

*А.А. Новиков, Е.А. Куркалова*  
**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НИНГИДРИНОВОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ  
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТА-АЛАНИНА**

*Научный руководитель: ст. преп. Л.Э. Зайтуллаева*  
*Кафедра биоорганической химии*  
*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*A.A. Novikov, E.A. Kirkalova*  
**USAGE OF THE NINHYDRIN REACTION FOR THE QUANTITATIVE  
DETERMINATION OF BETA-ALANINE**

*Tutor: senior lecturer L.E. Zaitullaeva*  
*Department of Bioorganic Chemistry*  
*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Изучена возможность проведения нингидриновой реакции для количественного определения бета-аланина, а также установлена зависимость протекания реакции от времени нагревания реакционной смеси, стехиометрических соотношений реагентов и времени от проведения реакции до начала измерений.

**Ключевые слова:** Бета-аланин, абсорбционная спектрофотометрия, нингидриновая реакция, количественный анализ.

**Resume.** The possibility of conducting a ninhydrin reaction for the quantitative determination of beta-alanine has been studied, and the dependence of the reaction on the heating time of the reaction mixture, stoichiometric ratios of reagents and the time from the reaction to the start of measurements has been established.

**Keywords:** Beta-alanine, absorption spectrophotometry, ninhydrin reaction, quantitative analysis.

**Актуальность.** Аминокислота бета-аланин находит широкое применение у производителей биологически активных добавок и иных специализированных пищевых продуктов. Особая роль бета-аланина заключается в том, что в организме он метаболизируется в карнозин, который способствует утилизации молочной кислоты и, следовательно, повышает выносливость мышечной ткани. Карнозин представляет собой распространенный гистидинсодержащий дипептид в скелетных мышцах человека, образованный бета-аланином и L-гистидином [4]. Количественное определение бета-аланина в составе пищевых добавок проводят с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии [1]. Для проведения таких анализов необходимо дорогостоящее высокотехнологичное оборудование, а сам процесс является трудоемким и требует специфических реактивов. Абсорбционная спектрофотометрия в видимой области является более простым и не менее точным методом анализа.

