



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.726+547.466

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12022

Взаимодействие меланоидинов, пролина и валина с сорбентами различной природы

Владимир Федорович Селеменев¹✉, Наталья Анатольевна Беланова¹,
Наталья Владимировна Мироненко¹, Анастасия Алексеевна Беланова²,
Виктор Николаевич Семенов¹, Александр Анатольевич Волков¹,
Людмила Николаевна Коломиец³

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, common@chem.vsu.ru✉

²Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

³Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

Аннотация. Одной из важных производственных задач является выделение чистых аминокислот из промышленных растворов. Полученные в результате химической или микробиологической обработки растворы аминокислот имеют ряд примесей, преимущественно органических. Микробиологическому синтезу пролина сопутствует наличие в культуральной жидкости валина, лейцина, аланина и окрашенных высокомолекулярных компонентов, относящихся к группе меланоидинов. Меланоидины пролино-кислого производства являются высокомолекулярными соединениями, содержащими аминокислотные фрагменты, гетероциклические структуры и имеющими в составе амидные связи. Меланоидины в растворах способны существовать в катионной, биполярной и анионной формах. Они отличаются по молекулярным массам, размерам молекул и изоэлектрическому состоянию.

Для выделения целевой аминокислоты возможно применение различных ионообменных способов. Следует заметить, что взаимодействие аминокислот с ионообменными материалами является сложным процессом, зависящим от электролитических свойств сорбата и сорбента и сопровождается множеством побочных эффектов. Знание особенностей взаимодействия в системе «аминокислота-сорбент» и факторов, оказывающих влияние на транспорт ионов сорбата в фазе сорбента, является необходимым условием при выборе способа выделения целевого продукта. Целью данной работы было установление влияния pH на процесс сорбции пролина и валина высокоосновными ионообменниками, выявление особенностей их взаимодействия и использование полученных результатов для оптимизации условий разделения аминокислот.

Изучен процесс взаимодействия биполярных ионов и анионов пролина (Про[±], Про^o) и валина (Вал[±], Вал^o) с анионитами АВ-17-8 и АВ-17-2П. Установлено, что механизм переноса ионов аминокислот в гранульных сорбентах зависит от величины pH в системе «анионит-внешний раствор». На основании изученных взаимодействий предложены способы анионообменного разделения пролина и валина. Выбраны условия разделения пролина и валина на анионите АВ-17-2П в ОН-форме (pH исходного раствора 6.6-6.7; скорость пропускания растворов 2 см³/мин). Результаты по разделению аминокислот свидетельствуют о том, что даже в одноактном процессе сорбции в пяти-семи фракциях, содержащих пролин, отсутствуют ионы валина, а концентрация пролина в 2.0-2.7 раза превышает таковую в исходном растворе.

Ключевые слова: аминокислоты, валин, пролин, меланоидины, иониты, разделение, сорбция.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект FZGU-2023-0009

Для цитирования: Селеменев В.Ф., Беланова Н.А., Мироненко Н.В., Беланова А.А., Семенов В.Н., Волков А.А., Коломиец Л.Н. Взаимодействие меланоидинов, пролина и валина с сорбентами различной природы // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 63-75. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12022>



Original article

Interaction of melanoidins, proline, and valine with sorbents of various nature

Vladimir F. Selemenev¹✉, Natalia A. Belanova¹, Natalia V. Mironenko¹,
Anastasia A. Belanova², Viktor N. Semenov¹,
Alexander A. Volkov¹, Ludmila N. Kolomiets³

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, common@chem.vsu.ru✉

²Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

³Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract. The isolation of pure amino acids from industrial solutions is one of the important tasks of production. Solutions of amino acids obtained as a result of chemical or microbiological treatment contain a number of impurities, mostly organic ones. The microbiological synthesis of proline is accompanied by the presence of valine, leucine, alanine, and coloured high-molecular components in the culture liquid that belong to the melanoidin group. Melanoidins of proline acid production are high-molecular compounds containing amino acid fragments, heterocyclic structures, and amide bonds. Melanoidins in solutions can exist in cationic, bipolar, and anionic forms. They have different molecular weights, molecular sizes, and isoelectric states. Various ion exchange methods can be used to isolate the target amino acid. It should be noted that the interaction of amino acids with ion-exchange materials is a complex process depending on the electrolytic properties of the sorbate and sorbent and accompanied by multiple side effects. It is necessary to know the specific features of interaction in the “amino acid - sorbent” system and the factors that affect the transport of sorbate ions in the sorbent phase when choosing an isolation method for the target product. The goal of this work was to determine the impact of pH on the sorption process of proline and valine by high-basic ion exchangers, to identify the features of their interactions, and to use the obtained results to optimise the conditions for the separation of amino acids.

We studied the process of interaction of bipolar ions and anions of proline (Pro[±], Pro⁻) and valine (Val[±], Val⁻) with anionites AV-17-8 and AV-17-2P. It was established that the mechanism of amino acid ion exchange in granular sorbents depended on the pH value in the “anionite - external solution” system. Based on the studied interactions, we suggested the methods of the anion-exchange separation of proline and valine. The selected conditions of separation of proline and valine were on anionite AV-17-2P in OH-form (pH of the initial solution was 6.6-6.7; the solution flow rate was 2 cm³/min). The results of separation of proline and valine indicated that even in a one-step sorption process, five to seven fractions with proline contained no valine ions, while the concentration of proline was 2.0-2.7 times higher as compared to the original solution.

Keywords: amino acids, valine, proline, melanoidins, ion exchangers, separation, sorption.

Acknowledgments: the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of state order to higher education institutions in the sphere of scientific research for 2023-2025, project FZGU-2023-0009.

