



УДК 543. 25

ХЕМОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ПЛС В ОБРАБОТКЕ ТИТРИМЕТРИЧЕСКИХ ДАННЫХ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЛИЗИНА И АРГИНИНА В СМЕШАННЫХ РАСТВОРАХ

Ю. Б. Монахова, Р. К. Чернова, О. В. Варыгина



Монахова Юлия Борисовна, ведущий научный сотрудник кафедры общей и неорганической химии, Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: yul-monakhova@mail.ru

Чернова Римма Кузьминична – начальник отдела наноаналитики, Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор химических наук. E-mail: chernov-ia@yandex.ru

Варыгина Ольга Владимировна – инженер кафедры аналитической химии и химической экологии, Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: varigini@mail.ru

Рассмотрены процессы гидролиза аргинина и лизина в водных средах. Проведено автоматическое рН-титрование 24 бинарных смесей аргинина и лизина (0,002 М) 0,05 М раствором HCl со стеклянным индикаторным электродом. Применен хемометрический метод ПЛС для обработки кривых титрования смешанных растворов аргинина и лизина. Показана возможность отдельного определения аргинина и лизина в проверочных наборах со средней квадратичной ошибкой предсказания (RMSEP) соответственно $9,1 \times 10^{-4}$ М и $9,8 \times 10^{-4}$ М.

Ключевые слова: аргинин, лизин, протолитические свойства, рН-метрическое титрование, хемометрика, ПЛС.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-280-285

Аргинин (2-амино-5-гуанидинпентановая кислота) – условно-незаменимая α -аминокислота, является одним из ключевых метаболитов в процессах азотистого обмена.

L-аргинин входит в состав пептидов и белков, особенно высоко его содержание (до 85%) в основных белках – гистонах и протаминах. Высокая основность аргинина и соответственно способность образовывать ионные связи с фосфатны-

ми группами ДНК обуславливают образование нуклеопротеидов-комплексов: гистон – ДНК – хроматина и протамин – ДНК – гетерохроматина сперматозоидов.

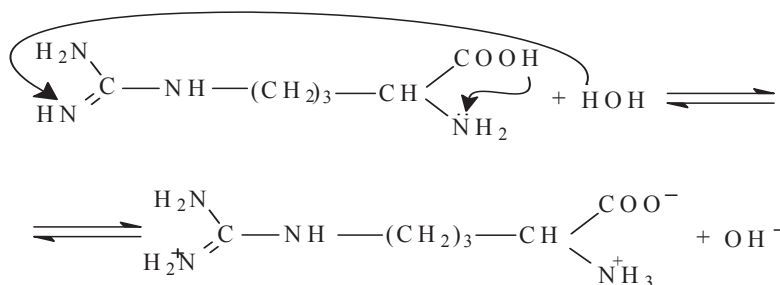
Лизин также – основная незаменимая α -аминокислота, входящая в состав практически любых белков, необходима для роста, восстановления тканей, антител, гормонов, ферментов, альбуминов. Лизин оказывает противовирусное действие, особенно в отношении вирусов, вызывающих герпес и острые респираторные инфекции, участвует в формировании коллагена и восстановлении тканей. Данная аминокислота улучшает усвоение кальция из крови и транспорт его в костную ткань, поэтому он может быть неотъемлемой частью программы лечения и профилактики остеопороза.

Аргинин и лизин известны как диагностические факторы, лизин применяют в восстановительный период после операций и спортивных травм, в лечебном питании, при изготовлении лекарственных средств в фармацевтике.

Для отдельного определения данных аминокислот в смешанных растворах применимы современные хроматографические, капиллярно-электрофоретические и другие сравнительно сложные и редко применяемые в рядовых клинических и фармацевтических лабораториях методы анализа. Востребованы более доступные тестовые методы, одним из которых может являться рН-титриметрическое определение со стандартным стеклянным индикаторным электродом.

