EESTI NSV TEADUSTE AKADEEMIA TOIMETISED. XVIII KÖIDE
KEEMIA * GEOLOOGIA. 1969. Nr. 4

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ЭСТОНСКОЙ ССР. ТОМ XVIII
ХИМИЯ * ГЕОЛОГИЯ. 1969. № 4

https://doi.org/10.3176/chem.geol.1969.4.01

O. KIRRET, E. KÜLLIK, MARET LÜÜS

ALIFAATSETE MONOAMINOKARBOKSÜÜLHAPETE PÜROLÜÜSI PRODUKTIDE UURIMINE GAASIKROMATOGRAAFILISEL MEETODIL

Aminohapete analüüsiks ja termilise lagunemise uurimiseks on kasutatud mitmesuguseid meetodeid. Aminohappeid analüüsides oksüdeerisid Zlatkis jt. [1] nad mikroreaktoris aldehüüdideks, mis järgnevalt eraldati kromatograafiliselt. Perrone [2] identifitseeris proteiinide lõpugruppe aminohapete 2,4-dinitrofenüülderivaatide kaudu, kasutades õhukesekihilist ja paberkromatograafiat. Viimasel ajal on aminohapete analüüsiks kasutatud ka pürolüüsi. Kanomata jt. [3] pürolüüsisid gaasikromatograafiliselt aminohappeid ja proteiine. Stack [4] pürolüüsis proteiine ning sai produktidena alifaatseid amiine ja aminohappeid. Winter ja Albro [5] pürolüüsisid aminohappeid madalal temperatuuril ning võrdlesid ja identifitseerisid mitmete albumiinide, hemoglobiini ja teiste proteiinide ning peptiidide pürolüsaate. Samuti selgitasid nad pürolüüsitavate segude kvantitatiivse määramise võimalust. Merritt ja Robertson [6] analüüsisid 17 aminohapet 10 peptiidi kombineeritud pürolüüsi-gaasikromatograafilise ja mass-spektromeetrilise süsteemi abil. Nad identifitseerisid tundmatud pürolüüsi produktid ja esitasid uue peptiidide ja proteiinide kvalitatiivse analüüsi meetodi. Janak [7] lagundas mõningaid aminohapete kaaliumisoolasid ja vere albumiini.

Kirjanduse andmetel on pürolüüsitud ka teisi bioloogilisi aineid. Reiner [8] pürolüüsis baktereid ja bakterite kestasid, kusjuures pürolüüsi produkte analüüsiti klassikaliste keemiameetodite, mass-spektromeetri ja infrapunase absorptsioonispektroskoobi abil. Oyama [9] kasutas gaasikromatograafiat bioloogiliste materjalide pürolüüsi produktide identifitseerimiseks. Stack [10] refereerib Kirki tööd juuste pürolüüsist nende individuaalsuse määramiseks gaasikromatograafiliselt ja Brodasky uurimust linkomütsiini ja tema derivaatide pürolüüsist, kus saadi pürrooli ja selle derivaate. Masuda jt. [11] pürolüüsisid L-glutamiinhapet ja L-leutsiini. Pürolüüsi produktidest vaadeldi lähemalt 1- ja 2-naftüülamiinide tekkimist. Heyns ja Pavel [12] töötlesid termiliselt glütsiini ja määrasid madala molekulmassiga produktidest alaniini, glütsiilglütsiini jt. Lenduvatest produktidest määrati H_2O, NH_3, SO_2 ja HCN. Teiste aminohapete käitumist neis tingimustes võrreldi glütsiini omadustega.

Käesoleval korral pürolüüsiti alifaatseid monoaminokarboksüülhappeid (glütsiini, alaniini, valiini, leutsiini ja isoleutsiini), et määrata nende lagunemisel tekkivaid kergemaid produkte.

Eksperimentaalne osa

Alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsiks kasutati gaasikromatograafi YX-1 koos roostevabast terasest pürolüüsibloki ja temperatuuri programmeeriva lisaseadmega [13]. Pürolüüsiblokk võimaldas alifaatseid monoaminokarboksüülhappeid pürolüüsida kromatograafi kandegaasi voolus. Pürolüüsi temperatuuri valikul arvestati, et kromatogrammidel esi-

neks maksimaalselt aminohapete eristamiseks sobivaid iseloomulikke piike. Neile nõuetele vastas temperatuur 500° C. Pürolüüs kandegaasi voolus kestis 10—12 sekundit. Gaasikromatograafi kolonni temperatuuri valikul olid määravateks teguriteks kolonni täidis ja pürolüüsil tekkivate komponentide spetsiifika.