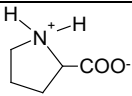
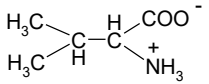
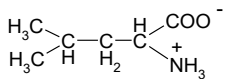
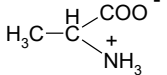
For citation: Selemenev V.F., Belanova N.A., Mironenko N.V., Belanova A.A., Semenov V.N., Volkov A.A., Kolomiets L.N. Interaction of melanoidins, proline, and valine with sorbents of various nature. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 63-75. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12022>

Введение

Разработка эффективных способов извлечения чистых аминокислот из производственных растворов является актуальной задачей. Полученные химическим или микробиологическим способом аминокислоты содержат целый ряд органических примесей. Поэтому выделение целе-

вой аминокислоты невозможно без применения различных ионообменных способов. Следует заметить, что взаимодействие аминокислот с ионообменными материалами является сложным процессом, зависящим от многих факторов, в частности от электролитических свойств сорбата и сорбента и сопровождается рядом побочных эффектов [1-6]. Микробиологическому синтезу пролина сопутствует

Таблица 1. Свойства моноаминомонокарбоновых кислот и меланоидинов, содержащихся в ферментационной среде при синтезе пролина
 Table 1. Properties of monoaminomonocarboxylic acids and melanoidins contained in the fermentation medium in the course of proline synthesis

| Компонент | Формула | pI | pK протолиза | | Содержание, г/дм ³ |
|-------------|---|------|----------------------|--|-------------------------------|
| | | | pK ₁ COOH | pK ₂ (N ⁺ H ₃ (N ⁺ H ₂)) | |
| Пролин |  | 6.30 | 2.00 | 10.60 | 12.0 |
| Валин |  | 6.00 | 2.29 | 9.72 | 6.0 |
| Лейцин |  | 6.04 | 2.33 | 9.75 | 1.9 |
| Аланин |  | 6.11 | 2.35 | 9.87 | 1.3 |
| Меланоидины | (C ₁₂ H ₃₂ O ₁₄ N ₂) ₂₈ | 4.80 | 2.66 7.12* | 8.63 | 29.4 |

*Меланоидины содержат COOH-группы разной основности

наличие в культуральной жидкости валина, лейцина, аланина и окрашенных высокомолекулярных компонентов, относящихся к группе меланоидинов (табл. 1). В особом положении при этом находятся моно-аминомонокарбоновые кислоты, константы протолиза которых близки. Поэтому знание особенностей взаимодействия в системе «аминокислота-сорбент» и факторов, оказывающих влияние на транспорт ионов сорбата в фазе сорбента, является необходимым условием при выборе способа выделения целевого продукта.

Целью данной работы было установление влияния pH на процесс сорбции пролина и валина высокоосновными ионообменниками, выявление особенностей их взаимодействия и использование полученных результатов для оптимизации условий разделения аминокислот.

Опыт эксплуатации пилотных ионообменных установок по выделению смеси аминокислот из мелассы и других отходов свеклосахарного производства показал, что для эффективного использования ионообменников типа КУ-2, АВ-17 и КБ-4 необходимо предварительное удаление

окрашенных компонентов [7-10]. Поэтому представляется обоснованным привести данные (наряду с табл. 1) по физико-химическим свойствам аминокислот и меланоидинов (рис. 1), которые содержат как карбоксильные, так и аминокислотные группы (рис. 1).

Меланоидины в растворах способны существовать в катионной, биполярной и анионной формах. Они отличаются по молекулярным массам, размерам молекул и изоэлектрическому состоянию. В наших исследованиях использовались меланоидины с молекулярной массой $M=11.4 \cdot 10^3$ (табл. 1) и радиусом 12.6 Å [11]. Максимум поглощения в УФ-области спектра для меланоидинов находится при $\lambda=290$ нм.

Для установления состава функциональных групп и структуры меланоидинов проведен анализ ИК-спектров меланоидинов пролиноуксусного производства (рис. 2), выделенных в виде индивидуальной зоны с помощью бумажной и гелевой хроматографии [7-11]. Полосы поглощения 3660-3476 см⁻¹ обусловлены валентными колебаниями слабо ассоциированных с H₂O ионов H₃O⁺; а также связями

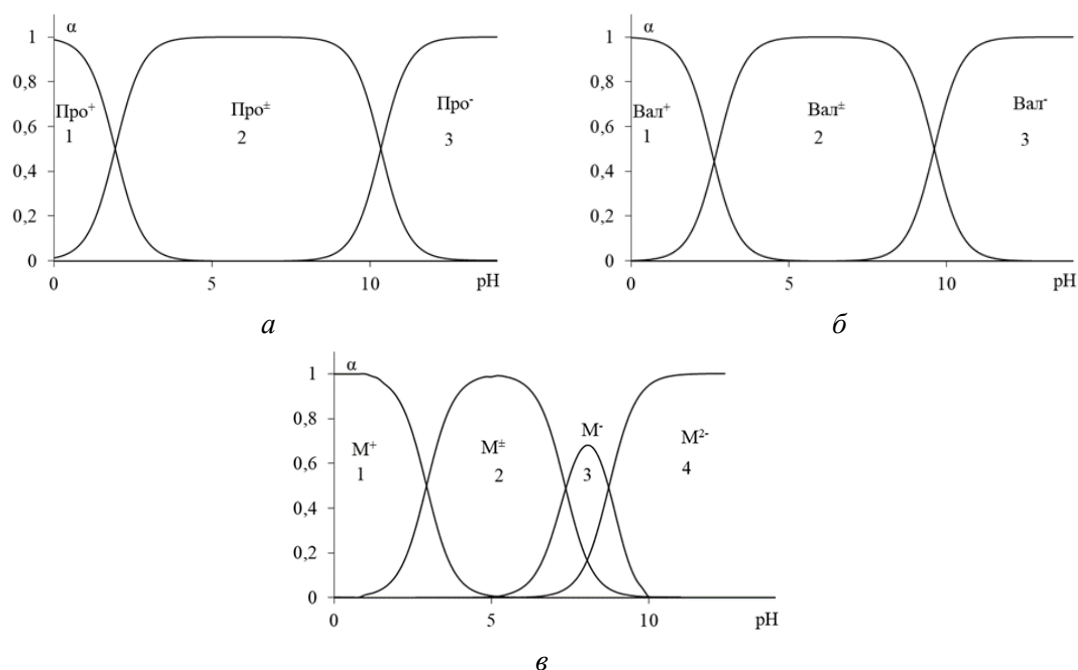


Рис. 1. Диаграммы ионных равновесий в растворах пролина (а), валина (б) и меланоидинов пролинового производства (в). 1, 2, 3, 4 – катион; цвиттер-ион; однозарядный и двухзарядный анионы соответственно.

