

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

УДК 661 + 664 + 668.94 + 668.395 + 668.7

ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА ИЗ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ

Ж. Н. САРИБЕКЯН^а, А. М. СИМОНЯН^{б, в}, А. Е. АГАДЖАНЫАН^б и А. С. САГЯН^{б, в}

^а Арцахский научный центр
НКР, Степанакерт, ул. Тиграна Меца, 26
Факс: (047)949093

^б Научно-производственный центр "Армбиотехнология"
НАН Республики Армения
0056, Ереван, ул. Гюрджяна, 14
Факс: (374-10) 654180

^в Ереванский государственный университет
Армения, 0025, Ереван, ул. А. Манукяна, 1
Факс: (374-60)710410 E-mail: saghyan@ysu.am

Поступило 15 V 2017

Исследована возможность отделения пролина от других аминокислот с использованием способности первичных аминокислот образовывать основания Шиффа с альдегидами в динамическом режиме. В качестве носителей реакционноспособных частиц альдегида исследовались анионообменные смолы ЭДЭ-10п, АВ-17 и АВ-18-8, а в качестве альдегидов – салициловый, 5-бромсалициловый и 5-сульфосалициловый альдегиды. Показано, что в процессах отделения пролина от других аминокислот наибольшую эффективность проявляет смола АВ-17 в форме с 50% насыщенностью двухзаряженного 5-сульфосалицилового альдегида. В процессах выделения пролина из смеси аминокислот и вымывания сопутствующих аминокислот со смолы частицы 5-сульфосалицилового альдегида практически не вытесняются со смолы, ее исходная реакционноспособная форма регенерируется, и такую смолу можно использовать многократно. Разработанный подход можно рекомендовать для применения в технологии выделения и очистки пролина из КЖ микробиологического производства.

Рис. 1, табл. 2, библиограф. ссылок 13

L-Пролин находит широкое применение в пищевой и химической промышленности, медицине, сельском хозяйстве. В промышленности его получают в основном микробиологическим способом [1,2].

При микробиологическом способе получения пролина вначале из супернатанта культуральной жидкости (КЖ) ионным обменом выделяют смесь аминокислот, а затем очищают пролин от сопутствующих аминокислот и остальных примесей различными методами.

Известные в литературе способы отделения пролина от сопутствующих аминокислот можно разделить на две группы:

- методы, основанные на способности различных соединений (пикриновая кислота, хлорэндиковая кислота, пентахлорфенол и др.) избирательно связывать пролин или отдельные сопутствующие аминокислоты [3-5];
- методы, основанные на структурном различии пролина и сопутствующих первичных аминокислот (например, с использованием реакции дезаминирования [6]) на основе различия значений второй константы ионизации пролина и сопутствующих первичных аминокислот [7], с использованием способности первичных аминокислот, в отличие от иминокислоты-пролина, связываться с карбонильными соединениями в виде оснований Шиффа [8-10].

Описанные способы отделения пролина от сопутствующих аминокислот, за исключением способа на основе образования основания Шиффа, либо не обеспечивают полной очистки пролина [3-4,7], либо технологически сложны, связаны с использованием дорогостоящего сырья и сопровождаются образованием вредных и канцерогенных соединений [6].

Исходя из вышесказанного очевидно, что разработка эффективной и экологически чистой технологии выделения и очистки пролина из КЖ является актуальной задачей.

Целью данной работы являлась разработка эффективного метода выделения пролина из смеси аминокислот, полученной из КЖ, обеспечивающего высокий выход и качество целевого продукта, технологическую простоту и малоотходность производства. В качестве базового метода был выбран ранее разработанный способ отделения пролина от сопутствующих аминокислот с использованием способности первичных аминокислот образовывать свободные основания Шиффа с салициловым альдегидом [8]. Согласно этому методу, раствор смеси аминокислот, содержащий L-пролин и сопутствующие пролину L-аминокислоты, обрабатывают анионообменной смолой в салицилальдегидной форме. При этом аминокислоты с первичной аминогруппой образуют основания Шиффа с фрагментом альдегида смолы и задерживаются в колонке, а пролин, как иминокислота, не способная взаимодействовать с альдегидным противоионом смолы, выходит из колонки.

