

АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНОГО И ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ МАЛИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

А. А. Мальцева, И. М. Коренская, А. Ю. Шевцова, А.С. Чистякова,
А.И. Сливкин, С. А. Каракозова

ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 20.12.2016 г.

Аннотация. Изучен аминокислотный и элементный состав листьев малины обыкновенной, заготовленной в Воронежской области, методом капиллярного электрофореза определено 17 аминокислот. Установлено наличие семи незаменимых аминокислот (лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, тирозин, треонин, валин). С использованием метода масс-спектрометрии определено 62 элемента в листьях малины обыкновенной.

Ключевые слова: Малины обыкновенной листья, аминокислоты, капиллярный электрофорез, элементный состав, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Abstract. By the study of the amino acid and the elemental composition of the underground and aerial organs of the leaves *Rubus idaeus* from Voronezh region with the use of capillary electrophoresis 17 amino acids were determined among which 7 essential ones (leucine, isoleucine, methionine, phenylalanine, tyrosine, threonine, valine). By the use of mass-spectrophotometry method 61 elements were determined in the leaves *Rubus idaeus*.

Keywords: Leaves *Rubus idaeus* L., amino acid composition, capillary electrophoresis, elemental composition, mass-spectrometry.

В настоящее время прослеживается тенденция к углубленному изучению химического состава лекарственных растений. Основное внимание при этом уделяется веществам вторичного обмена (фенольные соединения, тритерпеноиды, алкалоиды и др.). Но в то же время, в нормальном обеспечении физиологических потребностей в организме человека и животных так же участвуют соединения первичного обмена. Примером их могут служить аминокислоты (АК), в частности незаменимые, не синтезирующиеся в организме. Они участвуют во всех жизненных процессах, как составные части белков, наряду с углеводами, липидами и нуклеиновыми кислотами. Аминокислоты входят в препараты для лечения заболеваний ЖКТ, печени, для уменьшения возбуждения центральной нервной системы и улучшения сердечного кровообра-

ния [1, 2]. Макро- и микроэлементы растений накапливаются в наиболее благоприятном для организма человека соотношении и преимущественно в комплексе с различными биополимерами (белками, аминокислотами, витаминами и др.), т. е. в доступной и усваиваемой форме. Главными функциями макроэлементов являются построение тканей, поддержание постоянства кислотно-основного и осмотического баланса. Микроэлементы способны увеличивать резистентность организма к различным воздействиям окружающей среды, что помогает бороться с различными заболеваниями. Кроме того, они влияют на активность ферментов и их направленность действия [4-6].

Аминокислоты и макро- и микроэлементы присутствуют во всех видах и органах растений [3-5].

В официальной медицине используются плоды малины обыкновенной, кроме того в народной медицине нашли свое применение листья расте-

ния [7]. В последнее время встречаются отдельные работы российских исследователей, направленные на изучение химического состава плодов и листьев малины обыкновенной, однако, данных, касающихся описания аминокислотного и элементного состава растения не обнаружено.

В связи с этим целью настоящей работы явилось определение аминокислотного, элементного состава и оценка экологической чистоты листьев малины обыкновенной, заготовленных в Воронежской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили листья малины обыкновенной, заготовленные после цветения в фазу формирования плодов в Воронежской области. Собранное растительное сырье подвергалось воздушно – теневой сушке.

Аминокислотный состав (свободные и связанные аминокислоты) исследуемого лекарственного растительного сырья (РС) определяли методом капиллярного электрофореза («Капель-105/105М», «Люмэкс», СПб, Россия). Для этого навески образцов гидролизовали 6 М кислотой хлороводородной при температуре 110 ± 5 °С в течение 16-18 часов. Метод основан на получении из свободных форм аминокислот фенилизотиокарбамильных производных, дальнейшем их разделении и количественном определении. Условия разделения: буфер 30 мМ фосфатный, 4 мМ β -циклодекстрин (рН 7,4); капилляр (Лэфф/Лобщ = 65/75 см, ID=50 мкм); ввод пробы 150 мбар \times с; напряжение +25 кВ; УФ-детектирование 254 нм; температура 30°С.

