

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723:577.112.3

doi: 10.17308/sorpchrom.2025.25/12793

### Исследование сорбции гистидина сульфозетилированными аминополимерами с последующим определением методом лигандообменного капиллярного электрофореза

Владислав Александрович Ильин<sup>1</sup>, Анастасия Андреевна Голота<sup>1</sup>,  
Юлия Сергеевна Петрова<sup>1</sup>, Елена Леонидовна Лебедева<sup>1</sup>,  
Александр Викторович Пестов<sup>1,2</sup>, Людмила Константиновна Неудачина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
Екатеринбург, Россия, vladislav.ilin@urfu.ru

<sup>2</sup>Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия

**Аннотация.** Работа посвящена разработке методики электрофоретического определения аминокислот и исследованию сорбции гистидина материалами на основе хитозана со степенью сульфозетилирования 0.5 (СЭХ 0.5), полиэтиленimina со степенью сульфозетилирования 0.34 (СЭПЭИ 0.34) и полиаминостирола со степенями сульфозетилирования 0.5 (СЭПАС 0.5) и 1.5 (СЭПАС 1.5). Разработку методики электрофоретического разделения и определения аминокислот (аланина,  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, валина, глицина, гистидина, глутаминовой кислоты, серина, метионина, лизина, лейцина, изолейцина, орнитина, оксипролина, треонина, тирозина, триптофана, фенилаланина) проводили с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель-105М». В результате проведенных исследований оптимизированы следующие условия разделения аминокислот: длина волны детектирования, температура, время и способ ввода пробы, pH и природа фонового электролита, концентрация  $\beta$ -циклодекстрина. Разработанная методика позволяет осуществлять разделение и определение 12 аминокислот при их совместном присутствии в растворе и определение всех 20 исследуемых аминокислот при их индивидуальном присутствии в растворе. Рассчитаны значения пределов определения и пределов обнаружения исследуемых аминокислот методом лигандообменного капиллярного электрофореза в оптимизированных условиях; определены концентрационные диапазоны линейности градуировочных зависимостей.

Влияние pH аммиачно-ацетатного буферного раствора в диапазоне от 4.0 до 10.0 на сорбцию гистидина сульфозетилированными аминополимерами исследовано методом ограниченного объема при исходной концентрации аминокислоты  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup> (масса сорбента 0.02 г, объем раствора 10.0 см<sup>3</sup>). Установлено, что при сорбции гистидина СЭХ 0.5 и СЭПЭИ 0.34 количественного извлечения не наблюдается. Извлечение аминокислоты СЭПАС 1.5 в натриевой форме является максимальным при pH 4.0 и составляет 21%. Степень извлечения аминокислоты СЭПАС 1.5 в медной форме увеличивается с ростом pH и достигает максимального значения, равного 93%, при pH 9.0-10.0. Равновесие сорбции гистидина СЭПАС 0.5 в медной форме и СЭПАС 1.5 в медной форме при pH 9.0 устанавливается в течение 30 минут контакта фаз.

**Ключевые слова:** сорбция, аминокислоты, гистидин, аминополимеры, капиллярный электрофорез

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы развития Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина в соответствии с программой стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

**Для цитирования:** Ильин В.А., Голота А.А., Петрова Ю.С., Лебедева Е.Л., Пестов А.В. Неудачина Л.К. Исследование сорбции гистидина сульфозетилированными аминополимерами с последующим определением методом лигандообменного капиллярного электрофореза // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2025. Т. 25, № 1. С. 45-55. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/12793>

Original article

## A study of histidine sorption by sulfoethylated aminopolymers with subsequent determination by ligand exchange capillary electrophoresis method

Vladislav A. Ilin<sup>1</sup>✉, Anastasia A. Golota<sup>1</sup>, Julia S. Petrova<sup>1</sup>, Elena L. Lebedeva<sup>1</sup>, Alexander V. Pestov<sup>1,2</sup>, Ludmila K. Neudachina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russian Federation, vladislav.ilin@urfu.ru✉

<sup>2</sup>I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IOS UB RAS), Ekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** The work is devoted to the development of a technique for the electrophoretic determination of amino acids and the study of the sorption of histidine by materials based on chitosan with a degree of 0.5 sulfoethylation (SEC 0.5), polyethylenimine with a degree of 0.34 sulfoethylation (SEPEI 0.34) and polyamine with degrees of 0.5 sulfoethylation (SEPAS 0.5) and 1.5 (SEPAS 1.5). The development of a technique for the electrophoretic separation and determination of amino acids (alanine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, arginine, asparagine, aspartic acid, valine, glycine, histidine, glutamic acid, serine, methionine, lysine, leucine, isoleucine, ornithine, oxyproline, threonine, tyrosine, tryptophan, phenylalanine) was carried out using a capillary monitoring system. electrophoresis "Kapel-105M". As a result of the conducted research, the following conditions for the separation of amino acids were optimized: detection wavelength, temperature, time and method of sample injection, pH and nature of the background electrolyte, concentration of  $\beta$ -cyclodextrin. The developed technique allows for the separation and determination of 12 amino acids when they are present together in solution and the determination of all 20 amino acids under study when they are individually present in solution. The values of the limits of determination and limits of detection of the studied amino acids by ligand exchange capillary electrophoresis under optimized conditions are calculated; concentration ranges of linearity of calibration dependences are determined.

