

УДК 543.219

О.В. СКРОПИШЕВА, В.П. ГНІДЕЦЬ, В.А. ЛИСЕНКО

Херсонський національний технічний університет

СУЧАСНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Для визначення та аналізу амінокислот харчових продуктах досліджено спектрофотометричний метод з використанням нінгідринової реакції у фосфатно-буферному розчині гідрофосфату та дигідрофосфату калію, який об'єднує в собі точність, селективність та відтворюваність в процесі аналізу. Головною перевагою цього методу є здатність до аналізування слабо забарвлених чи розбавлених розчинів, які не можливо проаналізувати іншими методами.

Встановлено, що: оптимальними параметрами проведення нінгідринової реакції для визначення концентрації амінокислот у фосфатно-буферному розчині є температура 70°C, тривалість нагріву 10-30 хв. Побудовані графіки залежності оптичної щільності розчинів нінгідринової реакції амінокислот від концентрації стандартних розчинів амінокислот: глутамінової, лізину, гліцину та аргінін глутамату з концентрацією амінокислот $0,5 \cdot 10^{-9}$ – $20 \cdot 10^{-9}$ моль/л.

Ключові слова: амінокислоти, спектрофотометричний метод, нінгідринова реакція.

E.V. SKROPYSHEVA, V.P. HNISETS, V.A. LYSSENKO

Kherson National Technical University

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Для определения и анализа аминокислот в пищевых продуктах исследовано спектрофотометрический метод с использованием нингидриновой реакции в фосфатно-буферном растворе гидрофосфата и дигидрофосфата калия, который объединяет в себе точность, избирательность и воспроизводимость в процессе анализа. Главным преимуществом этого метода является способность к анализу слабо окрашенных или разбавленных растворов, которые невозможно проанализировать другими методами.

Установлены оптимальные параметры проведения нингидриновой реакции для определения концентрации аминокислот в фосфатно-буферном растворе: температура 70 °С, продолжительность нагрева 10-30 мин. Построены графики зависимости оптической плотности растворов нингидриновой реакции аминокислот от концентрации стандартных растворов аминокислот: глутаминовой, лизина, глицина и аргинин глутамата с концентрацией аминокислот $0,5 \cdot 10^{-9}$ - $20 \cdot 10^{-9}$ моль / л.

Ключевые слова: аминокислоты, спектрофотометрический метод, нингидриновая реакция.

E.V. SKROPYSHEVA, V.P. HNISETS, V.A. LYSSENKO

Kherson National Technical University

MODERN METHODS OF DETERMINATION OF AMINO ACIDS IN FOODSTUFFS

To determine and analyze amino acids in food, a spectrophotometric method was studied using a ninhydrin reaction in a phosphate-buffered solution of hydrophosphate and potassium dihydrogen phosphate, which combines accuracy, selectivity and reproducibility in the analysis. The main advantage of this method is the ability to analyze slightly colored or diluted solutions, which can not be analyzed by other methods.

The optimal parameters for the ninhydrin reaction to determine the concentration of amino acids in the phosphate buffer solution were established: temperature 70 °C, heating time 10-30 min. The dependences of the optical density of the solutions of the ninhydrin reaction of amino acids on the concentrations of standard solutions of amino acids glutamine, lysine, glycine and arginine of glutamate with an amino acid concentration of $0.5 \cdot 10^{-9}$ - $20 \cdot 10^{-9}$ mol / l are plotted.

Keywords: amino acids, spectrophotometric method, ninhydrin reaction.

Постановка проблеми

Харчування є однією з основних умов існування людини та важливим екологічним фактором який визначає її здоров'я. Своєчасне, повноцінне та збалансоване харчування створює умови для нормального фізичного і розумового розвитку, впливає на працездатність та на здатність організму протистояти впливу несприятливих факторів навколишнього середовища.

Якість продуктів харчування є не менш важливим фактором, що містить в собі ряд властивостей і характеристик, продовольчої сировини та харчових продуктів, які визначають здатність задовольнити фізіологічні потреби людини при звичайних умовах їх використання.

Визначення якості харчового продукту є нелегким аналітичним завданням в якому враховується кількість компонентів з яких складається речовина, агрегатний стан та фізичні властивості. Якість харчової сировини або готової продукції визначається після проведення комплексного дослідження, що складається з фізичного, хімічного, мікробіологічного, фізико-хімічного і бактеріального аналізу[1,2,3,4].

