

O. KIRRET, E. KULLIK, MARET LUUS

AMINOHAPETE PÜROLÜÜSI GAASIKROMATOGRAAFILINE ANALÜÜS

Vaadeldakse pürolüüsi-gaasikromatograafiametodi kasutamise võimalusi asparagiinhappe, glutamiinhappe, lüsiini, ornitiini, arginiini, seriini, treoniini, tsüstiini, tsüsteiini, metioniini, fenüülalaniini, türosiini, proliini, trüptofaani, histidiini ja tauriini kergemate pürolüüsi produktide $C_1 \dots C_6$ ja lihtsamate väevliühendite H_2S , COS , CS_2 ja SO_2 määramiseks [1, 2].

Töö on jätkuks uurimusele, milles käsitletakse gaasikromatograafia kasutamise võimalusi alifaatsete monoaminokarboksülhapete glütsiini,alaniini, valiini, leutsiini ja isoleutsiini pürolüüsi produktide $C_1 \dots C_6$ identifitseerimiseks [3].

Ekspperimentaalne osa

Kasutati gaasikromatograafi VХ-1 koos roostevabast terasest pürolüüsi-bloki ja temperatuuri programmeeriva lisaseadmega [4].

Analüüsi tulemused

Uuritavate aminohapete kvalitatiivseid erinevusi kajastavad pürolüüsil tekkinud produktid. Näiteks tekib kõikide vaadeldud aminohapete lagunemisel eranditult propaan. Alaniini, glütsiini, asparagiinhappe, glutamiinhappe, fenüülalaniini, türosiini, trüptofaani ja histidiini pürolüüsil aga jääbki propaan süsivesinikest kõrgemaks lagunemisproduktiks.

Aromaatseid ja heterotsüklilisi aminohappeid fenüülalaniini, türosiini, trüptofaani ja histidiini võib vaadelda kui α -alaniini derivaate, mille radikaalis üks vesiniku aatom on asendatud tsüklilise grupiga. Pürolüüsi tulemusena selgus, et ka nende lagunemisproduktid sarnanevad alaniini lagunemisproduktidega.

Nagu tabelist 2 nähtub, on kõikidel aminohapete kromatogrammidel piik 1, mis märgib mitmeid kergemaid gaasilisiprodukte, nagu metaan, etaan, süsinikoksiid ja süsinikdioksiid. Need ained on määratud kahes. aktiivsõega ja silikageeliga adsorbtsioonikolonnis.

Lüsiin, ornitiin, arginiin, asparagiinhape ja glutamiinhape annavad lagunemisel rohkem hapnikuühendeid — süsinikoksiidi ja süsinikdioksiidi —, vähem metaani ja etaan. Lüsiini, arginiini ja ornitiini pürolüüsi üheks iseloomulikumaks produktiks on 2,2-dimetüülpropaan ja propeen, lüsiinil ja arginiinil — 1,3-butadien, mis alifaatsetel monoaminokarboksülhapetel esineb ainult jälgedena.

Tabel

Aminohapete pürolüüsil kasutatud kolonnid ja režiimid

Kolonne täidis	Tahke kandja tera suurus, mesh	Tahke kandja ja statsionaarse faasi suhe	Kolonne				Kandegaasi kiirus, l/h
			materjal	pikkus, m	sisemine läbimõõt, mm	temperatuur, °C	
Chromosorb P 2,4-dimetüülsulfolaan (DMS)	60/80	80/20	rooste- vaba teras	6,0	3,5	25	3,8
Silikageel KCM	—	—	vask	2,3	3,9	55	4,5
Silikageel KCM	—	—	rooste- vaba teras	0,56	3,6	100	8,4
Aktiivsüsi	—	—	rooste- vaba teras	3,0	3,5	46	4,5

Märkused: 1) Aktiivsöe mark teadmata, kolonn saadud koos gaasikromatograafia VY-1, 2) kandegaas He, 3) detektori vool 190 mA.

Seriini ja treoniini piik 1 sisaldab maksimaalse koguse süsinikdioksiidi, vähem süsinikoksiidi, metaani ja etaani. Treoniini pürolüüsi üks iseloomulikumaidprodukte on propeen. Türosiini piigis 1 esineb kõige enam süsinikdioksiidi, vähesel määral süsinikoksiidi ja metaani, etaan puudub, fenüülalaniinil esineb vähe süsinikoksiidi ja süsinikdioksiidi, teised produktid puuduvad.