The effect of the pH of an ammonia-acetate buffer solution in the range from 4.0 to 10.0 on the sorption of histidine by sulfoethylated aminopolymers was studied by the limited volume method at an initial amino acid concentration of  $1 \cdot 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup> (sorbent weight 0.02 g, solution volume 10.0 cm<sup>3</sup>). It was found that no quantitative extraction was observed during the sorption of histidine SEC 0.5 and SEPEI 0.34. Extraction of the amino acid SEPAS 1.5 in the sodium form is maximal at pH 4.0 and amounts to 21%. The degree of extraction of the amino acid SEPAS 1.5 in copper form increases with increasing pH and reaches a maximum value of 93% at pH 9.0-10.0. The equilibrium of histidine sorption of SEPAS 0.5 in copper form and SEPAS 1.5 in copper form at pH 9.0 is established within 30 minutes of phase contact.

**Keywords:** sorption, amino acids, histidine, aminopolymers, capillary electrophoresis

**Acknowledgements:** the research was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the Development Program of the Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin in accordance with the program of strategic academic leadership "Priority 2030".

**For citation:** Ilin V.A., Golota A.A., Petrova Ju.S., Lebedeva E.L., Pestov A.V., Neudachina L.K. A study of histidine sorption by sulfoethylated aminopolymers with subsequent determination by ligand exchange capillary electrophoresis method. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2025. 25(1): 45-55. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/12793>

### Введение

Аминокислоты (АК) являются основными компонентами белков и служат источником энергии. Эти соединения, а также их производные – одни из наиболее важных метаболитов для живых систем, и их количественное определение является основной задачей для клинических и биохимических лабораторий [1].

Быстрое и эффективное определение концентрации АК в сложных матрицах представляет широкий интерес в пищевой химии и промышленности [2, 3]. Определение уровня свободных АК играет важную роль в обеспечении качества и безопасности многих пищевых продуктов [4].

Определение АК в сложных матрицах является нетривиальной задачей, поскольку их молекулы сильно полярны и не имеют хромофорных групп [5]. По этой причине наиболее часто для определения АК используются гибридные методы, позволяющие осуществлять не только определение, но и разделение анализов: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [6], газовая хроматография (ГХ) [7] и капиллярный электрофорез (КЭ) [8]. Традиционным аналитическим методом, используемым для определения свободных АК, является ионообменная хроматография с последующей дериватизацией нингидрином [5].

*L*-гистидин выполняет особую роль в поддержании pH внутренней среды организма за счет буферных свойств, хелатирования ионов металлов и выступает в качестве поглотителя активного кислорода [9].

КЭ считается эффективным методом разделения АК и пептидов в образцах сложного состава [10]. По сравнению с хроматографическими методами анализа КЭ характеризуется высокой эффективностью разделения, экспрессностью анализа и не требует использования токсичных органических растворителей и дорогостоящих хроматографических колонок. Однако недостаточная в ряде случаев чувствительность и селективность КЭ определяет необходимость использования сорбционных методов разделения и концентрирования. Выбор условий сорбционно-электрофоретического определения АК предполагает как оптимизацию методики электрофоретического анализа, так и выявление наиболее эффективных сорбционных материалов и условий сорбционного эксперимента.

Ранее [11] нами разработана методика разделения и определения 13 АК из 20, исследуемых в настоящей работе, методом капиллярного зонного электрофореза. Одним из перспективных способов решения проблемы электрофоретического разделения АК является вариант с

использованием принципов лиганодообменного капиллярного электрофореза (ЛОКЭ) [12, 13], основанного на образовании лабильных комплексов между металлом-комплексобразователем и определяемыми веществами.

Настоящая работа продолжает исследования сорбции АК полиамфолитами. Цель работы – изучение сорбции гистидина сульфэтилированными аминополимерами с последующим определением методом ЛОКЭ. Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи: 1) оптимизация условий разделения АК методом ЛОКЭ; 2) исследование влияния различных факторов (природы матрицы сорбента, pH, времени контакта фаз) на сорбцию гистидина сульфэтилированными аминополимерами.

### Экспериментальная часть

Исходные растворы 20 АК (аланина,  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, валина, глицина, гистидина, глутаминовой кислоты, серина, метионина, лизина, лейцина, изолейцина, орнитина, оксипролина, треонина, тирозина, триптофана, фенилаланина) с концентрацией  $10^{-2}$  моль/дм<sup>3</sup> готовили из реагентов квалификации не ниже «х.ч.». Растворы с меньшей концентрацией готовили разбавлением исходных.

