

ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО И УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА СЕМЯН СОРТА ВОРОНЕЖСКИЙ АМАРАНТА ПЕЧАЛЬНОГО, ВЫРАЩИВАЕМОГО В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

И. М. Коренская¹, Н. С. Фурса², Л. А. Мирошниченко³

¹ Воронежский государственный университет

² Ярославская государственная медицинская академия

³ ООО «Русская олива»

Поступила в редакцию 28.04.2011 г.

Аннотация. С использованием современных методов исследований проанализирован аминокислотный и углеводный состав семян сорта Воронежский *Amaranthus hypochondriacus* L., выращиваемого в Воронежской области, в результате которых обнаружено 8 незаменимых и 11 заменимых аминокислот, не выявлены свободные моносахариды, а среди связанных определена лишь глюкоза.

Ключевые слова: семена, сорт Воронежский, *Amaranthus hypochondriacus*, заменимые и незаменимые аминокислоты, свободные и связанные сахара.

Abstract. With the use of modern methods of investigation the amino acid and carbohydrate content of *Amaranthus hypochondriacus* L., cultivar Voronezhski seeds grown in Voronezh region was analysed. As a result 8 irreplaceable and 11 replaceable amino acids were detected, free sugars were not revealed and among bound ones only glucose was determined.

Keywords: seeds, cultivar Voronezhski, *Amaranthus hypochondriacus*, replaceable and irreplaceable amino acids, free and bound sugars.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из специфических особенностей видов щирицы или амаранта (*Amaranthus* L.) является значительное содержание белков (13—19%). Оно больше, чем в зерне таких традиционных злаковых культур как пшеница, рожь, кукуруза, рис [1—4]. Если принять пищевую ценность идеального белка за 100 условных единиц, то белок коровьего белка оценивают в 72, сои — 68, пшеницы — 57, а семян амаранта — в 75 единиц [5]. Причем он имеет наиболее сбалансированный аминокислотный состав, представленный заменимыми (аспарагиновая кислота, аденин, гуанин, аргенин, глютаминовая кислота, гистамин, пролин, серин, тирозин, серотонин, орнитин, пантетоновая кислота) и незаменимыми (валин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, треонин) аминокислотами. По содержанию лизина семенам амаранта не выявлены равноценные заменители. Так, оно в 2 раза выше, чем у пшеницы [6]. По содержанию треонина, фенилаланина, тирозина и триптофана белки амаранта приравниваются к белкам женского молока [7]. Семена низкопротеиновых сортов амаранта по

аминокислотному составу близки к сое. Из них наиболее сбалансированный состав у протеина из семян амаранта печального (*A. hypochondriacus* L.). В связи с чем его используют в селекции для выведения сортов зернового направления [8]. Так, в Воронежской области возделывают сорт Воронежский, не изученный в химикофармакологическом отношении.

Наряду с изложенным выше в семенах амаранта содержатся также легко усваиваемые пищевые волокна. По их содержанию они превосходят пшеницу в 3, а кукурузу, рис и овес в 1,5 раза [9]. Пищевые волокна уменьшают калорийность рациона, снижают отрицательное воздействие на обменные процессы потребляемых в избытке жиров, углеводов, способствуют регулированию моторной функции кишечника, абсорбируют различные химические, в том числе канцерогенные вещества, связывают и выводят их из организма. Им посвящен ряд исследований [10—16]. При определении свободных сахаров методом ГЖХ в семенах отдельных видов амаранта обнаружены сахароза (в пределах 1,6%), раффиноза (примерно 0,8%) и стахиоза (до 0,2%) [16].

Цель исследований — проанализировать аминокислотный и углеводный состав семян сорта Воронежский амаранта печального.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили семена амаранта печального (*Amaranthus hypochondriacus L.*) сорта Воронежский, зарегистрированного в Госреестре селекционных достижений в январе 2011 г. и выращиваемого в Воронежской области ООО «Русская олива». Вначале мы провели определение аминокислот, а затем свободных и связанных углеводов. При этом использовали нижеприведенные методики.