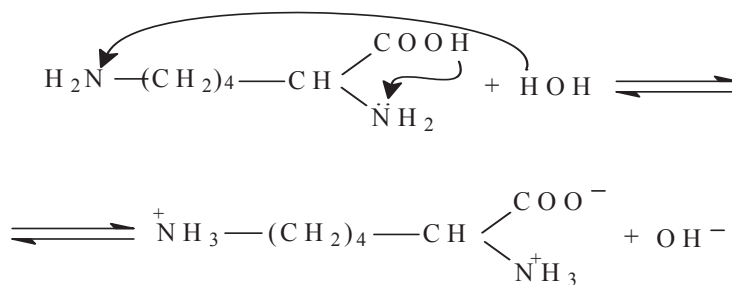
При растворении в воде гистидин, аргинин и лизин подвергаются протолиту, который согласно теории Бренстеда–Лоури может быть представлен схемами:

Аргинин





Лизин



Метод основан на титровании выделяющихся ионов гидроксила при гидролизе водных растворов аргинина и лизина.

Как видно из приведенных реакций, следствием гидролиза кислот является изменение рН 0,01 М водных растворов аргинина (11,08) и лизина (10,30). Значения рК диссоциации для протонированной гуанидиниевой группы аргинина и ξ -аминогруппы лизина составляют соответственно 12,48 и 10,54 [1]. В работе [1] показана возможность рН-потенциометрического определения аргинина в интервале концентраций 0,005–0,04 моль/л с погрешностью до 6%. Аналогично можно определить и концентрацию лизина в его водных растворах. Однако при совместном присутствии, в смешанных растворах аргинина и лизина, рН потенциометрическим титрованием раздельное определение этих аминокислот не представляется возможным, в связи с отсутствием выраженных скачков титрования для каждой из указанных аминокислот. Учитывая это для разделения сигналов лизина и аргинина в их смешанных растворах, нами был применен хемометрический метод в варианте ПЛС.

Хемометрические методы широко используются в аналитической практике для моделирования спектрометрических сигналов различной природы. Неоднократно установлено, что многомерный подход позволяет существенно расширить возможности спектрометрических методов анализа относительно установления «спрятанной» в спектрах информации (место производства, подлинность маркировки, тип продукта питания), а также количественного анализа смесей соединений в случае сильного перекрытия сигналов или невозможности непосредственного наблюдения откликов аналитов [2–5].

Анализу кривых потенциометрического титрования с использованием многомерных подходов посвящено небольшое количество работ. Так, в работе [6] показано, что на основе хемометрического моделирования данных потен-

циометрических кривых титрования возможно одновременное определение кислот, у которых значения рК отличаются на 0,5–1 единицы. Методика апробирована на смесях муравьиная–уксусная кислота в диапазоне концентраций 0–3 ммоль с погрешностью, не превышающей 0,05 ммоль.

В другом исследовании кислотно-основное титрование со спектрофотометрическим детектированием применено для анализа смесей слабых кислот: в качестве титранта выбрана смесь гидроксида натрия и кислотно-основного индикатора. Хемометрический алгоритм «регрессия на главные компоненты» (РГК) применен для моделирования спектров поглощения системы в зависимости от объема титранта; предложенный подход использован для анализа смесей бензойной и салициловой кислот, а также смесей фенола, о-хлорфенола и п-хлорфенола с удовлетворительными результатами [7].

При использовании сочетания титрования со спектрофотометрическим детектированием и метода чередующихся наименьших квадратов (MCR-ALS) была разработана методика определения общей кислотности в растительных маслах и биодизельном топливе. Основой подхода явилось моделирование спектров поглощения кислотно-основного индикатора ализарина, изменяющихся при введении в реактор свободных жирных кислот, содержащихся в объекте исследования [8].

В работе [9] сравнивается эффективность методов проекции на латентные структуры (ПЛС) и нейронных сетей для одновременного определения пищевых добавок – ванилина, ванилиновой кислоты и сиреневого альдегида в двух- и трехкомпонентных смесях, а также образцах воды по их спектрам поглощения. Предел обнаружения составил 0,12–0,15 мг/мл. Значения констант диссоциации аналитов были определены методом чередующихся наименьших квадратов [9].