**Цель:** изучение возможности проведения нингидриновой реакции для количественного определения бета-аланина.

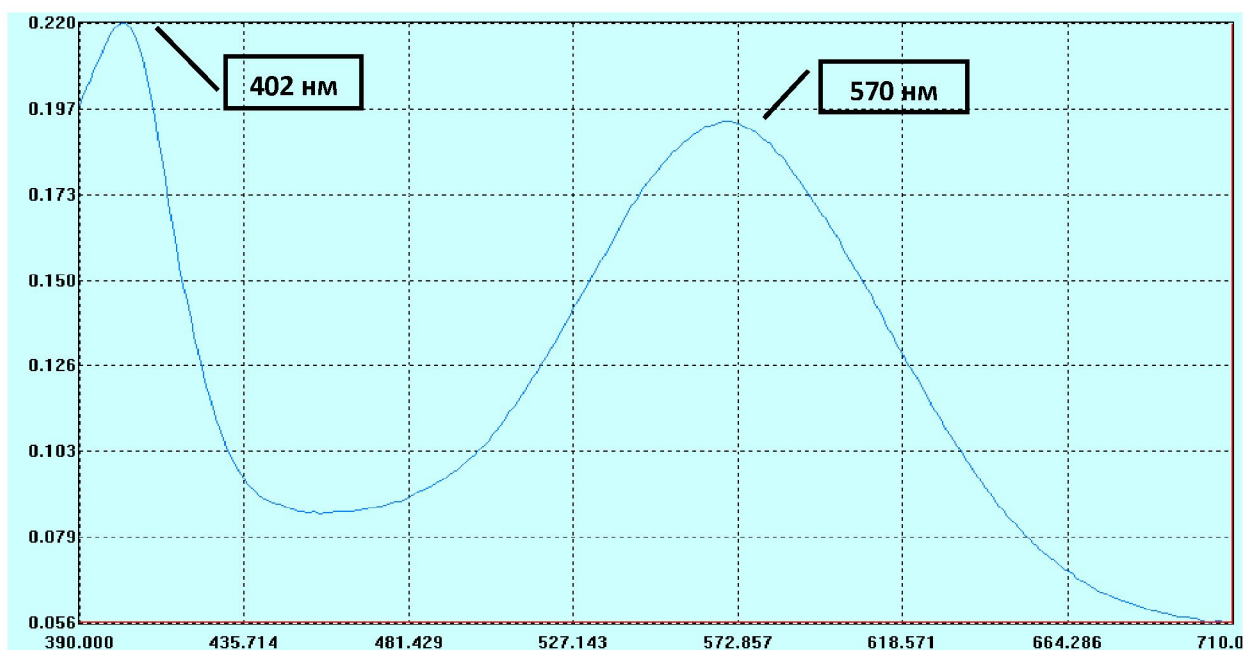
**Задачи:**

1. Оценить возможность проведения нингидриновой реакции для количественного определения бета-аланина.
2. Определить оптимальные условия для проведения количественного анализа бета-аланина методом абсорбционной спектрофотометрии.

**Материал и методы.** Объектом исследования выступил бета-аланин квалификации «х.ч.», реагентом – нингидрин квалификации «х.ч.». Для проведения реакции и определения оптической плотности продуктов было использовано оборудование: спектрофотометр «SOLAR» РВ 2201, водяная баня с микропроцессорным контролем WB-12, лабораторные аналитические весы OHAUS EX125D, мерная стеклянная посуда 2 класса точности.

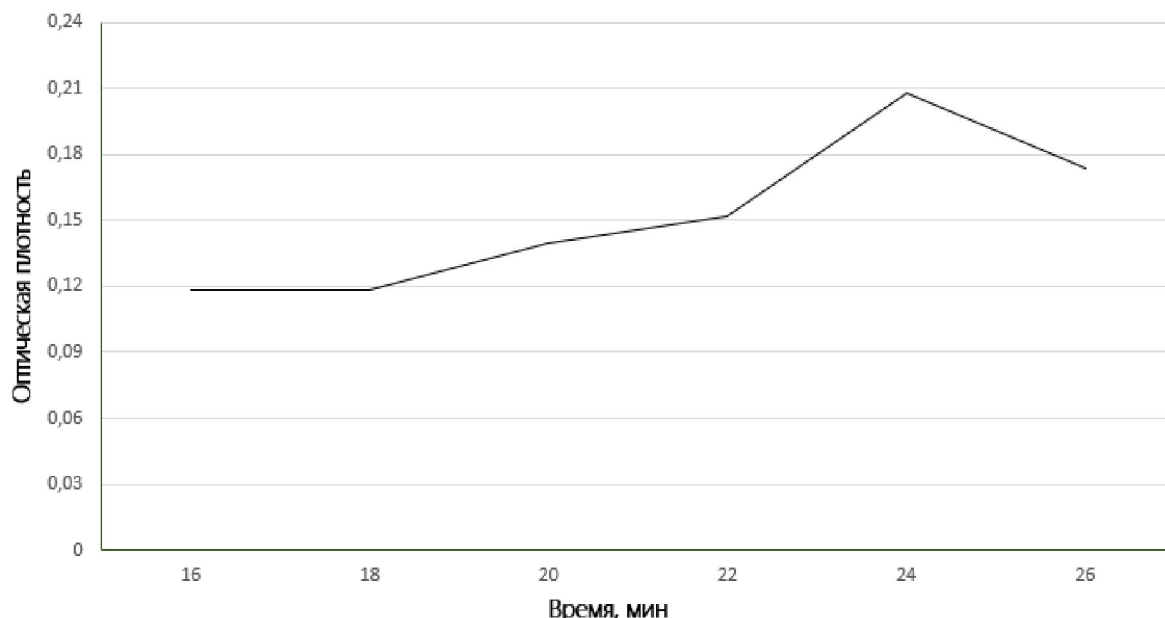
Подбор условий для проведения количественного определения бета-аланина заключался в следующем: аликвоту раствора бета-аланина с концентрацией 8 мг/мл помещали в пробирку, добавляли аликвоту 0,2% раствора нингидрина, перемешивали и ставили на водяную баню. После охлаждения полученного окрашенного раствора, его количественно переносили в мерную колбу, доводили до метки дистиллированной водой и измеряли оптическую плотность в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см [2, 3].