В качестве носителей реакционноспособных частиц альдегида были исследованы анионообменные смолы ЭДЭ-10п, АВ-17 и АВ-18-8, а в качестве альдегида — салициловый, 5-бромсалициловый и 5-сульфосалициловый альдегиды. Подготовка альдегидных форм анионитов прово-

дидась в динамическом режиме посредством пропускания 3-кратного мольного избытка альдегида через колонку с указанными смолами в направлении снизу вверх и со скоростью 0.4-0.6 объем раствора/объем смолы/час. Причем из-за плохой растворимости салицилового и 5-бромсалицилового альдегидов в воде готовили их водно-спиртовые (1/1) растворы, а для 5-сульфосалицилового альдегида использовали водные растворы. Учитывая то обстоятельство, что карбонильная группа салицилового альдегида может проявлять активность в реакциях образования основания Шиффа только в виде частиц с ионизированной α -гидроксильной группой, в случае 5-сульфосалицилового альдегида были получены также смолы с ~50% насыщенностью двухзаряженными частицами альдегида. Получение анионитов с 50% насыщением частицами 5-сульфосалицилового альдегида проводилось в статическом режиме путем перемешивания OH^- формы анионита с водным раствором 5-сульфосалицилового альдегида при мольном соотношении альдегида к обменной емкости смолы 0.5/1. На рис. 1 приведены альдегидные формы анионообменных смол с ~100% [1-3(a-c)] и 50% [1-3(d)] насыщенностью ионизированных частиц альдегидов.

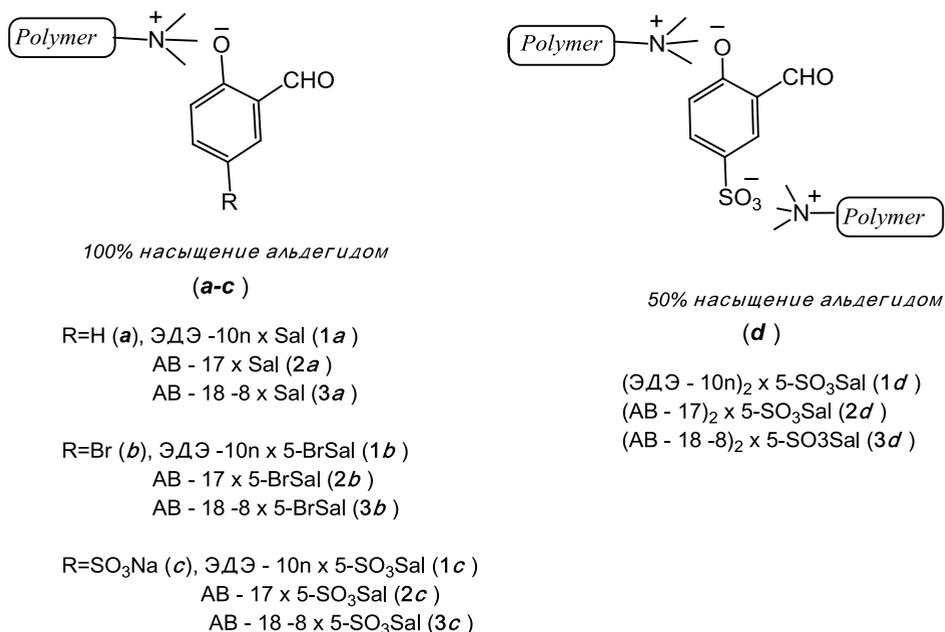


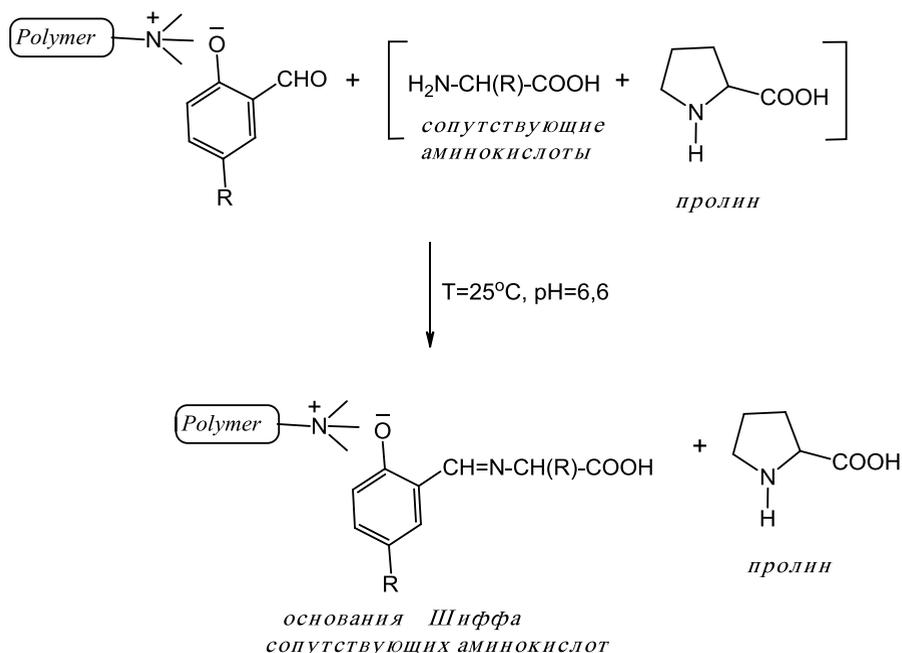
Рис. Альдегидные формы анионообменных смол.