В настоящей работе изучена возможность использования хемометрического метода про-



екции на латентные структуры для определения лизина и аргинина в бинарных смесях по кривым рН-метрического титрования.

Материалы и методы

При выполнении работы применяли следующие реагенты и их растворы:

1) α -аминокислоты:

L-Histidine, 98%, Acros Organics USA, $M_r = 155,2$. Для приготовления 100мл (0,05M) раствора гистидина растворяли навеску препарата (0,7758 г) в дистиллированной воде;

L-Arginine, 98%, Acros Organics USA, $M_r = 174,2$. Для приготовления 100 мл (0,05 M) раствора аргинина растворяли навеску препарата (0,8710 г) в дистиллированной воде;

2) для приготовления 1000 мл (0,1 M) рас-

твора соляной кислоты растворяли стандарт-титр в дистиллированной воде;

3) для титрования применяли титратор потенциометрический автоматический АПТ-2 (Аквилон). Индикаторный электрод – стеклянный (ЭСЛ-63-07), электрод сравнения – хлорид-серебряный.

Исследованы 24 бинарные смеси лизин–аргинин. Автоматические измерения проводили при введении 0.0005–12 мл 1M растворов HCl с шагом 0.05 мл. Матрица титриметрических данных для хемометрического анализа имела размерность 24×2682. Второй блок данных представлял собой молярные концентрации аргинина и лизина размером 2×24 соответственно. Содержание обеих аминокислот в модельных смесях приведено в табл. 1.

Таблица 1

Содержание аргинина и лизина в модельных смесях

№ смеси	Аргинин, М	Лизин, М	№ смеси	Аргинин, М	Лизин, М
1	0,0125	0	13	0,006	0,0065
2	0,012	0,0005	14	0,005	0,0075
3	0,0115	0,001	15	0,0045	0,008
4	0,0105	0,002	16	0,004	0,0085
5	0,01	0,0025	17	0,0035	0,009
6	0,0095	0,003	18	0,003	0,0095
7	0,009	0,0035	19	0,0025	0,01
8	0,0085	0,004	20	0,002	0,0105
9	0,008	0,0045	21	0,0015	0,011
10	0,0075	0,005	22	0,001	0,0115
11	0,007	0,0055	23	0,0005	0,012
12	0,0065	0,006	24	0	0,125

Результаты и их обсуждение

Кривые титрования указанных бинарных смесей представлены на рис.1. Очевидно, что в данных условиях построить классические модели одномерной градуировки не представляется возможным в силу нечетко выраженных точек перегиба для обеих аминокислот. В работе использован альтернативный подход – многомерная градуировка с применением метода ПЛС.

Модели ПЛС были построены для каждой из аминокислот в отдельности. В качестве примера на рис. 2 представлен график «введено–найдено» при определении аргинина и использовании полной перекрестной проверки. Точность многомерной градуировки принято характеризовать величиной RMSEC (среднеквадратичная ошибка градуировки) и коэффициента корреляции R^2 . В данном случае для аргинина $RMSEC = 4 \times 10^{-4}M$,

$R^2 = 0,98$ (см. рис. 2). Аналогичные результаты были получены для лизина ($R^2 = 0,98$, $RMSEC = 4 \times 10^{-4}M$) (рис. 3).

Очевидно, что построенные нами ПЛС модели нуждаются в полноценной проверке. Для этого был выбран метод тест-валидации. Все образцы разделены случайным образом на обучающий (19 образцов) и проверочный (5 образцов) наборы данных.

