

К ВОПРОСУ ОБ АЗОТЕ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ДИКТИОНЕМОВОВОГО СЛАНЦА *

Л. НАППА

А. ФОМИНА,

доктор химических наук

В последние годы появилось несколько работ по изучению азота твердых топлив, в которых, кроме описания качественного определения аминокислот, приводятся и данные об их количественном составе [1, 2, 3].

В ранее проведенных работах [4, 5] в гидролизате концентрата органического вещества диктионемового сланца (концентрат получен методом флотации) качественно было установлено присутствие 11 аминокислот — глицина, аланина, γ -аминоасляной кислоты, валина, изолейцина, лейцина, глутаминовой кислоты, серина, аргинина, пролина, фенилаланина — и одного (или нескольких) неидентифицированного вещества, реагирующего с нингидрином и изатином.

С целью выяснения роли азотсодержащих структурных элементов в органическом веществе керогена диктионемового сланца нами было проведено количественное определение аминокислот в гидролизате.

К настоящему времени выполнено довольно большое число работ по количественному анализу аминокислот методом бумажной хроматографии. По методике количественного анализа эти работы можно подразделить на две группы. В одних работах аминокислоты определялись непосредственно после их разделения на бумаге по величине пятен или интенсивности окраски визуальнo или фотометрически. В других — определение аминокислот производилось после хроматографического разделения их на бумаге с последующим элюированием образовавшихся цветных пятен.

Некоторые исследователи, как Фишер и Дерфел [7], Боде [8], Зайцева и Тюленева [9] и др., после проявления аминокислот нингидрином превращали их в комплексные соединения с солями меди. Другие — Лисицкий и Лоран [10], Кретович и Успенская [11] вместо медных солей использовали для комплексообразования соли кадмия.

В настоящем исследовании применялась методика, разработанная Кретовичем и Успенской [11] — колориметрирование растворов комплексных соединений с хлористым кадмием.

Экспериментальная часть

Количественное определение аминокислот проводилось на обессоленных гидролизатах.

После удаления соляной кислоты вакуумной дистилляцией и осаждения раствором аммиака солей железа и алюминия доочистка обессоленного гидролизата производилась на ионообменных колонках с катионитом КУ-2 в Н-форме [5].

Для количественного анализа использовалась одномерная нисходящая хроматография на бумаге. Условия разделения, методика сушки и проявления были описаны нами при качественном анализе аминокислот [4, 5].

С целью четкого разделения аминокислот были использованы разные элюенты. Так, аргинин, глутаминовая кислота, глицин, серин, аланин, пролин, валин и неиден-

* Сообщение третье.

тифицированное пятно разделялись раствором смеси *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в соотношении 4 : 1 : 5. Глутаминовая кислота, глицин, серин и аланин разделялись, кроме того, фенолом и буферным раствором pH 12 в соотношении 1 : 1. Для разделения фенилаланина, лейцина, изолейцина и γ -аминомасляной кислоты, а также аланина и валина использовали раствор *o*-крезола и буферный раствор с pH 6,2 в соотношении 1 : 1.

Для каждой аминокислоты предварительно строилась кривая на основе определения оптической плотности растворов различных концентраций. Растворы для этого готовились на индивидуальных чистых аминокислотах в пределах предполагаемой концентрации исследуемых аминокислот.

При нанесении на хроматограмму аминокислот пяти разных концентраций (от 2,5 до 25 μ г) было установлено, что кривая, выражающая отношение между оптической плотностью и концентрацией аминокислот в растворе, является в этих пределах прямой (рис. 1). На основании этого при количественном определении аминокислот в обессоленных гидролизатах на стартовую линию каждой хроматограммы наносили рядом с определяемой аминокислотой и раствор стандартной кислоты двух концентраций.