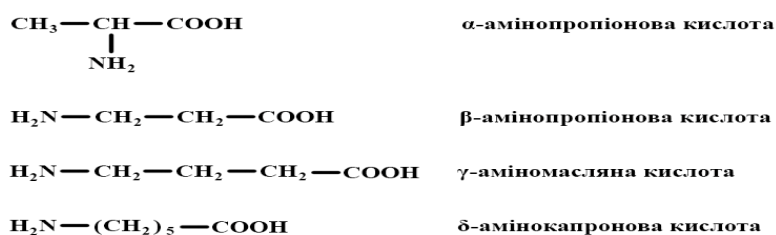
Серед великої кількості харчових продуктів найбільший попит мають плоди та овочі, а також продукти їх переробки, оскільки вони містять необхідні компоненти для життєдіяльності організму: вітаміни; незамінні амінокислоти; органічні кислоти; макро- і мікроелементи[5].

Визначення амінокислот є важливим аналітичним завданням при визначенні якості харчового продукту, оскільки із загальних біохімічних параметрів концентрація амінокислот найбільш адекватний показник якості.

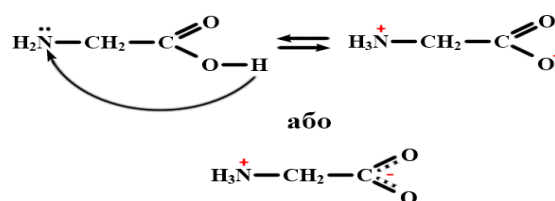
Аналіз останніх досліджень і публікацій

Амінокислоти у своїй будові одночасно містять кислотну карбоксильну групу – COOH і основну аміногрупу – NH₂ та є основними складовими білків живих організмів. Вивчення залишків мікроорганізмів в кремнієвих осадах за допомогою рубідій-цезійового методу датування, які містять вуглець із докембрійського геологічного періоду, доводить що термін існування амінокислот на нашій планеті складає більше трьох мільярдів років.

Найчастіше, термін «Амінокислота» використовується для позначення α-амінокислоти у якій аміногрупа знаходиться в α-положенні до карбоксильної групи. Також відомі амінокислоти, у яких аміно- та карбоксильні групи розділені декількома атомами вуглецю - такі кислоти називають β-, γ- і δ-амінокислотами.

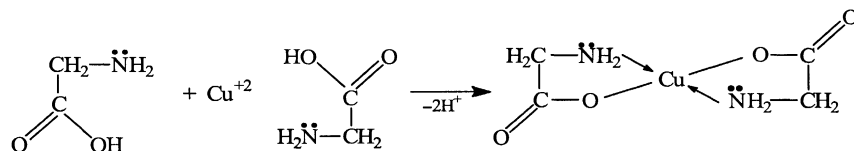


За фізичними властивостями амінокислота тверда та безбарвна кристалічна речовина з високою температурою плавлення, від 230 до 280°C. Більшість амінокислот дуже добре розчиняються в воді але погано або зовсім не розчиняються органічними розчинниками. Деякі амінокислоти можуть бути солодкими, а деякі гіркими. Завдяки тому, що амінокислоти одночасно володіють аміногрупою з її основними властивостями та карбоксильною групою з кислотними властивостями, реакція водних розчинів одноосновних амінокислот майже завжди близька до нейтральної. Висока температура плавлення, гарна розчинність у воді, електропровідні можливості водних розчинів, відсутність ліній в спектрі, які характерні для карбоксильної групи та аміногрупи, пояснюється тим, що молекули α-амінокислот представляють собою внутрішні солі (біполярні іони), які утворюються за рахунок переходу протона від карбоксильної групи до аміногрупи.

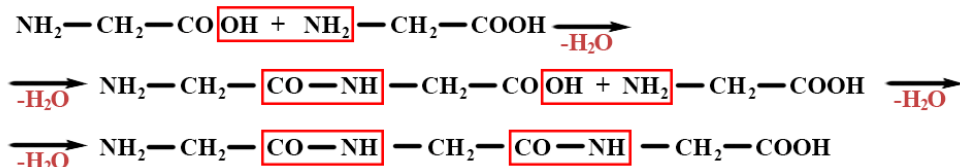


В залежності від середовища, такі іони ведуть себе по різному: в кислому середовищі, коли відбувається пониження процесу дисоціації карбоксильної групи, іон веде себе як катіон, а в лужному – як аніон. Рівень кислотного середовища, при якому молекула амінокислоти нейтральна, тобто, концентрація катіонів та аніонів знаходиться у рівновазі, а концентрація біполярного іона максимальна і передача електричного заряду не відбувається, називається ізоелектричною точкою (pI). Рівень кислотного середовища (pH) напрями впливає на рівень рівноваги.

Амінокислоти проявляють основні та кислотні властивості, оскільки в молекулі амінокислоти одночасно містяться карбоксильна група і аміногрупа. Для α-амінокислоти при взаємодії з іонами важких металів характерне утворення внутрішньокмплесних солей. Завдяки утворенню глибокому синьому кольору, комплекси міді (II) використовують в так названих біуретових реакціях - для виявлення наявності α-амінокислоти всіх білків та продуктів їх гідролізу. Гідроксид міді (II) у реакції з двома молекулами α-амінооцтової кислоти утворює мідну сіль гліцину інтенсивного синього кольору.