Эти смолы были испытаны в реакциях образования основания Шиффа с первичными аминокислотами в процессах отделения пролина от сопутствующих аминокислот в динамическом режиме. Для этого водный раствор модельной смеси аминокислот с содержанием примерно 80% пролина, 20% сопутствующих первичных аминокислот (Ala, Val, Leu, Glu, Gly, Lys) и 5% NaCl пропускали через колонку, заполненную

анионообменными смолами **1-3 (a-c)** и **1-3 (d)** (рис.). Выбор сопутствующих пролину аминокислот и их соотношение в модельной смеси были определены в соответствии с качественными и количественными показателями нативного раствора смеси аминокислот, выделенного из КЖ микробного синтеза с использованием штамма-продуцента *Brevibacterium flavum AP-112* (учитывая наличие примерно до 5% минеральных солей в нативном растворе пролина, в состав модельной смеси аминокислот был включен также 5% NaCl).

Модельный раствор смеси аминокислот пропускали через колонку в направлении сверху вниз со скоростью 0.4-0.6 объема раствора по отношению объема смолы за 1 ч. При этом все сопутствующие пролину аминокислоты образуют основания Шиффа с альдегидным фрагментом смолы и задерживаются на смоле, а пролин выходит из колонки. Пропускание раствора смеси аминокислот продолжали до появления сопутствующих аминокислот в выходящей из колонки жидкости (см. схему 1). Причем вначале из колонки выходят аланин, глицин, лизин и глутаминовая кислота, а затем примерно через 1.5 объема жидкости по отношению объема смолы начинают выходить валин и лейцин.

Схема 1



В процессе образования шиффовых оснований сопутствующих аминокислот происходит частичное вымывание фрагмента альдегида со смолы как в свободном виде, так и в форме основания Шиффа. Это объясняется наличием в растворе смеси аминокислот других анионов (Cl⁻ и др.), а также недостаточной прочностью связывания анионных частиц альдегида с положительно заряженными группами полимерной матрицы смолы.

Эффективность смолы была оценена как по количеству очищенного раствора пролина, так и по степени вытеснения фрагмента альдегида со смолы. Результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты испытания альдегидной формы анионитов в процессе очистки пролина из сопутствующих аминокислот*

№ оп.	Альдегидные формы смолы	Объем очищенного раствора пролина по отношению к объему смолы	Процент вытесненного о со смолы альдегида **	Количество очищенного пролина, г***
1	ЭДЭ – 10п × Sal (1a)	0.7	5.8	5.2
2	ЭДЭ-10п × 5-Br-Sal (1b)	0.6	4.6	4.5
3	ЭДЭ-10п × 5-SO ₃ Sal (1c)	0.1	2.2	<0.5
4	(ЭДЭ-10п) ₂ × 5-SO ₃ Sal (1d) (50%)	0.5	0	3.5
5	AB-17 × Sal (2a)	1.4	6.0	10.4
6	AB-17 × 5-BrSal (2b)	1.2	5.6	8.8
7	AB-17 × 5-SO ₃ Sal (2c)	<0.1	0.3	<0.5
8	(AB-17) ₂ × 5-SO ₃ Sal (2d) (50%)	2.5	0	18.5
9	AB-18-8 × Sal (3a)	0.5	4.4	3.5
10	AB-18-8 × 5-BrSal (3b)	0.4	4.8	3.0
11	AB-18-8 × 5-SO ₃ Sal (3c)	<0.1	<0.1	<0.5
12	(AB-18-8) ₂ × 5-SO ₃ Sal (3d) (50%)	0.4	0	3.0

* – Состав смеси аминокислот: Pro (74 г/л), Ala (3.2 г/л), Leu(1.4 г/л), Glu(1.0 г/л), Val (10 г/л), Gly (1.2 г/л), Lys (1.0 г/л), NaCl (4.6 г/л); ** – количество альдегида в выходящем из колонки растворе (стартовое количество альдегида на смоле рассчитано исходя из обменной емкости смолы по OH-иону); *** – количество пролина в очищенном растворе определено методом ТСХ.