Fig. 1. Diagrams of ionic equilibria in solutions of proline (a), valine (b), and melanoidins of proline production (c).

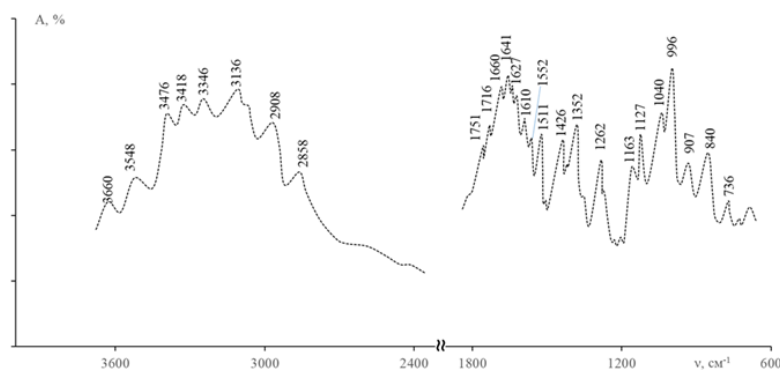


Рис. 2. ИК-спектр меланоидинов пролинокислотного производства

Fig. 2. IR spectrum of melanoidins of proline acid production

$\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}-\text{N}^+\equiv$ с малой энергией [12-17]. Максимумы 3418-3136 cm^{-1} характерны ν колебаниям $\text{H}_3\text{O}_2^-\cdots\text{H}_2\text{O}$ (или $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{N}^-$), а также валентным колебаниям в стабильных ассоциатах $-\text{N}^+\text{H}_3\cdots-\text{OOC}^-$ цвиттер-ионного типа (рис. 2, табл. 2). Пики 2858 cm^{-1} принадлежат ассиметричным ν_{as} и симметричным ν_{s} колебаниям CH - и CH_2 -групп. Максимум 1751 cm^{-1} характерен для колебаний $\text{C}=\text{O}$ (Амид I) в циклических β -лактамах, а также колебаниям $\text{C}=\text{O}$ в аминокислотных группировках

(в виде неионизированного карбоксила). Полоса при 1716 cm^{-1} обусловлена колебаниями $\text{C}=\text{O}$ в недиссоциированных COOH -группах. Группа полос поглощения 1660, 1641, 1627, 1610 cm^{-1} соответствует составным колебаниям, включающих деформационные колебания N^+H_3 (аминокислотная полоса I); колебания ионного карбоксила COO^- (возможно сопряженного с $>\text{C}=\text{C}<$ группировками) и колебания $\text{C}=\text{O}$ в амидных структурах (полоса Амид I). Максимумы 1552, 1511 cm^{-1} также обусловлены составными



Таблица 2. Отнесение максимумов поглощения в ИК-спектрах меланоидинов пролинокислого производства

Table 2. Assignment of absorption peaks in the IR spectra of melanoidins of proline acid production

| Частота колебаний ν , cm^{-1} | Характер колебаний |
|--|---|
| 3630 3548 3476 | Валентные колебания ν слабо ассоциированных с H_2O ионов H_3O_2^+ ; а также ионов $-\text{N}^+\text{H}_3$ с H_2O . |
| 3418 3348 3136 | Валентные колебания в стабильных ассоциатах $\text{H}_3\text{O}_2^+\cdots\text{H}_2\text{O}$; $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{N}^-$; $-\text{N}^+\text{H}_3\cdots\text{OOC}^-$; $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{HOOC}$ |
| 2908 2858 | Валентные ассиметричные ν_{as} и симметричные ν_{s} колебания CH_2 - и CH -групп |
| 1758 1716 | Колебания $\text{C}=\text{O}$ в амидах (Амид I); $\text{C}=\text{O}$ в неионизированных COOH группах |
| 1660 1641 1627 1610 | Составные колебания: деформационные колебания $\sigma^+\text{NH}_3$; валентные ν_{as} колебания ионного карбоксила COO^- ; колебания $\text{C}=\text{O}$ в амидах (Амид I) |
| 1582 1552 1511 | Составные колебания: деформационные колебания $\sigma^+\text{NH}_3$ (аминокислотная полоса II); колебания $\text{C}-\text{N}$ и $\text{N}-\text{H}$ в амидах (Амид II) |
| 1426 1352 | Валентные колебания ν_{s} COO^- -групп; веерные γ_{w} CH_2 - и CH -групп; σ_{as} H_2O |
| 1262 | Колебания в амидных группах (Амид III) |
| 1163 1127 1040 | Составные колебания: ассиметричные ν_{as} $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -групп; симметричные ν_{s} ($\text{C}_\alpha-\text{N}$); валентные колебания ν $\text{C}-\text{O}$ в спиртовых группах |
| 996 907 | Колебания в пиранозных кольцах (тип 2 и тип 1); связи $\Delta(\text{CONH})$ в Амид IV |
| 840 763 | Колебания $\text{C}-\text{O}$ и N - вициальные; пульсационные колебания пиранозных и фуранозных колец |

колебаниями: деформационными N^+H_3 (аминокислотная полоса II), колебаниями ионного карбоксила COO^- , колебаниями полосы Амид II. Полосы при 1426, 1352 cm^{-1} принадлежат симметричным валентным колебаниям ν_{s} COO^- групп, а также колебаниям CH_2 (метильных групп). При 1262 cm^{-1} наблюдается пик, который принадлежит колебаниям в амидных группах (полоса Амид III).

Группа полос 1163, 1127, 1040 cm^{-1} свидетельствует об ассиметричных валентных колебаниях $[-\text{C}-\text{O}-\text{C}-]$, симметричных колебаниях ν ($\text{C}_\alpha-\text{N}$) в амидных группировках, валентных колебаниях $\text{C}-\text{O}$ в спиртовых или в COOH группах. По-

лосы при 996, 907 cm^{-1} обусловлены колебаниями в пиранозных кольцах (тип 2) и (тип 1), а также наличием связей $\Delta(\text{CONH})$ в структуре Амид IV. Максимумы 840, 763 cm^{-1} свидетельствуют о наличии пульсационных колебаний пиранозных и фуранозных колец или CO - в вициальных фрагментах.