Для определения элементного состава листьев малины обыкновенной образцы подвергали кислотному разложению с использованием систем микроволновой пробоподготовки: навеску РС помещали во фторопластовый вкладыш и обрабатывали 5 мл смеси азотной и плавиковой кислоты. Автоклав с пробой во вкладыше помещали в микроволновую печь и подвергали разложению. Растворенную навеску количественно переносили в пробирку вместимостью 15 мл, троекратно встряхивая вкладыш с крышкой с 1 мл деионизированной воды и перенося каждый смыв в пробирку, доводили объем пробирки до 10 мл деионизированной водой, закрывали и перемешивали. Автоматическим дозатором со сменным наконечником отбирали аликвотную часть 1 мл и доводили до 10 мл 0,5%-ной азотной кислотой, закрывали защитной лабораторной пленкой, передавали на анализ.

Элементный состав растений определяется методом масс-спектропии с индуктивно связанной плазмой на приборе "ELAN-DRC-e" (ElmerPerkin, США). Для контроля точности определений применяли метод добавок [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования качественного и количественного содержания аминокислот в листьях малины обыкновенной определено, что аминокислотный состав представлен 17 аминокислотами, 7 из которых являются незаменимыми (Leu, Ile, Met, Phe, Thr, Val, Lys), 2 частично заменимые (Arg и His) и 8 заменимых аминокислот (Ala, Gly, Ser, Tyr, Cys, Asp, Glu, Pro). Количественное содержание суммы аминокислот составило 15,57%, из них незаменимых 4,84%, в пересчете на абсолютно сухое сырье. Полученные данные приведены на рис. 1 и в табл. 1.

По мере убывания содержания в листьях малины обыкновенной аминокислоты располагаются в следующем ряду: Asp > Pro > Glu > Leu > Arg > Thr > Phe > Ser > Ala > Gly > Val > Lys > Tyr > Ile > His > Met > Cys.

Доминирующими являются аспарагиновая и глутаминовая кислоты, относящиеся к моноаминодикарбоновым кислотам, играющим важную роль в функционировании и развитии нервной системы. А также пролин – гетероциклическая аминокислота, которая отвечает за синтез коллагена в организме человека, способствует заживлению хрящей и упругости суставов. Из незаменимых аминокислот на первом месте – лейцин, моноаминомонокарбоновая кислота, участвующая в метаболических процессах, особенно влияющая на образование новых белков больше, чем любая другая аминокислота. Аргинин, диаминомонокарбоновая кислота, недостаток которой нарушает синтез инсулина и липидный обмен в печени.

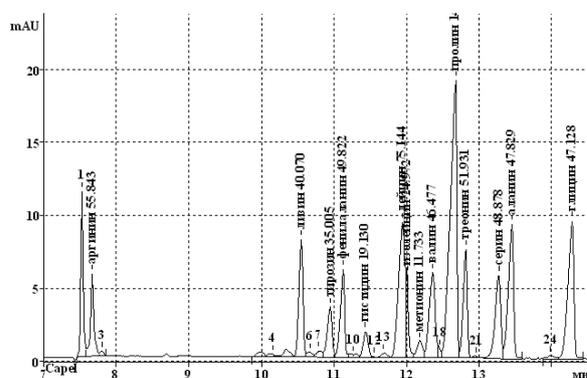


Рис. 1. Электрофореграмма аминокислотного состава листьев малины обыкновенной

Таблица 1.
Аминокислотный состав листьев
малины обыкновенной

Наименование аминокислоты	Содержание АК в пересчете на абсолютно сухое сырье, %	Содержание от общего количества АК, %
Лейцин*	1.21	7.70
Аргинин	0.90	5.72
Треонин*	0.84	5.34
Фенилаланин*	0.80	5.10
Валин*	0.75	4.80
Лизин*	0.65	4.13
Изолейцин*	0.40	2.54
Гистидин	0.31	2.00
Метионин*	0.19	1.20
Аспарагиновая кислота	2.37	15.05
Пролин	2.33	14.80
Глутаминовая кислота	1.93	12.28
Серин	0.79	5.03
Аланин	0.77	4.90
Глицин	0.76	4.85
Тирозин	0.56	3.55
Цистеин	0.16	1.01
Всего	15.57	100

*- незаменимые аминокислоты

Полученные результаты, показывают возможность применения листьев малины обыкновенной в качестве перспективного источника заменимых и, что важно, незаменимых аминокислот.

При изучении элементного состава листьев малины обыкновенной методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой определено 62 элемента, из которых 5 - макроэлементов, 57 - микро-, и ультрамикроэлементов (табл.2).