Регистрацию электрофореграмм (ЭФГ) проводили на системе капиллярного электрофореза «Капель-105М» (ГК «Люмэкс», Россия) с немодифицированным кварцевым капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, эффективная длина 50 см, общая длина 60 см), УФ-детектором, позволяющим проводить измерения оптической плотности в диапазоне длин волн ( $\lambda$ ) 190-400 нм, и источником высокого напряжения переменной полярности. Пробу вводили гидродинамически в течение 3-10 с при давлении (р) 30-50 мбар и электрокинетически в течение 5 с и напряжении (U) +15 кВ. Анализ проводили при температуре (Т) термостатирования капилляра 20-30°C и величине

рабочего напряжения +25 кВ. Между анализами капилляр промывали фоновым электролитом (ФЭ) в течение 3 минут. В качестве ФЭ использовали аммиачно-ацетатный буферный раствор (ААБР) (рН 4.0-8.0, 10-40 ммоль/дм<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>COOH) с добавлением ионов меди (II) (1-10 ммоль/дм<sup>3</sup> CuSO<sub>4</sub>) и β-циклодекстрина (1-8 ммоль/дм<sup>3</sup> β-ЦД). Достигали необходимого значения рН ФЭ, добавляя разбавленный раствор аммиака. Значение рН растворов контролировали с помощью иономера И-160МИ, снабженного стеклянным электродом ЭС-10601/7 и хлоридсеребряным электродом сравнения ЭВЛ-1М3.1 (ΔрН=±0.05).

В качестве сорбционных материалов исследованы полиаминоэтирол со степенью сульфозетилирования 0.5 (СЭПАС 0.5) и 1.5 (СЭПАС 1.5) [14], сшитый глутаровым альдегидом хитозан со степенью сульфозетилирования 0.5 (СЭХ 0.5) [15] и сшитый диглицидиловым эфиром диэтиленгликоля полиэтиленимин со степенью сульфозетилирования 0.34 (СЭПЭИ 0.34) [16].

Сорбцию гистидина сульфозетилированными аминополимерами в натриевой форме исследовали методом ограниченного объема в диапазоне рН 4.0-10.0, создаваемом ААБР. Исходная концентрация аминокислоты составляла 1·10<sup>-4</sup> моль/дм<sup>3</sup>, масса сорбента – 0.02 г, объем раствора – 10.0 см<sup>3</sup>, время контакта фаз – 5 часов. Концентрацию гистидина в растворах до и после сорбции определяли методом ЛОКЭ в оптимизированных условиях. По полученным данным рассчитывали значения степени извлечения аминокислоты (*R*, %), и сорбции (*a*, мкмоль/г).

В идентичных условиях исследована сорбция гистидина сульфозетилированными аминополимерами в медной форме. Для получения 0.05 г сорбента в медной форме помещали его в 50 см<sup>3</sup> 0.1 моль/дм<sup>3</sup> раствора CuSO<sub>4</sub>, оставляли на сутки при периодическом перемешивании, разделяли фазы фильтрованием,

промывали сорбент на фильтре дистиллированной водой и оставляли сушиться на воздухе.

### Обсуждение результатов

Оптимизация условий электрофоретического разделения АК. Проба для разделения представляла собой водный раствор смеси всех 20 исследуемых АК с концентрацией 1·10<sup>-4</sup> моль/дм<sup>3</sup>. В качестве исходных были выбраны следующие параметры анализа: *T*=20°C, *U*=+25 кВ, ввод пробы в течение 3 с при давлении 30 мбар. Состав ФЭ: ААБР с добавлением сульфата меди (II) (C<sub>CH<sub>3</sub>COOH</sub>=19 ммоль/дм<sup>3</sup>, C<sub>CuSO<sub>4</sub></sub>=1.25 ммоль/дм<sup>3</sup>) [17].

Для выбора оптимальной длины волны детектирования с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель-105М» записаны спектры поглощения водных растворов АК с концентрацией 1.1·10<sup>-3</sup> моль/дм<sup>3</sup> в присутствии эквивалентного количества ионов меди (II) относительно дистиллированной воды. Для детектирования АК выбрана длина волны 210 нм как отвечающая наибольшей чувствительности определения.

Исследованы два способа ввода пробы: гидродинамический (*p* = 30 мбар, *t* = 3 с) и электрокинетический (*U* = +15 кВ, *t* = 5 с). Установлено, что при электрокинетическом вводе пробы не удается достичь необходимой селективности разделения аналитов. Также данный способ не позволяет детектировать АК, мигрирующие после электроосмотического потока (глутаминовую, аспарагиновую и γ-аминомасляную кислоты). Поэтому для дальнейшего анализа нами выбран гидродинамический способ ввода пробы.

Для определения оптимального значения времени ввода пробы были записаны ЭФГ при вводе пробы в течение 3, 5 и 10 с. Установлено, что с увеличением времени ввода пробы размер пиков пропорционально растет, однако снижается селек-

тивность разделения. В качестве оптимального времени ввода пробы было выбрано значение 5 с.

Для оптимизации температуры термостатирования капилляра были сняты ЭФГ смеси АК при 20, 25 и 30°C. Увеличение температуры приводит к сокращению времен миграции пиков, что снижает селективность разделения АК. По этой причине для дальнейших исследований выбрано температура 20°C.