Таким образом, исходя из результатов спектральных исследований, меланоидины пролинокислого производства можно охарактеризовать как высокомолекулярные соединения, содержащие аминокислотные фрагменты и гетероциклические структуры, имеющие в составе амидные связи.

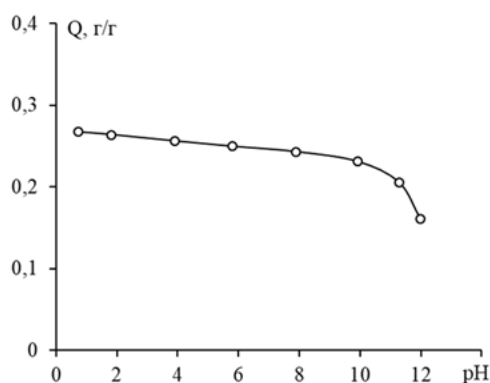


Рис. 3. Влияние pH раствора на поглощение меланоидинов пролиноукислого производства ($C_{12}H_3O_{14}N_2$)₂₈

Fig. 3. Influence of solution pH on the absorption of melanoidins of proline acid production ($C_{12}H_3O_{14}N_2$)₂₈

Экспериментальная часть

Для разделения аминокислот использованы аниониты АВ-17-8, АВ-17-2П (фракция 0.25-0.50 мм) в ОН-форме, КУ-2-8 и КУ-23 в Н-форме (фракция 0.25-0.50 мм) [11, 18]. Для выделения меланоидинов из ферментационных растворов пролиноукислого производства использован изопористый неионогенный сорбент МХДЭ×100 [5-6]. Неионогенный сорбент Стиросорб МХДЭ-100 относится к типу сверхсшитых сорбентов. Полистирольная сетка получена сшиванием цепей полистирола в набухшем состоянии и при высушивании обладает небольшой плотностью. Внутренняя удельная поверхность Стиросорба МХДЭ-100 составляет 440 м²/г.

В работе использовали аминокислоты – пролин, валин (фирмы «Reanal» классификации «ч.д.а.»). Структурные формулы приведены в таблице 1. Концентрация растворов АК определялась нингидриновым методом с предварительным разделением их на хроматографической бумаге «Filtrak» №3 (Германия) [19], а также на аминокислотном анализаторе ААА-339 (Чехия).

Сорбцию на ионитах проводили в статических и динамических условиях. Пропускание растворов через колонки проводилось с использованием водоструйного

насоса. Отобранные пробы затем центрифугировали. При проведении эксперимента использовали модельные смеси аминокислот и их смеси, выделенные из культуральных жидкостей.

Образцы сорбционных материалов для ИК-спектроскопии готовили в виде таблеток с КВг (1:100). Колебательные спектры регистрировали на спектрометре «Vertex-70» (Bruker, Германия).

Обсуждение результатов

Обесцвечивание свеклосахарных растворов и сахарорафинадных сиропов наиболее эффективно осуществляется неионогенным изопористым сорбентом на основе полистирола МХДЭ×100 [10-11]. На первом этапе исследована возможность удаления пигментов из пролинсодержащих растворов с использованием вышеназванного сорбента. Структура сорбента характеризуется однородностью, большой емкостью к пигментам (до 0.2-0.3 г/г сорбента) и избирательностью к ним (рис. 3). Из рис. 3 следует, что поглощение меланоидинов неионогенным сорбентом зависит от pH раствора.

Это связано с тем, что меланоидины пролиноукислого производства в своей структуре наряду с моносахаридными фрагментами содержат пептидные группировки в виде цепочек с различной конформацией. При контакте меланоидинов

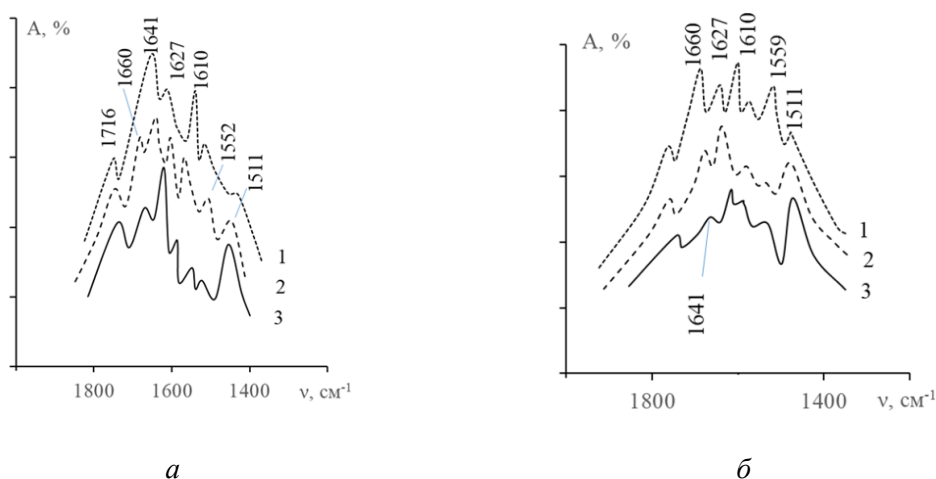


Рис. 4. ИК-спектры меланоидинов пролинокислого производства (а) и сорбента Стиросорб МХДЭ×100, насыщенного меланоидинами (б): 1; 2; 3 – рН равно 12.0; 6.1; 2.0 соответственно

Fig. 4. IR spectra of melanoidins of proline acid production (a) and the Stirosorb MХДЭ×100 sorbent saturated with melanoidins (b): 1; 2; 3 – pH is 12.0; 6.1; 2.0, respectively

с сорбентом при высоких значениях рН в ИК-спектрах доминирующими являются максимумы при 1641 см⁻¹ (Амид I) и 1552 см⁻¹ (Амид II), характерные для α-спиральных конформационных участков [11, 13] при невысоких значениях рН. Полосы при 1627 и 1511 см⁻¹, характеризующие колебания групп Амид I и Амид II в полипептидных фрагментах β-формы в виде вытянутых цепочек проявляются при рН=12.0 только в виде порогов (рис.4б).