Утворення поліпептидів відбувається за рахунок створення пептидного зв'язку між α-карбоксильною групою однієї амінокислоти та аміногрупою іншої. В процесі утворення пептидного зв'язку відбувається відокремлення молекули води [4,5].



Амінокислоти – це біологічно активні речовини, які є життєво важливими для росту, розвитку та функціонування людського організму. Широко використовують амінокислоти в медицині, як лікарські препарати в харчовій промисловості, у якості біологічно активних добавок та сировини для їх виробництва, як продукти спортивного харчування та ін. [4,5].

Основним джерелом α-амінокислот для живого організму слугують харчові білки, які гідролізуються організмами до амінокислот. Завдяки ферментативному гідролізу в шлунково-кишковому, харчові білки виділяють α-амінокислоти. Отримані таким чином α-амінокислоти являють собою структурну хімічну одиницю, яка приймає участь при синтезі білка в організмі людини. Завдяки тому, що білки приймають участь у всіх процесах організму, а α-амінокислоти є будівельним матеріалом для їх синтезу, можна говорити що амінокислоти є важливими елементами в житті людини [5].

В організмі людини зустрічається близько 150 амінокислот, але для синтезу нових білків потрібно лише 20. Потрібні для синтезу білка амінокислоти розділяють на дві групи. Амінокислоти, що потрапляють до організму з їжею або які при відсутності їх в їжі, можуть синтезуватися організмом з інших амінокислот, за умови, якщо в організмі вистачає матеріалу, класифікують як замінні амінокислоти [3]. Амінокислоти, які організм не здатен синтезувати самостійно, а потрапляння їх до організму відбувається тільки через продукти харчування, називають незамінними амінокислотами [3,4].

Таблиця 1

Замінні та незамінні амінокислоти в організмі людини

Замінні амінокислоти	Незамінні амінокислоти
Аланін	Валін
Аргінін	Гістидин
Аспарагін	Ізолейцин
Аспарагінова кислота	Лейцин
Гліцин	Лізин
Глутамін	Метіонін
Глутамінова кислота	Треонін
Пролін	Тріптофан
Серин	Фенілаланін
Тирозин	
Цистин	

Окрім участі в створенні нових білків, амінокислоти беруть участь у роботі головного мозку та використовуються в ролі нейромедіаторів, транслюючи крізь себе нервові імпульси між клітинами. Вплив амінокислот розповсюджується на пам'ять, увагу, інтелект, збудливість центральної нервової системи, психічну стійкість та активність, рівновагу настрою. Дефіцит амінокислот викликає втрату тону м'язів, сприяє виникненню дисбалансу в процесах організму, який з часом перетворюється у хвороби [3,4,5].

Сукупність властивостей продукції, які обумовлюють її придатність для задоволення конкретних потреб у відповідному зазначенні, називають якістю харчових продуктів [2]. На сьогоднішній день існує безліч аналітичних методів за допомогою яких відбувається оцінка якості того чи іншого харчового продукту. Такі методи визначення складу і властивостей харчових продуктів складаються як з кількісних – хімічних та фізико-хімічних методів, так і з суб'єктивних органолептичних методів аналізу. Якість харчових продуктів чітко характеризується в стандартах, і частіше використані методи визначення категорій якості, обґрунтовані на зазначенні граничних ознак, що дозволяють віднести об'єкт дослідження тільки до конкретного рівня якості.

У визначенні якості продукту відсутні достовірні критерії оцінки якості та збереження харчових продуктів. Цю проблему можна вирішити за допомогою кількісної оцінки якості і збереження продукту

при визначенні широкого спектру метаболічно-активних ендогенних сполук у продуктах. Інформативність останніх визначається не тільки їх біологічною цінністю, але й рівнями інтеграції та регуляції процесів обміну речовин в організмі, відображенням яких виступають ці показники. Насамперед, вказаним вимогам відповідає фонд вільних амінокислот та їх високоактивних метаболітів, головною роллю яких є інтеграція основних метаболічних потоків.

При визначенні моделі оцінки якості продукту, фонд вільних амінокислот розглядають як гетерогенну систему функціонально та метаболічно взаємозв'язаних з'єднань. Технологічний процес виробництва та зберігання призводить до зміни в співвідношенні органолептичних, фізико-хімічних і структурно-механічних властивостей харчових продуктів. Ці зміни впливають на вміст вільних амінокислот та їх похідних. Визначені зміни вмісту вільних амінокислот, є достовірним критерієм для оцінки якості харчового продукту. В результаті зміна показника від нормального, тобто, зниження показника, слугує сигналом неякісного продукту[3].