Для анализа аминокислот аналитическую пробу семян амаранта первоначально измельчали до размера частиц, проходивших сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм. После этого пробу массой 1,0 г (точная навеска) помещали в круглодонную колбу со штифом, прибавляли 20 мл 70% спирта этилового, взвешивали с точностью $\pm 0,01$ г, нагревали на водяной бане с обратным холодильником на протяжении часа, охлаждали до комнатной температуры, снова взвешивали и до первоначальной массы доводили 70% этанолом. Первоначальное извлечение фильтровали через бумажный фильтр. Первые 10 мл фильтрата отбрасывали. Из последующей порции элюата отбирали 50 мкл и упаривали досуха в вакуум испарителе «Serventa» (США). Сухой остаток растворяли в 200 мкл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной, нагревали на водяной бане на протяжении 15 минут при температуре 60 °С, перемешивали и центрифугировали 3 минуты при 4000 оборотах. Для анализа использовали 50 мкл полученного гидролизата. Анализ аминокислот проводили на аминокислотном анализаторе фирмы «Hitachi» (Япония) модель 835 на стальной колонке (0,4 x 15 см), заполненной катионообменной смолой марки 2619 (Hitachi custom Ion-Exchange Resin.). Разделение аминокислот осуществляли в трехбуферной системе натрий — цитратных буферных растворов: 0,18Н рН 3,25; 0,3Н рН 3,9; 1,6Н рН 4,75. Нингидриновый реактив готовили с использованием метилового эфира этиленгликоля. Цитратные буферные растворы подавали в колонку по стандартной программе со скоростью 32 мл/час, нингидриновый реактив — со скоростью 20 мл/час. После выхода из аналитической колонки разделенные аминокислоты смешивали с нингидриновым реактивом в смесительном блоке в соотношении 2:1. Реакция аминокислот с нингидриновым реактивом проходила в течение 4 минут при 100 °С в реакционном блоке. Колориметрическое измерение окрашенных компонентов, образующихся в результате реакции с нингидри-

ном, проводилось непрерывно и одновременно при двух длинах волн. Первичные амины образовывали соединения пурпурной окраски, измеряемой при длине волны 570 нм, а вторичные (пролин и оксипролин), образующие соединения желтой окраски, измеряли при длине волны 440 нм. Расчет каждой из аминокислот (нмоль и мкг) проводили вначале в аликвоте, непосредственно использованной для анализа (табл. 1. и 2), и в дальнейшем пересчитывали на количество мг/г (табл. 3—4).

Анализ моносахаридов в свободном состоянии провели методом прямофазной ВЭЖХ. При их количественном определении 100 мг растительного сырья заливали 1 мл воды в пробирке с закручивающейся пробкой, нагревали при 90 °С до его набухания и затем экстрагировали углеводы в течение часа при температуре 250 °С при встряхивании. Полученное извлечение центрифугировали 10 минут при 1400 об/мин, добавляли активированный уголь, встряхивали и снова центрифугировали 10 минут при 1400 об/мин. Аликвоту 20 мкл супернатанта анализировали на колонке Liena NH 24,6x250 мм или аналогичной с подвижной фазой: ацетонитрил-вода (70:30) при скорости потока 1 мл/мин при комнатной температуре с рефрактометрической детекцией. При этом использовали изократический хроматограф Gilson, в состав которого входили насос с аналитической головкой 5 SSC, инжектор с петлей 20 мк, колоночный термостат и рефрактометрический детектор. Сбор и обработку хроматограмм осуществляли при помощи программы «Экохром», отнесение пиков и расчет концентраций углеводов проводили по внешнему стандарту, содержащему смесь фруктозы, глюкозы и глицерина в концентрации 1 г/л.