Анализируя полученные результаты, макроэлементы по мере убывания концентраций можно расположить в следующем порядке: $K > Ca > Mg > P > Na$. Для нормализации работы сердечно-сосудистой системы необходимы соли калия и натрия, кальций входит в состав костной ткани, недостаток которого может привести к остеопорозу, магний является антистрессовым макроэлементом. снижает уровень холестерина в организме, фосфор входит в состав аденозинтрифосфорной кислоты, имеющей большое значение в процессах обмена веществ и в энергетическом обмене [9].

Среди микроэлементов преобладающим соединением является железо (286,5 мкг/г). Для

Таблица 2.

Минеральный состав листьев малины обыкновенной

№ пп	Элемент	Содержание, мкг/г	№ пп	Элемент	Содержание, мкг/г
Макроэлементы			Ультрамикроэлементы		
1	Калий (K)	27190.0000	31	Церий (Ce)	0.4500
2	Кальций (Ca)	10539.0000	32	Вольфрам (W)	0.0560
3	Магний (Mg)	5189.0000	33	Гадолиний (Gd)	0.0300
4	Натрий (Na)	403.9000	34	Галлий (Ga)	0.0860
5	Фосфор (P)	3902.0000	35	Гафний (Hf)	0.0051
Микроэлементы			36	Германий (Ge)	0.0070
6	Алюминий (Al)	103.6000	37	Гольмий (Ho)	0.0031
7	Барий (Ba)	6.1300	38	Диспрозий (Dy)	0.0180
8	Бор (B)	46.6600	39	Европий (Eu)	0.0064
9	Бром (Br)	69.5000	40	Золото (Au)	0.0109
10	Железо (Fe)	286.5000	41	Иттрий (Y)	0.0800
11	Йод (I)	0.2900	42	Иттербий (Yb)	0.0058
12	Кобальт (Co)	0.1500	43	Лантан (La)	0.2500
13	Марганец (Mn)	23.4200	44	Лютеций (Lu)	0.0008
14	Медь (Cu)	5.3700	45	Неодим (Nd)	0.1600
15	Молибден (Mo)	2.9900	46	Никель (Ni)	0.3940
16	Селен (Se)	0.3070	47	Ниобий (Nb)	0.0120
17	Стронций (Sr)	66.1000	48	Олово (Sn)	0.0690
18	Хром (Cr)	4.7100	49	Платина (Pt)	Менее 0.0001
19	Цинк (Zn)	36.9200	50	Празеодим (Pr)	0.0480
Ультрамикроэлементы			51	Рубидий (Rb)	3.5100
20	Литий (Li)	0.3520	52	Самарий (Sm)	0.0280
21	Бериллий (Be)	Менее 0.001	53	Серебро (Ag)	0.0249
22	Ванадий (V)	1.3800	54	Скандий (Sc)	0.6700
23	Висмут (Bi)	0.0118	55	Сурьма (Sb)	0.0209
24	Тантал (Ta)	0.0008	56	Таллий (Tl)	0.0025
25	Тербий (Tb)	0.0037	57	Цирконий (Zr)	0.2200
26	Титан (Ti)	7.9800	58	Эрбий (Er)	0.0068
27	Торий (Th)	0.0640	59	Кадмий (Cd)	0.0129
28	Тулий (Tm)	0.0010	60	Мышьяк (As)	0.4900
29	Уран (U)	0.0250	61	Ртуть (Hg)	0.0060
30	Цезий (Cs)	0.0230	62	Свинец (Pb)	0.4320

микроэлементов, имеющих числовое значение содержания больше 1 мкг/г, характерен следующий ряд убывания концентраций: Al > Br > Sr > B > Zn > Mn > Ba > Cu > Cr > Mo. Содержание селена, йода и кобальта выявлено ниже 1 мкг/г.

Согласно данным литературы содержание алюминия в воздушно-сухом сырье должно быть 100-500 мкг/г [12]. Содержание алюминия в листьях малины обыкновенной составило 103,6 мкг/г. Алюминий относят к иммунотоксичным элементам, но вместе с тем он участвует в процессах регенерации костной, эпителиальной и соединительной ткани, способствует нормальной работе органов пищеварения. Вместе с тем, концентрация алюминия в растениях превышает содержание его в тканях человека и животных [10].