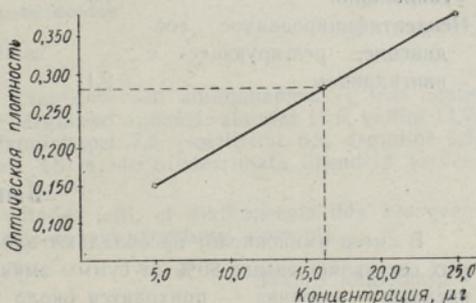
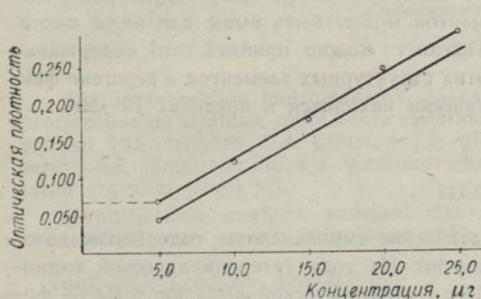


Рис. 1. Определение оптической плотности растворов чистого аланина при различных концентрациях его в растворе.

Рис. 2. Количественное определение аланина в гидролизате.

При этом следили, чтобы концентрация определяемой аминокислоты была в пределах концентрации наносимых на хроматограмму стандартных аминокислот (рис. 2).

Из проявленных хроматограмм вырезали пятна аминокислот одинаковой площади. Вырезанные участки бумаги разрезали на маленькие полоски и помещали в пробирки. Для определения окрашенности фона хроматограммы из нее вырезали кружок такой же величины, разрезали его на полоски и также помещали в пробирки для слепого опыта. В каждую пробирку добавляли 1 мл 0,5%-го раствора хлористого кадмия в 40%-м водном растворе метанола (или этанола) и 10 мл 40%-го водного раствора метанола (или этанола). Извлечение проводилось в темноте, в течение 1,5 часа. При этом содержимое пробирок несколько раз встряхивали для лучшей элюации окрашенного вещества. Затем раствор центрифугировали при 1500 об/мин в течение 15—20 минут. Полученные прозрачные цветные растворы использовались для количественного анализа на фотоэлектрическом колориметре ФЭК-М (ширина кювета 20 мм, зеленый светофильтр № 2, длина волны 500 μ м).

По оптической плотности стандартных аминокислот известной концентрации и найденной оптической плотности аминокислот из гидролизата находили концентрацию последних (рис. 2). В расчет принималось среднее значение из 4—5 определений. Сумма аминокислот из гидролизата была принята за 100, и отдельные аминокислоты рассчитывались в процентах к полученной сумме аминокислот.

Полученные данные показывают, что в наибольшем количестве в смеси присутствует аланин, затем следуют примерно в одинаковых количествах валин, лейцин и пролин. Меньше всего в смеси γ -аминомасляной кислоты и фенилаланина.

По составу аминокислотной смеси были рассчитаны средний молекулярный вес (122,7) и содержание азота на среднюю молекулу (20,5). На основании этих величин коэффициент вещества по азоту оказался близким к шести. По выведенному коэффициенту и содержанию азота в керогене можно было подсчитать примерную долю в нем азотсодержащих структурных элементов. При наличии в керогене 2—3% азота доля этих элементов составила бы 12—18%. Однако не весь азот керогена содержится в установленных аминокислотах, а преобладающая часть его остается в негидролизуемом остатке. Кроме того, при кислотном гидролизе примерно $\frac{1}{3}$ азота принадлежит к нестойким формам, точное строение которых неизвестно. Коэффициент по азоту указанной части структурных элементов может быть выше или ниже шести. Поэтому можно принять, что содержание этих структурных элементов в керогене фактически находится в пределах 10—20%.

Аминокислоты	Содержание от суммы аминокислот, %
Глицин	7,8
Аланин	17,6
γ -Аминомасляная кислота	3,0
Валин	11,7
Изолейцин	6,9
Лейцин	10,4
Глутаминовая кислота	7,5
Серин	5,5
Аргинин	5,9
Пролин	10,6
Фенилаланин	4,0
Неидентифицированное соединение, реагирующее с нингидрином	9,1

Выводы

В смеси аминокислот преобладают алифатические аминокислоты, содержание которых составляет свыше 80% от суммы аминокислот. На долю гетероциклической аминокислоты — пролина — приходится около 10% и ароматической аминокислоты — фенилаланина — только 4%.

По данным количественного состава смеси аминокислот, примерный коэффициент вещества азотсодержащих структурных элементов керогена диктионемового сланца, по азоту, близок к шести.