Разбиение на обучающий и проверочный наборы проводили случайным образом десять раз. Обучающие наборы образцов использовали для построения ПЛС моделей с помощью которых проводили анализ «новых» смесей. Полная перекрестная проверка применена для уменьшенных обучающих наборов для проверки оптимального числа значимых латентных переменных. При этом число латентных переменных

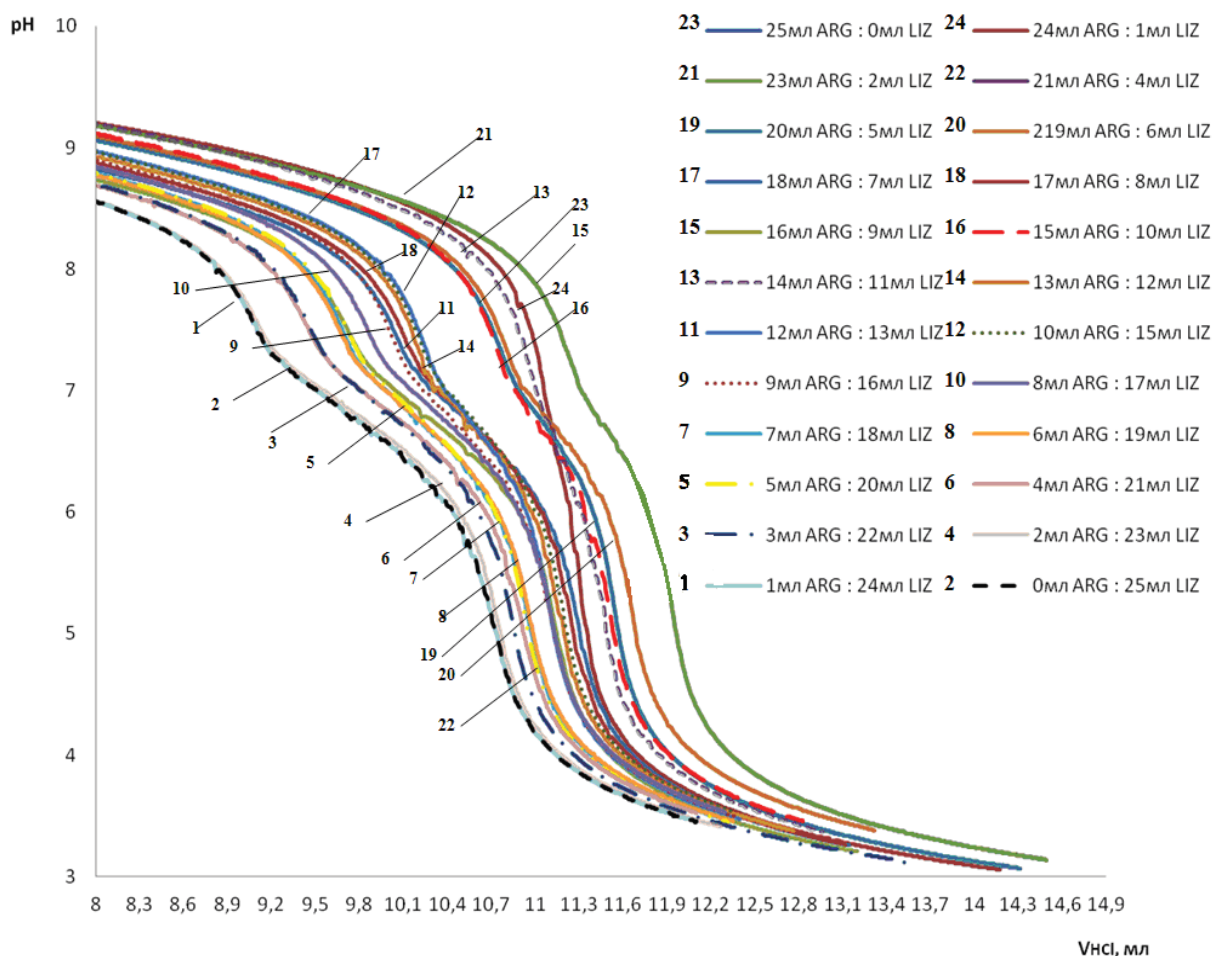


Рис. 1. Кривые титрования смесей аргинина и лизина

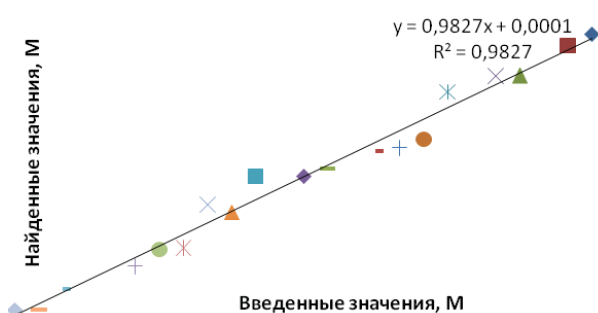


Рис. 2. График зависимости «введено–найдено» для аргинина

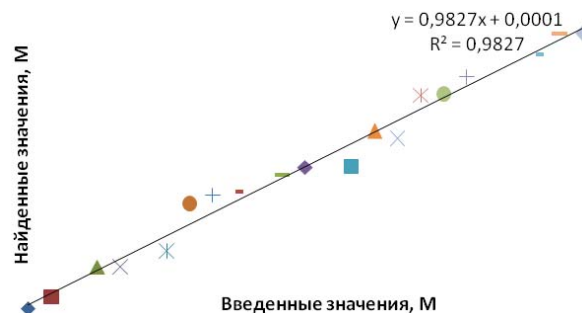


Рис. 3. График зависимости «введено–найдено» для лизина

(ПЛС факторов) в уменьшенных наборах данных совпадало с их числом для полных моделей, что свидетельствует об их репрезентативности. Оптимальное число ПЛС факторов соответствовало семи для полных и обучающих наборов данных для обоих аналитов.

В табл. 2 представлены результаты количественного определения аргинина и лизина в бинарных смесях из одного проверочного набо-

ра. Средняя квадратичная ошибка предсказания (RMSEP) составила $9,1 \times 10^{-4} \text{M}$ и $9,8 \times 10^{-4} \text{M}$ для аргинина и лизина соответственно.

Таким образом, нами показано, что хемометрический метод ПЛС может быть использован для совместного определения лизина и аргинина на основании моделирования кривых титрования их смесей. Для количественного анализа реальных объектов необходимо использование кали-



Таблица 2

Молярные концентрации аргинина и лизина в проверочном наборе

Аргинин, М		RMSEP	Лизин, М		RMSEP
Введено	Найдено		Введено	Найдено	
0,0125	0,0116	9,8×10 ⁻⁴ М	0	0	9,1×10 ⁻⁴ М
0,0095	0,0088		0,0030	0,0036	
0,0070	0,0078		0,0055	0,0037	
0,0020	0,0023		0,0105	0,0101	
0,0015	0,0015		0,0110	0,0110	