Для анализа связанных сахаров водное извлечение гидролизовали 1 М раствором кислоты хлористоводородной при 100 °С на протяжении 2,5 часов. После исчерпывающего гидролиза центрифугировали при 100 °С 10 минут при 1400 об/мин. К 0,8 мл супернатанта добавляли 7,2 мл воды. 5 мл полученного раствора пропускали через поверхностный концентрирующий патрон (Диасорб С₁₆). При этом первые 3 мл отбрасывали и собирали следующий 1 мл. К 20 мл смеси стандартов и исследуемого раствора добавляли 20 мкл раствора внутреннего стандарта (раствор глюкозамина) и упаривали на вакуумированом центрифужном испарителе типа Sprevad с подогревом в полипропиленовой пробирке. К высушенной пробе добавляли 20 мкл 0,5 мкл раствора РМР (1-фенил-3-метил-5-пиразолон) в метаноле и 20 мкл раствора натрия

Аминокислоты семян амаранта печального сорта Воронежский

Аминокислота		В аликвоте, нмоль.
Название	Химическое строение	
Моноаминомонокарбоновые кислоты		
Аланин	α -аминопропионовая	9,96
Валин	α -аминоизовалериановая	8,19
Глицин	α -иминоуксусная	21,16
Изолейцин	α -амино- β -этил- β -метилпропионовая	5,82
Лейцин	α -аминоизокапроновая	10,10
Метионин	α -амино- γ -метатион-н-масляная	2,41
Серин	α -амино- β -оксипропионовая	10,33
Тирозин	α -амино- β -оксифенилпропионовая	2,92
Треонин	α -амино- β -оксимасляная	6,05
Фенилаланин	α -амино- β -фенилпропионовая	4,95
Цистеин	α -амино- β -тиопропионовая	0,42
Моноаминодикарбоновые кислоты		
Аспарагиновая	α -аминоянтранная	12,46
Глутаминовая	α -аминоглутаровая	26,17
Диаминомонокарбоновые кислоты		
Аргинин	α -амино- δ -гуанидин-н-валериановая	11,95
Лизин	α , ϵ -диаминокапроновая	8,56
Оксилизин	α , ϵ -диамино- δ -оксикапроновая	0,02
Гетероциклические кислоты		
Гистидин	α -амино- β -имидазолпролиновая	7,84
Оксипролин	пирролидин- α -оксикарбоновая	0,69
Пролин	пирролидин- α -карбоновая	3,76
Сумма		153,99

гидроксида, тщательно встряхивали на Vortex и термостатировали при 70 °С на протяжении 2 часов. Пробу нейтрализовали 20 мкл 0,3 М раствором кислоты хлористоводородной и дважды экстрагировали избыток реагента РМР 50 мкл бензола. Остаток упаривали на Speevad с подогревом и растворяли в 500 мкл смеси ацетонитрил — вода в

соотношении 1 : 9. Содержание связанных сахаров определяли методом капиллярного электрофореза, используя прибор Applied Biosystem 273 Т. Обработку электрофореграмм осуществляли с помощью той же программы, что и свободных сахаров. Отношение и расчет концентрации углеводов проводили по внутреннему (глюкозамин) и внешнему стандарту, содержащему смесь анализируемых сахаров в концентрации 1 г/л.

Таблица 2
Обозначение и молекулярный вес аминокислот семян амаранта печального сорта Воронежский

Аминокислота			В аликов-те, мкг
Название	Обозначение	Молекулярный вес	
Моноаминомонокарбоновые кислоты			
Аланин	Ala	89,1	0,89
Валин	Val	117,1	0,96
Глицин	Gly	75,1	1,59
Изолейцин	Ile	131,2	0,76
Лейцин	Leu	131,2	1,33
Метионин	Met	149,2	0,36
Серин	Ser	105,1	1,09
Тирозин	Tyr	181,2	0,53
Треонин	Thr	165,2	0,72
Фенилаланин	Phe	240,3	0,82
Цистеин	Cys	119,1	0,10
Моноаминодикарбоновые кислоты			
Аспарагиновая	Asp	133,1	1,66
Глютаминовая	Glu	147,1	3,85
Диаминомонокарбоновые кислоты			
Аргинин	Arg	174,2	2,08
Лизин	Lys	146,2	1,25
Оксилизин	Oh-Lys	162,2	—
Гетероциклические кислоты			
Гистидин	Pro	115,1	0,90
Оксипролил	Oh-Pro	131,1	0,09
Пролин	His	155,2	0,58
Сумма			19,48

