



В. А. Самойлова, В. М. Ковальов

Амінокислоти листя *Aronia melanocarpa*

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: аронія чорноплідна (*Aronia melanocarpa*), амінокислоти.

Методом високоефективної рідинної хроматографії за допомогою хроматографа фірми Agilent Technologies (модель 1100) в листі аронії чорноплідної (*Aronia melanocarpa*) визначили кількісний вміст 21 вільної та 17 зв'язаних амінокислот, сім із них є незамінними.

Аминокислоты листьев *Aronia melanocarpa*

В. А. Самойлова, В. Н. Ковалев

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с помощью хроматографа фирмы Agilent Technologies (модель 1100) в листьях аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*) определено количественное содержание 21 свободной и 17 связанных аминокислот, из которых семь являются незаменимыми.

Ключевые слова: арония черноплодная (*Aronia melanocarpa*), аминокислоты.

Amino acids content in leaves of *Aronia melanocarpa*

V. A. Samoiloova, V. M. Kovalev

The quantitative content of 21 free and 17 bonded amino acids, among them there are 7 essential amino acids, in the leaves of Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) has been determined by the High efficient liquid chromatography method. The chromatograph Agilent Technologies (model 1100) was used.

Key words: Black chokeberries (*Aronia melanocarpa*), amino acids.

Аронія чорноплідна (*Aronia melanocarpa* (Michaux) *Elliot*) з родини розові (*Rosaceae* Juss.) широко культивується в Україні як харчова, лікарська та декоративна рослина. Плоди аронії є офіційними. У них містяться флавоноїди, дубильні речовини, вуглеводи, органічні кислоти, вітаміни, макро- і мікроелементи, що зумовлюють їхні гіпотензивні, спазмолітичні, протизапальні, антиоксидантні, антимікробні, капілярозміцнюючі, сечогінні і жовчогінні властивості. Листя рослини вивчено недостатньо [2–5].

Мета роботи

Визначення вільних і зв'язаних амінокислот листя аронії чорноплідної.

Матеріали і методи дослідження

Листя аронії чорноплідної заготовляли у травні 2012 р. у ботанічному саду Національного фармацевтичного університету (м. Харків). Вільні і зв'язані амінокислоти визначали на високоефективному рідинному хроматографі фірми Agilent Technologies (модель 1100) [6–7].

Для визначення вмісту вільних амінокислот на аналітичних терезах у віалу ємністю 10 мл зважували 0,3 г подрібненої сировини та додавали 3 мл 0,1 N водного розчину кислоти хлоридної, що містить 0,2% β-меркаптоетанолу. Віалу герметично закривали і поміщали на 2 години в ультразвукову баню при температурі 50°C, після чого центрифугували і відфільтровували. У реакційну віалу ємністю 2 мл відбирали 100 мкл фільтрату і поміщали у вакуумний ексикатор при температурі 40–45°C і тиску 1,5 мм рт. ст. до повного видалення соляної кислоти. Потім до віали для аналізу автоматичним дозатором послідовно додавали 200 мкл 0,8 M боратного буфера рН 9,0, 200 мкл 20 мМ розчину

9-флуоренілметоксикарбоніл хлориду в ацетонітрилі, після 10-хвилинної витримки в реакційну віалу додавали 20 мкл 150 мМ розчину амантадину гідрохлориду у 50% водному ацетонітрилі.

Для визначення загального вмісту амінокислот (зв'язаних і вільних) до 0,2 г подрібненої сировини у віалу додавали 3 мл 6 N водного розчину кислоти хлоридної, що містить 0,4% β-меркаптоетанолу. Віалу герметично закривали і витримували 24 години при температурі 110°C, після чого центрифугували і відфільтровували. У реакційну віалу ємністю 2 мл відбирали 20 мкл фільтрату, поміщали в вакуумний ексикатор, аналіз виконували так само, як і попередній.

Подальше визначення амінокислот виконували на хроматографі фірми Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованому проточним вакуумним дегазатором G1379A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, діодно-матричним детектором G1316A. Для аналізу використовували хроматографічну колонку розміром 4,6×50 мм, заповнену октадецилсилільним сорбентом, зернистістю 1,8 мкм «ZORBAX-XDB-C18».

