

Дніпродзержинський державний технічний університет

ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТИ ТРИПТОФАНУ

Вступ. Триптофан – незамінна амінокислота. В невеликих кількостях міститься у багатьох природних білках. Приймає участь в утворенні нікотинової кислоти і серотоніну (у ссавців, в тому числі людини), пігментів очей оммахромів (у комах), гетероауксинів, індиго, ряду алкалоїдів (у рослин). Порушення обміну триптофану призводять до недоумства, а також можуть слугувати показниками таких захворювань, як туберкульоз, рак, діабет. Недолік триптофану в кормах та їжі може бути причиною функціональних і органічних розладів у тварин та людини [1].

Маючи на увазі все це, можна стверджувати, що споживання триптофану з їжею є досить актуальним питанням. Тому є необхідним здійснювати якісний та кількісний контроль за його вмістом у білковій їжі.

Запропонована в даній роботі методика кількісного визначення триптофану з успіхом може бути використана для такого роду контролю.

Авторами [2] показано, що вміст триптофану у білку казеїну складає від 1 до 1,7%. Нами було встановлено, що вміст триптофану складає 1,4%. Для отримання більш точних результатів казеїн брали свіжий, який самостійно готували.

Постановка задачі. Розробити методику визначення амінокислоти триптофану, яка б була легкою у її здійсненні та не містила прекурсори.

Результати роботи.

1. Наукове обґрунтування.

Триптофан – α -аміно- β -індолілпропіонова кислота, яка має структурну формулу зображену на рис.1.

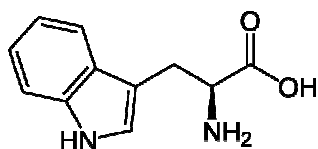


Рисунок 1 – Структурна формула триптофану

Триптофан належить до азотмісних гетероциклічних ароматичних сполук.

Реакції на визначення триптофану обумовлені наявністю в його структурі індольного ядра. Переважна більшість таких реакцій являє собою взаємодію триптофану (фрагменту індолу) з різноманітними альдегідами (карбонільною компонентою) у кислому середовищі, причому реакція замі-

щення в індольному ядрі йде у положенні 2. Продукт такої взаємодії представляє собою конденсовану сполуку двох молекул триптофану і молекули альдегіду (рис.2).

Саме такого роду реакція використовувалася для розроблення методики визначення триптофану у даній науковій роботі.

Оскільки продукт реакції має забарвлення, яке залежить від певного альдегіду, це дає можливість застосовувати колориметричні методи для кількісного визначення триптофану.

2. Методика експерименту.

Прототипом для створення нової методики послужила методика Вуазене-Рода, видозмінена Томасом [2]. Це найбільш проста у здійсненні методика, тому її і взяли за основу.

У якості альдегіду, на відміну від оригінальної методики, замість реактиву Ерліха

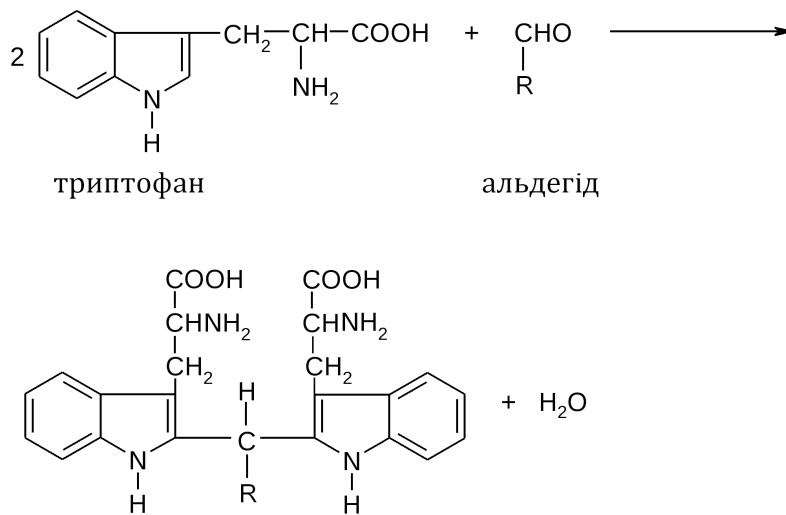


Рисунок 2 – Реакція триптофану з альдегідом

(*p*-N, N-диметиламіно-бензальдегіда) використали ванілін, який являє собою 4-гідрокси-3-метоксибензальдегід. Замість соляної кислоти використали ортофосфорну кислоту з добавкою хлористого натрію. Така заміна є рівноцінною, оскільки під час нагрівання розчину фосфорної кислоти з хлористим натрієм виділяється хлористий водень.

