

Применение анализа свободных аминокислот и родственных соединений для анализа растительного сырья

Смирнов В.Ю.¹, Нефедов Л.И.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно

²Гродненский государственный университет им. Я Купалы, г. Гродно

vit_sm@mail.ru

Свободные аминокислоты играют важную роль в процессах жизнедеятельности организмов. Определение их содержания в растительном материале традиционными методами часто сопряжено с трудностями идентификации хроматографических пиков, особенно в классической хроматографии аминокислот с применением нингидриновой реакции. Целью данной работы была оценка возможности применения определения аминокислот методом ВЭЖХ в растительном сырье на примере Лофанта анисового (другие названия многоколосник фенхельный, *Agastache foeniculum*, *anise hyssop*).

Количественная и качественная идентификация свободных аминокислот и их дериватов проводилась обращенно-фазной хроматографией с предколоночной дериватизацией 0,4% о-фталевым альдегидом и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4М Na-боратном буфере (рН 9,4). Для дериватизации вторичных аминокислот (пролина и оксипролина) проба далее смешивалась с раствором ФМОС-хлорида в ацетонитриле (6 мг/мл). Детектирование по флуоресценции (231/445 нм, начиная с времени выхода пиков пролина и оксипролина и до конца хроматограммы — 260/313 нм). Идентификация и количественная оценка соединений производилась программой Agilent ChemStation A10.01 путем сравнения результатов анализа исследуемых объектов со стандартной калибровочной кривой искусственной смеси аминокислот. Использовалась колонка Zorbax XDB C₈, 3,5 мкм, 3x150 мм. Подвижная фаза А: 0,1 М Na-ацетатный буфер, рН 6,85, содержащий 20 мг/л ЭДТА; подвижная фаза В: ацетонитрил/вода 6/4 (об./об.). Разделение проводили с градиентным элюированием от 5 до 100% В за 78 мин; температура колонки 37°C. Для определений использовали хроматограф Agilent 1100.

Образцы Лофанта анисового, предварительно доведенные до гомогенного состояния, депротеинизировались в 0,1М хлорной кислоте (с добавленным внутренним стандартом — δ -аминовалериановой кислотой) в соотношении 1 г образца к 10 мл кислоты. Установлено, что полученные данным методом хроматограммы экстрактов Лофанта анисового не имеют принципиальных отличий от хроматограмм традиционно исследуемого в лабораторной практике биологического материала (хлорнокислых экстрактов печени или плазмы крови). Не наблюдалось появления «посторонних» пиков (то есть отсутствующих в стандартной смеси аминокислот), что позволяет однозначно идентифицировать соединения. Единственной особенностью является отсутствие пиков орнитина, лизина и метионина (вернее следовые количества этих соединений).

Таким образом, установлена возможность применения описанной методики обращенно-фазной хроматографии с детектированием по флуоресценции для анализа свободных аминокислот и родственных соединений растительного материала не имеющих или имеющих незначительное количество соединений с собственной флуоресценцией (например, алкалоидов).