При определении лизина в смеси аминокислот обычно требуется его предварительное отделение. В настоящее время разделение с последующим определением до 16 - 18 α -аминокислот, включая лизин, проводится методами ВЭЖХ и капиллярного электрофореза после предварительной дериватизации. Однако решение частных аналитических задач применительно к определению лизина таким способом не доступно для многих рядовых клинических и аналитических лабораторий, а также экономически не оправдано. В связи с этим актуальна разработка простых, избирательных способов определения отдельных α -аминокислот, в том числе лизина, в их смешанных растворах.

Цель настоящего исследования - разработка избирательного фотометрического определения лизина в смешанных растворах α -аминокислот на основе электронно – спектроскопического исследования систем: нингидрин – α -аминокислоты — ПАВ. Исследовано влияние ряда факторов (времени нагрева (5 — 60 мин), температуры, (60 — 120° С), рН среды (1 — 12) и состава буферных сред, концентрации реактантов, добавок ПАВ (катионных, анионных, неионных) на спектральные характеристики продуктов взаимодействия 15 α -аминокислот с нингидрином. Установлено образование в кислых средах (рН=1 – 3) в присутствии мицеллярных концентраций цетилпиридиний хлорида (ЦП) аналитической формы, специфической для лизина ($\lambda_{\text{макс.}} = 480 \text{ нм}$). Оптимальными условиями являются: нагревание реакционной смеси при 100°С в течение 20 мин, ацетатно-аммиачный буферный раствор (рН=3,0 — 3,5); наличие $1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ раствора ЦП. Другие аминокислоты (основные, кислые, нейтральные) аналогичных изменений в спектрах в указанных интервалах рН не обнаруживают.

Показана возможность применения данной реакции для избирательного определения микрограммовых концентраций лизина в 8 смешанных растворах α -аминокислот разных классов. Установлены допустимые интервалы концентраций присутствующих α -аминокислот в смешанных растворах.

Высказаны соображения о природе наблюдаемых явлений. Известно, что взаимодействие α -аминокислот с нингидрином протекает по сложному механизму и до настоящего времени является дискуссионным. Согласно существующим представлениям, на первой стадии реакций α -аминокислот с нингидрином образуется 2-аминоиндандион, который участвует в двух параллельных реакциях. В одной из них он взаимодействует с нингидрином, с образованием двух продуктов: 2-гидроксииндандиона и 2-иминоиндандиона. Эти продукты конденсируются между собой, в результате чего образуется дикетогидринденкетогидринамин. Во второй реакции 2-иминоиндандион гидролизуеться в кислой среде до 2-гидроксииндандиона, который взаимодействует с нингидрином с образованием гидриндантина. Последний малорастворим в воде и выпадает в осадок, который растворяется в присутствии

мицелл ЦП, образуя желто — оранжевый раствор, обусловленный присутствием моляризованной формы гидриндантина, который и лежит в основе дальнейших избирательных определений лизина в смешанных растворах α -аминокислот.