

## ДЕТЕКТИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ПРЕПАРАТЕ «ВСАА» ПЬЕЗОКВАРЦЕВЫМИ СЕНСОРАМИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ПОЛИМЕРАМИ С МОЛЕКУЛЯРНЫМИ ОТПЕЧАТКАМИ

**А.Н. Зяблов, Т.С. Моничева, В.Ф. Селеменев**

*Воронежский государственный университет, кафедра аналитической химии  
394006, Воронеж, Университетская пл., 1  
alex-n-z@yandex.ru*

Поступила в редакцию 14 августа 2012,  
после исправления – 24 октября 2012 г.

Предложено определение аминокислот валина, лейцина и изолейцина в водных растворах и в препарате «ВСАА» пьезосенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками. Оценена способность модифицированных пьезокварцевых сенсоров к распознаванию аминокислот в препарате.

**Ключевые слова:** аминокислоты, ВСАА, полимеры с молекулярными отпечатками, пьезокварцевые сенсоры

**Зяблов Александр Николаевич** – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

**Область научных интересов:** разработка селективных сенсоров, модифицированных полимерами с молекулярными отпечатками.

**Автор свыше 150 печатных работ.**

**Моничева Татьяна Сереевна** – студент 6 курса кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

**Область научных интересов:** химические сенсоры, исследование физико-химических свойств аминокислот и лекарственных препаратов.

**Селеменев Владимир Федорович** – д.х.н., профессор, зав. кафедрой аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

**Область научных интересов:** равновесные и неравновесные процессы с элементами самоорганизации при сорбции физиологически активных веществ, химические сенсоры.

**Автор свыше 700 печатных работ.**

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из задач в сфере производства и обращения медицинской продукции является обеспечение качества лекарственных препаратов [1]. В настоящее время наблюдается масштабное использование аминокислот в медицине, фармацевтической, пищевой промышленности, кроме того, аминокислоты широко используют в спортивном питании.

Так, например, препарат «**ВСАА**» (от англ. *Branched Chain Amino Acid*) представляет собой комплекс из трех аминокислот с разветвленной цепью – валин, лейцин и изолейцин. В отличие от других аминокислот они не синтезируются организмом, а потому их необходимо получать с пищей. Препарат «**ВСАА**» оказывает существенное влияние на процессы обмена веществ в организме человека.

Как правило, для определения содержания свободных аминокислот в биологических объектах, в составе лекарственных препаратов используют

спектральные, хроматографические и электрохимические методы анализа. Несмотря на то, что современные аналитические приборы позволяют получать разнообразную информацию о качественном и количественном составе анализируемых объектов их использование, в большинстве своем, требует стационарной лаборатории и высококвалифицированного персонала. Поэтому разработка химических сенсоров становится одним из ключевых направлений аналитической техники [2, 3].

Особое место среди химических сенсоров занимают пьезокварцевые резонаторы благодаря простоте аппаратуры, экспрессности и высокой чувствительности. Однако остается проблема создания селективных сенсоров. Основным способом ее решения является нанесение на электроды пьезокварцевых резонаторов химических модификаторов, изменяющих условия сорбции определяемых соединений. В качестве таких модификаторов могут быть использованы тонкие пленки различных органических соединений.

Наиболее перспективными, в последнее время, признаны полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО) т.к. существует практически неограниченная возможность конструирования сорбентов, селективных к органическим соединениям разных классов. Чрезвычайная привлекательность этих полимеров для практического использования обусловлена такими их свойствами, как крайне высокая стабильность, простота получения, сопоставимые с природными рецепторами аффинность и селективность [4, 5].

Целью работы было определение аминокислот в препарате для питания спортсменов «ВСАА» пьезосенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Сенсорами служили пьезоэлектрические кварцевые резонаторы АТ-среза с серебряными электродами диаметром 5 мм и толщиной 0.3 мм (производство ОАО «Пьезокварц», Москва) с номинальной резонансной частотой 4.607 МГц [6]. Пьезорезонаторы модифицировали полимером с молекулярным отпечатком аминокислот и полимером сравнения.

Общая схема получения полимеров с молекулярными отпечатками включает образование предполимеризационного комплекса между шаблоном и функциональным мономером, основанного на ковалентном или нековалентном взаимодействии их функциональных групп, полимеризацию, с последующим удалением темплата (шаблона) экстракцией [4].

