

ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ L-МЕТИОНИНА В ПРОДУКТАХ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА НАТРИЕВОЙ СОЛИ N-АЦЕТИЛ-DL-МЕТИОНИНА

А. С. ИВАНОВ, А. А. НАШАЯН, Г. В. ГЮЛЬХАНДЯН,
Ж. Ш. БАБАЯН и Б. С. СТЕПАНЯНЦ

Научно-исследовательский технологический институт аминокислот, Ереван
НПО «Армбиотехнология», Ереван

Поступило 6 VII 1990

Зависимость концентрации L-метионина в продуктах ферментативного гидролиза натриевой соли N-ацетил-DL-метионина от времени контролировали поляриметрическим методом. Величину угла оптического вращения реакционной смеси определяли при pH 1. Установлено, что максимальная концентрация L-метионина (30—31 мг/мл) достигается через 40—50 мин от начала процесса гидролиза.

Табл. 1, библиограф. ссылки 8.

Процесс получения L-аминокислот методом асимметрического синтеза основан на ферментативном гидролизе N-ацетилпроизводных L-аминокислот [1—5]. Исходя из соотношения скоростей гидролиза взятых порознь натриевых солей N-ацетил-L-метионина и N-ацетил-D-метионина 40000:1, соответственно [6], в реакционной смеси при асимметрическом гидролизе рацемата образуются в эквимольных количествах натриевые соли L-метионина и N-ацетил-D-метионина.

Цель настоящей работы заключается в применении поляриметрического экспресс-метода анализа [7] роста концентрации L-метионина в процессе ферментативного гидролиза натриевой соли N-ацетил-DL-метионина взамен неудовлетворяющего нас по длительности (~ 0,5 ч) традиционного нингидринового способа [5].

В 1986—1989 гг. в НИТИА НПО «Армбиотехнология» на созданной универсальной, автоматизированной установке непрерывного действия был отработан технологический процесс получения L-метионина методом асимметрического гидролиза натриевой соли N-ацетил-DL-метионина, полученного из кормового DL-метионина с помощью иммобилизованного ферментного препарата—аминоацилазы микробного происхождения активностью 8000—14000 ед/г., и выданы впервые в СССР «Исходные данные на проектирование производства L-метионина». Предлагаемый метод контроля роста концентрации L-метионина заложен нами в исходных данных на проектирование. За основу предлагаемого метода принято явление влияния кислот на сдвиг угла молекулярного вращения (в градусах) водных растворов L-аминокислот и их производных [8].

Концентрацию (С) L-метионина в гидролизате (г/л) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{\alpha \cdot 1000 \cdot M \cdot P}{[\alpha]_{\text{сумм}} \cdot l}, \quad (1)$$

где α — величина оптического угла вращения раствора при длине волны 529 нм; M — относительная молекулярная масса L-метионина; P — разведение гидролизата, подкисленного до pH 1,0; $[\alpha]_{\text{сумм}}$ — суммарная величина молярного удельного вращения N-ацетил-D-метионина и L-метионина при pH 1,0, определенная экспериментально и равная 7685°; l — длина кюветы, дм.

Степень превращения N-ацетил-DL-метионина в L-метионин (A) в процентах рассчитывают по формуле:

$$A = \frac{C \cdot 191,3 \cdot 100 \cdot 2}{M \cdot C_{\text{исх}}}, \quad (2)$$

где M — относительная молекулярная масса L-метионина; 191,3 — относительная молекулярная масса N-ацетил-DL-метионина. C — найденная концентрация L-метионина по формуле (1); $C_{\text{исх}}$ — концентрация N-ацетил-DL-метионина в растворе, приготовленном для гидролиза, мг/мл. Как показывают данные, лучшие результаты получаются, когда $C_{\text{исх}} = 0,5$ моль/л или 95,6 мг/мл.

В числителе число 2 показывает, что в результате асимметрического гидролиза из двух молекул N-ацетил-DL-метионина образуются по одной молекуле L-метионина и N-ацетил-D-метионина.