Исследовано влияние кислотности ФЭ на селективность разделения пиков АК в диапазоне pH от 4.0 до 8.0. Установлено, что наибольшее количество пиков на ЭФГ наблюдается при pH 5.5-5.7.

Влияние концентрации аммиачно-ацетатного ФЭ на селективность разделения АК исследовали в диапазоне концентраций уксусной кислоты от 10 до 40 ммоль/дм<sup>3</sup>. Для всех АК наблюдается увеличение времени миграции с увеличением концентрации уксусной кислоты. Наибольшая селективность разделения АК наблюдается при концентрации кислоты 12 ммоль/дм<sup>3</sup>.

Концентрация иона-комплексобразователя также может оказывать влияние на времена миграции аналитов и селективность их разделения [17, 18]. Следует учитывать, что увеличение концентрации иона-комплексобразователя приводит к росту величины силы тока во время анализа, вследствие чего происходит перегревание раствора и прекращение анализа. Для выявления зависимости времени миграции пиков и селективности их разделения от концентрации иона-комплексобразователя были сняты ЭФГ смеси АК с концентрацией сульфата меди (II) в ФЭ от 1 до 10 ммоль/дм<sup>3</sup>. Установлено, что концентрации 5 ммоль/дм<sup>3</sup> сульфата меди (II) достаточно для разделения АК.

Повысить селективность разделения АК в КЭ можно за счёт комплексобразования с органическими реагентами. Одним из перспективных реагентов для раз-

деления ароматических аминокислот является β-ЦД [19, 20], который способен образовывать с некоторыми АК соединения включения, обладающие разными электрофоретическими подвижностями.

Авторами статьи [21], изучавшими разделение АК в схожих условиях, было обнаружено, что с увеличением концентрации β-ЦД увеличивается селективность разделения тирозина, триптофана и фенилаланина, однако при концентрации β-ЦД 8 ммоль/дм<sup>3</sup> эта зависимость выходит на плато и дальнейшего улучшения селективности разделения не наблюдается. Поэтому для эксперимента был выбран интервал концентраций β-ЦД от 1 до 8 ммоль/дм<sup>3</sup>.

Установлено, что введение β-ЦД позволяет отделить ароматическую аминокислоту фенилаланин от алифатической аминокислоты метионина уже при концентрации β-ЦД 5 ммоль/дм<sup>3</sup>. В то же время разделение тирозина и триптофана, которые регистрируются на ЭФГ в виде одного пика, не было достигнуто, что можно объяснить схожестью строения данных аминокислот.

После подбора оптимизированных условий получена ЭФГ водной смеси 20 АК, представленная на рисунке 1.

В оптимизированных условиях на ЭФГ удалось получить 16 отдельных пиков, 12 из которых соответствуют комплексным соединениям индивидуальных аминокислот. В таблице 1 приведены диапазоны линейности градуировочных графиков, а также значения пределов обнаружения и определения всех исследуемых кислот.

В целом разработанная методика характеризуется более широким диапазоном линейности градуировочных графиков и низкими пределами обнаружения и определения по сравнению с методикой, основанной на методе КЗЭ [11], использование которой позволяет получить 13 отдельных пиков АК на ЭФГ. Селективность и чувствительность определения

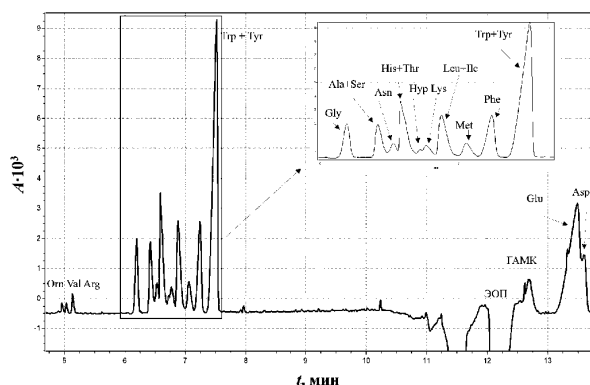


Рис. 1. ЭФГ водного раствора смеси АК.  $C_{AK} = 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>. Ввод пробы 5 с, 30 мбар.  
 $U = +25$  кВ,  $\lambda = 210$  нм,  $T = 20$  °С. ФЭ: ААБР, pH = 5.65,  $C_{CH_3COOH} = 12$  ммоль/дм<sup>3</sup>,  
 $C_{CuSO_4} = 5$  ммоль/дм<sup>3</sup>,  $C_{\beta\text{-ЦД}} = 5$  ммоль/дм<sup>3</sup>

Fig. 1. EFG of an aqueous solution of a mixture of AK.  $SAK = 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup>. Sample input is 5 s, 30 mbar.  $U = +25$  kV,  $\lambda = 210$  nm,  $T = 20^\circ\text{C}$ . FE: AABR, pH=5.65,  $C_{CH_3COOH} = 12$  mmol/dm<sup>3</sup>,  $C_{CuSO_4} = 5$  mmol/dm<sup>3</sup>,  $C_{\beta\text{-CD}} = 5$  mmol/dm<sup>3</sup>