Аналіз амінокислот є не менш важливим процесом ніж їх ролі в життєдіяльності організму. Завдяки важливості участі амінокислот в біологічних процесах, методи кількісного визначення амінокислот викликають постійний інтерес. Методи оцінки вмісту вільних амінокислот та їх похідних використовуються в харчовій промисловості, громадському харчуванні та санітарній гігієні, і можуть бути використаними для оцінки якості при зберіганні харчових продуктів. Про якість судять по кількості абсолютно незамінних кислот та їх співвідношенню з загальною кількістю вільних амінокислот, які містяться в продукті. Про збереженість харчового продукту судять по кількості вільних амінокислот–глутаміну та аспарагіну в ньому. Визначення якості білкового продукту по вмісту вільних амінокислот в продукті потребує менше часу для проведення аналізу. Метод є більш достовірним за рахунок визначення великого спектру біологічно активної субстанції конкретного харчового продукту [6].

На сьогодні існує дуже велика кількість методів кількісного визначення амінокислот. Всю різноманітність таких методів розподіляють на чотири основні групи: електрохімічні; хроматографічні; титриметричні та спектрофотометричні методи аналізу [6,7,8,9,10].

Електрохімічні методи аналізу амінокислот, такі як полярографічні, вольт- амперометричні та потенціометричні методи, завдяки своїй точності, набули великої популярності за останні роки [6].

Такі методи ґрунтуються на електрохімічних явищах які відбуваються під час дослідження речовини. В результаті аналізують зміни хімічної структури, фізичних властивостей чи концентрації речовини, і вже по результатах змін роблять висновки. Електрохімічні методи є методами як якісного так і кількісного аналізу амінокислот. Треба зауважити, що частіше їх використовують в визначенні окремих α -амінокислот [6,11,12].

Хроматографічні методи аналізу амінокислот ґрунтуються на розподіленні компонентів між рухомою та нерухою фазами. Нерухою фазою слугує так названий сорбент – тверда пориста речовина чи плівка рідини, яка нанесена на тверду речовину. Рухомою фазою є рідина чи газ, які протікають через нерухома фазу, інколи під надмірним тиском. Для визначення амінокислот використовують один із видів хроматографії – газорідинну хроматографію (ГРХ). Газова та високоефективна рідинна хроматографія є більш ефективними методами, але через велику ціну обладнання, більшість лабораторій не можуть собі дозволити використання саме цих методів аналізу[7].

Титриметричні методи аналізу амінокислот базуються на визначенні об'єму розчину з точною відомою концентрацією титранту, витраченого на взаємодію з речовиною яка визначається. Амінокислоти відносяться до речовин які дуже погано титруються у воді через слабкі кислотно-основні властивості та слабку розчинність.

Спектрофотометричні методи аналізу є найбільш популярними при кількісному аналізі α -амінокислот. Данні методи ґрунтуються на здатності амінокислот, або продуктів їх взаємодії з конкретним реагентом утворювати забарвлені сполуки, які поглинають певні області видимого спектру світла.

Спектрофотометричні методи аналізу є простими у виконанні, і мають високу точність визначення. Розробка простих та точних спектрофотометричних методів аналізу амінокислот є нелегким, але важливим аналітичним завданням. Це обумовлено важливою роллю самих амінокислот в біологічних процесах організму. Наприклад, для визначення цистеїну, який бере участь в реакціях транс-амінування та обміну сірки в організмі, розроблена методика кількісної оцінки цистеїну в біологічних рідинах, яка ґрунтується на його окисно-відновних можливостях з солями заліза (III) в присутності 1,10-фенантроліну, з наступним спектрофотометричним визначенням продукту реакції. Деякі методи мають виключення в процесі виявлення та аналізі α -амінокислот. Наприклад, метод спектрофотометричного визначення сумарного вмісту амінокислот в сироватці крові, який оснований на методі кількісної оцінки продукту реакції амінокислоти з ортофталевим альдегідом, має високу чутливість та дозволяє кількісно визначити всі α -амінокислоти за виключенням цистину, проліну і оксипроліну. Це характеризується тим, що продукт реакції визначається спектрофотометричним методом в присутності меркаптоетанолу при довжині хвилі 340нм [12,13].

Для визначення та аналізу амінокислот, на основі аналізу літературних даних, було обрано спектрофотометричний метод з використанням нінгідринової реакції α -амінокислот, який об'єднує в собі точність, селективність та відтворюваність в процесі аналізу. Головною перевагою цього методу є здатність до аналізування слабо забарвлених чи розбавлених розчинів, які неможливо проаналізувати іншими методами.

Формулювання мети дослідження

Метою роботи були обґрунтування та вибір найбільш оптимальних лабораторних методик визначення амінокислот в харчових продуктах.