Для аналізу встановлювали наступний режим хроматографування: робочий тиск елюенту – 220–275 кПа; температура термостату колонки – 50°C; об'єм проби – 2 мкл тощо (табл. 1). Параметри детектування: масштаб вимірювань – 1,0; час сканування – 0,5 с; довжина хвилі – 265 нм.

Амінокислоти ідентифікували за часом утримування стандартів. Результати вмісту амінокислот у листі аронії наведено в таблиці 2, на рис. 1 і 2.

Таблиця 1

Режим хроматографування на хроматографі фірми Agilent Technologies

Час, хв	A% 0,05 М водн. розчину ацетату натрію, рН 6,5	B% 0,10 М водн. розчину ацетату натрію: АСN=(23:22, v/v), рН 6,5	C % H ₂ O	D % ацетонітрилу	Швидкість подачі рухомої фази, мл/хв
0	70	30	0	0	1,5
3,87	27	73	0	0	1,5
5,73	0	100	0	0	1,5
7,83	0	100	0	0	1,5
8,17	0	0	15	85	1,5
10,00	0	0	2	98	2,0
10,10	70	30	0	0	2,0
11,00	70	30	0	0	2,0

Таблиця 2

Вміст амінокислот у листі *Aronia melanocarpa**

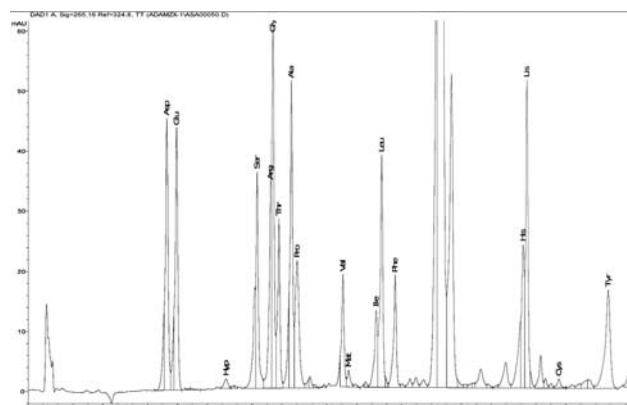
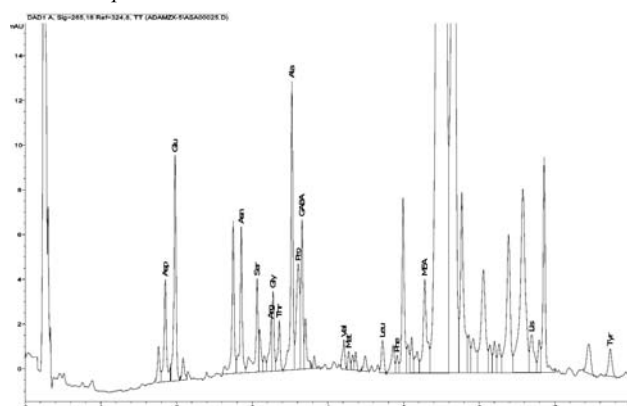
Амінокислота	Вміст загальних амінокислот, мг/100г	Вміст зв'язаних амінокислот, мг/100г	Вміст вільних амінокислот, мг/100г
Аспарагінова	1066,1	1059,1	7,0
Глутамінова	1106,8	1090,3	16,5
4-Гідроксипролін	61,4	60,5	0,9
Аспарагін	0,0	0,0	8,9
Глутамін	0,0	0,0	2,5
Серин	512,8	508,2	4,6
Аргінін	0,0	0,0	4,1
Гліцин	904,3	901,9	2,4
Треонін*	474,3	471,0	3,3
Аланін	782,4	771,4	11,0
Пролін	624,1	613,8	10,3
Гама-аміномасляна	0,0	0,0	7,4
Валін*	421,3	419,9	1,4
Метіонін*	81,4	80,0	1,4
Ізолейцин*	340,9	340,3	0,6
Лейцин*	891,0	888,4	2,6
Фенілаланін*	568,4	566,8	1,6
Цистин	0,0	0,0	1,9
Гістидин	323,3	320,9	2,4
Лізин*	598,5	596,3	2,2
Цистеїн	37,0	37,0	0,0
Тирозин	465,1	463,0	2,1
Сума всіх амінокислот	9259,1	9188,8	95,1
Сума *незамінних амінокислот	3375,8	3362,7	13,1
Вміст незамінних амінокислот від суми амінокислот, %	36,46	36,6	13,8