В растениях определяют соотношение концентраций железа и марганца. Данное значение является отражением величины окислительно-восстановительного потенциала, и его повышение за счет уровня марганца расширяет возможность участия металлов в биохимических реакциях растений [11]. Железо и марганец тесно взаимосвязаны в метаболических процессах, и для нормального развития растения их соотношение должно быть в пределах 1,5-2,5 [12]. Соотношение этих элементов в листьях малины обыкновенной составляет 12,2, что значительно выше нормы. Этот факт указывает на то, что растение малоустойчиво к железистой токсичности. И в то же время можно сказать, что малина обыкновенная - перспективный источник железа, эссенциального элемента, являющегося компонентом гемоглобина крови и ферментов каталазы, пероксидазы, триптофаноксидазы, цитохромоксидазы, главных катализаторов окислительно-восстановительных процессов [13].

Согласно данным литературы, нормальная концентрация цинка в растениях находится в пределах 15-150 мкг/г, максимально 300 мкг/г, меди – 0,2-20,0 мкг/г воздушно-сухой массы [12]. Основные функции цинка в растениях связаны с метаболизмом углеводов, протеинов и фосфатов, а также с образованием ауксина, ДНК и рибосом. Цинк влияет на проницаемость мембран [12]. Содержание цинка в листьях малины обыкновенной составило 36,9 мкг/г.

Медь в растениях играет большую роль в окислительно-восстановительных процессах, обладая способностью переходить из одновалентной формы в двухвалентную и обратно. Она повышает интенсивность дыхания, влияет на углеводный и белковый обмен растений. Под влиянием меди

повышается содержание хлорофилла, стимулируется процесс фотосинтеза, увеличивается устойчивость растения к бактериальным и грибным болезням [14]. В листьях малины обыкновенной содержится 5,3 мкг/г меди, что соответствует норме, приводимой в литературе.

Таким образом, малина обыкновенная, заготовленная в Воронежской области, не испытывает дефицита этих элементов, что может свидетельствовать о присутствии подвижных форм этих элементов в почве.

Существует мнение, что селен является участником многих метаболических процессов, но до конца его роль для растения не установлена. Оптимальный уровень содержания селена в наземных частях растений – 0,10 мкг/г сухой массы [15]. В листьях малины концентрация селена выше в три раза оптимально необходимого и составила 0,3 мкг/г, что позволяет отнести малину обыкновенную к растениям, накапливающим этот элемент. Как известно, селен входит в активные центры ферментов системы антиоксидантной защиты организма, метаболизма нуклеиновых кислот, липидов и гормонов [16].

С позиции оценки экологической чистоты лекарственного РС, прежде всего, необходимо определение концентраций кадмия, свинца, ртути и мышьяка. Эти элементы относятся к приоритетным загрязнителям биосферы и подлежат первоочередному контролю. В листьях малины обыкновенной нами отмечено, что содержание токсических элементов не превышает предельно-допустимых концентраций предусмотренных для этих элементов: кадмий меньше 1 мг/кг, мышьяк - меньше (0,5 мг/кг), ртуть меньше 0,1 мг/кг, свинец меньше 6 мг/кг, что позволяет отнести листья малины к безопасным [17, 18].

ВЫВОДЫ

Проведено исследование аминокислотного и элементного состава листьев малины обыкновенной, заготовленной в Воронежской области. Показано, что лекарственное сырье содержит 17 аминокислот, 7 из которых являются незаменимыми (Leu, Ile, Met, Phe, Thr, Val, Lys), 2 частично заменимые (Arg и His) и 8 заменимых аминокислот (Ala, Gly, Ser, Tyr, Cys, Asp, Glu, Pro). В сырье малины обыкновенной определено 62 элемента, из которых 5 - макроэлементов, 57 - микро-, и ультрамикроэлементов. Полученные данные позволяют объективно рассматривать листья малины обыкновенной как источник поступления аминокислот