Таблица 1. Диапазоны линейности градуировочных графиков, значения пределов обнаружения (LOD) и пределов определения (LOQ) исследуемых аминокислот  
Table 1. Lineary ranges of calibration graphs, values of detection limits (LOD) and detection limits (LOQ) of the studied amino acids

Аминокислота	Диапазон линейности, мкмоль/дм <sup>3</sup>	LOD, мкмоль/дм <sup>3</sup>	LOQ, мкмоль/дм <sup>3</sup>
Аланин	0.12-100	0.3	2.2
Аминомасляная кислота	5.30-100	5.3	52.2
Аргинин	1.00-100	2.7	6.2
Аспарагин	5.40-100	5.2	9.6
Аспарагиновая кислота	2.70-100	4.7	9.1
Валин	0.8-100	0.3	0.8
Гистидин	0.81-100	3.9	24.0
Глицин	2.20-100	0.1	5.2
Глутаминовая кислота	0.81-100	1.0	5.9
Изолейцин	2.00-500	4.8	7.7
Лейцин	2.70-100	1.4	7.7
Лизин	1.10-100	0.7	1.5
Метионин	1.00-100	1.6	4.3
Оксипролин	0.20-100	0.5	1.8
Орнитин	9.00-100	0.3	19.0
Серин	0.8-20	0.8	1.8
Тирозин	1.40-170	2.5	6.9
Треонин	2.70-100	2.5	9.0
Триптофан	0.10-100	0.1	0.4
Фенилаланин	0.80-100	0.9	3.1

АК потенциально можно повысить с использованием сорбционного разделения и концентрирования.

Исследование сорбции гистидина сульфозетилированными аминополимерами.  
Выбор данной аминокислоты в качестве объекта исследования обусловлен, во-

первых, невозможностью её определения в оптимизированных условиях в присутствии треонина, во-вторых, низким значением предела определения, позволяющим исследовать сорбцию при относительно невысоких концентрациях аминокислоты в растворе.

Таблица 2. Степень извлечения ( $R$ ) гистидина сульфозетилированными аминополимерами в натриевой и медной формах после 5 часов контакта фаз

Table 2. Degree of extraction ( $R$ ) of histidine by sulfoethylated aminopolymers in sodium and copper forms after 5 hours of phase contact

pH	$R$ , %							
	СЭХ 0.5		СЭПЭИ 0.34		СЭПАС 0.5		СЭПАС 1.5	
	Na <sup>+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	Cu <sup>2+</sup>
4.0	1.1	0.3	0.0	0.1	53	56	21	79
5.0	1.0	0.0	0.0	0.2	27	76	9.2	84
6.0	4.1	1.0	0.0	0.9	16	83	9.3	89
7.0	4.4	6.7	1.2	2.3	12	87	8.5	89
8.0	0.2	0.0	0.0	0.0	9.0	89	8.1	89
9.0	0.9	0.0	0.0	3.0	4.0	92	7.0	93
10.0	3.0	9.2	15	26	—	—	18	94

Предварительно изучена стабильность параметров пика гистидина на ЭФГ. Установлено, что высота и площадь пика остаются стабильными в течение как минимум 5 часов.

Сорбцию гистидина из раствора с концентрацией  $1.0 \cdot 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup> сульфозетилированными аминополимерами (СЭХ, СЭПАС и СЭПЭИ) в натриевой и медной формах исследовали при значениях pH ААБР от 4.0 до 10.0 в течение 5 часов контакта фаз. Полученные степени извлечения приведены в таблице 2.

Установлено, что по сравнению с другими сорбентами в натриевой форме наибольшую степень извлечения АК обеспечивает СЭПАС. Это может объясняться меньшей молекулярной массой звена СЭПАС (в отличие от СЭХ) и благоприятным расположением функциональных групп в его составе. Стоит отметить, что большее сродство СЭПАС к гистидину по сравнению с СЭХ и СЭПЭИ может объясняться стэкинг-взаимодействием ароматических фрагментов в составе матрицы и в структуре АК. Помимо этого, сорбенты СЭХ 0.5 и СЭПЭИ 0.34 подвергались предварительной сшивке. Это могло привести к снижению гибкости полимерной матрицы, и, следовательно, к затруднению взаимодействия гистидина с сульфозетильными группами, а также к уменьшению количества свободных функциональных групп.

Как видно из таблицы 2, степень извлечения АК СЭПАС в натриевой форме (Na<sup>+</sup>) уменьшается с ростом pH. В интервале pH 4.0-6.0 гистидин благодаря наличию имидазольной группировки находится в виде положительно заряженной частицы [22]. Вследствие чего происходит извлечение АК за счет электростатического взаимодействия с сульфогруппами в составе сорбента. С увеличением pH раствора происходит депротонирование гистидина [23], что приводит к уменьшению сорбции АК. Также известно, что  $pK_a$  исследуемых сорбентов принимают значения в диапазоне от 6.08 до 6.62 [24-26]. В данном случае можно утверждать, что не менее 50% аминогрупп в составе матрицы находится преимущественно в протонированной форме при значениях pH от 4.0 до 6.0. Поэтому можно предположить, что гистидин извлекается за счет электростатического взаимодействия депротонированной карбоксильной группы с протонированной аминогруппой в составе матрицы сорбента.