Väävlit sisaldavates aminohapetes tsüstiinis, tsüsteiinis ja metioniinis sisaldab piik 1 maksimaalse koguse süsinikdioksiidi, vähem metaani, süsinikoksiidi ja etaani. Tauriini piigi 1 osatähtsus on teiste aminohapetega võrreldes väiksem, millest tulenevalt piigi 1 koosseisu kuuluvaid lagunemisprodukte tekib suhteliselt vähem. Neil kõigil esineb üks ühine produkt, mille Kovatsi indeks on tsüstiinil 387, tsüsteiinil 386, metioniinil 392 ja tauriinil 386. Etaloonainete puudumisel jäi see produkt identifitseerimata. Tema osatähtsus on vastavalt 3,1; 2,3, jäljed, 3,0%. Üheks iseloomulikumaks produktiks on neil veel 1,3-butadieen, tauriinil — etüün.

Prolini, trüptofaani ja histidiini piigis 1 esineb rohkem süsinikdioksiidi ja süsinikoksiidi, vähem metaani, etaani esineb ainult histidiinil.

Aminohapete pürolüüsi produktide kromatogrammid, mis saadi DMS kolonne kasutades, on esitatud joonisel.

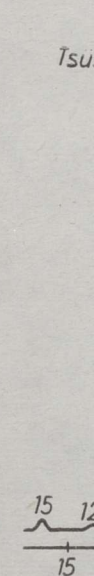
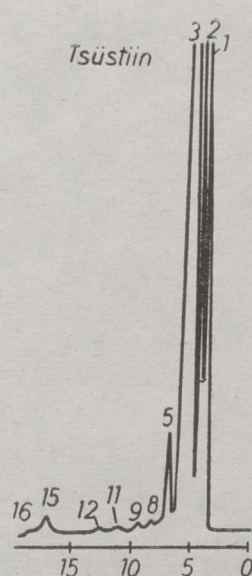
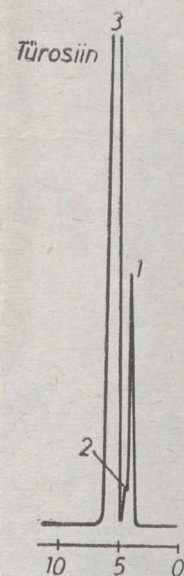
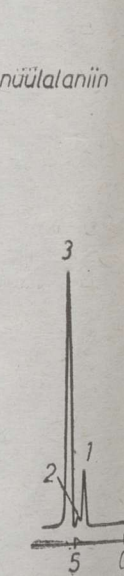
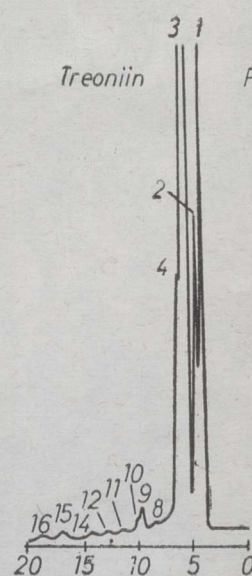
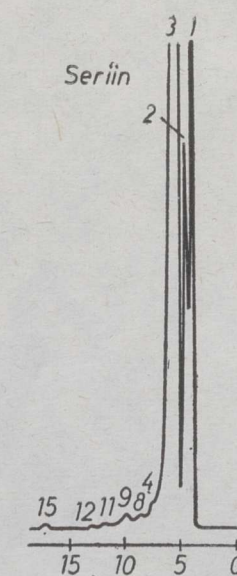
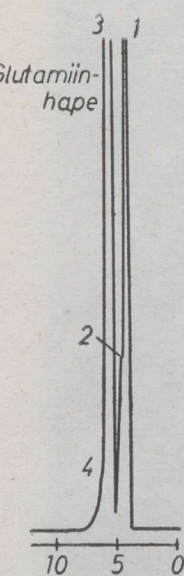
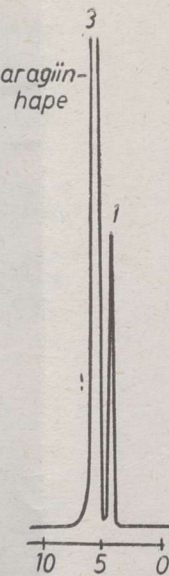
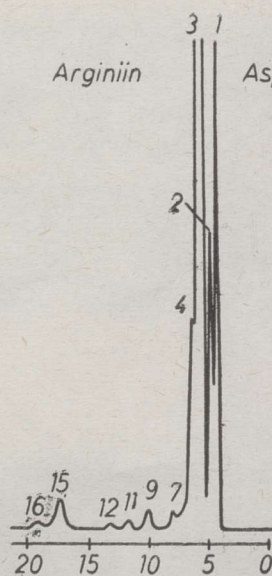
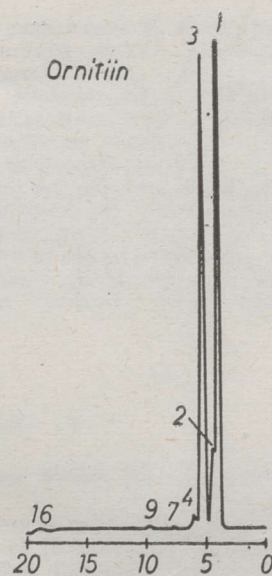
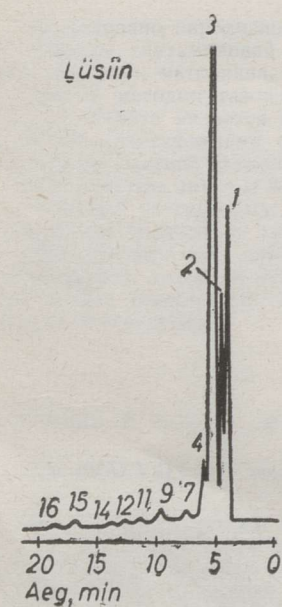
Nagu Merritti ja Robertsoni artiklist [5] nähtub, määrasid nad ka väävliühendid ja leidsid, et kõigis väävlit sisaldavates aminohapetes (tsüstiin, tsüsteiin, metioniin, tauriin) esineb SO_2 , CS_2 ja COS.