**Результаты и их обсуждение.** В ходе работы было установлено, что спектр поглощения продукта взаимодействия бета-аланина с нингидрином в диапазоне 380-700 нм имеет две полосы поглощения: при 402 нм и 570 нм. Полоса поглощения с более высокой интенсивностью в области максимума 402 нм была выбрана для анализа (график 1).



**Граф. 1** – Спектр поглощения продукта взаимодействия бета-аланина с нингидрином

Исследована зависимость оптической плотности продукта реакции от времени нагревания реакционной смеси на кипящей водяной бане. Постоянные и наибольшие значения оптической плотности растворов были при нагревании в течении 24 минут (график 2).



**Граф. 2** – Зависимость оптической плотности от времени нагревания реакционной смеси

Оптимальным соотношением компонентов реакции было выбрано соотношение 3 мл 0,2% раствора нингидрина и 3 мл 8 мг/мл раствора бета-аланина, что может быть использовано при разработке методики количественного определения бета-аланина (таблица 1).

**Табл. 1.** Влияние соотношения компонентов на величину оптической плотности.

|   |                            | № раствора |        |        |        |        |
|---|----------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|
|   |                            | 1          | 2      | 3      | 4      | 5      |
| Соотношение компонентов реакционной смеси   | $\beta$ -Ala 8,0 мг/мл, мл | 3,0        | 3,0    | 3,0    | 3,0    | 3,0    |
|   | Нингидрин 0,2 %, мл        | 2,0        | 2,5    | 3,0    | 4,0    | 5,0    |
| Оптическая плотность продукта реакции при разбавлении реакционной смеси до 100 мл |                            | 0,1666     | 0,1848 | 0,1895 | 0,1705 | 0,1685 |

Измерение оптической плотности окрашенных растворов необходимо выполнять в течение часа после проведения реакции. (таблица 2).

**Табл. 2.** Влияние времени после проведения реакции на величину оптической плотности.

| Время после окончания реакции, мин | 10     | 20     | 30     | 40     | 50     | 60     | 70     | 80     | 90     | 100    |
|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Оптическая плотность               | 0,1732 | 0,1727 | 0,1721 | 0,1720 | 0,1709 | 0,1702 | 0,1687 | 0,1652 | 0,1637 | 0,1598 |

**Выводы:** в ходе проведенной работы было изучено несколько аспектов проведения нингидриновой реакции для количественного определения бета-аланина.

Определены основные факторы, влияющие на проведение реакции:

1. оптимальным соотношением реагентов являются растворы бета-аланина 8,0 мг/мл, 3мл и нингидрина 0,2 %, 3мл.
2. наилучшее время нагревания реакционной смеси составило 24 минуты
3. проведение анализа продуктов реакции необходимо осуществлять в течении часа после проведения реакции.

Полученные сведения могут быть использованы для разработки методики количественного определения бета-аланина в пищевых добавках.

#### Литература

1. Jeffrey H. Baxter, Paul W. Johns Determination of Free Arginine, Glutamine, and  $\beta$ -alanine in Nutritional Products and Dietary Supplements / Jeffrey H. Baxter, Paul W. Johns // Springer Science – 2011. – С. 10-12.
2. Жерносек А. К., Парфенюк С. А. Разработка методик идентификации и количественного определения глицина в таблетках // А. К. Жерносек, С. А. Парфенюк // Наука – образованию, производству, экономике: материалы XVII (64) Региональной науч.-практ. конф. в 2 т. – Витебск, 2012. – С. 98-100.
3. Portna K. P., Vasyuk S. O.  $\beta$ -alanine spectrophotometric determination in reaction with sodium salt of 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid / K. P. Portna, S. O. Vasyuk // Запорожский медицинский журнал – 2015. – №1 (88). – С. 95-98.
4. Frontiers in nutrition [Электронный ресурс] : Can the Skeletal Muscle Carnosine Response to Beta-Alanine Supplementation Be Optimized? / Perim P., Marticorena F.M., Ribeiro F.– Appalachian State University, 2019. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00135> (дата обращения: 15.03.2022).