При содержании в керогене диктионемового сланца 2—3% азота, на долю азотсодержащих структурных элементов приходится около 10—20% вещества керогена.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. T. Degens, M. Bajor, Die Verteilung von Aminosäuren in bituminösen Sedimenten und ihre Bedeutung für die Kohlen- und Erdölgeologie. Glückauf, 1960, 96, 24, 1525.
2. M. Bajor, Amine, Aminosäure und Fette als Faziesindikatoren in niederrheinischen Braunkohlen und ihre analytische Bestimmung. Braunkohle, Wärme und Energie, 1960, 10, 472.
3. I. D. Jones, J. R. Vallentyne, Biogeochemistry of organic matter I. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1960, 21, 1/2, 3.
4. Л. Наппа, А. Фомина, К вопросу об азоте органического вещества диктионемового сланца. Сообщение первое. Изв. АН ЭССР. Сер. физ.-матем. и техн. наук, 1960, 3, 195.
5. Л. Наппа, А. Фомина, К вопросу об азоте органического вещества диктионемового сланца. Сообщение второе. Изв. АН ЭССР. Сер. физ.-матем. и техн. наук, 1963, 3, 325.
6. Хроматография на бумаге. Под ред. И. М. Хайса и К. Мацека. ИЛ, М., 1962.
7. F. G. Fischer, H. Dörfler, Zur quantitativen Auswertung der Papierchromatogramme von Eiweiss-Hydrolysaten. Biochem. Z., 1953, 324, 544.
8. F. Bode, Eine Vereinfachung und Verbesserung der Methode zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden mittels des Ninhydrin Kupferkomplexes. Biochem. Z., 1955, 326, 433.

9. Т. И. Зайцева, Н. П. Тюленева, Количественное определение аминокислот на хроматограммах посредством образования медных производных с нингидрином. Лабораторное дело, 1958, № 3, 24.
10. S. Lissitsky, G. Laurent, Bull. Soc. Chem. Biol., 1955, 37, 1177.
11. В. Л. Кретович, Ж. В. Успенская, Синтез фенилаланина из фенилпировиноградной кислоты в гомогенатах из проростков гороха. Биохимия, 1958, 23, вып. 2, 248.

*Институт химии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
27. VI 1963

DIKTÜONEEMAKILDA ORGAANILISE AINE LÄMMASTIKU OLEMUSEST (III OSA)

L. Nappa

A. Fomina,

keemiateaduste doktor

Resümee

Diktüoneemakilda hüdrolüsaadis määrati kvantitatiivselt amiinohapped ja leiti nende protsentuaalne sisaldus, mille kohta esitatakse järgmised andmed:alaniini 17,6, valiini 11,7, proliini 10,6, leitsiini 10,4, glütsiini 7,8, glutamiinhapet 7,5, isoleitsiini 6,9, arginiini 5,9, seriini 5,5, feniülalaniini 4,0, γ -amiinovõihapet 3,0 ja identifitseerimata ühendeid (arvestatud arginiini järgi) 9,1.

Kvantitatiivse analüüsi andmeid läbi arvutades leiti, et diktüoneemakilda kerogeeni orgaanilises osas on 10–20% lämmastikku sisaldavaid struktuuri elemente.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Keemia Instituut*

Saabus toimetusse
27. VI 1963

ZUR FRAGE VOM STICKSTOFF DES ORGANISCHEN TEILS DES DIKTYONEMASCHIEFERS (MITTEILUNG III)

L. Nappa, A. Fomina

Zusammenfassung

Im Hydrolysat des Diktyonemaschiefers wurden Aminosäuren quantitativ untersucht. Es wurde gefunden, dass der prozentuelle Gehalt an Aminosäuren im Hydrolysat des Diktyonemaschiefers sich folgendermassen gestaltet: Alanin 17,6, Valin 11,7, Prolin 10,6, Leucin 10,4, Glycin 7,8, Glutaminsäure 7,5, Isoleucin 6,9, Arginin 5,9, Serin 5,5, Phenylalanin 4,0, Aminobuttersäure 3,0 und unidentifizierte Verbindungen (gerechnet nach Arginin) 9,1.

Auf Grund der quantitativen Analyse wurde festgestellt, dass der organische Teil des Kerogens des Diktyonemaschiefers 10–20% stickstoffhaltige Strukturelemente enthält.

*Institut für Chemie
der Akademie der Wissenschaften der Estnischen SSR*

Eingegangen
am 27. Juni 1963