

Рекомендована д. фармац. наук, проф. С. М. Марчишин

УДК 547.466 : 612.392.2 : 581.48

ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТА ВМІСТУ ЗАГАЛЬНОГО АЗОТУ В НАСІННІ *SCORZONERA HISPANICA* L.

©П. В. Липовецький, М. Ф. Ткаченко

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: вивчено вміст та склад вільних та зв'язаних амінокислот і вміст загального азоту в насінні *Scorzonera hispanica*.

Ключові слова: амінокислоти, азот, насіння, *Scorzonera hispanica*.

Вступ. До актуальних завдань сучасності належить розробка лікарських препаратів на основі натуральної рослинної сировини. Однією з перспективних культур є інулінвмісна рослина скорцонера іспанська *Scorzonera hispanica* L. – багаторічна трав'яниста рослина род. айстрові *Asteraceae*, яка в незначних кількостях вирощується в Америці і ряді європейських країн [1]. Сьогодні с. іспанська не вивчається і майже не культивується в Україні, відсутні також лікарські препарати на її основі [1, 2].

Найбільш відомим і вивченим видом сировини скорцонери іспанської є коренеплід [1]. В літературних джерелах ми не знайшли відомостей щодо хімічного складу генеративних органів цієї рослини.

Метою роботи було дослідження якісного та кількісного вмісту амінокислот і загального азоту в насінні скорцонери іспанської.

Методи дослідження Об'єктом дослідження було насіння скорцонери іспанської врожаю 2011 р.

Дослідження проводили загальноприйнятими методиками. При проведенні аналізу амінокислот застосовували паперову хроматографію: низхідну, висхідно-низхідну, одномірну та двомірну і тонкошарову хроматографію. При застосуванні паперової хроматографії використовували такі системи розчинників: н-бутанол : піридин : вода (1:1:1); н-бутанол : піридин : кислота оцтова : вода (5:10:3:12); бутанол : вода : мурашина кислота (14:3:3 та 139:59:2); бутанол : кислота оцтова : вода (4:1:2) [3, 4].

Водний витяг концентрували до густого залишку, розчиняли у невеликій кількості води і аналізували [3, 4]. Як стандартні зразки використовували розчини амінокислот у 0,1 н розчині кислоти хлористоводневої. Для виявлення амінокислот хроматограми обробляли 0,25% розчином нінгідрину в ацетоні, який містив 5 % піридину. Хроматограми витримували у вологій

камері, а потім у темряві. Плями амінокислот набували забарвлення, для фіксації якого використовували розчин нітрату міді в етанолі, при цьому забарвлення плям змінювалось від синіх кольорів до червоних і набувало більшої стабільності [3–6].

Повний, якісний та кількісний амінокислотний аналіз проводили на амінокислотному аналізаторі LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеція) у випробувальному центрі Інституту тваринництва НААН України. Аналіз амінокислотного складу зв'язаних амінокислот включав повний гідроліз білка, що міститься у досліджуваній сировині, і кількісне визначення амінокислот у гідролізаті [9, 10]. Наважку сировини подрібнювали, гідролізували з кислотою хлористоводневою в термостаті при t 110 °C протягом доби. Після проходження гідролізу кислоту випаровували на водяній бані та розміщували пробу в ексікаторі з NaOH для остаточної нейтралізації. Додавали буферний розчин з рН 2,2 і фільтрували. Пробу вводили в капсулу і поміщали в магазин автоматичного вводу проб, звідкіля проба потрапляла на колонку з катіонобмінною смолою. Через колонку пропускали буферні розчини, які мали різні значення рН і різну іонну силу. При цьому проходило розділення амінокислот. Елюат, що виходив із колонки, змішувався з нінгідрином, які поступали до фотометра, де вимірювалась кількість поглинутого світла. Концентрацію амінокислот реєстрували у вигляді піків. Час утримання піка характеризує кожну амінокислоту, а площа піка вказує на її кількість. Для порівняння результатів проводили аналіз стандартної суміші амінокислот.

