

УДК 547.583.5

ЭКСТРАКЦИОННОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ТИРОЗИНА И ГЛИЦИНА**Пахомова О.А., Коренман Я.И.***Государственная технологическая академия, Воронеж*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

Разработан способ экстракционного разделения тирозина и глицина с применением тройной смеси гидрофильных растворителей. Для анализа неводного концентрата впервые применен метод капиллярного электрофореза. Полученные результаты свидетельствуют о возможности полного разделения тирозина и глицина при однократной экстракции.

В настоящее время производство аминокислот микробиологическими, ферментационными и химическими методами достигло промышленных масштабов. Это объясняется их широким применением в различных отраслях промышленности в качестве пищевых добавок, терапевтических средств, промежуточных компонентов органического синтеза [9]. Основная проблема получения аминокислот заключается в достаточно полном извлечении и разделении отдельных компонентов белковых гидролизатов и ферментационных растворов.

Разработка легкоосуществимых и экономически целесообразных способов разделения аминокислот относится к приоритетным биотехнологическим и аналитическим задачам. Решение задачи возможно методом жидкостной экстракции с применением смеси гидрофильных растворителей. Сведения о количественных характеристиках экстракции физиологически активных соединений необходимы для обоснования условий их извлечения, концентрирования, разделения и селективного определения, в частности, при непрерывной ферментации аминокислот, пептидов, белков [8].

Для разработки способа разделения тирозина и глицина изучена экстракция этих аминокислот из водных растворов тройной смесью гидрофильных растворителей (бутиловый спирт – этилацетат – ацетон). Гидрофильные растворители и их смеси имеют известные преимущества по сравнению с гидрофобными растворителями: повышенная растворяющая способность по отношению к аминокислотам,

возможность разделения тирозина и лизина в зависимости от соотношения компонентов в смеси и определения аминокислот в экстракте электрофоретическим методом. Капиллярный электрофорез отличается высокой точностью определений, экспрессностью, малым расходом реактивов [1,3].

Обязательным условием применения гидрофильных растворителей в качестве экстрагентов является насыщение водной фазы электролитом, снижающим растворимость распределяемых соединений в воде в результате гидратации. Изучено высаливание тирозина и глицина в системах с сульфатами, хлоридами, нитратами лития, калия, натрия. Установлено, что сульфат лития – наиболее эффективный высаливатель изучаемых аминокислот, практически нерастворим в применяемых экстрагентах.

Тирозин и глицин экстрагировали из насыщенных водно-солевых растворов по известной методике [6]. Концентрат анализировали с применением системы капиллярного электрофореза «Капель-105» снабженного источником высокого напряжения положительной полярности. Содержание тирозина и глицина в концентрате определяли с помощью встроенного фотометрического детектора при длине волны 254 нм. Запись и обработку полученных данных осуществляли с применением программного обеспечения «МультиХром». Анализ проводили при напряжении +23 кВ и температуре $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Для разделения тирозина и глицина в капилляре в качестве добавки к фоновому электролиту применяли боратный буферный

раствор ($pH = 9,18$). При таком pH аминокислоты существуют в виде анионов и таутомеров с биполярной ионизированной структурой, поэтому возможно получение электрофореграммы тирозина и глицина с четким разрешением (рис.1).

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения ($R, \%$) тирозина и глицина вычисляли по известным формулам [4].

Основанием для разделения тирозина и глицина служат различия в коэффициентах распределения в системе насыщенный водно-солевой раствор аминокислот – тройная смесь гидрофильных растворителей [2]. Установлено, что коэффициенты распределения аминокислот зависят от соотношения компонентов в смеси растворителей. Для применения тройных смесей растворителей в качестве экстра-

гентов необходимо оптимизировать соотношение отдельных компонентов в таких смесях. Решение задачи связано с получением большого массива экспериментальных данных. Ранее нами оптимизирован состав тройной смеси гидрофильных растворителей методом симплекс-решетчатого планирования эксперимента и разработаны системы, в которых достигаются максимальные коэффициенты распределения аминокислот [4,5]. На основании этих данных моделировали такой состав смеси гидрофильных растворителей, при котором достигается 97%-ное и более полное извлечение глицина, а тирозин в основном полностью остается в водном растворе.