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении исследований аминокислотного состава семян амаранта сорта Воронежский, результаты которого представлены на рис. 1 и

Таблица 3
Содержание (мг в грамме сухого порошка) отдельных заменимых аминокислот в семенах амаранта печального сорта Воронежский

Аминокислота	Содержание	
	мкг	%
Моноаминомонокарбоновые		
Аланин	9,15	4,54
Глицин	16,38	8,12
Серин	11,19	5,55
Тирозин	5,46	2,71
Цистеин	1,04	0,52
Сумма	43,22	21,44
Моноаминодикарбоновые		
Аспарагиновая	17,10	8,48
Глютаминовая	39,69	19,69
Сумма	56,79	28,17
Диаминомонокарбоновые		
Аргинин	21,46	10,64
Гетероциклические		
Гистидин	6,01	2,98
Оксипролин	0,94	0,47
Пролин	9,30	4,61
Сумма	16,25	8,06
Сумма заменимых кислот	137,72	68,31

Таблица 4
Содержание (мг в грамме сухого порошка) отдельных незаменимых аминокислот в семенах амаранта печального сорта Воронежский

Аминокислота	Содержание	
	мкг	%
Моноаминомонокарбоновые		
Валин	9,88	4,90
Изолейцин	7,87	3,90
Лейцин	13,66	6,76
Метионин	3,70	1,84
Треонин	7,43	3,69
Фенилаланин	8,43	4,18
Сумма	50,97	25,28
Диаминомонокарбоновые		
Лизин	12,90	6,40
Оксилизин	0,03	0,01
Сумма	12,93	6,41
Сумма незаменимых аминокислот	63,90	31,69
Общая сумма	201,62	

обобщены в табл. 1—4, определено 19 аминокислот, из них 11 заменимых (Ala, Gly, Ser, Tyr, Cys, Asp, Glu, Arg, His, OH-Pro, Pro) и 8 незаменимых (Val, Ile, Leu, Met, Phe, Thr, Lys, OH-Lys). Орнитин выявлен в следовых количествах.

После соответствующих расчетов установлено, что общее содержание различных групп аминокислот (табл. 4) довольно высокое (201,62 мг/г). Среди них в сумме больше всего содержалось моноаминомонокарбоновых (более 46% в общей сумме) кислот (табл. 3 и 4). Из них доля незаменимых (25,28%) выше, чем заменимых (21,44%) аминокислот. Значительно меньше накапливалось моноаминодикарбоновых (28,17%) и диаминомонокарбоновых (17,05%) кислот. В последнем случае содержание заменимых (10,64%) преобладало над таковым незаменимых (6,41%) аминокислот. В суммарном виде наиболее низкое содержание (табл. 3) определено для гетероциклических кислот (8,06%).

Доля незаменимых аминокислот (31,69% в общей сумме) значительно ниже (более чем в 2 раза), чем заменимых (68,31%). По мере убывания содержания отдельные аминокислоты можно расположить в следующий ряд: Glu > Arg > Asp > Gly > Leu > Lys > Ser > Val > Pro > Ala > Phe > Ile > Thr > His > Tyr > Met > Cys > Oh-Pro > Oh-Lys (табл. 3). От общей суммы аминокислот более 3/5 составляло суммарное содержание глютаминовой кислоты, аргинина, аспарагиновой