В этом же интервале кислотности увеличение степени модифицирования сорбента приводит к уменьшению сорбции АК. Можно предположить, что с ростом количества сульфогрупп в составе матрицы возрастает электростатическое отталкивание между ними и депротонированными карбоксильными группами гистидина.

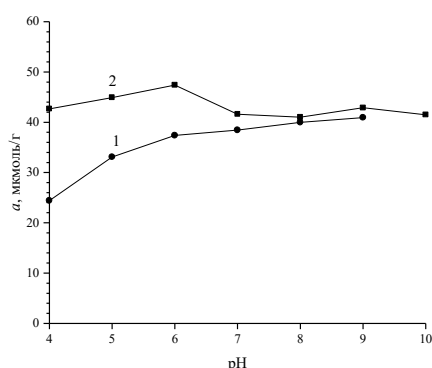


Рис. 2. Зависимость сорбции гистидина СЭПАС 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (1) и СЭПАС 1.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (2) от кислотности среды (ААБР). Условия эксперимента:  $C_{\text{His}} = 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>,  $m = 0.0200$  г,  $V = 10.0$  см<sup>3</sup>,  $\tau = 5$  ч.

Fig. 2. The dependence of the histidine sorption of SEPAS 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (1) and SEPAS 1.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (2) on the acidity of the medium (AABR). Experimental conditions:  $C_{\text{His}} = 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup>,  $m = 0.0200$  g,  $V = 10.0$  cm<sup>3</sup>,  $\tau = 5$  h.

Известно, что АК способны образовывать устойчивые комплексные соединения с переходными металлами благодаря наличию донорных атомов азота и кислорода [27]. Ранее [11] нами показано, что перевод СЭХ 1.0 в медную форму позволяет значительно повысить степень извлечения аргинина за счет смешаннолигандного комплексообразования. Поэтому в настоящей работе также изучена сорбция АК сульфотирированными аминополимерами в медной форме. Как видно из таблицы 2, гистидин СЭХ 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) и СЭПЭИ 0.34 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) практически не извлекается, как и при использовании данных сорбентов в натриевой форме. Ранее показано [16], что СЭПЭИ обладает наибольшим сродством по отношению к ионам меди (II) по сравнению с СЭХ и СЭПАС, в результате чего возникает высокая конкуренция между аминогруппами в структуре СЭПЭИ и гистидином в образовании комплексных соединений с ионами меди (II).

При использовании СЭПАС 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) и СЭПАС 1.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (рис. 2) наблюдаются существенно более высокие показатели

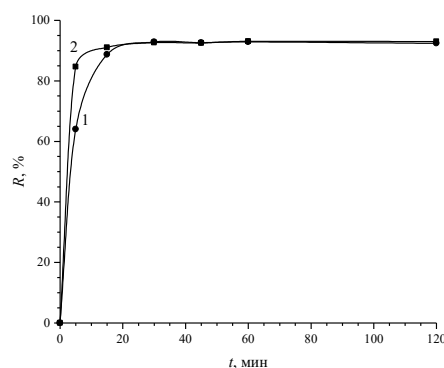


Рис. 3. Кинетические кривые сорбции гистидина СЭПАС 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (1) и СЭПАС 1.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (2). Условия эксперимента:  $m = 0.0200$  г,  $V = 10.0$  см<sup>3</sup>,  $C_{\text{His}} = 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>, ААБР, pH 9.0, скорость перемешивания 170 об/мин.

Fig. 3. Kinetic curves of histidine sorption of SEPAS 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (1) and SEPAS 1.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (2). Experimental conditions:  $m = 0.0200$  g,  $V = 10.0$  cm<sup>3</sup>,  $C_{\text{His}} = 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup>, AABR, pH 9.0, mixing speed 170 rpm.

степени извлечения АК. Это связано с тем, что гистидин извлекается за счет образования устойчивого комплекса с ионами меди (II), которые связаны с функциональными амино- и сульфогруппами в составе сорбента. С ростом pH буферного раствора происходит увеличение степени извлечения гистидина. Это можно объяснить тем, что увеличивается степень депротонирования аминогрупп в составе гистидина и сорбента, соответственно, увеличивается выход комплекса, образуемого ионами меди (II) в фазе СЭПАС с АК. Аналогичный характер имеет и полученная нами ранее зависимость сорбции аргинина от pH СЭХ 1.0 [11]. В условиях эксперимента при 5 часах контакта фаз максимальные значения степени извлечения гистидина СЭПАС 0.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) и СЭПАС 1.5 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) достигли 94%. В диапазоне pH 4.0-6.0 увеличение степени модифицирования сорбента приводит к возрастанию сорбции АК. В целом перевод сорбента в медную форму позволяет увеличить степень извлечения гистидина.