бровочных смесей, содержащих большее число компонентов. Однако, имея в виду хорошую точность предсказания, полученную для проверочных наборов, метод может быть перспективен для эффективного контроля за содержанием аминокислот в объектах сложного состава.

Авторы приносят благодарность профессору С. П. Муштаковой за консультации и помощь при выполнении данной работы.

Список литературы

1. Чернова Р. К., Варыгина О. В., Березкина Н. С. Избирательное определение гистидина в смешанных растворах α -аминокислот // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 4. С. 10–15.
2. Monakhova Yu. B., Astakhov S. A., Kraskov A. V., Mush-takova S. P. Independent components in spectroscopic analysis of complex mixtures // Chemom. Intell. Lab. Syst. 2010. Vol. 103, № 3. P. 108–115.
3. Монахова Ю. Б., Астахов С. А., Муштакова С. П., Грибов Л. А. Методы декомпозиции спектров различной природы в анализе смесей сложного состава // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66, № 4. С. 361–372.
4. Монахова Ю. Б., Цикин А. М., Муштакова С. П. Метод независимых компонент как альтернатива методу главных компонент и дискриминантным алгоритмам в обработке спектрометрических данных // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 9. С. 925–932.
5. Монахова Ю. Б., Кубална Т., Лахенмайер Д. В. Хемометрические методы в ЯМР-спектроскопическом анализе пищевых продуктов // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68, № 9. С. 837–849.
6. Moisio T., Heikonen M. A simple method for the titration of multicomponent acid-base mixtures // Anal. Bioanal. Chem. 1996. Jan. Vol. 354(3). P. 271–278.
7. Liao L., Yang J., Yuan J. Process monitored spectrophotometric titration coupled with chemometries for simultaneous determination of mixtures of weak acids // Anal. Chim. Acta. 2007. Vol. 591 (1). P. 123–154.
8. Rio V. del, Larrechi M. S., Callao M. P. Sequential injection titration method using second-order sialars: deter-