Вміст загального азоту визначали методом К'ельдаля [7, 8]. Вміст сирого протеїну визначали згідно з ДСТУ ISO 5983-2003 [11].

Результати й обговорення Результати дослідження якісного хроматографічного аналізу амінокислотного складу насіння скорцонери іспанської наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Якісний хроматографічний аналіз амінокислотного складу насіння скорцонери іспанської

| Амінокислота | Формула амінокислоти | Величина Rf у системі розчинників бутанол : кислота оцтова : вода (4:1:2) |
|------------------------|----------------------|--|
| замінні амінокислоти | | |
| Аланін | $C_4H_8O_2N$ | 0,20 |
| Аспарагінова кислота | $C_4H_8O_2N$ | 0,09 |
| Гістидин | $C_6H_9O_2N$ | 0,10 |
| Глутамінова кислота | $C_5H_9O_2N$ | 0,13 |
| Гліцин | $C_2H_5O_2N$ | 0,21 |
| Серин | $C_3H_4O_2N$ | 0,15 |
| незамінні амінокислоти | | |
| Аргінін | $C_6H_{13}O_2N$ | 0,04 |
| Валін | $C_5H_{11}O_2N$ | 0,43 |
| Ізолейцин | $C_6H_{13}O_2N$ | 0,72 |
| Лейцин | $C_6H_{13}O_2N$ | 0,64 |
| Лізин | $C_6H_{13}O_2N$ | 0,05 |
| Треонін | $C_4H_9O_2N$ | 0,18 |
| Фенілаланін | $C_9H_{11}O_2N$ | 0,32 |

Результати вивчення якісного і кількісного амінокислотного складу насіння скорцонери, проведеного за допомогою амінокислотного аналізатора, представлено в таблиці 2. Хроматографічний аналіз і аналіз, проведений за допомогою амінокислотного аналізатора, виявили наявність 17 амінокислот. Замінні амінокислоти представлені аланіном, аспарагіновою кислотою, гістидином, глутаміновою кислотою, гліцином, проліном, серином, тирозином і цистеїном. Не-

замінні амінокислоти представлені аргініном, валіном, ізолейцином, лейцином, лізином, метіоніном, треоніном, фенілаланіном. У насінні скорцонери іспанської у кількісному відношенні переважали серед замінних амінокислот – глутамінова кислота і аспарагінова кислота, серед незамінних амінокислот – треонін і валін. Найменшу кількість серед замінних амінокислот спостерігали для цистеїну, серед незамінних амінокислот – для ізолейцину і метіоніну.

Таблиця 2. Якісний і кількісний амінокислотний склад насіння скорцонери іспанської

| Амінокислота | Формула амінокислоти | Вміст вільних амінокислот, мкМ/100 г | Вміст вільних амінокислот, мг/100 мг (ваг,%) | Вміст зв'язаних амінокислот, мкМ/100 г |
|------------------------|----------------------|--------------------------------------|--|--|
| замінні амінокислоти | | | | |
| Аланін | $C_4H_8O_2N$ | 3,25 | 0,29 | 1,0 |
| Аспарагінова кислота | $C_4H_8O_2N$ | 0,83 | 0,11 | 3,4 |
| Гістидин | $C_6H_9O_2N$ | 0,52 | 0,08 | 0,5 |
| Глутамінова кислота | $C_5H_9O_2N$ | 0,61 | 0,09 | 3,8 |
| Гліцин | $C_2H_5O_2N$ | 0,27 | 0,02 | 1,0 |
| Пролін | $C_5H_9NO_2$ | - | - | 1,0 |
| Серин | $C_3H_4O_2N$ | 0,76 | 0,08 | 1,0 |
| Тирозин | $C_9H_{11}O_3N$ | 0,17 | 0,03 | 1,4 |
| Цистеїн | $C_3H_7NO_2S$ | 2,00 | 0,12 | сліди |
| незамінні амінокислоти | | | | |
| Аргінін | $C_6H_{13}O_2N$ | 0,86 | 0,18 | 0,45 |
| Валін | $C_5H_{11}O_2N$ | 1,37 | 0,16 | 1,1 |
| Ізолейцин | $C_6H_{13}O_2N$ | 1,37 | 0,18 | 0,5 |
| Лейцин | $C_6H_{13}O_2N$ | 2,21 | 0,29 | 0,8 |
| Лізин | $C_6H_{13}O_2N$ | 0,82 | 0,12 | 1,0 |
| Метіонін | $C_5H_{11}O_2NS$ | 0,74 | 0,11 | 0,5 |
| Треонін | $C_4H_9O_2N$ | 0,42 | 0,05 | 1,15 |
| Фенілаланін | $C_9H_{11}O_2N$ | 1,15 | 0,19 | 1,5 |
| Сума | | 17,35 | 2,10 | 19,7 |