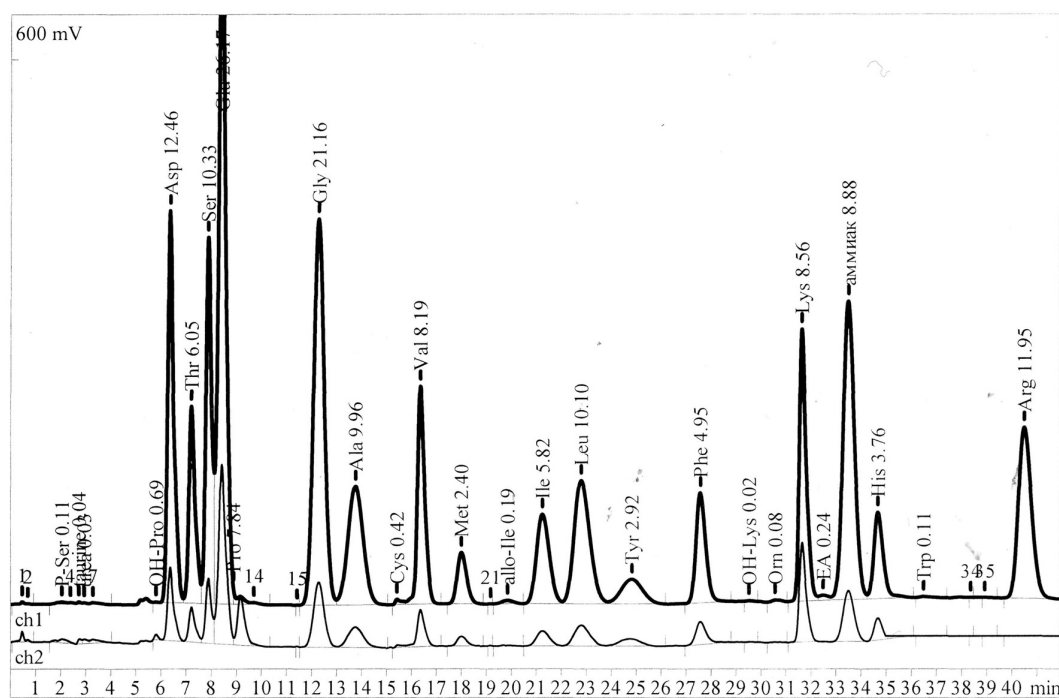


Рис. 1. Хроматограмма аминокислот семян амаранта печального сорта Воронежский

кислоты, глицина, лейцина, лизина и серина (табл. 3 и 4).

Доминирующей кислотой в ряду выявленных аминокислот являлась глутаминовая (19,69% в общей сумме), в значительно меньшем количестве обнаружены заменимые аргинин (10,64%), аспарагиновая кислота (8,48%) глицин (8,12%), незаменимые лейцин (6,76%), лизин (6,40%) и другие кислоты.

Результаты исследований по обнаружению свободных и связанных сахаров в семенах амаранта печального приведены на рис. 2 и 3 и отражены в табл. 5.

Из результатов исследований углеводного состава семян амаранта сорта Воронежский следует, что в них не выявлены моносахариды в свободном состоянии, а из связанных сахаров определено довольно значительное содержание глюкозы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВЭЖХ с фотометрической детекцией определен качественный состав и количественное содержание 11 заменимых (Ala, Arg, Asp, His, Gly, Glu, Oh-Pro, Pro Ser, Tyr, Cys) и 8 незаменимых (Val, Ile, Leu, Leu, Lys, Met, Oh-Lys, Thr, Phe) аминокислот, премофазной ВЭЖХ не выявлены свободные моно-