Дослід проводився у кілька етапів:

1) приготування розчину гідролізату. Гідролізат готувався з 1,35 г $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 2 г NaF, 400 мг казеїну, 100 мг панкреатину шляхом розведення у дистильованій воді і доведенням об'єму розчину до 100 мл. Розчин залишили на 7 діб у термостаті при 37°C . Далі його нагріли до кипіння, охолодили, додали 1,6 мл льодяної оцтової кислоти до слабокислої реакції, знову нагріли до кипіння, центрифугували 1 год. та декантували з осаду;

2) приготування розчину триптофану. У мірну колбу на 100 мл помістили 2 г NaF і 0,1 г L-триптофану і додали води, заповнивши її наполовину. Колбу закрили гумовою пробкою та інтенсивно її струшували. Коли весь триптофан змочився і частина його перейшла у розчин, об'єм розчину довели до 100 мл і залишили до повного розчинення.

3 мл розчину триптофану помістили у мірну колбу на 100 мл і довели об'єм до 100 мл. У досліді даний розчин взяли у кількості 10 мл;

3) приготування 2%-го розчину ваніліну у 40%-й фосфорній кислоті. 2,7 мл 85%-ї ортофосфорної кислоти додали до 5,3 мл дистильованої води і у отриманому розчині розчинили 0,205 г ваніліну;

4) приготування досліджуваного розчину. До 10 мл розчину гідролізату додали 2 мл 2%-го розчину ваніліну у 40%-й ортофосфорній кислоті і довели об'єм розчину до 20 мл 85%-ю фосфорною кислотою;

5) приготування порівняльного розчину. Порівняльний розчин готується аналогічним чином, але замість гідролізату додають розчин триптофану у кількості 10 мл.

До досліджуваного і порівняльного розчину додали по 1 г NaCl. Далі ці розчини нагрівали на слабокиплячій водяній бані, при цьому розчинився увесь хлористий натрій.

Після 30 хв. нагрівання від самого початку розчини забрали з нагріву. Після охолодження розчини колориметрували. Результати колориметрування наведено у табл.1.

Таблиця 1 – Оптична щільність розчинів триптофану в залежності від розведення

Розчин	Розведення							
	-	4:1	4:2	4:3	4:4	4:5	4:6	4:7
	Оптична щільність, нм							
Порівняльний	0,530	0,385	0,320	0,280	0,237	0,208	0,187	0,173
Досліджуваний	0,500	0,380	0,320	0,265	0,227	0,200	0,184	0,117

3. Математичне обґрунтування результатів дослідження.

Спочатку визначили молярні концентрації триптофану у порівняльному розчині на всіх етапах розведення, потім за законом Бугера-Ламберта-Бера та методом молярного коефіцієнта світлопоглинання знайшли молярні концентрації триптофану у досліджуваному розчині на всіх етапах розведення. Результати наведено в табл.2.

Таблиця 2 – Молярні концентрації триптофану у розчинах

Розчин	Розведення							
	-	4:1	4:2	4:3	4:4	4:5	4:6	4:7
	Концентрація, ммоль/л							
Порівняльний	0,073	0,059	0,049	0,042	0,037	0,033	0,029	0,027
Досліджуваний	0,069	0,058	0,049	0,040	0,035	0,031	0,029	0,026

На підставі цих даних побудували графік залежності концентрації триптофану від оптичної щільності розчинів (рис.3).