Примітка: * – листя аронії чорноплідної для дослідження заготовляли у травні 2012 р. в ботанічному саду Національного фармацевтичного університету (м. Харків).

Вміст загального білка в листі аронії визначали за методом К'ельдаля [1].

Результати та їх обговорення

У результаті досліджень методом високоефективної

Рис. 1. Хроматограма загальних амінокислот листя *Aronia melanocarpa*.Рис. 2. Хроматограма вільних амінокислот листя *Aronia melanocarpa*.

рідинної хроматографії в листі аронії чорноплідної визначили кількісний вміст 21 вільної амінокислоти (переважають глутамінова кислота, аланін, пролін і аспарагін) і 17 зв'язаних (переважають глутамінова й аспарагінова кислоти, гліцин, лейцин і аланін).

Отримані дані збігаються з відомостями наукової літератури про те, що основна маса азоту більшості амінокислот проходить у реакціях обміну через стадії перетворення в аспарагінову і глутамінову кислоти або в α -аланін. Серед виявлених амінокислот 7 є незамінними. Вміст незамінних від суми загальних амінокислот становить 36,46%, від суми зв'язаних – 36,6%, від суми вільних – 13,8% (табл. 2).

Вміст білка в листі аронії чорноплідної становить 13,52% (на суху вагу).

Висновки

1. Методом високоефективної рідинної хроматографії за допомогою хроматографа фірми Agilent Technologies (модель 1100) в листі аронії чорноплідної визначили кількісний вміст 21 вільної амінокислоти (переважають глутамінова кислота, аланін, пролін і аспарагін), а також 17 зв'язаних (переважають глутамінова й аспарагінова кислоти, гліцин, лейцин і аланін). Серед виявлених амінокислот сім є незамінними.

2. Вміст білка в листі аронії чорноплідної становить 13,52%.

3. Листя аронії чорноплідної є перспективною сировиною для подальшого фармакогностичного дослідження.

Список літератури

1. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
 2. Зузук Б.М. Аронія чорноплідна – *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot. Аналітичний огляд / Б.М. Зузук, Д.В. Семенів, Р.В. Куцик // Провізор. – 2007. – №6. – С. 35–39.
 3. Криворучко О.В. Аронія чорноплідна / Криворучко О.В. // Фармацевтична енциклопедія / Гол. ред. ради та автор передмови В.П. Черних. – 2-ге вид., переробл. і доповн. – К.:«МОРИОН», 2010. – С. 124.
 4. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa* / R. Slimestad, K. Torskangerpoll, H.S. Nateland, T. Johannessen, N.H. Giske // Journal of food composition and analysis. – 2005. – V. 18 (1). – P. 61–68.
 5. *Oszmiański J.* Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity / J. Oszmiański, A. Wojdyło // European food research and technology. – 2005. – V. 221, №6. – P. 809–813.
 6. *Jámbor A.* Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride. Literature overview and further study / A. Jámbor, I. Molnár-Perl // Journal of Chromatography A. – 2009. – V. 1216. – P. 3064–3077.
 7. *Jámbor A.* Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride / A. Jámbor, I. Molnár-Perl // Journal of Chromatography A. – 2009. – V. 1216. – P. 6218–6223.
-

Відомості про авторів:

Самойлова В.А., аспірант каф. фармакогнозії НФаУ.

Ковальов В.М., д. фарм. н., професор каф. фармакогнозії НФаУ.

Надійшла в редакцію 13.03.2013 р.