В работе были получены полимеры на основе продукта АД-9103 ТУ-6-19-283-85 производства ОАО МИПП НПО «Пластик», г. Москва. АД-9103 представляет собой смесь исходных мономеров 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты и 4,4'-диаминодифенилоксида. Инициатором реакции полимеризации являлась термическая обработка системы. Сшивающим агентом служил водно-этанольно-бутанольный раствор [7]. Для получения полимеров с молекулярными отпечатками поддерживали соотношение АД-9103 : молекула-шаблон равным 1 : 1, при этом темплат предварительно растворяли в водно-этанольно-бутанольном растворе (12 : 5 : 4). Полученную смесь наносили микрошпателем на поверхность электрода пьезокварцевого сенсора и проводили имидизацию при 453 К [6, 7].

При использовании полимеров с молекулярными отпечатками в качестве селективного покрытия в химических сенсорах предпочтительно проводить реакцию полимеризации непосредственно на поверхности сенсора и удалять темплат, не разрушая полимер. Одновременно с ПМО в идентичных условиях, но в отсутствие молекулы-шаблона, получали полимер сравнения (ПС). Подробная методика получения полимеров с молекулярными

отпечатками аминокислот и полимеров сравнения для них описана ранее [6, 7].

Было получено четыре пьезосенсора, модифицированные: полимером сравнения, полимером с молекулярным отпечатком валина (ПМО-Val), полимером с молекулярным отпечатком лейцина (ПМО-Leu) и полимером с молекулярным отпечатком изолейцина (ПМО-iLe).

Для построения градуировочного графика готовили стандартные растворы аминокислот из реактивов квалификации «ч.д.а.» в диапазоне концентраций: для валина –  $(11.7 - 10^{-5})$  г/л; лейцина –  $(13.1 - 10^{-5})$  г/л; изолейцина –  $(13.1 - 10^{-5})$  г/л растворением точной навески в дистиллированной воде.

Измерения выполняли, переходя от разбавленных растворов к более концентрированным. Аминокислоты определяли в статических условиях до установления равновесия.

Относительный сдвиг частоты  $\Delta f$  вычисляли по уравнению:

$$\Delta f = f_1 - f_2,$$

где  $f_1$  – частота колебания сенсора в холостой пробе, кГц,  $f_2$  – частота колебания сенсора в растворе, кГц.

Способность полимера с молекулярным отпечатком распознавать молекулу-шаблон оценивали с помощью импринтинг-фактора (IF):

$$IF = \frac{\Delta f_{\text{ПМО}}}{\Delta f_{\text{ПС}}},$$

где  $\Delta f_{\text{ПМО}}$  – сигнал пьезосенсора с молекулярным отпечатком по отношению к глицину, Гц;  $\Delta f_{\text{ПС}}$  – сигнал пьезосенсора с полимером сравнения по отношению к глицину, Гц.

Материалы на основе полиимидов обладают высокой термостойкостью при длительном температурном воздействии, высокой химической стойкостью при контакте с агрессивными средами и другими специфичными свойствами [8]. Как было показано ранее [9], морфология поверхности полимерного покрытия на поверхности пьезосенсора в процессе эксплуатации практически не меняется, что позволяет проводить до 30 измерительных циклов. По завершении эксперимента сенсор промывали дистиллированной водой и сушили в сушильном шкафу при 50 °С в течение 1 ч.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При синтезе полимера с молекулярным отпечатком возникают полости, комплементарные молекуле-шаблону по размеру, форме и расположению функциональных групп, поэтому важным свойством ПМО является способность распознавать аналит [4].

Полученные сенсоры использовали для определения аминокислот в препарате для питания спортсменов «ВСАА». Измерения проводили по-

следовательно. Вначале получали градуировочную зависимость для сенсора, модифицированного полимером с молекулярным отпечатком валина. Затем аналогично измеряли концентрации стандартных растворов аминокислоты для сенсора, модифицированного полимером сравнения. После этого записывали аналитический сигнал для водного раствора препарата «ВСАА». Градуировочный график для валина описывается уравнением прямой вида  $\Delta F = -0.0159x + 0.1318$ ,  $R^2 = 0.998$ . Экспериментально установленный предел обнаружения аминокислот в водных растворах составил  $10^{-5}$  г/л. Импринтинг фактор для сенсора, модифицированного ПМО-Val,  $IF = 3.2$ .

Процедуру повторяли, но уже с другим сенсором, модифицированным ПМО-Leu. Градуировочный график для лейцина описывается уравнением прямой вида  $\Delta F = -0.1332x + 1.0731$ ,  $R^2 = 0.994$ . Импринтинг фактор для сенсора с ПМО-Leu  $IF = 7.6$ .

В заключение проводили определение изолейцина сенсором, модифицированным ПМО-iLe. Градуировочный график для изолейцина описывается уравнением прямой вида  $\Delta F = -0.0873x + 0.7863$ ,  $R^2 = 0.999$ . Импринтинг фактор для сенсора с ПМО-iLe  $IF = 7.2$ .

