

УДК 544.352

КОЛЛИГАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АМИНОКИСЛОТ ЛИНЕЙНОГО СТРОЕНИЯ

¹Миняева О.А., ¹Сидорченко А.С., ¹Зацепина М.Н., ¹Григорьева У.А., ²Сафонов В.И.

¹ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»,

Челябинск, e-mail: kanc@chelsma.ru;

²ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет», филиал,

Усть-Катав, e-mail: ukf74@mail.ru

Изучены коллигативные и рефрактометрические свойства водных растворов низкомолекулярных аминокислот линейного строения на примере глицина и β-аланина. Показано, что с ростом концентрации индивидуальной аминокислоты до 10% наблюдается линейное понижение температуры замерзания и линейный рост осмотического давления и показателя преломления раствора. Количественно определены параметры уравнений линейной регрессии концентрационных зависимостей коллигативных свойств и показателя преломления растворов, содержащих низкомолекулярные аминокислоты, при введении добавок других низкомолекулярных аминокислот. Статистически с использованием критерия Фишера доказано закономерное изменение положения линий температур замерзания, осмотического давления и показателя преломления растворов и сохранение или систематическое изменение тангенсов углов наклона указанных зависимостей при введении добавок одних низкомолекулярных аминокислот в растворы, содержащие другие низкомолекулярные аминокислоты.

Ключевые слова: глицин, β-аланин, коллигативные свойства, уравнение Вант-Гоффа, рефрактометрия

COLLIGATIVE PROPERTIES OF AQUEOUS SOLUTIONS LOW MOLECULAR WEIGHT AMINO ACIDS WITH LINEAR STRUCTURE

¹Minyaeva O.A., ¹Sidorchenko A.S., ¹Zatsepina M.N., ¹Grigoreva U.A., ²Safonov V.I.

¹South Ural State Medical University, Chelyabinsk, e-mail: kanc@chelsma.ru;

²South Ural State University, branch, Ust-Katav, e-mail: ukf74@mail.ru

Colligative and refractometric properties of aqueous solutions of low molecular weight amino acid with linear structure were studied for example of glycine and β-alanine. Linear decrease the freezing point and linear increase osmotic pressure and the refractive index of the solution is observed with increasing concentrations of individual amino acids to 10%. The parameters of the linear regression equation of concentration dependences of colligative properties and refractive index of solutions containing low molecular weight amino acids, with the introduction supplements of other low molecular weight amino acid are calculated to quantify. Serial change of position of lines freezing temperature, osmotic pressure and refractive index of solutions and retain or systematic variation of tangent slope angles specified dependencies when adding one amino acids in the low molecular weight solutions containing other low molecular weight amino acids, it is proved statistically using the Fisher criterion.

Keywords: glycine, β-alanine, colligative properties, equation of Van't Hoff, refractometers

Комбинации незаменимых и заменимых аминокислот используются в медицине и фармации в виде растворов для парентерального питания. Основным требованием, предъявляемым к современным растворам аминокислот, является обязательное содержание восьми незаменимых аминокислот (валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин), шести аминокислот, синтезируемых в организме из углеводов (аланин, глицин, серин, пролин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты) и 4-х аминокислот, которые синтезируются в организме в незначительном количестве (аргинин, гистидин, тирозин, цистеин). При этом осмолярность раствора для парентерального питания должна соответствовать уровню осмолярности

плазмы. В связи с этим **целью данного исследования** стало изучение взаимного влияния низкомолекулярных аминокислот на примере глицина и β-аланина на коллигативные свойства и показатель преломления водных растворов.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали водные растворы аминокислот глицина и β-аланина. Определение температуры замерзания проводили на автоматическом криоскопическом осмометре ОМТ-5-02. Предварительно прибор калибровали с помощью серии растворов рабочих стандартных образцов натрия хлорида. Испытуемые растворы лецитина соевого различной концентрации помещали в кювету прибора, погружали в термостат с контролируемой температурой и замораживали. Осмолярность раствора автоматически определяется по фиксированной температуре замерзания.

Определение показателя преломления растворов аминокислот проводили на рефрактометре ИРФ 454Б2М.

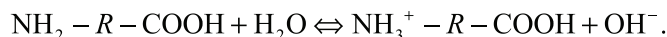
Результаты исследования и их обсуждение

Аминокислоты с низкой молекулярной массой, такие как глицин и β -аланин, хорошо растворимы в воде, и коллигативные свойства растворов аминокислот в соответствии с теорией определяются общим количеством частиц в растворе. К коллигативным свойствам, т.е. к свойствам, зависящим от общего числа частиц в растворе, относятся понижение температуры замерзания и повышение температуры кипения раствора по сравнению с чистым растворителем и осмотическое давление растворов [6].