Однако, в нейтральной области (рН=6.1) интенсивность полос поглощения 1627 и 1511 см⁻¹ растет, что свидетельствует о появлении в пигментах значительного количества участков в виде вытянутых цепочек. При значениях рН=2.0 (рис. 4; кривая 3) β-форма в меланоидинах становится доминирующей, в то время как α-спиральных участков становится меньше, что подтверждается малой интенсивностью максимумов при 1641 и 1552 см⁻¹. Таким образом, в области 2.7>рН>6.5 (рис. 1), когда меланоидины находятся преимущественно в биполярной форме, происходит переход в их отдельных фрагментах к β-форме, которая сопровождается переориентацией макромолекул и появлением значительного числа гидрофобных участков на поверхности пигмента.

В связи с тем, что Стиросорб МХДЭ×100 имеет гидрофобный каркас, появление на поверхности гидрофобных групп способствует связыванию окрашенных веществ за счет дисперсионных сил. При этом в колебательных спектрах наблюдается увеличение интенсивности в области 1627 и 1522 см⁻¹, характерных для β-формы меланоидинов. Следует заметить, что при высоких значениях рН (рис. 4б кривая 1) происходит переход части меланоидинов из β- в α-форму, о чем свидетельствует усиление пиков 1660 и 1559 см⁻¹. Последнее объясняет хорошую регенерацию сорбента от меланоидинов растворами гидроксида натрия. Регенерация Стиросорба МХДЭ×100 полностью осуществляется при пропускании 0.5 объема 1 М гидроксида натрия к одному объему сорбента.

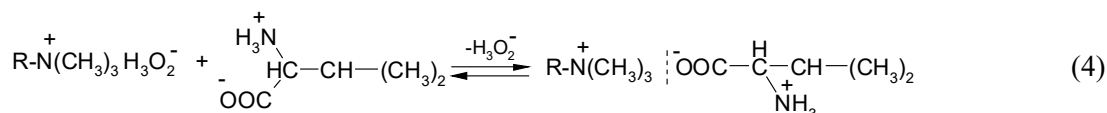
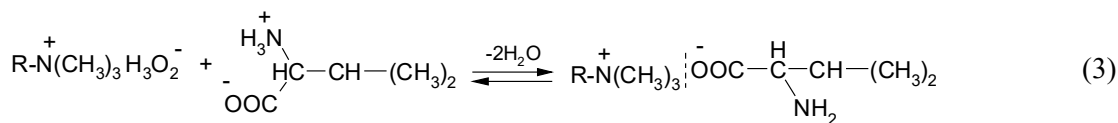
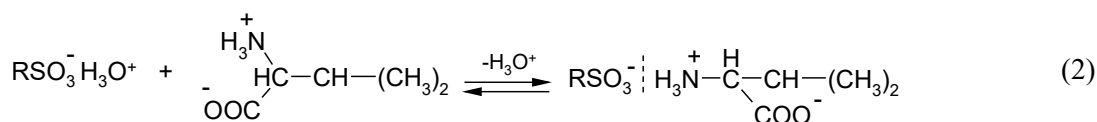
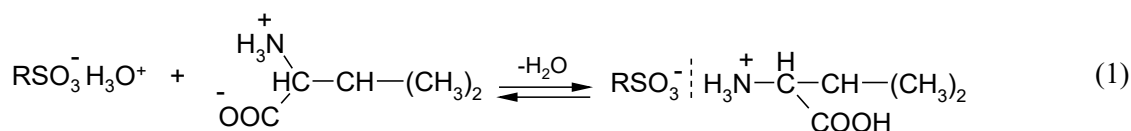
На втором этапе исследования изучена возможность разделения пролина и валина с использованием катионитов КУ-2 и анионитов АВ-17 гелевой и макропористой структуры. Как известно, соотношение констант протолиза карбоксильной группы К₁ и заряженной аминогруппы К₂ в зависимости от рН растворов (табл. 1,

Таблица 3. Емкость ионитов при насыщении их различными ионными формами пролина и валина

Table 3. Capacity of ion exchangers saturated with various ionic forms of proline and valine

| Ион- ная форма сорбата | Анионит АВ-17* | | | Катионит КУ-2** | | |
|---------------------------------|----------------|-------------|----------------|-----------------|-------------|----------------|
| | рН раствора | | Е, мг-экв/г | рН раствора | | Е, мг-экв/г |
| | исходн. | равнов. | | исходн. | равнов. | |
| Про ⁺ | 1.09/0.88 | 1.22/0.96 | 0.44/0.60 | 1.05/1.49 | 0.82/1.44 | 3.80/3.19 |
| Про [±] | 5.70/5.46 | 7.20/7.08 | 2.90/2.28 | 6.80/6.69 | 5.99/6.15 | 5.50/4.93 |
| Про ⁻ | 12.10/12.20 | 12.18/12.26 | 1.63/1.50 | 11.89/12.22 | 11.50/12.09 | 2.63/1.64 |
| Вал ⁺ | 0.50/0.33 | 0.67/0.46 | 0.50/0.83 | 1.92/1.40 | 1.62/1.26 | 3.86/2.09 |
| Вал [±] | 6.80/6.90 | 7.38/7.79 | 3.21/2.93 | 5.81/6.00 | 3.28/2.89 | 5.28/2.87 |
| Вал ⁻ | 12.06/12.10 | 12.50/12.48 | 2.64/2.26 | 12.11/12.00 | 10.45/12.00 | 1.61/0.95 |

* в числителе АВ-17-8; в знаменателе АВ-17-2П; ** в числителе КУ-2-8; в знаменателе КУ-23 (30/100)