Käesolevas töös määrati lihtsamad väävliühendid H_2S , SO_2 , CS_2 ja COS silikageelkolonne kasutades. Kolonne parameetrid on esitatud tabelis 1. Ilmnes, et proovi kaalutist tuli suurendada 2 kuni 10 mg, kuna väävlit sisaldavaid ühendeid oli pürolüüsi produktides vähe ja need jäid gaasikromatograafi tundlikkuse piirist allapoole. Kõikide väävlit sisaldavate aminohapete lagunemisel tekib H_2S ja CS_2 , SO_2 esineb tauriinil ja tsüsteiiniinil. Etaloonaine puudumisel määrati COS [1] kromatogrammi järgi; tauriinil COS puudub.

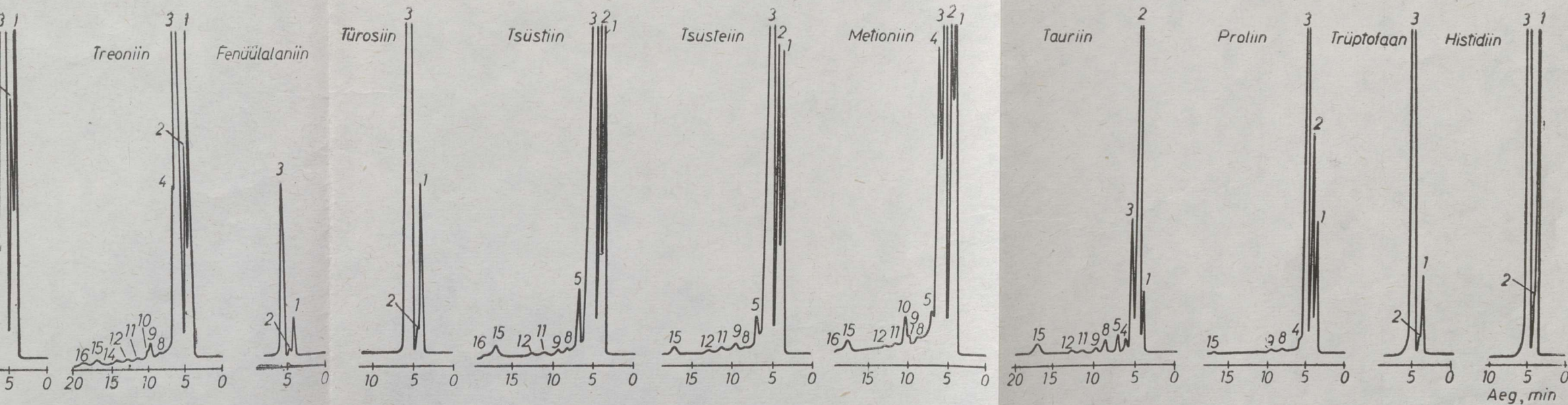
Erinevalt uurimustest [5-7] lagundati käesoleval korral aminohappeid pürolüütiliselt, võrreldi produktide kergemaid komponente $\text{C}_1 \dots \text{C}_6$ ja leiti, et aminohapete eraldamiseks sobib kõige enam pürolüüs temperatuu-