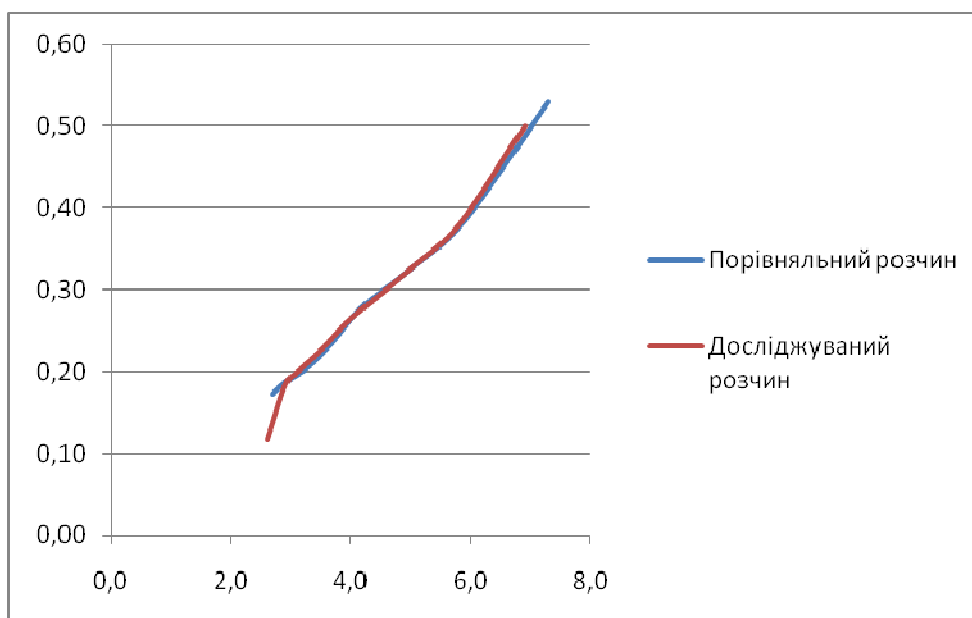


Рисунок 3 – Графік залежності концентрації триптофану у порівняльному та досліджуваному розчинах від оптичної щільності цих розчинів

Далі знайшли масові концентрації казеїну у досліджуваному розчині на всіх етапах розведення, припускаючи, що не було гідролізу. Розрахували масові концентрації триптофану у цих розчинах та його масові частки у казеїні. Результати наведено у табл.3.

Таблиця 3 – Масова частка триптофану у казеїні та їх концентрація

Речовина	Розведення							
	-	4:1	4:2	4:3	4:4	4:5	4:6	4:7
	Масова концентрація, г/л							
Триптофан	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,006	0,006	0,005
Казеїн	1,000	0,800	0,667	0,571	0,500	0,444	0,400	0,364
	Масова частка, %							
Триптофан	1,400	1,500	1,499	1,401	1,400	1,351	1,500	1,374

Розрахунок середнього значення масової частки триптофану дав 1,428%.

Висновки. Дана методика має ряд переваг у порівнянні з оригінальною. Окрім того, що в даній методиці не використовується прекурсор (соляна кислота), а також менш доступний і більш дорогий реактив Ерліха, слід відзначити, що інтенсивність забарвлення розчинів була більшою у порівнянні з оригінальною методикою. Також на проведення дослідів не потрібно витратити 48 год. часу на настоювання розчину, а потрібно лише затратити 30 хв. на нагрівання, що є досить актуальним при проведенні дослідів на уроці під час лабораторної роботи.

Крім методики Вуазене-Рода, видозміненої Томасом (альдегідом виступає реактив Ерліха), була випробувана методика Гопкінс-Вінклера, видозмінена Шо і Мак-Фарленом (альдегідом виступає гліоксилова кислота), але на відміну від цих методик розроблена нами методика мала більш адекватний результат по вмісту триптофану у білку казеїну, що склав 1,4%. При цьому методика Вуазене-Рода, видозмінена Томасом, дала результат 1,9%, методика Гопкінс-Вінклера, видозмінена Шо і Мак-Фарленом – 2,2%, що суперечить джерелу [2], де заявляється, що вміст триптофану за різними методиками визначення складає від 1 до 1,7%.

Рекомендовано застосовувати дану методику для аналізу триптофану у білковій їжі. Також вона може бути використана під час проведення лабораторних занять у навчально-освітніх закладах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биологический энциклопедический словарь / [под ред. Гилярова М.С.]. – 2-е изд., исправл. – М.: Сов. Энциклопедия, 1986. – 831с.: ил., 29 л. ил.
2. Блок Р. Аминокислотный состав белков и пищевых продуктов / Блок Р., Боллинг Д.; под ред. проф. Гаврилова Н.И. – М: ИИЛ, 1949. – 472с.

Надійшла до редколегії 29.04.2013.

УДК 002.84:661.15'4

ВЛАСЯН С.В., аспірант
ВОЛОШИН М.Д., д.т.н., професор
ШЕСТОЗУБ А.Б., к.т.н., доцент
БЕРДО Р.В. *, викладач

Дніпродзержинський державний технічний університет

*Дніпропетровський технікум зварювання та електроніки ім. С.О.Патона

ШЛАМ ВИРОБНИЦТВА КАЛЬЦІЄВОЇ СЕЛІТРИ ЯК СИРОВИНА ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ АЛЬТЕРНАТИВНОГО НІТРАТНОГО МІНЕРАЛЬНОГО ДОБРИВА

Вступ. Одним з найважливіших напрямків ресурсозберігаючої діяльності є використання відходів і раціональне застосування вторинних ресурсів, що дозволяє вирішувати цілий ряд економічних та екологічних проблем, включаючи розширення сировинної бази економіки, збільшення обсягу випуску продукції, зниження собівартості господарювання, запобігання забрудненню довкілля [1].

До виробництв, які мають значні кількості відходів, відносяться хімічні виробництва з переробкою природної сировини. Це, зокрема, виробництва багатьох мінеральних добрив.