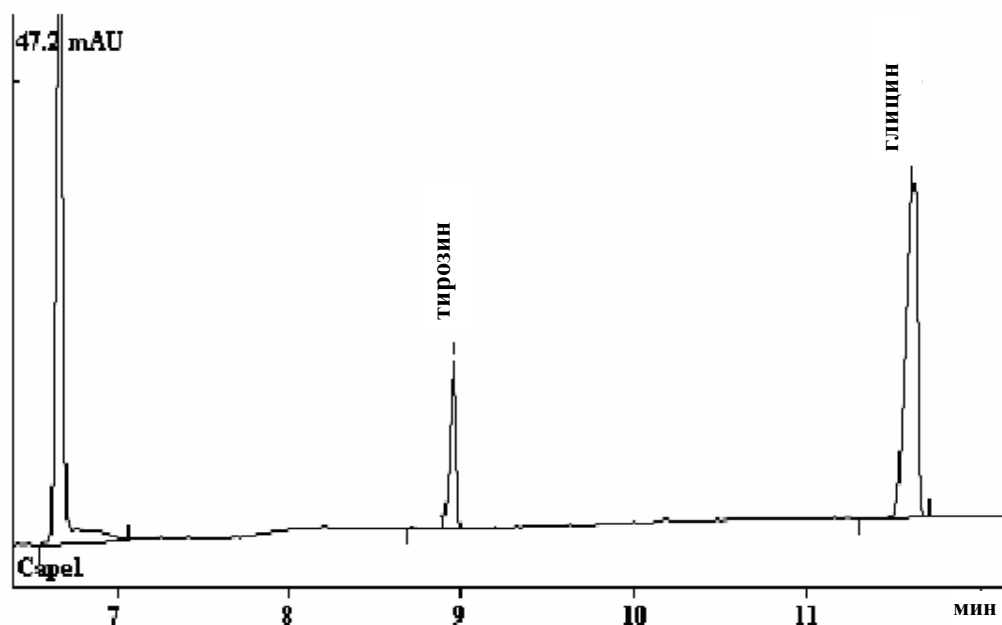


Рис.1. Электрофореграмма тирозина и глицина

Одним из факторов, влияющим на разделение аминокислот, является pH водного раствора. Тирозин и глицин экстрагировали из подкисленных водно-солевых растворов ($pH \sim 5$). В таких условиях тирозин находится в растворе в виде биполярного иона, глицин – практически полностью в экстрагируемом (неионизированном) состоянии. Механизм экстракции глицина, содержащего протонодонорные и протоноакцепторные функциональные группы, определяется как их природой, так и взаимным расположением заместителей.

Глицин экстрагируется смесью гидрофильных растворителей из водно-солевых растворов за счет образования межмолекулярных водородных связей, причем сольватация amino- и карбоксигрупп может происходить с протонным переносом и в его отсутствии [7]. Добавление к активному растворителю (ацетон) апротонного растворителя (этилацетат) усиливает сольватацию глицина бутиловым спиртом, способствует повышению коэффициентов распределения и достижению практически полного ($\sim 97\%$ -ного) извлечения глицина.

Максимальный фактор разделения достигается при концентрации тирозина 0,008 мг/см³, глицина 0,012 мг/см³ и соотношении компонентов в смеси бутиловый спирт – этилацетат – ацетон, равном 6:1:3. При однократной экстракции в оптимизированных условиях степень извлечения тирозина не более 15 %, глицина – 97 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ванифатова Н.Г., Спиваков Б.Я. Разделение наночастиц методом капиллярного зонного электрофореза // Рос. хим. журн. 2005. Т. 25, № 2. С. 16 – 21.
2. Коренман Я.И. Коэффициенты распределения органических соединений. Справочник. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 1992. 336 с.
3. Манаенков О.В., Сидоров А.И., Сильман Э.М. Экспресс-определение аминокислот методом капиллярного электрофореза без их предварительной дериватизации // Журн. аналит. хим. 2003. Т. 58, № 10. С. 1093 – 1096.
4. Мокшина Н.Я., Нифталиев С.И., Пахомова О.А. Экстракция тирозина и фенилаланина смесью гидрофильных растворителей из водно-солевого раствора. //

Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2005. Т.48, № 1. С. 109 – 112.

5. Мокшина Н.Я., Нифталиев С.И., Пахомова О.А. Экстракция некоторых алифатических аминокислот из водных растворов с применением смеси гидрофильных растворителей // Хим. технология. 2005. № 5. С. 44 – 46.

6. Мокшина Н.Я., Пахомова О.А., Нифталиев С.И. Экстракция аспарагина гидрофильными растворителями из водных растворов // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2006. Т.49, № 4. С. 8 – 11.

7. Селеменев В.Ф., Мокшина Н.Я., Котова Д.Л. Физико-химические особенности взаимодействия компонентов при экстракции аминокислот бутиловым спиртом // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 1999. Т. 42. № 2. С. 32-35.

8. Селеменев В.Ф., Хохлов В.Ю., Бобрешова О.В., Аристов И.В., Котова Д.Л. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та. 2001. 300 с.

9. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки. М.: Мир. 1985. 456 с.

EXTRACTION SEPARATION OF TYROSINE AND GLYCINE

Pakhomova O.A., Korenman Ya. I.
State Technological Academy, Voronezh

Extraction separation of tyrosine and glycine by three – component mixtures of hydrophilic solvents was studied. For analyzed of concentrate capillary electrophoresis was applied. Effective systems for extraction separation of tyrosine and glycine were proposed.