Aminohapete pürolüüsi produktid

Piigi nr.	Aine nimetus	Etaloon- aine Kovatsi indeks	Lüsiin		Ornitiin		Arginiin		Asparagiinhape		Glutamiinhape		Seriin		Treoniin		Fenüülalaniin		Türosiin		Tsüstiin	
			Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %
1	CO, CO ₂ , CH ₄ , C ₂ H ₆	—	—	17,4	—	48,5	—	18,5	—	16,2	—	35,9	—	18,9	—	8,4	—	13,5	—	16,0	—	9,0
2	Eteen	—	—	13,9	—	5,8	—	12,4	—	—	—	jälg	—	11,4	—	7,5	—	jälg	—	jälg	—	15,0
3	Propaan	300	300	60,6	300	43,0	300	56,4	300	83,8	300	64,0	300	69,0	300	79,0	300	86,2	300	84,0	300	71,5
4	Propeen	349	352	4,7	355	1,8	352	6,5	—	—	—	jälg	—	—	353	4,1	—	—	—	—	—	
5	Identifitseerimata	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6	<i>n</i> -butaan	400	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	3,1
7	2,2-dimetüülpropaan	403	405	0,5	411	jälg	403	0,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	Etüün	424	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	427	jälg	430	jälg	—	—	—	—	—	
9	Buteen-1	445	449	1,0	448	jälg	448	1,1	—	—	—	—	450	jälg	449	0,4	—	—	—	—	427	0,1
10	Isobuteen	454	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	450	0,2
11	2-buteen- <i>trans</i>	473	474	0,3	—	—	475	0,7	—	—	—	—	476	jälg	475	jälg	—	—	—	—	—	—
12	2-buteen- <i>cis</i>	489	490	0,2	—	—	493	0,2	—	—	—	—	495	jälg	491	jälg	—	—	—	—	474	0,1
13	<i>n</i> -pentaan	500	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	jälg
14	2-metüül-1-buteen	505	502	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	505	jälg	—	—	—	—	—	—
15	1,3-butadien	530	530	0,8	—	—	533	2,9	—	—	—	—	533	0,3	531	0,2	—	—	—	—	533	0,5
16	Penteen-1	543	543	0,2	545	0,7	546	0,4	—	—	—	—	—	—	543	0,2	—	—	—	—	542	jälg
17	2-metüül-1-buteen	563	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	<i>n</i> -heksaan	600	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—



Seriin		Treoniin		Fenüülalaniin		Türosiin		Tsüstiin		Tsüsteiin		Metioniin		Tauriin		Proliin		Trüptofaan		Histidiin	
Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %	Kovatsi indeks	Piigi pind, %
—	18,9	—	8,4	—	13,5	—	16,0	—	9,0	—	11,1	—	22,0	—	8,5	—	13,2	—	10,4	—	36,7
—	11,4	—	7,5	—	jälg	—	jälg	—	15,0	—	15,1	—	11,7	—	59,2	—	21,5	—	jälg	—	jälg
300	69,0	300	79,0	300	86,2	300	84,0	300	71,5	300	70,0	300	49,0	300	21,1	300	65,3	300	89,6	300	63,4
—	—	353	4,1	—	—	—	—	—	—	—	—	352	11,0	353	1,9	359	jälg	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	387	3,1	386	2,3	391	jälg	386	3,0	—	—	—	—	—	—
400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
427	jälg	430	jälg	—	—	—	—	427	0,1	427	jälg	432	jälg	428	2,7	427	jälg	—	—	—	—
450	jälg	449	0,4	—	—	—	—	450	0,2	448	0,5	452	jälg	450	0,6	451	jälg	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	459	1,6	—	—	—	—	—	—	—	—
476	jälg	475	jälg	—	—	—	—	474	0,1	475	0,2	479	0,1	476	jälg	—	—	—	—	—	—
495	jälg	491	jälg	—	—	—	—	492	jälg	491	0,2	494	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—
500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—
—	—	505	jälg	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
533	0,3	531	0,2	—	—	—	—	533	0,5	532	0,7	534	0,7	533	3,0	535	jälg	—	—	—	—
—	—	543	0,2	—	—	—	—	542	jälg	—	—	546	jälg	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—