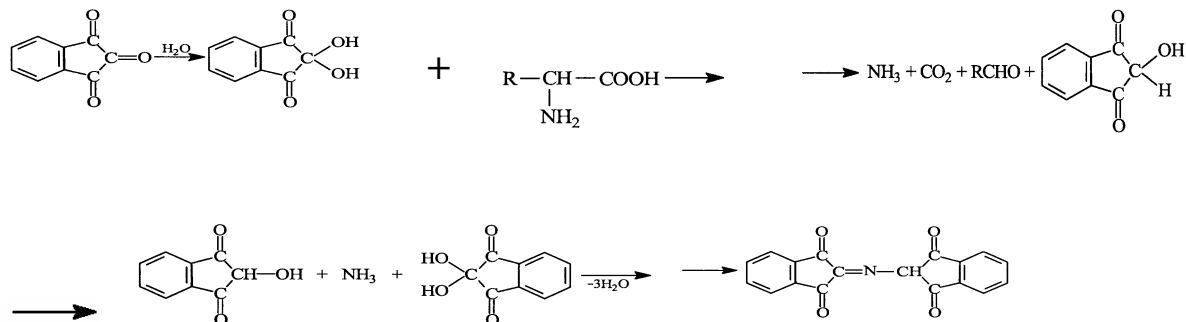
Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Провести визначення оптимальних умов проведення нінгідринової реакції амінокислот.
2. Побудувати калібрувальні графіки для визначення граничних концентрацій α -амінокислот.

При вирішенні поставлених у роботі завдань були використані фізико-хімічні методи досліджень, які дозволяють об'єктивно оцінювати якісні характеристики харчових продуктів на підставі експериментально одержаних даних.

Викладення основного матеріалу досліджень

Реакція нінгідрину з α -амінокислотами є відомим методом аналізу амінокислот. У процесі аналізу нінгідрин з α -амінокислотами утворює забарвлений барвник, концентрацію якого можна аналізувати на спектрофотометричному обладнанні. Нінгідринова реакція протікає за схемою окиснювального дезамінування [14]. Окисником виступає нінгідрин, який як трикетон із сильноакцепторними групами біля центрального карбонілу та існує у гідратній формі. При цьому аміногрупа окиснюється до амоніаку, а нінгідрин відновлюється до дикетогідроксигідриндену. Одночасно відбувається декарбоксілювання COOH -групи і утворення альдегіду з амінокислоти. Утворений амоніак взаємодіє з відновленим нінгідрином та другою молекулою нінгідрину з утворенням відповідного барвника синьо-фіолетового кольору, яку називають „фіолетовий Руемана“. Вміст барвника у аналізованому розчині визначають спектрофотометричним методом. Чутливість нінгідринової реакції достатньо висока (виявлення амінокислоти становить до 1 нмоль (1 наномоль = 10^{-9} моль) Цю реакцію застосовують також для хроматографічного аналізу наявності амінокислот при хроматографії на папері [13].



Серед усіх розроблених методів спектрофотометричного аналізу з використанням нінгідринової реакції, окремі умови проведення таких реакцій можуть відрізнятися від інших [9,11,12]. До таких умов відноситься: температура виконання реакції; тривалість нагрівання; рівень кислотності; масова кількість реагенту. Виходячи з цього, для проведення нінгідринової реакції треба визначити оптимальні умови при яких спектрофотометричний аналіз надасть максимально якісний результат.

Проводячи визначення оптимальних умов проведення нінгідринової реакції, слід визначити і умови проведення вимірювання оптичної щільності, а саме, довжину хвилі на якій буде вимірюватися оптична щільність досліджуваних зразків.

Визначення концентрації амінокислот у розчинах нами було проведено на зразках амінокислот, які широко присутні у харчових продуктах – глутаміновій амінокислоті, амінокислотах лізину та гліцині. Аналіз розчинів продуктів реакції амінокислот та нінгідрину проводили у фосфатно-буферному розчині гідрофосфату та дигідрофосфату калію при рН 6,6.

Для визначення довжини хвилі аналізу концентрації амінокислот у розчинах готували серії розчинів з концентрацією амінокислот $1 \cdot 10^{-9}$ – $20 \cdot 10^{-9}$ моль/л та встановлювали довжину хвилі зі стабільним показником оптичної щільності. При проведенні дослідження, використовували отримані оптимальні умови проведення нінгідринової реакції: температуру і тривалість нагрівання. Після реакції досліджувані розчини набувають синьо-фіолетового кольору. Охолодивши розчини до 20°C , проводили вимірювання їх оптичної щільності в діапазоні 320 – 750 нм довжинах хвиль. В якості контрольного зразку використовували розчин фосфатного буферу.