Produktide gaasikromatograafilise lahutuvusteravuse seisukohalt osutus kasutatud kolonnide puhul optimaalseks temperatuuriks aktiivsöel 46° C, silikageelil 55° C ja DMS-il 25° C.

Pürolüüsitava aine kaalutis valiti selline, et iseloomulikud piigid põhiliselt jääksid diagrammilindile ja et mikrokomponendid oleksid maksi-

Tabel 1

Alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsil kasutatud kolonnid ja režiimid

Kolonni täidis	Tahke kandja tera suurus, mesh	Tahke kandja ja statsionaarse faasi suhe	Kolonni materjal	Kolonni mõõtmed		Kolonni temp., °C	Kandegaasi kiirus, l/h	Kandegaasi rõhk, atm.
				Pikkus, m	Sisemine läbimõõt, mm			
Chromosorb P/2,4-dimetüülsulfolaan (DMS)	60/80	80/20	roostevaba teras	6,0	3,5	25	3,8	1,0
Silikageel KCM (SG)	—	—	vask	2,3	3,9	55	4,5	2,2
Aktiivsüsi	—	—	roostevaba teras	3,0	3,5	46	4,5	0,78

Märkused: 1) Aktiivsöe mark teadmata, kolonn saadud koos gaasikromatograafiga YX-1, 2) Kandegaas He, 3) Detektori vool 190 mA.

Tabel 2

Alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsi produktid

Piigi nr.	Aine nimetus	Etaloonaine	Glütsiin		Alaniin		Valiin		Leutsiin		Isoleutsiin	
		Kovatsi indeks	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_2H_6	—	—	17,8	—	14,8	—	43,9	—	41,0	—	41,1
2.	Eteen	—	—	—	—	2,6	—	3,0	—	8,6	—	12,1
3.	Propaan	300	300	82,2	300	82,5	300	26,6	300	31,5	300	26,3
4.	Propeen	349	—	—	—	—	354	14,3	351	13,2	350	12,0
5.	*n*-butaan	400	400	—	400	—	400	—	400	—	400	—
6.	2,2-dimetüülpropaan	403	—	—	—	—	—	—	—	jäljed	402	0,1
7.	Etüün	424	—	—	—	—	430	0,1	429	0,1	429	0,1
8.	Buteen-1	445	—	—	—	—	447	0,4	449	0,5	448	2,0
9.	Isobuteen	454	—	—	—	—	455	3,6	456	3,1	455	0,8
10.	2-buteen-*trans*	473	—	—	—	—	477	0,1	475	0,2	474	1,3
11.	2-buteen-*cis*	489	—	—	—	—	492	0,1	492	0,1	488	0,8
12.	*n*-pentaan	500	500	—	500	—	500	—	500	—	500	—
13.	3-metüül-1-buteen	505	—	—	—	—	—	—	506	1,1	506	0,1
14.	1,3-butadieen	530	—	—	—	—	530	0,4	533	0,2	530	0,5
15.	2-metüül-1-buteen	563	—	—	—	—	560	0,1	563	0,1	558	2,8
16.	*n*-heksaan	600	600	—	600	—	600	—	600	—	600	—

maalselt eraldatud. Proovi kaalutisel alla 1,5 mg ei olnud mikrokomponendid gaasikromatograafi nulljoone foonist igakord küllaldaselt eraldatavad. Kui kaalutised olid üle 3,5 mg, segasid makrokomponendid mikrokomponentide eraldamist. Sellest lähtudes kujunes pürolüüsitava proovi kaalutiseks enamasti 1,5—2,5 mg. Kasutati roostevabast terasest kolonni, et vältida vase võimalikku katalüütilist mõju.

Pürolüüsi kergemate produktide identifitseerimiseks kasutati aktiivsöe ja silikageeliga täidetud adsorptsioonikolonne, mis võimaldavad eraldada ainult kergemaid gaasilisi komponente.

Pürolüüsi kergemate produktide eraldamiseks kasutatavatest suurema lahutuvuspiirkonnaga kolonnidest valiti 2,4-dimetüülsulfolaan/Chromosorb P kolonn [14]. Alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsil kasutatud kolonnid ja režiimid on esitatud tabelis 1, pürolüüsi kergemate produktide retentsiooniajad, Kovatsi indeks ja piigi pindala protsentides aga tabelis 2.