Криоскопический метод – метод замораживания – дает возможность оценить изменение температуры замерзания раствора по сравнению с чистым растворителем и эффективную осмотическую концентрацию растворенного вещества, а также рассчитать осмотическое давление раствора. Это позволяет охарактеризовать свойства растворов веществ с точки зрения их со-

вместного присутствия, что крайне важно для растворов, применяемых для парентерального введения в медицине [1–3]. Как показано на рис. 1, увеличение концентрации глицина или β -аланина в растворе до 10% приводит к линейному понижению температуры замерзания раствора. Уравнения линейной аппроксимации имеют вид: $\Delta t_{\text{зам}} = (-1,15 \pm 0,02) \cdot C_{\text{АЛА}}$ для β -аланина и $\Delta t_{\text{зам}} = (-1,03 \pm 0,01) \cdot C_{\text{ГЛИ}}$ для глицина с коэффициентами корреляции $-0,998$. Свободные члены уравнений линейной регрессии близки к нулю, поскольку по результатам статистической обработки абсолютные значения указанных параметров малы, и ошибки их определения сопоставимы с величинами коэффициентов.

Молекулы аминокислот, исходя из их строения, могут проявлять свойства как кислот, так и оснований [4]. Проявление кислотных свойств обусловлено наличием карбоксильной группы, при диссоциации которой в раствор выделяются протоны. Проявление основных свойств обусловлено наличием аминогруппы, при протонировании которой в растворе появляются гидроксид-ионы:



Возможен перескок протона от карбоксильной группы к аминогруппе и появление цвиттер-иона в соответствии с уравнением

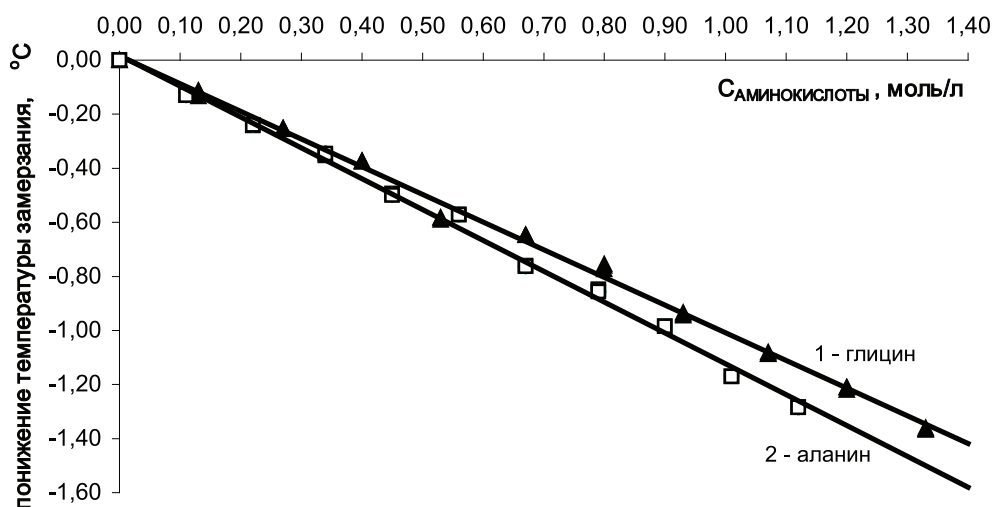


Рис. 1. Понижение температуры замерзания водных растворов глицина и β -аланина

Сила молекул аминокислот как кислот и как оснований характеризуется константами диссоциации. Для глицина: $K_a = 1,3 \cdot 10^{-10}$; $K_b = 2,26 \cdot 10^{-12}$. Для β-аланина: $K_a = 5,79 \cdot 10^{-11}$; $K_b = 3,56 \cdot 10^{-11}$. Значения констант диссоциации очень малы, поэтому можно допустить, что диссоциация карбоксильной группы и/или протонирование аминогруппы в водных растворах протекает крайне незначительно. Реакция образования цвиттер-иона не сопровождается увеличением числа частиц. Если изменения общего числа частиц в растворе не происходит, эффективная осмотическая концентрация частиц, выраженная в единицах молярности ($C_M^{осм}$), должна совпасть с аналитической (рассчитанной) молярной концентрацией аминокислот ($C_{аминок-ты}$). Как показывают расчеты с использованием критерия Фишера, гипотеза о том, что величины $C_M^{осм}$ и $C_{аминок-ты}$ значимо не отличаются друг от друга на всем изученном диапазоне концентраций, может быть принята на уровне значимости 0,005 [5]. Значит, увеличения числа частиц в растворе не произошло, и в дальнейшем не нужно учитывать процессы, изменяющие число частиц (диссоциацию, протонирование или образование ионных ассоциатов).