Экспериментальная часть и обсуждение результатов

Процесс ферментативного гидролиза осуществляется при температуре $39^{\circ} \pm 1^{\circ}$ и pH $7,0 \div 7,4$. В стакан вместимостью 50 мл переносят 10 мл предварительно отфильтрованного гидролизата и при перемешивании (по каплям) подкисляют 1 M раствором соляной кислоты до pH $1 \pm 0,1$. По достижении указанного значения pH фиксируют количество израсходованной соляной кислоты (мл) и определяют величину P в уравнении (1).

Величину оптического угла вращения подкисленного гидролизата определяют на автоматическом поляриметре «Polamat» при длине волны 546,1 нм, с точностью измерения $\pm 0,01^{\circ}$ в кювете длиной 0,5 или 1,0 дм при 25° .

Установлено, что величины угла оптического вращения L-метионина и N-ацетил-D-метионина зависят от pH раствора. Для L-метионина величина молярного удельного вращения изменяется от $+3345^{\circ}$ при pH 1,0 до 1223° при pH 7,0. Для N-ацетил-D-метионина эта величина изменяется от $+4340^{\circ}$ при pH 1,0 до -306° при pH 7,0.

Представленные данные показывают, что L-метионин и N-ацетил-D-метионин имеют максимальное значение молярного удельного вращения со знаком плюс при pH 1,0, поэтому определение угла оптического вращения реакционной смеси, содержащей указанные соединения, проводили при pH 1,0.

Нами определено (табл.), что максимальная концентрация L-метионина ($30 \div 31$ мг/мл) в гидролизате достигается через $40 \div 50$ мин от начала гидролиза при $C_{\text{нач}}$ субстрата, равной 0,5 моль/л.

Таблица

Динамика роста концентрации L-метионина

№ № пробы	Время от начала процесса, мин	Показания угла вращения, σ	Разведение, P	Концентрация L-метионина, C	Степень превращения, A
1	3	0,3658	2,2	15,62	41,86
2	6	0,4338	2,21	18,62	41,90
3	8	0,4819	2,21	20,81	55,77
4	11	0,104	2,23	22,99	61,61
5	15	0,5445	2,41	25,48	68,28
6	20	0,5670	2,38	26,20	70,22
7	25	0,5870	2,35	26,78	71,77
8	35	0,5700	2,51	27,79	74,47
9	45	0,4424	3,52	30,24	81,04
10	50	0,4508	3,52	30,82	82,60
11	55	0,4508	3,52	30,82	82,60
12	60	0,4500	3,50	30,58	81,95
13	65	0,4520	3,53	30,98	83,03
14	70	0,4500	3,50	30,58	81,95
15	80	0,4500	3,50	30,58	81,95
16	100	0,4500	3,50	30,58	81,95

* Приведенные данные соотнесены к длине волны натриевого источника света (589 нм)

$$\alpha_{Na} = \frac{\alpha_{Hg}}{1,17543}$$

где α_{Hg} — угол вращения плоскости поляризации света, в градусах исследуемого вещества для ртутного источника света (411 нм)

N-ԱՅԵՏԻԼ-DL-ՄԵԹԻՈՆԻՆԻ ՆԱՏՐԻՈՒՄԱԿԱՆ ԱՂԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՏԻՎ ՀԻԴՐՈԼԻԶԻ ԱՐԳԱՍԻԳՆԵՐՈՒՄ Լ-ՄԵԹԻՈՆԻՆԻ ՊՐՈՇԽԱՆ ԲԵՎԵՌԱԶԱՓԱԿԱՆ ՄԵԹՈՒ

Ա. Ս. ԻՎԱՆՈՎ, Ա. Ա. ՓԱՇԱՅԱՆ, Գ. Ք. ԳՅՈՒՆԱՆԴԱՆՅԱՆ, Ժ. Շ. ԲԱԲԱՅԱՆ և
Բ. Ս. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆՑ

N-Այետիլ-DL-մեթիոնինի նատրիումական աղի ոչ սխմետրիկ հիդրոլիզի մեթոդով ստացվող L-մեթիոնինի կոնցենտրացիայի աճը ժամանակից կախված հսկել ենք բեռաշափային մեթոդով, Ռեակցիոն խառնուրդի օպտիկական պտտման անկյունը որոշված է $pH=1$ արժեքում: Հիդրոլիզի սկզբից 40—50 րոպե անց ռեակցիոն խառնուրդում L-մեթիոնինի կոնցենտրացիան հասնում է առավելագույն արժեքի (30—31 մգ/մլ):

POLARIMETRIC METHOD FOR L-METHIONINE DETERMINATION IN ENZYMATIC HYDROLYSIS PRODUCTS OF SODIUM SALT OF N-ACETYL-D,L-METHIONINE

A. S. IVANOV, A. A. PASHAYAN, G. V. GYULKHANDANIAN,
Kz. Sh. BABAYAN and B. S. STEPANIANIS

Time dependences of L-methionine concentration growth obtained by asymmetric hydrolysis of sodium salt of N-acetyl-D,L-methionine was checked by polarimetric method. Optical rotation angle of the reaction mixture was determined at $\text{pH}=1$. It has been shown that maximum of concentration ($32-33 \text{ mg/ml}$) of L-methionine is achieved within $40-50 \text{ min}$ from the start of the hydrolysis.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Smorodintzev J. A. — J. Physiol. Chem., 1922, v. 124, p. 123.
2. Mori T. — J. Biochem., 1939, v. 29, p. 225.
3. Nawa K. — J. Biochem., 1938, v. 28, p. 237.
4. Neuberg K., Linhardt K. — J. Biochem., 1924, v. 147, p. 372.
5. Авт. свид. № 910603 (1981), СССР/Степанов В. М., Лобарева Л. С., Малинка М. К., Амирханян О. М., Амирханян М. М., Елания М. Ф., Матевосян Р. О. — Бюлл. изобр., 1982, № 9.
6. Гринштейн Д. Т., Виниц М. — Химия аминокислот и пептидов. М., Мир, 1965, с. 85.
7. Сатарова Д. Э., Ныс П. С., Скворцова Е. Е., Корчагин В. Б., Савицкая Е. М. — Антибиотики, 1982, № 1, с. 6.
8. Greenstein J. P., Winitz S. M., Otey M. C. — J. Biol. Chem., 1953, v. 204, p. 307.

Армянский химический журнал, т. 44, № 5, стр. 293—298 (1991 г.)

УДК 547.724.543.4

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЛАКТОНОВ. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВНУТРЕННЕЙ СОЛИ 3-ЦИАНО-4(Н-ПИРИДИН- НИЙ-)МЕТИЛ-5,5-ДИМЕТИЛ- Δ^3 -БУТЕНОЛИДА.

А. А. АВETИСЯН, А. А. АХНАЗАРЯН, Г. С. МЕЛИКЯН и Г. Н. ШАПОШНИКОВА

Ереванский государственный университет

Поступило 27 XII 1990

Взаимодействием 3-циано-4,5,5-триметил- Δ^3 -бутенолида с пиридином и йодом по реакции Кинга синтезирован соответствующий йодид 4-(N-пиридиный)метил- Δ^3 -бутенолида, который в основной среде неожиданно трансформируется во внутреннюю соль, содержащую насыщенное γ -лактонное кольцо. Изучено поведение этого соединения в качестве индикатора кислотно-основного титрования.

Рис. 4, библиограф. ссылок 7.

Ряд соединений, содержащих в структуре γ -лактонное и пиридиновое кольца, обладает болеутоляющим действием, сравнимым с амидопирином [1, 2]. С целью синтеза потенциально биологически ак-