Для аналізу отриманих даних та вибору оптимальної довжини хвилі при дослідженні будували графіки залежності оптичної щільності обраних амінокислот від їх концентрації та довжини хвилі (рис.1 - 3).

Як видно з наведених даних досліджувані розчини мають два піки оптичної щільності, на позначці 400 нм та 540-570 нм. У випадках малої концентрації амінокислот в розчині на довжині хвилі 400 нм відсутнє максимальне поглинання у видимій області спектру. Виходячи з цього, для проведення визначення оптичної щільності досліджуваних розчинів, була вибрана довжина хвилі 540 нм фотометричного приладу, оскільки вона має більш чіткий та стабільний показник при малій концентрації амінокислот в розчині.

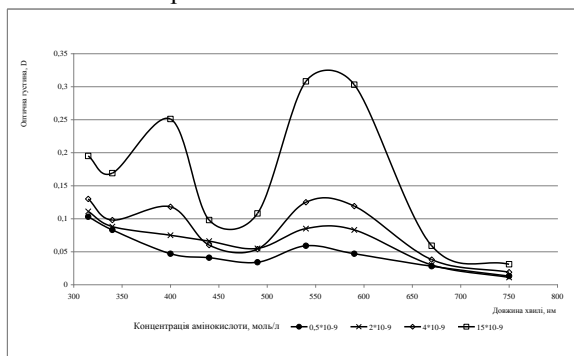


Рис. 1. Залежність оптичної щільності розчину глутамінової кислоти від її концентрації та довжини хвилі

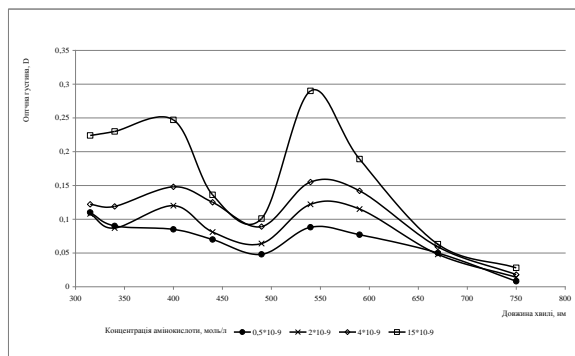


Рис. 2. Залежність оптичної щільності розчину лізину від її концентрації та довжини хвилі

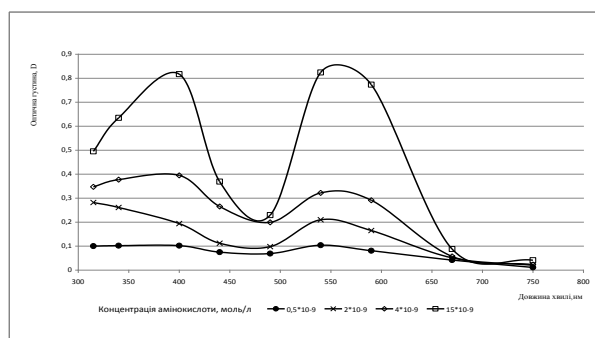


Рис. 3. Залежність оптичної щільності розчину гліцину від її концентрації та довжини хвилі

Головною умовою проведення взаємодії α-амінокислоти з нінгідрином є нагрів суміші, тому не менш важливим є визначити оптимальну температуру при якій можливо проводити всі дослідження при участі нінгідринової реакції. Літературні джерела [9-13] свідчать, що для різних спектрографічних методів визначення амінокислот реакцію утворення барвника проводять при кип'ятінні розчинів (табл.2).

Таблиця 2

Умови проведення нінгідринової реакції визначення амінокислот різними спектрофотометричними методами

Температура °С	Рівень рН	Реагент	Джерело інформації
100	6.4	2% розчин нінгідрину в метилцелозольві	[10]
100	5-6	2% спиртовий розчин нінгідрину	[11]
100	6,4	1% спиртовий розчин нінгідрину	[12]
95	5-6	2% спиртовий розчин нінгідрину	[13]
100	6,4	0,2% розчин нінгідрину в етиловому спирті	[9]

Нами було досліджено вплив температури проведення реакції на прикладі нінгідринової реакції з амінокислотою гліцином у фосфатному буфері.

Результати дослідження впливу температури на оптичну щільність однакових за концентрацією дослідних розчинів нінгідринової реакції наведені в таблиці 3. Треба одразу зауважити, що при температурі від 50°C до 60°C утворення забарвлення майже не відбувалось, тому такі показники не були взяті до уваги.

Дані досліджень свідчать, що максимальний показник оптичної щільності реакційного розчину досягається уже при проведенні реакції при 70°C.