Проверку правильности определения аминокислот валина, лейцина и изолейцина с помощью модифицированных пьезорезонансных сенсоров выполняли методом «введено – найдено» (таблица), а также методом бумажной хроматографии. Разность результатов определения аминокислот пьезорезонансным сенсором и методом бумажной хроматографии не превышала 15 %.

Установлено, что при анализе препарата «ВСАА», содержащего смесь аминокислот, модифицированный сенсор наиболее чувствителен к той аминокислоте, которая была шаблоном при получении селективного покрытия.

Проведенные исследования показали, что пьезосенсор на основе полимеров с молекулярными отпечатками применим для определения валина, лейцина, изолейцина в водных растворах и лекарственных препаратах. Кроме того, высокая термо- и химическая стойкость полимера позволяет использовать его для работы в агрессивных средах и при повышенных температурах [8].

*Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы Грант-00020/8/711/2012-1.2.1-12-000-1003-036.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Тенденции развития медицинской промышленности / В.И. Дорофеев и [др.]. // Фармацевтические производители. 2001. №4 (18). С. 172-175.
2. Кельнер Р., Мерме Ж.-М., Отто М., Видмер М. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: Пер. с англ. А.Г. Борзенко / [под ред. Ю.А. Золотова]. М.: Мир: АСТ, 2004. Т. 1. 743 с.
3. Эггинс Б.Р. Химические и биологические сенсоры: Пер. с англ. М.А. Слинкина / [под ред. Л. Ф. Соловейчика]. М.: Техносфера, 2005. 336 с.
4. Лисичкин Г.В., Крутяков Ю.А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение // Успехи химии. 2006. Т. 75, № 10. С. 998-1016.
5. Использование полимеров с молекулярными отпечатками в процессах разделения и концентрирования органических соединений / С.Г. Дмитриенко и [др.] // Ж. аналит. химии. 2004. Т. 59, № 9. С. 902-912.
6. Определение глицина в водных растворах пьезосенсором, модифицированным полимером с молекулярным отпечатком / А.Н. Зяблов

**Таблица**

Определение аминокислот в водных растворах с использованием пьезорезонансных сенсоров ( $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ): измерение концентрации каждой аминокислоты в модельных растворах и препарате «ВСАА» выполнено сенсором, модифицированным полимером с индивидуальным молекулярным отпечатком

Вещество	Концентрация аналита, г/л		$S_r$ , %	
	Введено	Найдено		
Валин	11.7	$10.71 \pm 0.07$	8.5	
	0.1	$0.094 \pm 0.003$	6.0	
	0.001	$0.00091 \pm 0.00004$	9.5	
Лейцин	1.3	$1.22 \pm 0.02$	6.3	
	0.1	$0.097 \pm 0.004$	3.4	
	0.01	$0.0093 \pm 0.0003$	6.8	
Изолейцин	1.3	$1.18 \pm 0.05$	9.2	
	0.1	$0.093 \pm 0.005$	7.3	
	0.01	$0.0095 \pm 0.0004$	5.5	
Препарат «ВСАА»	Валин	$5.9$	$5.35 \pm 0.06$	8.6
	Лейцин	$13.1$	$12.41 \pm 0.04$	5.3
	Изолейцин	$6.6$	$6.96 \pm 0.05$	6.3

и [др.] // Ж. аналит. химии. 2010. Т. 65, № 1. С. 93-95.

7. Полимеры с молекулярными отпечатками для пьезокварцевых сенсоров. Сообщение 1. Анализ лекарственных препаратов, содержащих глицин / Ю.А. Жиброва и [др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т. 8. Вып. 4. С. 686-688.

8. Полиимиды – класс термостойких полимеров / М.И. Бессонов и [др.]. Л.: Наука, 1983. 328 с.

9. Зяблов А.Н. Анализ морфологии поверхности молекулярно-импринтированных полимеров // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып.1. С.172-175.

## DETECTION OF AMINOACIDS IN PREPARATION «BCAA» PIEZOQUARTZ SENSORS, MODIFIED MOLECULAR IMPRINTING POLYMERS

*A.N. Zyablov, T.S. Monicheva, V.F. Selemenev*

*Voronezh State University  
393006, Voronezh, Universitetskaya pl., 1  
alex-n-z@yandex.ru*

A definition of aminoacids valine, leucine and isoleucine in aqueous solutions and in the preparation «BCAA» piezosensors, modified polymers with molecular imprints is offered. The ability of the modified piezoquartz sensors to reorganization of aminoacids in the preparation is appreciated.

**Keywords:** aminoacids, BCAA, molecular imprinting polymers, piezoquartz sensors.