Из данных табл. 1 следует, что низкую активность в процессах отделения пролина от других аминокислот проявляет смола ЭДЭ-10п (оп.1-4), несмотря на то, что она имеет относительно большую исходную обменную емкость по OH⁻ иону (2.2-2.4 г-экв/л). По-видимому, это обусловлено тем, что из активных групп полимерной матрицы этой смолы всего 10-12% являются сильноосновными четвертичными аммониевыми группами (-NR₃)⁺, а остальные – первичные (-NH₂), вторичные (=NH) и третичные (=N-) [11], которые нецеленаправленно связываются с молекулами альдегида по карбонильной группе (это было показано методом ИК спектроскопии) и инактивируют их в реакциях образования основания Шиффа с аминокислотами. Относительно низкую активность в процессах отделения пролина от других аминокислот показывает также смола AB-18-8, исходная

обменная емкость которой составляет примерно 1.3-1.5 г-экв/л (по 0.1NHCl) (оп. 9-12). По-видимому, это связано с тем, что в качестве положительно заряженных групп этот анионит содержит остатки пиридина $(-NC_3H_5)^+$ [12], которые не склонны прочно связываться с салициловыми альдегидами из-за пространственных затруднений. Как и следовало ожидать на основании теоретических заключений, наибольшую активность в реакциях образования основания Шиффа с первичными аминокислотами проявляет смола АВ-17, содержащая в качестве матричных положительно заряженных групп только сильно-основные четвертичные аммониевые группы $(-NR_3)^+$ (исходная обменная емкость АВ-17 по OH^- иону составляет лишь 0.7-0.9 г-экв/л [9]).

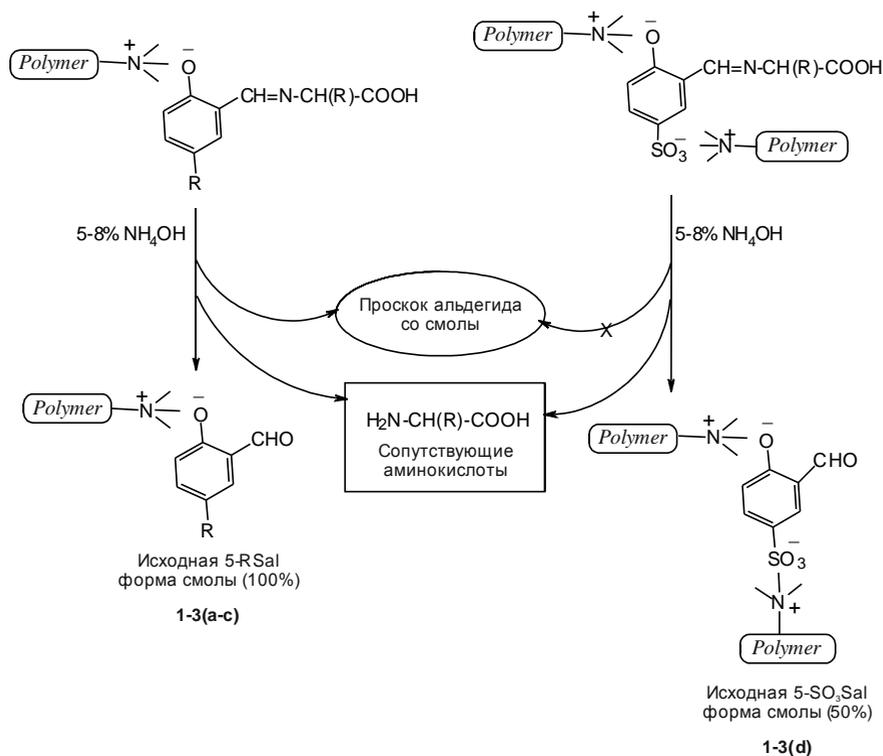
Из данных табл. 1 следует также, что в ряду альдегидных частиц наиболее эффективным в процессах отделения пролина от других аминокислот является 5-сульфосалициловый альдегид в форме двухзаряженных частиц, ионизированных как по 2-гидроксильной, так и по 5-сульфокислотной группам $[(5-SO_3Sal)^{-2}]$. Такое состояние молекул 5-сульфосалицилового альдегида на матрице анионообменных смол возможно при 50% насыщении смолы фрагментами альдегида (табл. 1, оп. 4, 8, 12), где две положительно заряженные группы матрицы смолы нейтрализованы одной молекулой двухзаряженного 5-сульфосалицилового альдегида (рис., d). Такая альдегидная форма смолы является реакционноспособной в реакциях образования основания Шиффа, поскольку α -ОН группа альдегида находится в ионизированном состоянии. Именно по этой причине смолы со 100% насыщенностью фрагментами 5-сульфосалицилового альдегида оказались неактивными в реакциях образования основания Шиффа, т. к. в этом случае фрагменты альдегида фиксируются на матрице анионита только за счет сильнокислотной сульфогруппы, а его 2-гидроксильная группа находится в неионизированном состоянии (табл. 1, оп. 3, 7, 11).

