ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Сборник научных трудов
XVII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых

РОССИЯ, ТОМСК, 21 – 24 апреля 2020 г.

Том 2. Химия

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Abstracts
XVII International Conference of Students and Young Scientists

RUSSIA, TOMSK, April 21 – 24, 2020

Volume 2. Chemistry

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИПТОФАНА И 5-ГИДРОКСИТРИПТОФАНА

А.М. Алтыев, М.С. Фрянова
Научный руководитель: доцент, к.х.н. В.В. Шелковников
Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050
E-mail: lexa-cors@mail.ru

VOLTAMPEROMETRIC SENSOR FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF TRIPTOPHAN AND 5-HYDROXYTRIPTOPHAN

A.M. Altyev, M.S. Fryanova
Scientific Supervisor: Dr. V.V. Shelkovnikov
National research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050
E-mail: lexa-cors@mail.ru

Abstract. *In this study, we created a voltammetric sensor for the simultaneous determination of tryptophan and 5-hydroxytryptophan with an immobilized film of polypholic acid. Polypholic acid film was applied by cyclic voltammetry within the potentials -1V ÷ + 1V. Tryptophan and 5-hydroxytryptophan were determined by anode scanning of the potential, the oxidation potential of tryptophan is 0.75 V; the oxidation potential of 5-hydroxytryptophan is 0.40 V. The minimum detection limit for 5-hydroxytryptophan is 1 × 10^{-8} M; tryptophan - 1 × 10^{-7} M. The range of determined concentrations is 0.5 × 10^{-8} - 50.0 × 10^{-8} mol / dm^3 for 5-hydroxytryptophan and 0.84 × 10^{-7} - 38.00 × 10^{-6} mol / dm^3 for tryptophan.*

Введение. Триптофан играет важную роль в различных биологических процессах. В крови он в основном связан с белком, однако 10-25 % находится в свободной форме. Свободный триптофан является не только протеиногенной аминокислотой, часть триптофана расходуется на синтез 5-гидрокситриптофана, который является предшественником серотонина [1].

Для одновременного определения триптофана и 5-гидрокситриптофана можно использовать вольтаперометрические методы. Для этого необходимы электроды, чувствительные к аминокислотам, поэтому разработка новых сенсорных систем для определения триптофана и 5-гидрокситриптофана является актуальной задачей. При применении металлических электродов, используемых в настоящее время при определении триптофана, происходит загрязнение поверхности продуктами окисления. Нанесение полимерных электроактивных композиций позволяет улучшить чувствительность, но синтез данных пленок занимает большое количество времени. Мы предлагаем модифицировать электроды витаминами группы В, которые являются исходными веществами при образовании коферментов, которые участвуют в метаболизме триптофана и 5-гидрокситиптофана. В качестве основы мы предлагаем использовать фолиевую кислоту или витамин B_9. В организме человека она играет ключевую роль, поскольку ее восстановленная форма участвует в переносе одноуглеродных фрагментов («формил» –CHO; «метенил» –CH=; «метилен» -CH2-; «метил»- CH3) от серина, триптофана и гистидина к нуклеиновым кислотам (ДНК, РНК).

Экспериментальная часть. Все электрохимические измерения проводили на вольтамперометрическом анализаторе TA-LAB (НПО «Томьаналит») в постояннотоковом режиме в трехэлектродной ячейке. В качестве индикаторного использовали изготовленный методом «литья под давлением» (d=5 мм) углеродсодержащий электрод, модифицированный плёнкой полифолиевой кислоты. В качестве вспомогательного и электрода сравнения использовали хлоридсеребряные электроды в 1 моль/дм^3 KCl. В работе использовали триптофан (Sigma), 5-гидрокситриптофан (Sigma). Буферный раствор pH=6,86 готовили из стандарт-титра. Все реактивы готовили на деионизованной воде, полученной на Sartorius марки arium® pro. Все эксперименты проводили при комнатной температуре.

Подготовка модифицированного углеродсодержащего электрода. Пленку фолиевой кислоты наносили на поверхность углеродсодержащего электрода методом циклической вольтамперометрии в диапазоне потенциалов от -1.0 до + 1.0 В при 80 мВ/с в течение 9 циклов.

Результаты. Известно, что фолиевая кислота может полимеризоваться на электродах [2]. На рис. 1 при потенциале –0.82 В пиковый ток в процессе непрерывного циклического изменения потенциала растет, что свидетельствует об увеличении толщины пленки на углеродсодержащем электроде.