В общем случае осмотическое давление линейно зависит от аналитической концентрации аминокислот в растворе в соответствии с законом Вант – Гоффа: $\pi = C_{осм}^{эф} \cdot R \cdot T$ (рис. 2). β-аланин является осмотически более активным, чем глицин. 1 моль/л β-аланина увеличивает осмотическое давление раствора примерно на 3100 Па, тогда как для глицина этот показатель составляет величину порядка 2750.

Результаты рефрактометрии водных растворов глицина и β-аланина представлены на рис. 3. Присутствие низкомолекулярных аминокислот линейного строения в растворе приводит к линейному увеличению показателя преломления раствора с ростом концентрации аминокислоты. Уравнения регрессии имеют вид $n = 1,3330 + 0,0170 \cdot C_{\beta-ала}$ – для β-аланина и $n = 1,3331 + 0,0155 \cdot C_{гли}$ – для глицина с коэффициентами корреляции 0,998. Влияние β-аланина на показатель преломления раствора сильнее, чем глицина, т.е. β-аланин рефрактометрически более активен по сравнению с глицином.

Чтобы оценить влияние добавок одной аминокислоты на коллигативные и рефрактометрические свойства другой, были проанализированы понижение температуры замерзания, осмотическое давление и показатель преломления растворов глицина в присутствии фоновых добавок β-аланина (1, 3, 5%) и эти же параметры растворов β-аланина в присутствии фоновых добавок глицина (1, 3, 5%). Исходя из понятия коллигативных свойств растворов, добавление одной аминокислоты к раствору другой аминокислоты должно привести к сдвигу линии температур замерзания вниз, линии осмотического давления вверх. Причем величина сдвига и тангенс угла наклона линий должны определенным образом соотноситься с величиной добавки и природой добавленной аминокислоты. Экспериментальные данные, иллюстрирующие коллигативные свойства водных растворов β-аланина с добавками глицина и водных растворов глицина с добавками β-аланина, представлены в табл. 1 и 2.

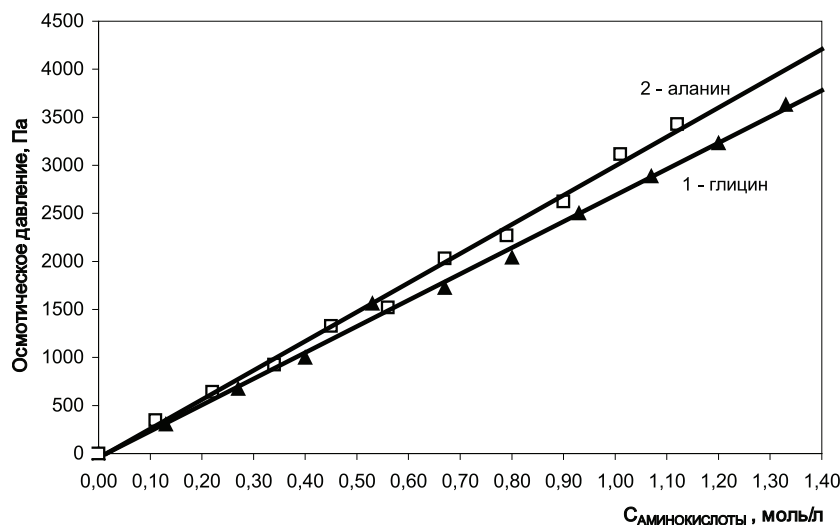


Рис. 2. Зависимость осмотического давления водного раствора от концентрации глицина и β-аланина