Неэффективное поведение других альдегидов в процессах отделения пролина от сопутствующих аминокислот, по-видимому, связано с недостаточной прочностью ионной связи между анионными частицами альдегидов (или основания Шиффа) и положительно заряженными группами матрицы смолы. Этим и объясняется проскок фрагментов салицилового и 5-бромсалицилового альдегидов со смолы в процессе выделения пролина из раствора смеси аминокислот, содержащего, помимо аминокислот, также минеральные соли. Как видно из данных табл. 1, в случае применения смолы с 50% насыщением фрагментами 5-сульфосалицилового альдегида в процессе отделения пролина от сопутствующих аминокислот проскок альдегидных противоионов со смолы практически не наблюдается (табл. 1, оп. 4, 8, 12).

С целью вытеснения сопутствующих пролину аминокислот со смолы после промывания межгранульного пространства смолы дистиллированной водой исследовались процессы разложения шиффовых основа-

ний непосредственно на поверхности смолы и выделения сопутствующих аминокислот (см. схему 2). Для гидролиза оснований Шиффа аминокислот на примере АВ-17 в салицилиденевой форме (форма основания Шиффа) в качестве элюента исследовались водные растворы 5% NH_4OH и 1М CH_3COOH . Однако наилучшие результаты как по выходу сопутствующих аминокислот, так и по скорости разложения оснований Шиффа были зафиксированы в случае использования в качестве элюента 5% NH_4OH .

Схема 2



Количественная характеристика элюции сопутствующих аминокислот со смолы была оценена на основании данных по суммарному содержанию всех сопутствующих аминокислот на смоле в форме основания Шиффа с фрагментами альдегида (исходное содержание) и в собранном аммиачном элюате. Исходное количество сопутствующих аминокислот на смоле (в форме основания Шиффа) было принято исходя из разницы количеств отдельных сопутствующих аминокислот в пропущенном через колонку и выходящем из колонки растворах на стадии отделения образования основания Шиффа. Одновременно следили за проскоком альдегидных частиц со смолы в процессе разложения оснований Шиффа и выделения сопутствующих аминокислот посредством определения их количества в собранных аммиачных элюатах.

В процессе разложения шиффовых оснований и выделения сопутствующих аминокислот происходит вымывание также альдегидных частиц со смолы в случае анионообменных смол в салицилиденовых и 5-бромсалицилиденовых формах. В случае использования анионитов в 5-сульфосалицилальдегидной форме со 100% насыщенностью монозаряженными частицами альдегида в собранном аммиачном элюате было обнаружено незначительное (1.8-7.6%) количество 5-сульфосалицилового альдегида (табл. 2).

Таблица 2

Результаты элюирования сопутствующих аминокислот (АА) с салицилиденовых форм смолы с помощью 5% NH₄OH

№ оп	Смола в салицилиденовой форме	Количество израсходованного элюента (объем элюента/объем смолы)*	Выход элюции смеси сопутствующих аминокислот, %**	Степень проскока альдегида со смолы, %***
1	ЭДЭ-10п × Sal-AA (1a)	3.0	74	65
2	ЭДЭ-10п × Sal-AA (1a)	6.0	86	80
3	ЭДЭ-10п × 5-BrSal-AA (1b)	3.0	82	60
4	ЭДЭ-10п × 5-SO ₃ Sal-AA (1c)	3.0	<0.1	4.8
5	(ЭДЭ-10п) ₂ × 5-SO ₃ Sal-AA (50%) (1d)	3.0	78	2.2
6	(ЭДЭ-10п) ₂ × 5-SO ₃ Sal-AA (50%) (1d)	6.0	>88	3.2
7	AB-17 × Sal-AA (2a)	3	74	62
8	AB-17 × Sal-AA (2a)	6.0	86	78
9	AB-17 × 5-BrSal-AA (2b)	3.0	82	55
10	AB-17 × 5-BrSal-AA (2b)	6.0	84	70
11	AB-17 × 5-SO ₃ Sal-AA (2c)	3.0	<0.1	0.8
12	(AB-17) ₂ × 5-SO ₃ Sal-AA (50%) (2d)	3.0	86	-0.001
13	(AB-17) ₂ × 5-SO ₃ Sal-AA (50%) (2d)	6.0	>96	<0.002
14	AB-18-8 × Sal-AA (3a)	3.0	58	42
15	AB-18-8 × Sal-AA (3a)	6.0	66	> 60
16	AB-18-8 × 5-BrSal-AA (3b)	3.0	60	45
17	AB-18-8 × 5-SO ₃ Sal-AA (3c)	3.0	<0.1	1.8
18	(AB-18-8) ₂ × 5-SO ₃ Sal-AA (50%) (3d)	3.0	84	<0.05
19	(AB-18-8) ₂ × 5-SO ₃ Sal-AA (50%) (3d)	6.0	>96	~ 0.1

* – добавление элюента продолжают до появления следов аминокислот в элюате (<0.1 з/л); ** – количество смеси аминокислот в элюатах определено методом ТСХ; *** – количество вытесненных со смол остатков альдегидов в элюатах определено спектрофотометрическим методом (стартовое количество альдегида на смоле рассчитано исходя из обменной емкости смолы по OH- иону).