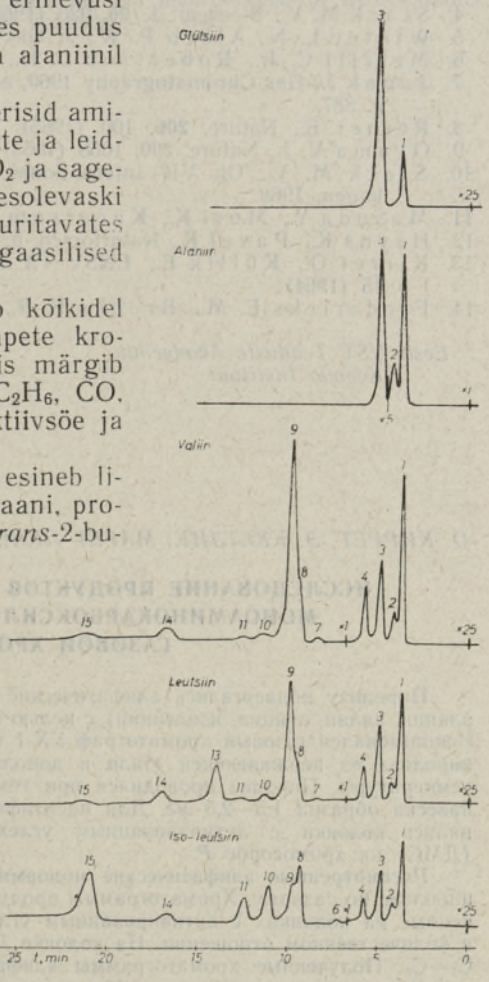
Aktiivsöe ja silikageeliga täidetud kolonne kasutades esines saadavatel alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsi produktide kromatogrammidel olulisi erinevusi piikide kvantitatiivsetes vahekordades. Suuremaid erinevusi esines glütsiinil ja alaniinil, milledes puudus etaan. Glütsiinil puudus ka eteeni ja alaniinil metaani piik.

Merrit ja Robertson [6] identifitseerisid aminohapete koostises kergemaid produkte ja leidsid, et kõigis aminohapetes esineb CO_2 ja sagedasti ka CH_4. See leidis kinnitust käesolevaski töös. Lisaks eelmainituile määrati uuritavates aminohapetes mitmed kergemad gaasilised produktid.

Nagu tabelist 2 nähtub, esineb kõikidel alifaatsetel monoaminokarboksüülhapete kromatogrammidel ühine piik (1.), mis märgib kergemaid gaasilisi produkte CH_4, C_2H_6, CO, CO_2. Need ained määrati kahes (aktiivsöe ja silikageeliga) adsorptsioonikolonnis.

Valiinil, leutsiinil ja isoleutsiinil esineb lisaks eespool märgituile eteeni, propaani, propeeni, etüüni, buteen-1, isobuteeni, *trans*-2-buteeni, *cis*-2-buteeni, 1,3-butadieeni ja 2-metüül-1-buteeni piik. Erinevalt valiinist esineb leutsiinil ja isoleutsiinil 2,2-dimetüülpropaani ja 3-metüül-1-buteeni piik.

Tabelis 2 esitatud andmetest selgub, et vaadeldud alifaatsed monoaminokarboksüülhapped lagunevad pürolüüsil erinevalt. DMS kolonniga eraldatud komponentidest moodustavad glütsiinil ja alaniinil suuremad piigid propaan ning valiinil, leutsiinil ja isoleutsiinil eteen, propaan, propeen, buteen-1 ja isobuteen. Teiste tabelis 2 esitatud komponentide osatähtsus on suhteliselt väiksem. Erandiks on isoleutsiin,



Alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsiproduktide kromatogrammid. Kolonn DMS.

mille termilisel lagunemisel tekib rohkem buteen-1, *cis-* ja *trans*-2-buteeni ning 2-metüül-1-buteeni. Valiinil ja leutsiinil aga tekib isobuteeni ning leutsiinil 3-metüül-1-buteeni. Lämmastikku sisaldavaid ühendeid ei uuritud.

Alifaatsete monoaminokarboksüülhapete pürolüüsi produktide kromatogrammid DMS kolonniga on esitatud joonisel.

Erinevalt varasemate autorite töödest [4, 6, 10] lagundati käesoleval korral alifaatseid monoaminokarboksüülhappeid pürolüütiliselt ja võrreldi pürolüüsi produktide kergemaid komponente C_1—C_6. Seda meetodit võib kasutada ka teiste aminohapete pürolüüsil tekkinud ühendite võrdluseks, mis sisaldavad C_1—C_6 aatomeid.