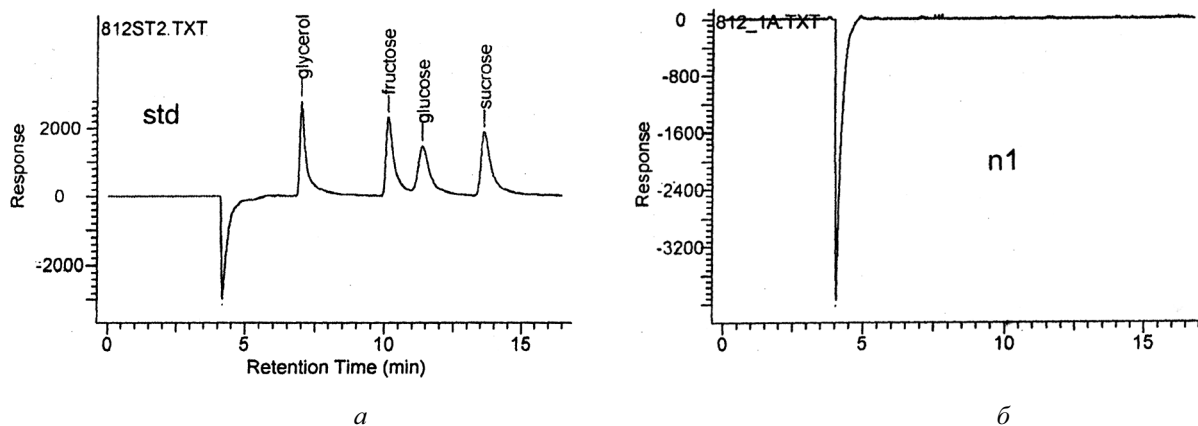


Рис. 2. Хроматограмма смеси сахаров стандартных образцов (а) и свободных моносахаридов водного извлечения семян амаранта печального сорта Воронежский (б)

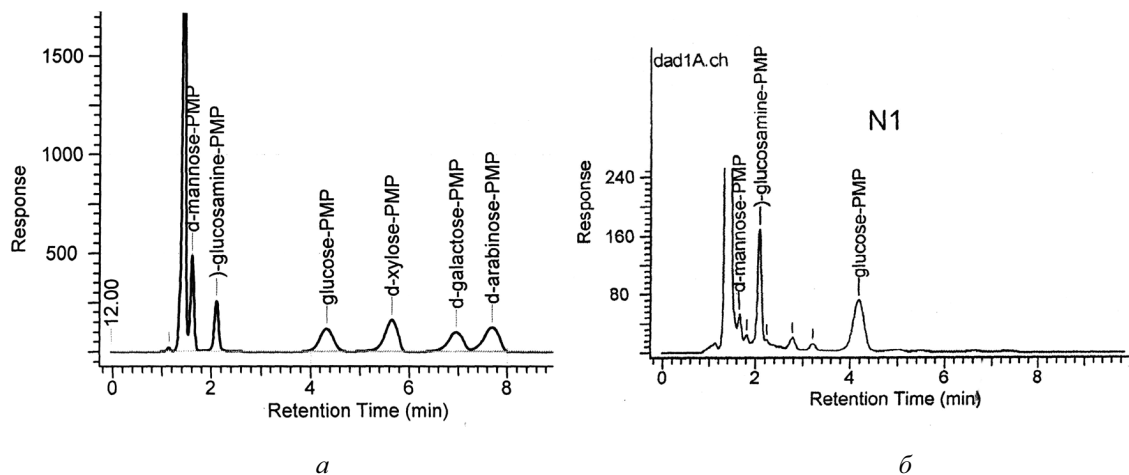


Рис. 3. Электрофореграмма смеси сахаров стандартных образцов (а) и связанных моносахаридов водного извлечения семян амаранта печального сорта Воронежский (б)

Таблица 5

Содержание связанных углеводов в семенах амаранта печального сорта Воронежский

Орган	Содержание, %				
	Арабиноза	Глюкоза	Галактоза	Ксилоза	Манноза
Семена	0	9,8	0	0	0