Наилучшие результаты были зафиксированы при использовании анионитов в 5-сульфосалицилиденовых формах (50% насыщенная двухзаряженными частицами альдегида). В этом случае в процессе разложения шиффовых оснований аминокислот фрагменты альдегида практически не вымываются с поверхности смолы, и исходная реакционноспособная форма смолы с 50% насыщенностью двухзаряженными остатками 5-сульфосалицилового альдегида полностью регенерируется (степень проскока альдегидных частиц $>0.001\%$) (табл. 2).

Из представленных в табл. 2 данных следует, что практически для всех изученных анионообменных смол в салицилиденовых и 5-бромсалицилиденовых формах в процессе гидролиза шиффовых оснований действием 5% NH_4OH происходит количественное вымывание фрагментов альдегидов со смолы (50-80%) (табл. 2, оп. 1-3, 7-9, 14-16). Исключением являются смолы в 5-сульфосалицилиденовых формах, в которых альдегидные фрагменты прочно связаны с положительно заряженными четвертичными аммониевыми группами полимерной матрицы за счет сильнокислотной сульфогруппы альдегида и не вытесняются со смолы под действием 5% NH_4OH (табл. 2, оп. 4-6, 11-13, 17-19). Особенно эффективны смолы с 50% насыщенностью 5-сульфосалицилиденовыми остатками, в структуре которых фрагменты альдегида связаны с четвертичными аммониевыми группами полимерной матрицы смолы как за счет сильнокислотной 5-сульфогруппы, так и ионизированной 2-гидроксильной группы (табл. 2, оп. 5,6,12,13,18,19). Заметное количество вытеснения альдегида со смолы в случае ЭДЭ-10п с 50% насыщением 5-сульфосалицилового альдегидом можно объяснить тем, что под действием водного аммиака со смолы вымываются также остатки альдегида, связанные с другими положительно заряженными аммониевыми группами матрицы смолы (табл. 2, оп. 5,6). Как видно из полученных данных, наименьший процент вытеснения остатков альдегида со смолы происходит в случае смолы АВ-17 с 50% насыщенностью остатками 5-сульфосалицилового альдегида ($<0.001\%$) (табл. 2, оп. 12,13). Это обусловлено тем, что полимерная матрица смолы АВ-17 в качестве положительно заряженных частиц содержит только сильноосновные четвертичные аммониевые группы, которые прочно связывают двухзаряженные частицы 5-сульфосалицилового альдегида как по ионизированной сильнокислотной 5-сульфогруппе, так и по 2-гидроксильной группе.

Анализ приведенных в табл. 1 и 2 данных показывает, что в процессах выделения пролина из смеси аминокислот наиболее эффективным является анионообменная смола АВ-17 в форме 50% насыщенности частицами двухзаряженного 5-сульфосалицилового альдегида. Такая смола обеспечивает максимальный выход очистки пролина и незначительный проскок частиц альдегида со смолы ($<0.01\%$). Причем после разложения шиффовых оснований и выделения сопутствующих аминокислот исход-

ная реакционноспособная форма смолы регенерируется, и такую смолу можно использовать многократно в процессах отделения пролина от других аминокислот. Преимуществом данной формы смолы является также то, что 5-сульфосалициловый альдегид, в отличие от других аналогов салицилового альдегида, хорошо растворяется в воде, и все технологические процессы подготовки смолы и ее использования в процессах выделения пролина из различных аминокислотных смесей можно проводить в водных средах.

На основании полученных результатов можно резюмировать, что разработана «специфическая фильтр-колонка» связывания (задержки) первичных аминокислот, которую можно рекомендовать в технологии выделения и очистки L-пролина из КЖ микробиологического производства.

Настоящее исследование выполнено при финансовой поддержке ГКН МОН РА в рамках научного проекта № 16АА-07.

Экспериментальная часть

Были использованы аминокислоты производства НПЦ "Армбиотехнология" НАН РА и фирмы "ACROS Organics" (Бельгия), анионообменные смолы ЭДЭ-10п, АВ-17 и ФИ-18-8п, салициловый и 5-бромсалициловый альдегиды, NH_4OH , CH_3COOH , NaOH , $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ – "Реахим" (РФ), пластинки "Sillufol" (SiO_2) – "Merck" (США). 5-Сульфосалициловый альдегид был синтезирован согласно методике [13]. Превращение смол в OH^- форму осуществляли согласно ГОСТ СССР №10896-78. Анализ аминокислот осуществлялся методом ТСХ на пластинках "Sillufol" и бумажной хроматографии, иногда для подтверждения данных ТСХ использовали аминокислотный анализатор марки "SHIMADZU Nexera x2". Анализ альдегидов проводили спектрофотометрическим методом на приборе "SpecordM-40" при длине волны 255 и 354 нм.