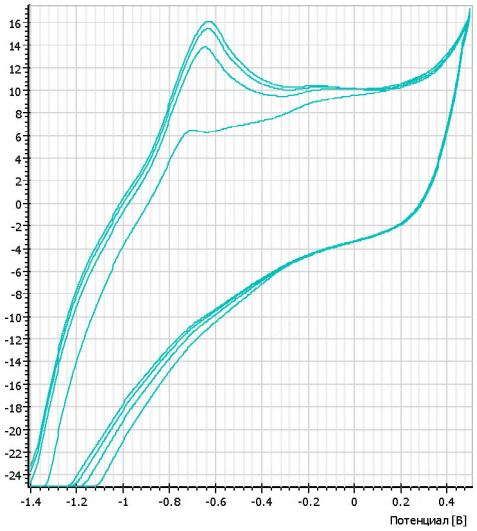

Рис. 1. Циклические вольтамперные кривые процесса электрополимеризации фолиевой кислоты

Для выбора оптимальных условий электроконцентрирования и получения аналитического сигнала изучено влияние состава фонового раствора, потенциала и времени электролиза, скорости развертки потенциала и концентрации аминокислот. Максимальные сигналы были получены в натрий-фосфатном буферном растворе при pH=6,86. В более кислых и щелочных растворах анодные пики плохо разрешимы и чувствительность сигналов меньше. При одновременном определении триптофана и 5-гидрокситриптофана оптимальный потенциал электролиза –0,1 В. Временная зависимость линейна в изученном диапазоне до 300 с. Аналитические сигналы, полученные на модифицированном электроде, представлены на рис. 2. Потенциалы пиков соответствуют: 0,75 В – триптофану, 0,4 В – 5-гидрокситриптофану.

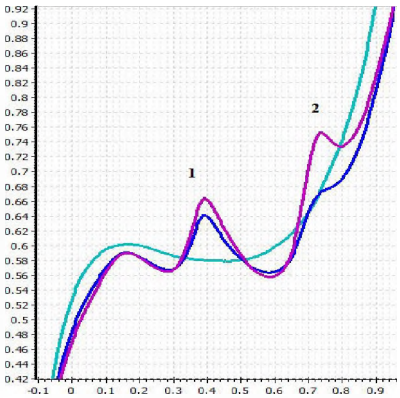

Рис. 2. Вольтамперные кривые триптофана и 5-гидрокситриптофана на фоне Na_2HPO_4 – NaH_2PO_4 с pH = 6,86 (1 – 5-гидрокситриптофан и триптофан с концентрациями 1,0 ×10^{-8} M; 2 – 5-гидрокситриптофана и триптофана с концентрацией 2×10^{-8} M)

Для исследования возможного механизма реакции, происходящей на электроде, рассчитаны мольные доли основной –NH_2 - группы и кислой –COOH группы (рис. 3). При pH 6,86 триптофан и 5 - гидрокситриптофан находятся в виде цвиттер-ионов, поэтому, можно предположить, что концентрирование их на пленке полифолиевой кислоты происходит за счет образования донорно-акцепторных связей NH_3^+– COO^-.

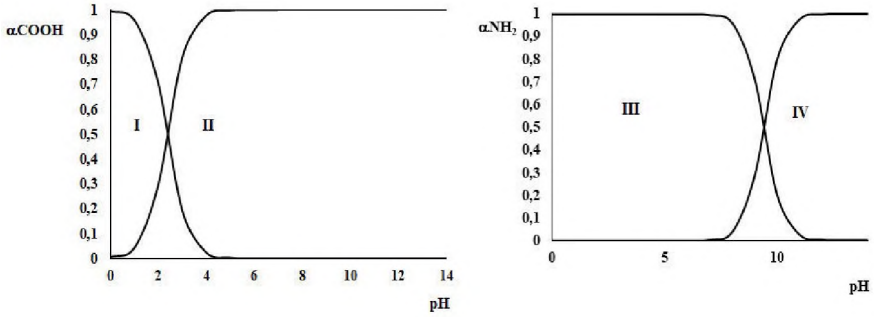

Рис. 3. Мольные доли триптофана и 5-гидрокситриптофана по кислотной группе(I - COOH, II - COO^-) и основной группе(III - NH_3^+, IV - NH_2)

Исследуя уравнение Рендллса-Шевчика для зависимости силы тока от корня квадратного скорости развертки потенциала установлено, что лимитирующей стадией является электродная реакция, и в процессе участвует 2 электрона.

Заключение. Разработана методика, позволяющая определять одновременно триптофан и 5-гидрокситриптофан методом инверсионной вольтамперометрии на модифицированном витамином B_9 электроде, в диапазоне концентраций 0,84×10^{-7} – 38,00×10^{-6} моль/дм^3, с минимальной определяемой концентрацией 1 ×10^{-7} моль/дм^3.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kałuzna-Czaplinska J, Gatarek, P, Chirumbolo S., Chartrand M., Bjørklund G. How important is tryptophan in human health? // Crit. Rev. Food Sci and Nutr. – 2019. – V. 1. – pp. 72–88
2. Raimonda C., TautvydasV., ŠarūnasV., Rasa P. Electrosynthesis and characterisation of poly(folic acid) films // Electrochimica Acta. – V. 138. – 2014. – pp. 62–68