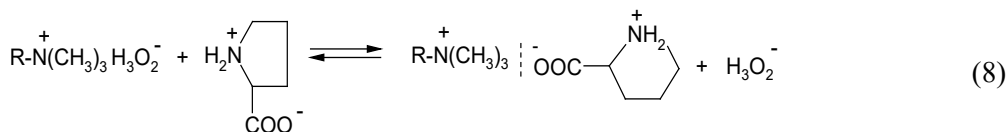
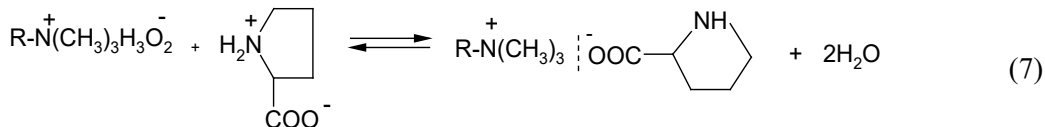
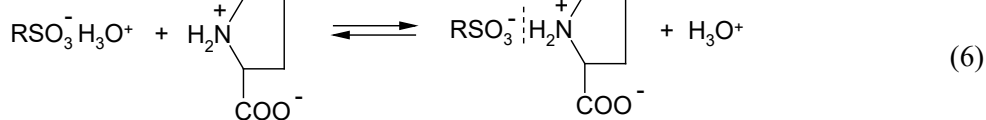
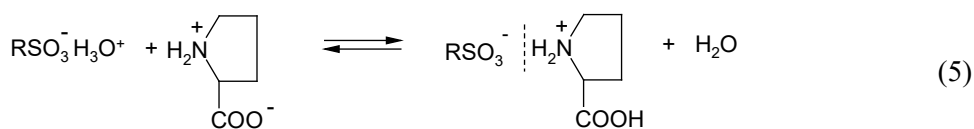
Схемы взаимодействия 1-4

рис. 1) определяет области существования различных ионных форм аминокислот [3, 11, 20-21]. Аналогичное положение справедливо и для внутренних растворов в фазе ионообменников. Отличие в соотношении ионных форм рассматриваемых аминокислот наблюдается при высоких значениях рН, так как рK_{a(1)} для пролина (рK_{a(1)} = 2.0) и валина (рK_{a(2)} = 2.29) близки, а рK_{a(2)} отличаются почти на единицу (10.60 и 9.72 соответственно).

Исследование сорбции пролина и валина в статических условиях на Н-катионитах и ОН-анионитах показали, что наибольшее поглощение сорбатов наблюдается в том случае, когда аминокислоты находятся в исходных растворах в виде биполярных ионов (табл. 3).

Повышение значений рН при сорбции на анионитах и их понижение при сорбции на катионитах свидетельствует о смешанном механизме сорбции аминокислот. При этом схемы превращения цвиттер-ионов в фазе катионитов в Н-форме и анионитов в ОН-форме могут быть представлены следующим образом. Для валина (схемы 1-4). Пролин сорбируется на катионите в Н-форме по схемам (5-6), а на анионите в ОН-форме по схемам (7-8).

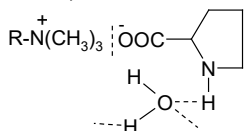
Следовательно, и пролин и валин в фазе ионообменников будут находиться преимущественно в двух ионных формах: в катионитах в виде катионов и цвиттер-ионов, а в анионитах – в виде анионов и цвиттер-ионов [3, 11]. Полученные с помощью колебательной спектроскопии



Схемы взаимодействия 5-8

данные подтверждают предлагаемые схемы сорбции пролина и валина. Поглощение цвиттерионов Н-сульфокатионитом сопровождается превращением их в катионы. Об этом свидетельствует наличие не только полос поглощения при 1622 см^{-1} (для валина) и 1619 см^{-1} (для пролина), характерных колебаниям С-О в COO^- -группах; но и появление максимумов в области 1740 см^{-1} (для валина) и 1728 см^{-1} (для пролина), обусловленных колебаниями С=О в неионизированных карбоксилах (табл. 4).

В фазе ОН-анионитов биполярные ионы пролина и валина превращаются в анионы аминокислот, что подтверждается наличием не только полос поглощения при 2544 см^{-1} (νNH_2) и при 1619 см^{-1} (σNH_2) сорбированного пролина, а также 1647 см^{-1} (σNH_2) сорбированного валина; но и максимумов при 3386 см^{-1} (незаряженные амино- и иминогруппы, ассоциированные с водой).



Кроме того, в спектре анионита АВ-17-2П проявляется максимум поглощения пролина при 973 см^{-1} за счет валентных колебаний пролинового цикла.

Следует заметить, что сорбция ионов валина и пролина ионообменниками способствует образованию в фазе сорбентов гидратных ассоциатов различной стабильности, о чем свидетельствуют максимумы в ИК-спектрах в области $3450\text{-}3230 \text{ см}^{-1}$ (табл. 4). Энергия водородных связей в этих ассоциатах может достигать $120\text{-}130 \text{ кДж/моль}$ [3, 11].

Результаты по изучению сорбции биполярных пролина и валина анионообменниками в статических условиях показали, что наибольшее отличие в значениях вторых констант протолитиза может быть положено в основу разделения данных аминокислот в динамических условиях. Это послужило основой проведения третьего этапа исследований. Проведенные в динамических условиях эксперименты позволили выбрать условия разделения пролина и валина на анионите АВ-17-2П в ОН-форме (рН исходного раствора 6.6-6.7; соотношение пролина и валина 2:1 (масс. %); скорость пропуска растворов $2 \text{ см}^3/\text{мин}$). Результаты по разделению аминокислот представлены в табл. 5. Результаты (представленные графически (рис. 5)) свидетельствуют о том, что даже в одноактном процессе сорбции в пяти-семи фракциях, содержащих про

Таблица 4. Полосы поглощения в ИК-спектрах ионообменников, насыщенных пролином и валином