Получение альдегидных форм анионообменных смол. Через колонку, заполненную 100 мл смолы ЭДЭ-10п, или АВ-17, или АВ-18-8п в OH^- форме в направлении снизу вверх со скоростью 40-50 мл за 1 ч пропускали 300 мл 8% водно-спиртового (1/1) раствора салицилового или 5-бромсалицилового альдегидов или 5% водного раствора 5-сульфосалицилового альдегида. Раствор пропускали до уравнивания концентраций альдегида в исходном и выходящем из колонки растворах. Затем смолы промывали дистиллированной водой до полного отсутствия следов альдегида в выходящем из колонки растворе. Получили смолы с ~100% насыщенностью ионизированных фрагментов альдегидов.

Получение смол с ~50% насыщением двухзаряженных частиц 5-сульфосалицилового альдегида проводили в статических условиях перемешиванием 100 мл OH^- формы смолы в рассчитанном количестве 5%

водного раствора 5-сульфосалицилового альдегида, содержащего альдегид в 0.5 эквивалентном количестве по отношению к обменной емкости смолы по OH^- иону. Затем смолы промывали дистиллированной водой до отсутствия следов альдегидов в промывных водах.

Испытание альдегидных форм смол в процессах выделения пролина из смеси аминокислот. Был исследован стандартный водный раствор смеси аминокислот следующего состава, *г/л*: Pro-74, Ala-3.2, Leu-1.4, Phe-1.0, Val-10, Gly-1.2, Lys-1.0, NaCl-4.6 (состав выбран в соответствии с содержанием смеси аминокислот в нативном растворе КЖ). Раствор пропускали через колонку, заполненную 100 мл смолы ЭДЭ-10п, или АВ-17, или АВ-18-8п в салицилальдегидной, 5-бромсалицилальдегидной и 5-сульфосалицилальдегидной (100 и 50%) формах в направлении снизу вверх со скоростью 40 мл раствора за 1 ч. Пропускание раствора продолжали до появления в выходящей из колонки жидкости следов аминокислот. Затем измеряли объем собранного раствора чистого пролина, и колонку промывали дистиллированной водой до полного вытеснения раствора смеси аминокислот из межгранульного пространства смолы (расход воды – примерно 200-300 мл). В собранном растворе определяли количество пролина и вытесненного со смолы альдегида. Результаты приведены в табл. 1.

Разложение шиффовых оснований и выделение сопутствующих аминокислот. С целью выделения сопутствующих пролину первичных аминокислот через колонки со смолами ЭДЭ-10п, АВ-17 и АВ-18-8п в соответствующих салицилиденовых формах (формы оснований Шиффа) пропускали 5% водный раствор аммиака в направлении сверху вниз со скоростью 0.8-1.0 объем раствора/объем смолы/час. Добавление аммиачного раствора продолжают до количественного вытеснения всех сопутствующих аминокислот (суммарное количество аминокислот в выходящей из колонки жидкости < 0.1 *г/л*). В собранных аммиачных элюатах определяли количества сопутствующих аминокислот и вытесненных со смол альдегидов. Результаты приведены в табл. 2.

ԱՄԻՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԽԱՌՆՈՒՐԴԻՅ ՊՐՈՒԼԻՆԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ

Ժ. Ն. ՍԱՐԻԲԵԿՅԱՆ, Ն. Մ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ա. Ե. ԱՂԱՋԱՆՅԱՆ և Ա. Ս. ՍԱՂՅԱՆ

Օգտագործելով ալդեհիդների հետ առաջնային ամինաթթուների Շիֆի հիմքեր առաջացնելու ունակությունը ուսումնասիրվել է ամինաթթուների խառնուրդից պրոլինի անջատման գործընթացը դինամիկ պայմաններում: Որպես ալդեհիդի ռեակցիոնունակ մասնիկ կրողներ ուսումնասիրվել են ЭДЭ-10п, АВ-17 և АВ-18-8 անիոնափոխանակային խեժերը, իսկ որպես ալդեհիդ՝ սալիցիլային, 5-բրոմսալիցիլային և 5-սուլֆոսալիցիլային ալդեհիդները:

Ցույց է տրվել, որ այլ ամինաթթուներից պրոլինի անջատման գործընթացում բարձր արդյունավետությամբ է ցուցաբերում երկլիցքավորված 5-սուլֆոսալիցիլալդեհիդի մասնիկներով հագեցված АВ-17 խեժը: Պրոլինը անջատելուց հետո իրականացվում է Շիֆի