кислот, в том числе незаменимых, а также макро- и микроэлементов, в частности эссенциальных, в организм человека, что является востребованным при различных патологических состояниях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Западнюк В.И. Аминокислоты в медицине / В.И. Западнюк, Л.П. Купраш, М.У. Заика, И.С. Безверхая. — Киев: Здоровье, 1980. — 200 с.
2. Березов Т.Г. Биологическая химия / Т.Г. Березов, Б.Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1982. — 752 с.
3. Добраина Ю.В. Аминокислотный состав листьев и плодов лимонника китайского / Ю.В. Добраина [и др.] // Фармация.-2016.-№6.-С.16-20.
4. Кукушкин Ю.Н. Химические элементы в организме человека / Ю.Н. Кукушкин // Сорский образовательный журнал. — 1998. — № 5. — С.54-58.
5. Реут А.А. Изучение аминокислотного и элементного состава некоторых представителей рода *Raeonia* / А.А. Реут, Л.Н. Миронова // Биллотень ботанического сада Саратовского государственного университета. — 2013. — №11. — С.165-169.
6. Мальцева А.А. Элементный состав горцев перечного и почечуйного / А.А. Мальцева [и др.] // Фармация. — 2016. — Т.65. — №2. — С.14-18.
7. Казначеева Е.В. Фармакогностическое изучение и стандартизация листа малины (*Rubus idaeus*. L) и сухого экстракта. Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М., 2011. — 23 с.
8. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной аргоновой плазмой : Методические указания (МУК 4.1.1483 - 03). — М. : ФЦ ГСЭН МЗ РФ, 2003. — 36 с.
9. Химические элементы в организме человека. Справочные материалы / Под ред. Л.В. Морозовой. — ПГУ им. М.В. Ломоносова, 2001. — 45 с.
10. Черных Н.А. Тяжелые металлы и здоровье человека / Н.А. Черных, Ю.И. Баева // Вестник РУДН. Серия: экология и безопасность жизнедеятельности, 2004. — №1. — С.125-134.
11. Бойченко Е.А. Изменение соотношения металлов в эволюции растений в биосфере / Е.А. Бойченко, Г.Н. Саенко, Т.М. Удельнова // Очерки современной геохимии и аналитической химии. — М. : Наука, 1972. — С.454-458.
12. Кабата-Пендиас А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. — М. : Мир, 1989. — 439 с.
13. Фурса С.Н. Изучение аминокислотного состава подземных и надземных органов валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области / С.Н. Фурса, О.А. Колосова, И.М. Коренская // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация. — 2015. — №3. — С.135-139.
14. Ловкова М.Я. Лекарственные растения – концентраторы и сверхконцентраторы меди и ее роль в метаболизме / М.Я. Ловкова Г.Н. Бузук // Прикладная биохимия и микробиология. — 2011. — Т.47. — №2. — С. 209-216.
15. Лукьянова О.Н. Селен в морских организмах / О.Н Лукьянова и [и др.] — Владивосток : Изд-во ТИНРО-Центра, 2006. — 151 с.
16. Третьяк Л.Н. Специфика влияния селена на организм человека и животных / Л.Н. Третьяк, Е.М. Герасимов / Вестник ОрГУ. Серия: биохимия, фармакология, биоэлементология, 2007. — №12. — С.136-145
17. Эпидемиологическая генотоксикология тяжёлых металлов и здоровье человека / Е.Н.Ильинских [и др.] — Томск : СибГМУ, 2003. — 300 с.
18. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.3.2.1078 - 01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» от 06.11.2001 г. с изменением от 31.05.2002 г.

*Воронежский государственный университет
Мальцева А. А., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета
E - mail: maltseva@pharm.vsu.ru*

*Voronezh State University
Maltseva A. A., PhD., senior lecturer of the department of management and economics of pharmacy and pharmacognosy
E - mail: maltseva@pharm.vsu.ru*

Коренская И. М., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета

E-mail: irmich65@yandex.ru

Шевцова А. Ю., интерн кафедры последипломного образования

Чистякова А. С., ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета

E-mail: anna081189@yandex.ru

Сливкин А. И., доктор форм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Каракозова С. А., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета

E-mail: karakozovasa@mail.ru

Korenskaya I. M., PhD., senior lecturer of the department of management and economics of pharmacy and pharmacognosy

E-mail: irmich65@yandex.ru

Shevtsova A. Y., intern, Department of Postgraduate Education

Chistyakova A. S., Assistant of chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty

E-mail: anna081189@yandex.ru

Slivkin A. I., the doctor pharm. sciences, the professor, manager of faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, the dean of pharmaceutical faculty

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Karacosova S. A., candidate of pharmaceutical science, senior lecturer of the department of management and economics of pharmacy and pharmacognosy

E-mail: karakozovasa@mail.ru