Aminohapete pürolüüsi produktide kromatogrammid. (Kolonn DMS.)

ril 500°C ja gaasikromatograafilise kolonni täidiste statsionaarsetest faasidest DMS. Selgus, et aminohapete pürolüüsi kergemad produktid sõltuvad uuritavate aminohapete struktuurist, kusjuures keemiliselt koostiselt lähedaste aminohapete kromatogrammid erinevad omavahel peamiselt ainult komponentide kvantiteedi poolest.

KIRJANDUS

1. Hodges C., Matson R., Anal. Chem., **37**, 1065 (1965).
2. Fredericks E. M., Brooks F. R., Anal. Chem., **28**, 297 (1956).
3. Kirret O., Küllik E., Lüüs M., ENSV TA Toimet., Keem., Geol., **18**, 307 (1969).
4. Kirret O., Küllik E., ENSV TA Toimet., Füüs.-Mat. ja Tehn. tead. Seeria, **13**, 15 (1964).
5. Merritt C., Robertson D. H., J. Gas Chromatogr., **5**, 96 (1967).
6. Stack M. V., Biochem. J., **96**, 926 (1965).
7. Stack M. V., On VII International Gaschromatographic Symposium in Copenhagen, 1968.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Keemia Instituut

Saabus toimetusse
17. IV 1970

O. КИРРЕТ, Э. КЮЛЛИК, МАРЕТ ЛЮИС

АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТ МЕТОДОМ ПИРОЛИЗНОЙ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Исследовано пиролитическое разложение 16 индивидуальных аминокислот: аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лизина, орнитина, аргинина, серина, треонина, цистина, цистеина, метионина, фенилаланина, тирозина, пролина, триптофана, гистидина и таурина — методом газовой хроматографии и определены легкие продукты пиролитического разложения $C_1 \dots C_6$. Работа является продолжением исследования, в котором были изучены возможности идентификации продуктов пиролитического разложения $C_1 \dots C_6$ моноаминокарбоновых кислот методом пиролитической газовой хроматографии [3].

В результате анализа было найдено, что состав легких продуктов пиролитического разложения зависит от структуры исследуемых аминокислот, причем хроматограммы близких по строению аминокислот отличаются друг от друга в основном по количеству компонентов.

При пиролитическом разложении всех изученных аминокислот образуется сравнительно большое количество метана, двуокиси углерода, окиси углерода, пропана и водорода. При пиролитическом разложении аминокислот, содержащих серу (метионин, цистин, цистеин и таурин), образуются сероводород и сероуглерод.

O. KIRRET, E. KÜLLIK, MARET LUUS

AN ANALYSIS OF AMINO ACIDS BY PYROLYSIS-GAS-CHROMATOGRAPHY

The task of the present work is to determine light products of pyrolysis hydrocarbons $C_1 \dots C_6$ in the decomposition of 16 individual amino acids (aspartic acid, glutamic acid, lysine, ornithine, arginine, serine, threonine, cystine, cysteine, methionine, phenylalanine, tyrosine, proline, tryptophan, histidine and taurine) by gas-chromatographic methods.

The present work is the continuation of the paper dealing with identifying products of pyrolysis — hydrocarbons $C_1 \dots C_6$ of aliphatic monoaminocarboxyl acids by gas-chromatographic methods [3].

As a result of the analysis, it was found that light products of pyrolysis of amino acids depend on the structure of examined amino acids, while chromatograms of amino acids similar in their chemical ingredient have fundamental differences in quantitative relations, only.

Methane, carbon dioxide, carbon oxide, propane and hydrogen are found in the pyrolysate of all examined amino acids and carbon disulfide, hydrogen sulfide in sulfur containing amino acids (methionine, cystine, cysteine, taurine).