Вміст загального азоту в насінні скорцонери, визначений за методом К'ельдаля, складав 3,67 %, вміст сирого протеїну – 22,93 %.

Висновки. Вперше проведено якісний та кількісний аналіз амінокислотного складу насіння скорцонери іспанської, методом

К'ельдаля визначено вміст загального азоту. Отримані результати є першим етапом дослідження перспективної лікарської рослини скорцонери іспанської з метою створення фармакологічно активних субстанцій на її основі.

Література

1. Болотских А. С. Овощи Украины: справочник / А. С. Болотских. – Харьков: Орбита, 2001. – 1088 с.
2. Компендиум 2011 — лекарственные препараты: справочник / под ред. В. Н. Коваленко, А. В. Викторова. – К. : Морион, 2011. – 1200 с.
3. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л. : Агропромиздат, Ленинградское отд-ние, 1987. – 430 с.
4. Якубке Х. Д. Аминокислоты. Пептиды. Белки / Х. Д. Якубке, Х. Ешкайт. – М. : Мир, 1985. – 456 с.
5. Берестова С. І. Вивчення амінокислотного складу *Humulus lupulus* L. / С. І. Берестова, В. М. Ковальов, С. В. Ковальов // Фармаком. – 2006. – № 4. – С. 67 - 70.
6. Сорочан О. О. Вільні амінокислоти злаків на перших фазах пророщування під впливом деяких факторів : автореф. дис. на здоб. наук. ступеня канд. біол. наук : 03.00.04 / О. О. Сорочан. – Чернівці, 2001. – 16 с.
7. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализ. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М. : Медицина, 1987. – 336 с.
8. Девени Т. Аминокислоты, пептиды и белки / Т. Девени, Я. Гергей; пер с англ.; под ред. Р. С. Незмина. – М. : Мир, 1975. – 366 с.
9. Бахтина С. М. Исследование аминокислотного состава полиэкстракта из травы остролодочника остролистного / С. М. Бахтина, Е. Н. Саканян // Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств : тез. докл. всерос. науч. конф., 21 - 23 нояб. – СПб., 1996. – С. 39 - 40.
10. Blaschek W. Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Folgeband 2 : Drogen A-K / W. Blaschek. – 5-th ed. – Berlin : Springer-Verlag, 1998. – 374 p.
11. ДСТУ ISO 5983-2003 «Корми для тварин. Визначення вмісту азоту і обчислення вмісту сирого білка методом К'ельдаля».

ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА В СЕМЕНАХ *SCORZONERA HISPANICA* L.

П. В. Липовецкий, М. Ф. Ткаченко

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: изучено содержание и состав свободных и связанных аминокислот и содержание общего азота в семенах *Scorzonera hispanica*.

Ключевые слова: аминокислоты, азот, семена, *Scorzonera hispanica*.

THE STUDY OF AMINO ACID COMPOSITION AND CONTENT OF TOTAL NITROGEN IN THE SEEDS OF *SCORZONERA HISPANICA* L.

P. V. Lypovetskyi, M. F. Tkachenko

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: the content and composition of free and bound amino acids and total nitrogen content in seeds of *Scorzonera hispanica* was studied.

Key words: amino acids, nitrogen, seeds, *Scorzonera hispanica*.