Таблиця 3

Температура нагріву(°C)	60	65	70	75	80	85	90	95	100
Оптична щільність	0,114	0,128	0,134	0,136	0,134	0,135	0,134	0,135	0,134

Окрім температури проведення реакції, важливим фактором є тривалість нагріву суміші. Для визначення оптимальної тривалості нагріву було проведено дослідження залежності величини оптичної щільності від тривалості нагріву суміші при температурі 70°C та з рівнем кислотності розчину рН 6,6. Отримані результати наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Тривалість нагрівання, хв	5	10	15	20	25	30
Оптична щільність ($\lambda=540_{\text{нм}}$)	0,133	0,134	0,134	0,133	0,135	0,134

Аналіз результатів експериментальних досліджень показав, що уже після 5-10 хвилинного нагрівання реакційної суміші у буферному розчині величина оптичної щільності залишається практично незмінною. Тобто необхідною та достатньою тривалістю реакції утворення барвника для визначення концентрації амінокислоти у продуктах при температурі 70°C є нагрівання розчину в продовж 10- 30 хвилин.

Для аналізу концентрації амінокислот у фруктових соках нами було досліджено та побудовано графіки залежності оптичної щільності від концентрації стандартних розчинів амінокислот - глютамінової, лізину, гліцину та аргінін глютамату з концентрацією амінокислот $0,5 \cdot 10^{-9} - 20 \cdot 10^{-9}$ моль/л. Дані залежності оптичної щільності від концентрації стандартних розчинів амінокислот при довжині хвилі 540 нм наведені в табл. 5.

Таблиця 5

амінокислота \ концентрація	0,625	1,25	2,5	5	10	15	20
Аргінін глютамат	0,042	0,059	0,077	0,108	0,157	0,233	0,279
Глутамінова кислота	0,059	0,072	0,085	0,125	0,199	0,257	0,308
Гліцин	0,104	0,149	0,211	0,322	0,510	0,677	0,824
Лізін	0,088	0,091	0,122	0,155	0,210	0,244	0,290

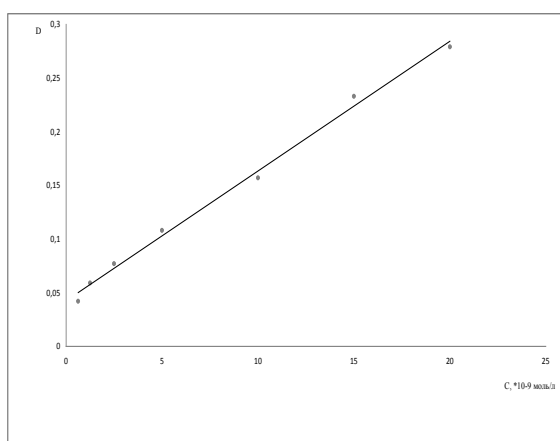


Рис. 4. Залежність оптичної щільності розчину від концентрації аргінін глютамату

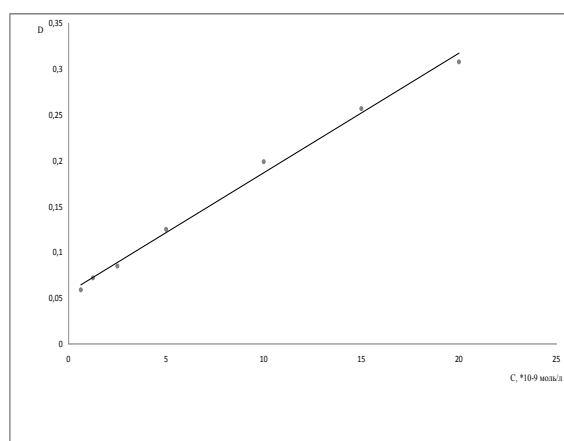


Рис. 5. Залежність оптичної щільності розчину від концентрації глютамінової кислоти

Наведені графіки залежності оптичної щільності розчинів нінгідринової реакції амінокислот від концентрації стандартних розчинів амінокислот - глютамінової, лізину, гліцину та аргінін глютамату з концентрацією амінокислот $0,5 \cdot 10^{-9} - 20 \cdot 10^{-9}$ моль/л. Графіки залежності оптичної щільності

стандартних розчинів нінгідринової реакції амінокислот від концентрації амінокислот наведені на рис. 4-7.