KIRJANDUS

1. Zlatkis A., Oro John F., Kimball A. P., Anal. Chem., **32**, 162 (1960).
2. Perrone J. C., Nature, **167**, 513 (1951).
3. Kanomata K., Mashiko Y., Nippon Kagaku Zasshi, **87**, 57 (1966); C. A., **65**, 1252 f (1966).
4. Stack M. V., Biochem. J., **96**, 926 (1965).
5. Winter L. N., Albro P. W., J. Gas Chromatogr., **2**, 1 (1964).
6. Merritt C. Jr., Robertson D. H., J. Gas Chromatogr., **5**, 96 (1967).
7. Janak J., Gas Chromatography 1960, ed. R. P. W. Scott Butterworth, London, 1961, p. 387.
8. Reiner E., Nature, **206**, 100 (1965).
9. Oyama V. I., Nature, **200**, 1058 (1963).
10. Stack M. V., On VII International Gaschromatographic Symposium in Copenhagen, 1968.
11. Masuda Y., Mori K., Kuratsum M., Intern. J. Cancer, **2**, 489 (1967).
12. Heyns K., Pavel K., Naturforsch. b, **12**, 97 (1957).
13. Kirret O., Küllik E., ENSV TA Toimet. Füüs.-Mat. ja Tehn.-tead. Seeria, **13**, 15 (1964).
14. Fredericks E. M., Brooks F. R., Anal. Chem., **28**, 297 (1956).

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Keemia Instituut

Saabus toimetusse
28. XII 1968

О. КИРРЕТ, Э. КЮЛЛИК, МАРЕТ ЛЮИС

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ПИРОЛИЗА АЛИФАТИЧЕСКИХ МОНОАМИНОКАРБОКСИЛЬНЫХ КИСЛОТ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Пиролизу подвергались алифатические моноаминокарбоксильные кислоты (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин) с целью идентификации летучих продуктов пиролиза. Использовался газовый хроматограф УХ-1 совместно с вмонтированным в него блоком пиролиза из нержавеющей стали и дополнительным устройством для регулирования температуры. Пиролиз проводился при температуре 500° С в течение 10—12 *сек*. Вес навески образца 1,5—2,5 *мг*. Для идентификации летучих продуктов пиролиза применялись колонки с активированным углем, силикагелем и 2,4-диметилсульфоланом (ДМС) на хромосорбе *P*.

Рассмотренные алифатические моноаминокарбоксильные кислоты разлагаются при пиролизе по-разному. Хроматограммы продуктов пиролиза — CO_2, CO, CH_4, C_2H_6, полученные на колонках с активированным углем и силикагелем, различались в основном в количественном отношении. На колонке ДМС были идентифицированы углеводороды C_1—C_6. Полученные хроматограммы алифатических моноаминокарбоксильных кислот приведены на рисунке и идентифицированные углеводороды C_1—C_6 — в табл. 2. Продукты пиролиза, содержащие азот, не изучались.

Пиролизную газовую хроматографию можно применять в данных условиях и для идентификации углеводородов C_1—C_6, образующихся при пиролизе других аминокислот.

O. KIRRET, E. KÜLLIK, MARET LUUS

STUDY OF PRODUCTS OF PYROLYSIS OF ALIPHATIC MONOAMINOCARBOXYL ACIDS BY GAS CHROMATOGRAPHIC METHODS

The task of the present work is to determine light products of pyrolysis in the decomposition of aliphatic monoaminocarboxyl acids (glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine). The apparatus used consists of a gas chromatography equipment ÜX-1, stainless steel pyrolysis block and a pyrolysis-programming system. The temperature required for the pyrolysis (500° C) was attained in 10—12 sec. The quantity of the material tested was 1.5—2.5 mg.

For identifying light products of pyrolysis, columns filled with activate coal, silicagel, 2,4-Dimethylsulpholan/Chromosorb P (DMS) were used. The examined aliphatic monoaminocarboxyl acids decompose at pyrolysis differently. The chromatogrammes of products of pyrolysis (CO, CO_2, CH_4, C_2H_6) of aliphatic monoaminocarboxyl acids obtained with the column of activated coal and silicagel had fundamental differences in quantitative relations. Light hydrocarbons C_1—C_6 were determined with the column DMS. The chromatogrammes of aliphatic monoaminocarboxyl acids with the column DMC are presented in Fig., and identified hydrocarbons C_1—C_6 in Table 2.

Compounds containing nitrogen were not examined in this work.

Pyrolysis gas chromatography can be used for the identification of hydrocarbons C_1—C_6 of other amino acids, under the same conditions as well.