Для уточнения времени установления равновесия сорбции гистидина исследована кинетика сорбции СЭПАС ( $\text{Cu}^{2+}$ ) при pH 9.0, в условиях, соответствующих максимальному значению степени извлечения. Полученные кинетические кривые сорбции гистидина приведены на рисунке 3.

Установлено, что равновесие сорбции в условиях эксперимента устанавливается в течение 30 минут контакта фаз. Степень извлечения аминокислоты при этом достигает 93 %.

### Заключение

Разработана чувствительная, экспрессная методика разделения и определения 12 аминокислот методом ЛОКЭ. Оценены значения пределов обнаружения и определения аминокислот. Установлены закономерности влияния pH аммиачно-ацетатного буферного раствора на сорбцию гистидина сорбентами на основе

сульфоэтилированных хитозана, полиэтиленimina и полиаминостирола: в экспериментальных условиях максимальная степень извлечения аминокислоты СЭПАС 1.5 в натриевой форме достигается при pH 4.0 и составляет 21%, а сорбция гистидина СЭХ 0.5 и СЭПЭИ 0.34 незначительна во всем диапазоне pH. Показано, что использование СЭПАС в медной форме позволяет существенно увеличить степень извлечения гистидина до 93% при pH 9.0. Равновесие сорбции гистидина СЭПАС 1.5 в медной форме при данном значении pH устанавливается в течение 30 минут контакта фаз.

### 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. Ezerskaya A.A., Pivovarov M.L. Kapillyarnyi elektroforez: osnovnye printsipy, primeneniye v farmatsevticheskom analize. *Vestnik farmatsii*. 2019; 83: 35-44.
2. Yakuba Yu.F. Sistemnyi podkhod k opredeleniyu osnovnykh aminokislot v produktakh pererabotki plodov i vinograda. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*. 2015; 32: 168-180.
3. Zipaev D.V., Tulina A.A., Kozhukhov A.N. Ispol'zovanie metoda kapillyarnogo elektroforeza v otsenke pishchevykh produktov i napitkov. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii*. 2020; 82(1): 82-87. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-1-82-87>
4. Omar M.M.A., Elbashir A.A., Schmitz O.J. Capillary electrophoresis method with UV-detection for analysis of free amino acids concentrations in food. *Food Chemistry*. 2017; 214: 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.060>
5. Lorenzo M.P., Navarrete A., Balderas C., Garcia A. Optimization and validation of

a CE-LIF method for amino acid determination in biological samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013; 73: 116-124. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.03.017>

6. Cui Y., Jiang Z., Sun J., Yu J., Li M., Li M., Liu M., Guo X. Enantiomeric purity determination of (L)-amino acids with pre-column derivatization and chiral stationary phase: Development and validation of the method. *Food Chemistry*. 2014; 158: 401-407. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.133>
7. Mustafa A., Åman P., Andersson R., Kamal-Eldin A. Analysis of free amino acids in cereal products. *Food Chemistry*. 2007; 105(1): 317-324. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.044>
8. Poinot V., Bayle C., Couderc F. Recent advances in amino acid analysis by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*. 2003; 24(22-23): 4047-4062. <https://doi.org/10.1002/elps.200305692>
9. Holeček M., Histidine in Health and Disease: Metabolism, Physiological Im-

portance, and Use as a Supplement. *Nutrients*. 2020; 12(3): 848. <https://doi.org/10.3390/nu12030848>

10. Hirayama A., Igarashi K., Tomita M., Soga T. Development of quantitative method for determination of  $\gamma$ -glutamyl peptides by capillary electrophoresis tandem mass spectrometry: An efficient approach avoiding matrix effect. *Journal of Chromatography A*. 2014; 1369: 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.007>

11. Nurmukhametova K.R., Lebedeva E.L., Petrova Yu.S., Neudachina L.K. Issledovanie sorbtzii arginina sul'foetilirovannym khitozanom s posleduyushchim opredeleniem metodom kapillyarnogo elektroforeza. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022; 22(6): 856-868. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10892>

12. Kartsova L. A. Problemy analiticheskoi khimii. T. 18. *Kapillyarnyi elektroforez*. M., Nauka, 2014. 444 p.

13. Kartsova L. A., Alekseeva A. V. Ligandoobmennyi kapillyarnyi elektroforez. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2011; 66(7): 677-685.

14. Alifkhanova L.M.k., Pestov A.V., Mekhaev A.V., Marchuk A.A. Bosenko S.N., Petrova Yu.S., Neudachina L.K. Sulfoethylated polyaminostyrene – polymer ligand with high selective interaction with silver ions in multicomponent solutions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2019; 7(1): 102846. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102846>

15. Pestov A.V., Petrova Yu.S., Bukharova A.V., Neudachina L.K., Koryakova O.V., Matochkina E.G., Kodess M.I., Yatluk Yu.G. Synthesis in a Gel and Sorption Properties of N-2-Sulfoethyl Chitosan. *Journal of Applied Chemistry*. 2013; 86(2): 290-293. <https://doi.org/10.1134/S1070427213020225>

16. Kapitanova E.I., Zemlyakova E.O., Pestov A.V., Sinelshchikova A.R. Petrova Yu.S., Neudachina L.K. Sulfoethylated polyethylenimine: synthesis in gel and sorption properties. *Russian Chemical Bulletin*. 2019;

68(6): 1252-1256. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11172-019-2549-5>

17. Alekseeva A.V., Kartsova L.A. Vozmozhnosti ligandoobmennogo kapillyarnogo elektroforeza pri opredelenii biologicheskii aktivnykh veshchestv. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2011; 66(7): 764-772.