Table 4. Absorption bands in the IR spectra of ion exchangers saturated with proline and valine

| Анионит АВ-17-2П | | | Катионит КУ-23 (30/100) | | |
|------------------|------------------|--|-------------------------|------------------|--|
| Про [±] | Вал [±] | Отнесение полос | Про [±] | Вал [±] | Отнесение полос |
| 3450 | 3420 | $\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{O}$ | 3427 | 3418 | $\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{O}$ |
| 3386 | 3373 | $\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H-N}<$ | 3370 | 3391 | $\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{N-}$ |
| 3343 | - | $\nu\text{COO}\cdots\text{H}_2\text{O}$ | 3318 | 3341 | $\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H-N}^+\equiv$ |
| 3290 | 3213 | $\nu\text{COO}\cdots\text{H-N}<$ | 3263 | 3200 | $\nu\text{COO}\cdots\text{H-N}<$ |
| 2943 | 2961 | $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2; \text{CH}$ | 2960 | 2944 | $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2; \text{CH}$ |
| 2816 | 2833 | $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2; \text{CH}$ | 2839 | 2851 | $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2; \text{CH}$ |
| 2544 | - | Валентные $\nu\text{N}^+\text{H}_2$ | 1728 | 1740 | $\nu\text{C=O}$ в COOH |
| 1619 | 1647 | N^+H_3 полоса I в АК | 1619 | 1602 | $\nu\text{C-O}$ в COOH |
| 1579 | 1548 | $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ в COOH | 1601 | 1590 | $\sigma\text{N}^+\text{H}_3; \nu_{\text{as}}\text{C-O}$ в COO^- |
| 1440 | 1427 | $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ в COOH | 1477 | 1482 | $\sigma\text{N}^+\text{H}_3; \nu_{\text{s}}\text{C-O}$ в COO^- |
| 1314 | 1326 | $\sigma_{\text{as}}\text{H}_2\text{O}; \sigma_{\text{s}}\text{CH}_2$ | 1362 | 1371 | $\sigma_{\text{as}}\text{H}_2\text{O}; \sigma_{\text{s}}\text{CH}_2$ |
| 1269 | 1277 | γ_{w} веерные $\text{CH}; \text{CH}_2$ | 1230 | 1261 | γ_{w} веерные $\text{CH}; \text{CH}_2$ |
| 1160 | 1183 | $\nu_{\text{s}}\text{H}_3\text{O}_2^+$ в H_2O | 1141 | 1159 | $\nu_{\text{s}}\text{H}_3\text{O}_2^+$ в H_2O |
| 1022 | 1014 | $\nu_{\text{as}}(\text{O}\cdots\text{H-O})$ в H_3O_2^+ | 1032 | 1026 | γ_{r} маятник. CH_2 |
| 973 | - | ν_{as} пролин. цикла | 959 | - | ν_{as} пролин. цикла |
| - | 881 | γ_{r} маятник. CH | 719 | 749 | γ_{t} крутильн. CH |

Таблица 5. Разделение пролина и валина в динамических условиях на анионите АВ-17-2П. (Состав исходного раствора: 12 г/дм³ пролина; 6 г/дм³ валина; объем фракций 20 см³; объем анионита 20 см³; диаметр колонки 1.2 см)

Table 5. Separation of proline and valine in dynamic conditions on anionite AV-17-2P

| Фракция | pH | Пролин | | Валин | |
|---------|------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|
| | | C, г/дм ³ | C/C ₀ | C, г/дм ³ | C/C ₀ |
| 1 | 7.40 | - | - | - | - |
| 2 | 7.65 | - | - | - | - |
| 3 | 7.77 | - | - | - | - |
| 4 | 7.82 | 4.2 | 0.41 | - | - |
| 5 | 7.90 | 18.3 | 1.72 | - | - |
| 6 | 7.75 | 21.0 | 1.94 | - | - |
| 7 | 7.62 | 22.4 | 2.41 | - | - |
| 8 | 7.49 | 17.9 | 1.73 | - | - |
| 9 | 7.45 | 16.3 | 1.56 | 0.9 | 0.14 |
| 10 | 7.30 | 13.2 | 1.27 | 2.7 | 0.41 |
| 11 | 7.28 | 10.1 | 0.83 | 4.8 | 0.73 |
| 12 | 7.28 | 10.1 | 0.83 | 7.2 | 1.30 |

лин, отсутствуют ионы валина, а концентрация пролина в 2.0-2.7 раза превышает таковую в исходном растворе.

Следует отметить, что в интервале pH раствора 7.6-8.7 цвиттер-ионы пролина

присутствуют в максимальном количестве. Для валина при pH=8.0-9.1 характерно наличие заметных количеств аниона, что соответствует присутствию Вал⁻ и Про[±] в ОН-анионите. В этом случае про

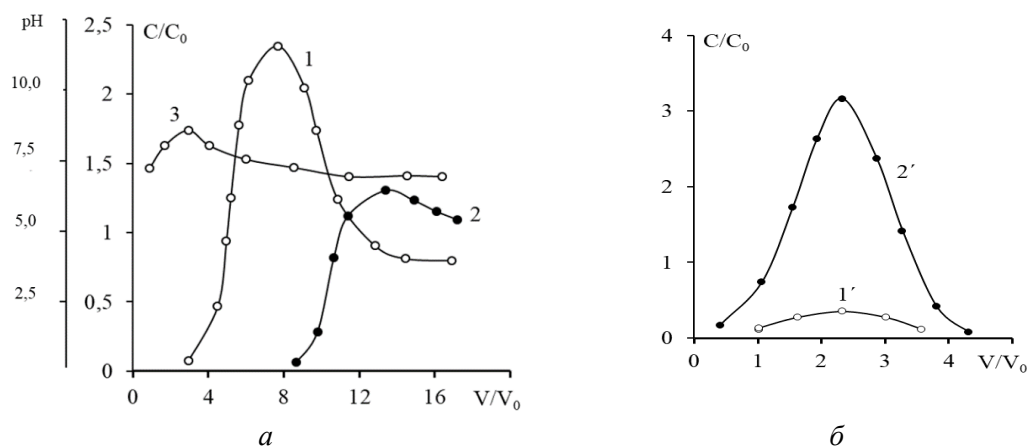


Рис. 5. Выходные кривые сорбции (а) и десорбции (б) пролина (1, 1') и валина (2, 2') на ОН-анионите АВ-17-2П. Кривая 3 – pH раствора.

Fig. 5. Resulting curves of sorption (a) and desorption (b) of proline (1, 1') and valine (2, 2')

лин по высоте колонки практически движется в виде цвиттер-иона, затем валин – в виде аниона (рис. 3).

Каждый цикл выделения пролина и валина из смесей включает следующие последовательно выполняемые операции: 1 – сорбция смеси аминокислот ОН-анионитом; 2 – отмывка анионита водой; 3 – десорбция аминокислот водой; 5 – перевод С1-ионита в ОН-форму.