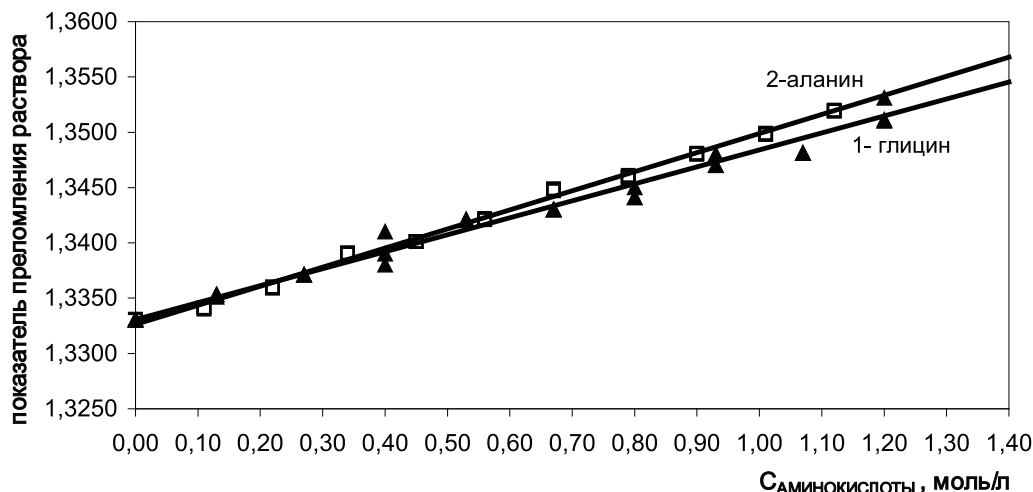


Рис. 3. Зависимость показателя преломления водного раствора от концентрации глицина и β -аланина

Таблица 1

Уравнения регрессии концентрационных зависимостей свойств водных растворов β -аланина с добавками глицина

Изучаемый объект	Уравнение регрессии вида $Y = a + b \cdot X$ для изменения температуры замерзания, осмотического давления и показателя преломления от концентрации аланина	Коэффициент корреляции R	Ошибки определения коэффициентов a и b
Водные растворы аланина	$\Delta t_{\text{зам}} = 0,03 - 1,15 \cdot C_{\text{АЛА}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,02$
	$\pi = -70 + 3050 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,998	$\Delta a = 50; \Delta b = 70$
	$n = 1,3330 + 0,0170 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,998	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0002$
Водные растворы аланина с фоном 1% глицина	$\Delta t_{\text{зам}} = -0,09 - 1,19 \cdot C_{\text{АЛА}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,02$
	$\pi = 200 + 3200 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,998	$\Delta a = 50; \Delta b = 80$
	$n = 1,3349 + 0,0161 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,997	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0002$
Водные растворы аланина с фоном 3% глицина	$\Delta t_{\text{зам}} = -0,37 - 1,20 \cdot C_{\text{АЛА}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,02$
	$\pi = 950 + 3300 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,998	$\Delta a = 50; \Delta b = 100$
	$n = 1,3374 + 0,0175 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,997	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0003$
Водные растворы аланина фоном 5% глицина	$\Delta t_{\text{зам}} = -0,70 - 1,23 \cdot C_{\text{АЛА}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,02$
	$\pi = 1850 + 3100 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,998	$\Delta a = 50; \Delta b = 120$
	$n = 1,3430 + 0,0160 \cdot C_{\text{АЛА}}$	0,998	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0002$

По полученным данным можно сформулировать следующие закономерности. Для смесей низкомолекулярных аминокислот в водном растворе соблюдается линейность концентрационных зависимостей коллигативных свойств и показателя преломления с коэффициентами корреляции не ниже 0,998 и 0,997 соответственно. Сопоставимые величины абсолютной ошибки опре-

деления свободного члена в уравнениях регрессии со значением свободного члена свидетельствуют о близости данного коэффициента к нулю.

Статистически с использованием критерия Фишера доказано, что величина смещения характеристик коллигативных свойств и показателя преломления по оси ординат и изменение тангенса угла наклона прямых

для серии растворов β-аланина с добавками глицина незначимо отличается от аналогичных характеристик для серии растворов глицина с добавками β-аланина. Гипотеза об однородности результатов измерений может быть принята по критерию Фишера на уровне значимости критерия 0,05 (расчитанные значения критерия Фишера составляют $F_{p=0,05}^{\text{практ}} = 1,090$ – для сдвига линии по оси температур; $F_{p=0,05}^{\text{практ}} = 1,760$ – для тангенса угла наклона линии к оси температур; $F_{p=0,05}^{\text{практ}} = 1,054$ – для сдвига линии по оси осмотического давления; $F_{p=0,05}^{\text{практ}} = 1,726$ – для сдвига линии по оси показателя преломления; табличное значение критерия Фишера $F_{p=0,05}^{\text{теор}} = 5,050$). Если в растворе присутствуют обе аминокислоты – глицин и β-аланин – то каждый 1% добавки аминокислоты к раствору приводит к сдвигу температуры замерзания вниз по оси температур на величину $0,13 \pm 0,01$ °С и увеличению по модулю тангенса угла наклона линии к оси концентраций на $0,024 \pm 0,008$ град·л/моль. Соответственно сдвиги по оси осмотиче-

ского давления и показателя преломления на каждый 1% добавки низкомолекулярных аминокислот к раствору составляют 330 ± 30 Па и $0,0020 \pm 0,0003$.