18. Karbaum A., Jira T. Chiral separation of unmodified amino acids with non-aqueous capillary electrophoresis based on the ligand-exchange principle. *Journal of Chromatography A*. 2000; 874(2): 285-292.

19. Kahle C., Holzgrabe U. Determination of Binding Constants of Cyclodextrin Inclusion Complexes With Amino Acids and Dipeptides by Potentiometric Titration. *Chirality*. 2004; 16(8): 509-515.

20. Lyashenko D.Yu. Issledovanie vzaimodeistviya  $\alpha$ - i  $\beta$ -tsiklodekstrina s yadrom aromaticheskikh aminokislot v vodnykh rastvorakh metodom UF-spektroskopii. *Poverkhnost'*. 2018; 10(25): 154-170.

21. Xu Z., Guan J., Fan S. Combined Use of Cu(II)-L-Histidin Complex and  $\beta$ -Cyclodextrin for the Enantioseparation of Three Amino Acids by CE and a Study of the Synergistic Effect. *Journal of Chromatographic Science*. 2020; 10(1): 969-975.

22. Chernova R.K., Varygina O. V., Berzskina N.S. Izbiratel'noe opredelenie gistidina v smeshannykh rastvorakh  $\alpha$ -aminokislot. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya*. 2015; 15(4): 15-21. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2015-15-4-15-21>

23. Panyushkin V.T., Shcherbakov I.N., Volynkin V.A., Bolotin S.N., Bukov N.N., Shvydko T.V., Dzhabrailova L.Kh., Shamsutdinova M.Kh. O stroenii koordinatsionnykh soedinenii medi (II) s L-gistidinom. *Zhurnal strukturnoi khimii*. 2017; 58(3): 535-546.

24. Alifkhanova L. M.k. Diss. kand. khim. nauk. Ekaterinburg, 2022, 130 p.

25. Kapitanova E. I. Diss. kand. khim. nauk. Ekaterinburg, 2021, 169 p.

26. Petrova Yu.S., Pestov A.V., Usoltseva M.K. Neudachina L.K. Selective



adsorption of silver(I) ions over copper(II) ions on a sulfoethyl derivative of chitosan. *Journal of Hazardous Materials*. 2015; 299: 696-701. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.001>

27. Troshanin N.V., Bychkova T.I. Geteroligandnye komplekсы medi (II), nikelya (II), kobal'ta (II) s gidrazidom izonikotinovoi kisloty i L-gistidinom. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta*. 2021; 163(1): 45-60.

### Информация об авторах / Information about the authors

**В.А. Ильин** – аспирант, инженер кафедры аналитической химии и химии окружающей среды института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

**А.А. Голота** – студент кафедры аналитической химии и химии окружающей среды института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

**Ю.С. Петрова** – заведующий кафедрой аналитической химии и химии окружающей среды института естественных наук и математики, к.х.н., доцент, Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

**Е.Л. Лебедева** – доцент кафедры аналитической химии и химии окружающей среды института естественных наук и математики, к.х.н., Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

**А.В. Пестов** – доцент кафедры органической химии и высокомолекулярных соединений института естественных наук и математики, к.х.н., доцент, Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия; и.о. заведующего лабораторией органических материалов института органического синтеза им. И.Я. Постовского, УрО РАН, Екатеринбург, Россия

**Л.К. Неудачина** – доцент кафедры аналитической химии и химии окружающей среды института естественных наук и математики, к.х.н., доцент, Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

**V.A. Ilyin** – Postgraduate Student, Engineer, Department of Analytical Chemistry and Environmental Chemistry, Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**A.A. Golota** – a student at the Department of Analytical Chemistry and Environmental Chemistry of the Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**Yu.S. Petrova** – Head of the Department of Analytical Chemistry and Environmental Chemistry at the Institute of Natural Sciences and Mathematics, PhD, Associate Professor, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**E.L. Lebedeva** – Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry and Environmental Chemistry at the Institute of Natural Sciences and Mathematics, Candidate of Chemical Sciences, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**A.V. Pestov** – Associate Professor of the Department of Organic Chemistry and High-Molecular Compounds of the Institute of Natural Sciences and Mathematics, PhD, Associate Professor, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia; Acting Head of the Laboratory of Organic Materials at the I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia

**L.K. Neudachina** – Associate Professor, Department of Analytical Chemistry and Environmental Chemistry, Institute of Natural Sciences and Mathematics, PhD, Associate Professor, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

Статья поступила в редакцию 16.09.2024; одобрена после рецензирования 03.02.2025; принята к публикации 05.02.2025.

The article was submitted 16.09.2024; approved after reviewing 03.02.2025; accepted for publication 05.02.2025.