Для отмывки анионита после выделения пролина достаточно 2.0-2.5 объема воды по отношению к объему анионита. Кривые десорбции показывают, что в регенератах присутствуют лишь следовые

количества пролина, в то время как концентрация валина превышает исходную. Поэтому может иметь практическое применение регенератов для выделения валина после фракционирования пролина (рис. 5).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Murav'ev D.N., Obrezkov O. N. Issledovanie sverhjekvivalentnoj sorbcii cvitterlitov. *Zhurn. fiz. himii*. 1986; 60 (2): 396-401. (In Russ.).
2. Davankov V. A., Navratil Dzh., Uolton H, Ligandoobmennaja hromatografija. M., Mir, 1990, 294 p. (In Russ.).
3. Selemenev V.F. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija i obrazovanie peresyshhenyh rastvorov aminokislot v faze vysokoosnovnogo anionita / V.F. Selemenev, O.B. Rudakov, D.L. Kotova, T.V. Eliseeva, I.V. Voronyuk, S.I. Karpov, N.A. Belanova et al. V kn. «Nasledie M.S. Cveta v trudah voronezhskih himikov». V.I. Voronezh, Nauchnaja kniga, 2021: 89-131. (In Russ.).

4. Lindenmeier M., Faist V., Hormann T. Structural and functional characterization of prolyl-lysine, a novel protein modification in bread crust melanoidins showing in vitro antioxidative and phase I/II enzyme modulating activity. *J. Agricultural and food chemistry*. 2002; 50: 6697-7006.

5. Sapronov A.R., Sapronova L.A., Ermolaev S.V. Tehnologija saharnogo proizvodstva. Sankt-Peterburg, ID «Professija», 2015, 296 p. (In Russ.).

6. Ponomareva A.M. Reakcija melanoidinoobrazovanija i ee rol' v processe prigotovlenija hleba. *Prikladnaja biohimija i mikrobiologija*. 1965; 1 (5): 566-584. (In Russ.).

7. Selemenev V.F. Melanoidiny. Voronezh: Izd. VGU, 2004, 195 p. (In Russ.).



8. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Slavinskaja G.V., Drozdova N.V. Pigmenty pishhevyykh proizvodstv (melanoidiny). M., DeLi print, 2008. 246 p. (In Russ.).
9. Tarasova I.A. Issledovaniya saharosoderzhashchih krasnykh rastvorov metodom differentsial'no skaniruyushhej kalorimetrii. Sahar. 2017; 3: 48-49. (In Russ.).
10. Sjurupa M.P. Pogloshhenie okrashennykh veshchestv iz fermentatsionnykh rastvorov lizina «sverhshchitym» polistirol'nym sorbentom. *Prikladn. biokhimiya i mikrobiologiya*. 1985; 21 (1): 72-77.
11. Selemenev V.F. Obmennye processy i mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija v sisteme anionit-voda-aminokislota: Diss...d-ra him. nauk. Voronezh, 1993. 596 p.
12. Pimentel Dzh., Mak-Klellan O. Vodorodnaja svyaz'. M., Mir, 1964, 462 p.
13. Dehant I. Infrakrasnaja spektroskopija polimerov. M., Himija, 1976, 471 p.
14. Zagorodni A.A., Kotova D. L., Selemenev V.F. Infrared spectroscopy of ion exchange resins: chemical deterioration of the resins. *Reactive and Functional Polymers*. 2002; 53: 157-171.
15. Borrelli R.C., Viscontu A., Mennella C., et al. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50 (22): 6527-6533.
16. Martins S.J.F.S., Van Boekel M.A.H.S. Melanoidins extinction coefficient on the glucose/glycine Maillard reaction. *Food Chemistry*. 2003; 83 (1): 135-142.
17. Patil P.U., Kapadnis B.H., Dhamankar V.S. Decolorisation of synthetic melanoidin and biogas effluent by immobilised fungal isolate of *Aspergillus niger* UM2. *Internat. sugar Journal*. 2003; 105: 1249.
18. Chikin G.A., Mjagkoj O. N. Ionoobmennye metody ochistki veshchestv. Voronezh, Izd. VGU, 1984, 372 p. (In Russ.).
19. Hajs N. M., Macek K. M. Hromatografija na bumage. Moskva, IL, 1962, 831 p.
20. Selemenev V.F. Bezreagentnye ionoobmennye metody vydelenija fiziologicheski aktivnykh veshchestv. Vedushhie nauchno-pedagogicheskie kollektivy. Voronezh, Voronezh. un-t, 2003, 588 p. (In Russ.).
21. Obretenov C., Demyttenaere J., Tehrani K.A., et al. Flavor release in the presence of melanoidins prepared from L-(+)-ascorbic acid and amino acids. *J. Agricultural Food Chemistry*, 2002; 50 (15): 4244-4250.

Информация об авторах / Information about the authors

В.Ф. Селемев – д.х.н., проф. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

Н.А. Беланова – к.х.н., ст. преп. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

Н.В. Мироненко – к.х.н., ассистент каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

А.А. Беланова – студент, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», Воронеж, Россия

В.Н. Семенов – д.х.н., заведующий кафедрой общей и неорганической химии ВГУ, Воронеж, Российская Федерация

V.F. Selemenev – DSc in chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation; e-mail: common@chem.vsu.ru

N.A. Belanova – PhD in Chemistry, the assistant of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation; e-mail: belanovana@mail.ru

N.V. Mironenko – PhD in Chemistry, Assistant of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, E-mail: natashamir@yandex.ru

A.A. Belanova – Student, Burdenko Voronezh State Medical University, Russian Federation

V.N. Semenov – Dr Sci (Chem), head of common and inorganic chemistry chair of Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: office@chem.vsu.ru



А.А. Волков – студент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

A.A. Volkov – Student, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

Л.Н. Коломиец – к.х.н., старший научный сотрудник, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

L.N. Kolomiets – researcher, Ph.D. Frumkin Institute of Physical and Electrochemistry, Moscow, Russia; e-mail: kolom_moscow@mail.ru

Статья поступила в редакцию 16.02.2024; одобрена после рецензирования 20.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.

The article was submitted 16.02.2024; approved after reviewing 20.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.