mination of acidity in plant oils and biodiesel samples // Talanta. 2010. Vol. 81. P. 1572–1579.

9. Rasouli Z., Ghavami R. Investigating the discrimination potential of linear and nonlinear spectral multivariate calibrations for analysis of phenolic compounds in their binary and ternary mixtures and calculation pKa values // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2016. Vol. 165. P. 191–200.

Chemometric Method of PLS in the Treatment of Titrimetric Data when Opredeleniye of Arginine and Lysine in Mixed Solutions**Yu. B. Monakhova, R. K. Chernova, O. V. Varigina**

Yuliya B. Monakhova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, yul-monakhova@mail.ru

Rimma K. Chernova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, chernov-ia@yandex.ru

Ol'ga V. Varigina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, varigini@mail.ru

Arginine and lysine are the most important α -amino acids that are part of many proteins, which play an important role in the processes of nitrogen metabolism, growth and restoration of body tissues. It is used in medical nutrition in the postoperative recovery period, as well as as diagnostic factors. The simple express methods of separately determining the main α -amino acids of arginine and lysine in their mixed solutions are in demand. In this paper, the possibility of using the chemometric projection method for latent structures to determine lysine and arginine in binary mixtures from the pH-metric titration curves has been studied. 24 binary lysine-arginine mixtures with a titrimetric data matrix for chemometric analysis of 24×2682 were investigated. The second data block was the molar concentrations of arginine and lysine, 2×24 , respectively. An alternative approach was used in the work – multidimensional calibration was constructed by the method of FL. The PL models were constructed for each of the amino acids separately. The root-mean-square error of the RMSEC calibration and the correlation coefficient R2 for arginine were RMSEC = 4×10^{-4} М, R2 = 0.98, for lysine R2 = 0.98, RMSEC 4×10^{-4} М. The test was carried out by the test-validation method. All samples are randomly divided into a training set (19 samples) and a test (5 samples) data sets. The breakdown into the training and test kits was randomly performed ten times. Training sets of samples were used to construct the PLS models with



the help of which the analysis of "new" mixtures was carried out. A full cross-validation is applied for reduced training sets to test the optimal number of significant latent variables. In this case, the number of latent variables (PLS factors) in reduced data sets coincided with their number for complete models, which indicates their representativeness. The optimal number of factor PLs corresponded to seven for complete and training data sets for both analytes. The mean square prediction error (RMSEP) was 9.1×10^{-4} M and

9.8×10^{-4} M for arginine and lysine, respectively. It is shown that the chemometric method of PLS can be used for the separate determination of lysine and arginine in the joint presence on the basis of modeling the titration curves of their mixtures. Quantitative analysis of real objects requires the use of calibration mixtures containing a greater number of components

Key words: arginine, lysine, protolytic properties, pH-metric titration, chemometrics, PLS.

Образец для цитирования:

Монахова Ю. Б., Чернова Р. К., Варыгина О. В. Хемометрический метод ПЛС в обработке титриметрических данных при определении лизина и аргинина в смешанных растворах // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 280–285. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-280-285.

Cite this article as:

Monakhova Yu. B., Chernova R. K., Varigina O. V. Chemometric Method of PLS in the Treatment of Titrimetric Data when Opredeleniye of Arginine and Lysine in Mixed Solutions. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 280–285 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-280-285.