В серии растворов β-аланина с добавками глицина добавки глицина, как менее активного в осмотическом отношении компонента, не приводят к существенному изменению тангенса угла наклона линий осмотического давления к оси концентраций, который составляет 3200 ± 200 Па·л/моль. В серии растворов глицина с добавками β-аланина ситуация обратная. Каждый 1% добавки аланина, как более активного в осмотическом отношении компонента, обеспечивает увеличение по модулю тангенса угла наклона к оси концентраций линии осмотического давления на 70 ± 10 Па·л/моль. Добавки низкомолекулярных аминокислот линейного строения практически не приводят к изменению тангенса угла наклона линии показателя преломления к оси концентраций, который составляет $0,0155 \pm 0,0006$ для серии растворов глицина с добавками аланина и $0,0170 \pm 0,0010$ для серии растворов аланина с добавками глицина.

Таблица 2

Уравнения регрессии концентрационных зависимостей свойств водных растворов глицина с добавками β-аланина

Изучаемый объект	Уравнение регрессии вида $Y = a + b \cdot X$ для изменения температуры замерзания, эффективной осмотической концентрации, осмотического давления и показателя преломления от концентрации глицина	Коэффициент корреляции R	Ошибки определения коэффициентов a и b
Водные растворы глицина	$\Delta t_{\text{зам}} = 0,02 - 1,03 \cdot C_{\text{гли}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,01$
	$\pi = -60 + 2750 \cdot C_{\text{гли}}$	0,998	$\Delta a = 45; \Delta b = 50$
	$n = 1,3331 + 0,0155 \cdot C_{\text{гли}}$	0,998	$\Delta a = 0,0002; \Delta b = 0,0002$
Водные растворы глицина с фоном 1% аланина	$\Delta t_{\text{зам}} = -0,08 - 1,02 \cdot C_{\text{гли}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,01$
	$\pi = 160 + 2800 \cdot C_{\text{гли}}$	0,999	$\Delta a = 40; \Delta b = 50$
	$n = 1,3342 + 0,0152 \cdot C_{\text{гли}}$	0,997	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0002$
Водные растворы глицина с фоном 3% аланина	$\Delta t_{\text{зам}} = -0,34 - 1,10 \cdot C_{\text{гли}}$	-0,999	$\Delta a = 0,02; \Delta b = 0,01$
	$\pi = 870 + 2950 \cdot C_{\text{гли}}$	0,998	$\Delta a = 40; \Delta b = 70$
	$n = 1,3381 + 0,0151 \cdot C_{\text{гли}}$	0,998	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0002$
Водные растворы глицина с фоном 5% аланина	$\Delta t_{\text{зам}} = -0,57 - 1,17 \cdot C_{\text{гли}}$	-0,998	$\Delta a = 0,01; \Delta b = 0,02$
	$\pi = 1490 + 3100 \cdot C_{\text{гли}}$	0,998	$\Delta a = 60; \Delta b = 140$
	$n = 1,3422 + 0,0160 \cdot C_{\text{гли}}$	0,998	$\Delta a = 0,0001; \Delta b = 0,0003$

Выводы

1. Среди низкомолекулярных аминокислот линейного строения β -аланин является более активным осмотически и рефрактометрически по сравнению с глицином.

2. Совместное присутствие глицина и β -аланина в водном растворе приводит к некоторому выравниванию хода линейных концентрационных зависимостей осмотического давления и показателя преломления, что может быть непротиворечиво объяснено именно с позиций проявления коллигативных свойств, когда нивелируются физико-химические особенности каждого из компонентов, а свойства растворов определяются общим количеством частиц.

Список литературы

1. Миняева О.А., Ботова Д.И., Нелюбина Е.С. Коллигативные свойства растворов интерферона альфа лейкоцитарного человеческого // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – С. 800.
2. Миняева О.А., Ботова Д.И., Нелюбина Е.С. Концентрационные зависимости вязкости белковых систем и рефрактометрический анализ растворов белков // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 1797.
3. Миняева О.А., Симонян Е.В., Евсельева Е.А., Позднякова Е.С., Музафарова А.Р., Саедгалина О.Т. Совершенствование способов контроля качества белка в препаратах иммуноглобулина // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 1. – С. 364.
4. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинград. В 3-х томах. Т.1. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 694 с.
5. Спиридонов В.П., Лопаткин А.А. Математическая обработка результатов физико-химических данных. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. – 221 с.
6. Физическая и коллоидная химия: учеб. для фармац. вузов и факультетов / под ред. проф. Беяева А.П. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 700 с.