Հիմքերի Հիդրոլիզ և ուղեկցող ամինաթթուների անջատում՝ խեժով լցված աշտարակով 5% NH_4OH լուծույթի անցկացմամբ: Ամինաթթվային խառնուրդից պրոլինի անջատման և խեժից ուղեկցող ամինաթթուների հանման գործընթացներում 5-սուլֆոսալիցիլալդեհիդի մասնիկները գործնականում չեն հեռացվում (դեսորբվում) խեժից: Արդյունքում վերականգնվում է խեժի ելային ռեակցիոնունակ ալդեհիդային ձևը և այն կարելի է օգտագործել բազմակի անգամ:

Մշակված եղանակը կարելի է երաշխավորել մանրէաբանական արտադրության կուլտուրալ հեղուկներից պրոլինի անջատման և մաքրման տեխնոլոգիական գործընթացում:

ISOLATION OF PROLINE FROM A MIXTURE OF AMINO ACIDS

Zh. N. SARIBEKYAN^a, H. M. SIMONYAN^{b,c},
A. E. AGHAJANYAN^b and A. S. SAGHYAN^{b,c}

^a“Artsakh Scientific Center” SNPO

26, Tigran Mets Str., Stepanakert, Nagorno-Karabakh Republic

Fax: (047) 949093

^bScientific and Production Center “Armbiotechnology” NAS RA

14, Gyurjyan Str, Yerevan, 0056, Armenia

Fax: (374-10) 654180

^cYerevan State University

1, A.Manoukyan Str, Yerevan, 0025, Armenia

Fax: (374-60)710410; E-mail: saghyan@ysu.am

The possibility to isolate proline from other amino acids using the ability of primary amino acids to form Schiff's bases with aldehydes in a dynamic mode has been studied. Anion exchange resins EDE-10p, AB-17 and AB-18-8 were studied as carriers of reactive particles of aldehyde, and salicylic, 5-bromosalicylic and 5-sulfosalicylic aldehydes were used as aldehydes. It was shown that in the process of proline isolation from other amino acids the highest efficiency displayed resin AB-17 saturated with 50% moieties of double-charged 5-sulfosalicylic aldehyde. In the course of proline isolation from a mixture of amino acids and washing-out concomitant amino acids from the resin, the particles of 5-sulfosalicylic aldehyde practically are not displaced from the resin, its initial reactive form is regenerated and this resin can be used repeatedly. The developed approach can be recommended for the use in the technology for isolation and purification of proline from CL of the microbiological production.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Ikeda M. // Biotechnology, 2003, v. 79, p. 6.
- [2] Lubec G., Rosenthal A., Gerald B. Amino acids: Chemistry, Biology and Medicine: Hardcover, 1992, p.316.
- [3] Selim A.S., Ramandan M.E. // J. of Biological Chemistry, 1957, v. 227, №2, p. 871.
- [4] Toi K., Nakayama N., Sato T., Akshi N. // Pat.USA N 3598838, МКИ 260-326.3, 1971.
- [5] Great Britain application N1177125, МКИС07 D27/04. A process for purifying proline / Ajinomoto, 1970.
- [6] Шолин А.Ф., Сагиян А.С., Мурадян А.Г., Демина Н.Г., Манешин В.В. / А.с. СССР №1012574, 1982.

- [7] *Muradyan A.G., Aghajanyan A.E., Eghiyani K.I., Hovhannisyan G.J., Akopyan E.M.* / USSR Inventors Certificate №1504978, МКИС07 С 07С 99/12, 1986 (in Russian).
- [8] *Мурадян А.Г., Оганесян М.Г., Джемгарян С.М., Казарян М.А., Сагиян А.С., Дворянчиков А.И.* / А.с. СССР № 891657, 1981.
- [9] *Zahraa Salim M. Al-Garawi, Ivan Hameed R. Tomi, Ali Hussein R. Al-Daraji* // E-Journal of Chemistry, 2012, v. 9, Issue 2, p. 962.
- [10] *Azzouz A.S.P.* // National Journal of Chemistry, 2010, v. 37, p. 158.
- [11] *Лурье А.А.* Хроматографические материалы, М., Химия, 1978, 440 с.
- [12] *Салдадзе К.М., Пашков А.Б., Титов В.С.* Ионообменные высокомолекулярные соединения. М., Гос. научно-технич. издат. "Хим. литература", 1960, 356 с.
- [13] *Belokon` Yu.N., Tararov V.I., Savel`eva T.F., Saporovskaya M.M., Belikov V.M.* // Macromol. Chem., 1986, №187, p.1065.