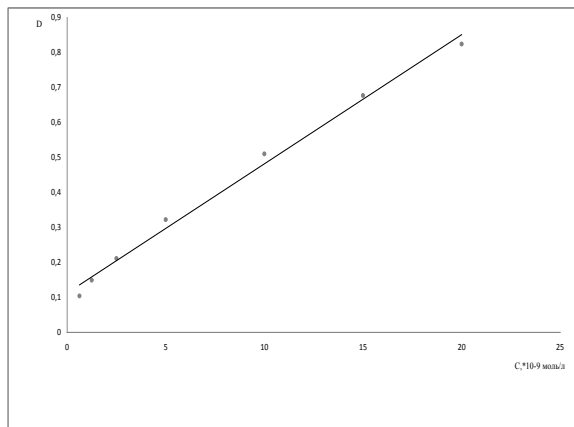


Рис. 6. Залежність оптичної щільності розчину від концентрації гліцину

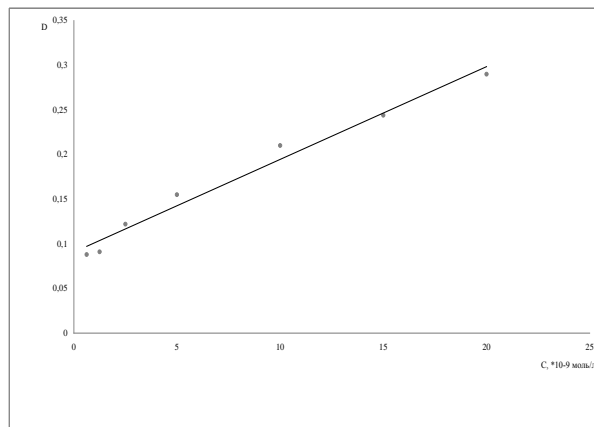


Рис. 7. Залежність оптичної щільності розчину від концентрації лізину

Висновки

В результаті проведених експериментів було досліджено вплив температури та тривалості проведення нінгідринової реакції для визначення концентрації амінокислот у фосфатно-буферному розчині гідрофосфату та дигідрофосфату калію.

Встановлено, що: оптимальними параметрами проведення нінгідринової реакції для визначення концентрації амінокислот у фосфатно-буферному розчині є температура 70°C, тривалість нагріву 10-30 хв.

На основі досліджень побудовані графіки залежності оптичної щільності розчинів нінгідринової реакції амінокислот від концентрації стандартних розчинів амінокислот: глутамінової, лізину, гліцину та аргінін глутамату з концентрацією амінокислот $0,5 \cdot 10^{-9}$ – $20 \cdot 10^{-9}$ моль/л.

Список використаної літератури

1. Якубке Х. Д., Эшкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки: с нем. – М.: Свет, 1985. – 456 с.
2. Строение и свойства аминокислот, входящих в состав кислот: Биохимия – Учебник для ВУЗов. Под ред. Е.С. Северина., 2003. 432с.
3. Гараева С.Н. Аминокислоты в живом организме/Гараева С.Н., Редкозубова Г.В., Посталати Г.В.; Акад. наук Молдовы, Ин-т физиологии и санокреатологии. Кишинев: Б.И., 2009. – 552 с.
4. Смирнов В.А. Аминокислоты и полипептиды: [Уч. пособие] / В.А. Смирнов, Ю.Н. Климочкин. – Самара: Самар. гос. техн. ун-т, 2007. – 110 с.
5. Пищевая химия: Учебн. для студ. ВУЗов, которые обуч. по нап.: «Технология продуктов питания» / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Коченкова. – 2-е издан., перераб. и исправ. – С.Пб.: ДИОРД, 2003. – 640 с.
6. З. Галюк Теоретические основы электрохимического анализа / Галюк З.: пер. с пол. д.х.н. Б.Я. Каплан, ред. И.В. Селищева, – М.: «Мир», 1974.– 546 с.
7. Шаповалова Е.Н, Пирогова А.В. Хроматографические методы анализа / Метод. пособие. для спец. курсу, ред. О.А. Шпигун, – М.: Мос. гос. ун-т. им. М.В. Ломоносова, 2007.– 109 с.
8. Титриметрический анализ: [Электронный ресурс]/Тернопольский гос. мед.ун-т. им. І.Я. Горбачевського, 2017.
9. Д.С. Лазарян, А.Ю. Спектрофотометрические методы в анализе биологически активных веществ растительного и животного образования / Д.С. Лазарян, А. Ю. Айрапетова, Л. Б. Губанова, Х. Н. Гюльбакова. – Пенза: ПМФИ – филиал ДБОУ ВПО Волг. ДМУ. 2015. – 132 с.
10. Бондаренко Б. Н. Количественное определение аминокислот при хроматографии в тонком слое // ж. Лабораторное дело. – 1984. №2. – С.118-120.
11. Лазарян Г. Д., Диханіна І. В., Айрапетова А. Ю. Кількісне визначення амінокислот в пілку // Хім.фарм. журнал. – 2006.Том 40. №20. - С. 142-146.
12. Крищенко В. П. Комплексная методика определения аминокислот в разных фракциях азотного комплекса растений / В.П. Крищенко // Изд. АН СРСР. Сер. Биология. – 1978. №3. – С. 327-331.
13. Ластухін Ю.О. Хімія природних органічних сполук: Навч. посібник. – Львів: Національний університет «Львівська політехніка», «Інтелект-Захід». 2005. – 560 с.