сахара, а методом капиллярного электрофореза в ряду связанных установлено довольно высокое содержание глюкозы в семенах сорта Воронежский амаранта печального, выращиваемого в Воронежской области.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gupta C. Comparosin of the grain amaranth species *A. cruentus* and *A. hypochondriacus* / C. Gupta, G. Dobos, R. Gretmacher // Symp. On breeding of oil and protein crops, 1996. — P. 289—292.
2. Holubova K. Agricultura tropica et subtropica universitas agriculturae / K. Holubova, U. Starkova — Praga, 2000. — Vol. 33. — P. 92—95.
3. Saunders R. M. Amaranthus: A potential food and feed resource / R. Saunders, R. Becker // Advances in cereal science Technology. — Vol. 6 AACCC // St. Paul M. N. — 1984. — P. 357—396.
4. Sherwin E. R. Antioxidants for vegetable oils / E. R. Sherwin // J. Amer. Oil. Chem. Soc. — 1976. — Vol. 53, № 6. — P. 430—436.
5. Макеев А. М. Белково липидно-крахмальные комплексы семян амаранта / А. М. Макеев, Х. А. Джувеликян, Л. А. Мирошниченко // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия, Биология, Фармация. — 2001. — №1. — С. 73—75.
6. Гинс В. К. Изучение зернового амаранта в Китае / В. К. Гинс // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: I V Ме ждун. Симпозиум, 20—24 июня 2001. — М.: Изд-во Рос. Ун-та дружбы народов, 2001. — Т.1. — С. 131—140.
7. Singh B. P. Management Methods for Producing Vegetable Amaranth / B. P. Singh, W. F. Whitehed, J. Janick (ed), Progress in new crops. AS HS Press, Arlington, VA, 1996. — P. 511—515.
8. Скрипка Е. Л. Теоретические и практические аспекты интродукции растений в зеленом конвейере / Е. Л. Скрипка // Мат-лы I Ме ждун. науч. конф. мол. ученых. — Киев: Фитоцентр, 2003. — С. 167—168.
9. Чиркова Т. В. Амарант — культура XX I века / Т. В. Чиркова // Соровский образовательный журнал. — 1999. — № 10. — С. 22—27.
10. Камышева И. М. Люпин и амарант — источник новых и диетических продуктов / И. М. Камышев, И. Д. Спецаков, М. Л. Доморощенко // Тез. докл. междун. науч.-практ. конф. — СПб, 1996. — С. 36—37.
11. Becker R. Preparation, composition and nutrition of Amaranth seed oil // R. Becker // Cereal Food (CFW). — 1989. — Vol. 34, № 11. — P. 950—953.
12. A compositional study of amaranth grain / R. Becker [et al.] // J. Food Sci. — 1981. — Vol. 46. — P. 1175—1180.
13. Амарант. Научные основы интродукции / А. В. Железнов [и др.]. — Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2009. — 236 с.
14. Цымбал И. М. Особенности углеводно-амилазного комплекса семян амаранта / И. М. Цымбал, Н. А. Шмалько // Химия и технология растительных веществ: V Вс ерос. науч. конф. — Уфа, 2008. — С. 316.
15. Офицеров Е. Н. Углеводы амаранта и их практическое значение / Е. Н. Офицеров, В. И. Костин. — Ульяновск, 2001. — 179 с.
16. Bunzel J. Association of non-starch polysaccharides and ferulic acid in grain amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) dietary fiber / M. Bunzel, J. Ralph, H. Steinhart // Mol. Nutr. Food Res. — 2005. — Vol. 49, № 6. — P. 551—559.

Коренская Ирина Михайловна — старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии Воронежского государственного университета; тел.: (473) 253-0428, e-mail: kim@pharm.vsu.ru

Фурса Николай Сергеевич — заведующий кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии; тел.: (4852) 72-66-03, e-mail: fgnosia.yma@rambler.ru

Мирошниченко Людья Александровна — генеральный директор ООО «Русская олива»; тел.: (473) 250-2970; e-mail: rusoliva@rusoliva.com

Korenskaya I. M. — assistant at the Chair of MEdPh, Voronezh State University; tel.: (473) 253-0428, e-mail: kim@pharm.vsu.ru

Fursa N. S. — head of the chair of pharmacognosy and pharmaceutical technology Yaroslavl State Medical Academy; tel.: (4852) 72-66-03, e-mail: fgnosia.yma@rambler.ru

Miroshnichenko L. A. — Director general ООО «Russian oliva»; tel.: (473) 250-2970, e-mail: rusoliva@rusoliva.com