

Пігменти трави щучника дернистого і трави куничника звичайного

І.С.Бурлака, В.С.Кисличенко

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук
Харків, Україна

З метою комплексного дослідження лікарської рослинної сировини спектрофотометричним методом було визначено кількісний вміст хлорофілу а і b та каротиноїдів у траві щучника дернистого та куничника звичайного.

Ключові слова: трава щучника дернистого, трава куничника звичайного, спектрофотометрія, хлорофіл а і b, каротиноїди.

ВСТУП

Щучник дернистий і куничник звичайний — дикі злаки, широко розповсюджені по всій території України. Сировинна база їх необмежена. Фармакогностичне дослідження цих рослин і вивчення груп біологічно активних речовин, які містяться в них, з нашого погляду, недостатнє. Тому з метою розробки національних специфікацій якості, встановлення стандартів на лікарську рослинну сировину, на лікарські засоби рослинного походження з неї, а також на забезпечення якості контролю сировини і фітозасобів стає доцільним вивчення пігментного складу цих рослин.

З літературних джерел відомо, що такі рослини пігменти, як хлорофіли і каротиноїди, мають певний спектр фармакологічної активності, а саме репаративну, протизапальну, антимікробну, антиоксидантну активність. Пігменти — хлорофіли та каротиноїди (головні фоторецептори рослинних клітин) — мають важливе значення для аналізу взаємодії рослин з умовами середовища та дослідження адаптації їх до різних чинників. Хлорофіли і каротиноїди — найважливіші компоненти фотосинтетичного апарату листя. Їх кількість залежить

від інтенсивності життєдіяльності рослини і від тих рис, які закріплені в генотипі. Тому за вмістом цих пігментів можна оцінити деякі вікові і генетичні особливості рослини. Кількість пігментів також відображає реакцію рослинного організму на умови зростання.

Концентрація пігментів листка залежить від особливостей водного, мінерального і температурного режиму, вмісту в повітрі газоподібних промислових викидів, іонізуючого опромінення та інших чинників [1-3,7]. Отже, можна сказати, що вивчення вмісту фотосинтезуючих пігментів може бути корисним для оцінки екологічного стану місця зростання рослин, аналізу взаємодії рослини з умовами навколишнього середовища, дослідження передумов потенційної продуктивності різних видів рослин. Частка зелених пігментів у листях протягом усього вегетаційного періоду більше, ніж каротиноїдів, що підтверджує високий рівень метаболізму і пластичного обміну рослин. Співвідношення вмісту хлорофілу а до хлорофілу b є показником хроматичної адаптації і змінюється в ряду: рослини, що люблять затінок, — рослини, що люблять світло, — альпійські рослини (2,5 : 3,5-3,9 : 5,5) [1-3, 5, 7].

Метою дослідження було вивчити вміст хлорофілів а, b та каротиноїдів трави куничника звичайного і щучника дернистого.

Для досягнення мети було поставлено наступне завдання: визначити кількісний вміст хлорофілів а, b та каротиноїдів трави куничника звичайного і щучника дернистого.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Одним з методів, який найчастіше застосовується для визначення вмісту фотосинтезуючих пігментів, є спектрофотометричний. Особливості спектрів поглинання хлорофілів а, b та каротиноїдів допомагають визначити їхні кількості в екстракті без попереднього розділення.

ТАБЛИЦЯ 1

Кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів у траві куничника звичайного і траві щучника дернистого

Сировина	Вміст хлорофілу а, мг/г	Вміст хлорофілу b, мг/г	Вміст каротиноїдів, мг/г
Трава куничника звичайного	0,93±0,02	0,24±0,02	0,13±0,02
Трава щучника дернистого	1,44±0,02	0,59±0,04	0,15±0,04

Примітка: достовірність розбіжностей $P < 0,05$.

Це одне з кількісних визначень пігментів, яке дає змогу без калібрувальних кривих, на підставі експериментально отриманих даних за абсорбцією і відомими для кожного пігмента значеннями молярного і питомого коефіцієнтів погашення за певної довжини хвилі розрахувати концентрацію пігментів [4, 6]. Для виділення пігментів з рослинної сировини в якості екстрагента використовують спирт, ацетон, гексан та інші розчинники. Екстракцію необхідно проводити в затемненому місці попередньо охолодженими розчинниками. Для запобігання ізомеризації пігментів екстракцію слід проводити дуже швидко. Кількісне визначення пігментів засновано на їх здатності поглинати промені певної довжини хвилі. При визначенні концентрації хлорофілів а і b в розчині без їх розділення питання ускладнювалося тим, що спектри хлорофілів а і b сильно перекриваються. Однак наявні відмінності в спектрах поглинання обох хлорофілів дозволяють вибрати точки, де поглинання одного пігмента помітно перевищує поглинання іншого. Ця обставина використовується при проведенні кількісного визначення хлорофілів а і b без їх розділення. У залежності від природи розчинника, який використовується для екстракції пігментів, їх концентрації обчислюються за формулами Вернона, Ветштейна, Вінтерманса або іншими.

Кількісне визначення пігментів проводили за наступною методикою. Точну наважку (100-200 мг) подрібненої сировини поміщали у фарфорову ступку, додавали на кінчику скальпеля невелику кількість магнію карбонату або кальцію карбонату для нейтралізації кислот клітинного соку і запобігання феофітинізації пігментів. Додавали 5 мл охолодженого 96% спирту етилового і ретельно розтирали протягом 5 хв. Отриману витяжку обережно зливали по скляній палочці на скляний фільтр, вставлений у колбу Бунзена, і фільтрували. Цю операцію повторювали ще декілька разів, доки розчинник не перестане забарвлюватися. Фільтрат поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл і

доводили об'єм розчину до позначки спиртом. Реєстрацію абсорбції проводили на спектрофотометрі СФ-46. Паралельно вимірювали абсорбцію розчину порівняння, яким був 96% етанол. Для хлорофілу а в 96% етанолі максимум поглинання в червоній області спектра знаходився при $\lambda = 665$ нм, для хлорофілу b — при 649 нм. Каротиноїди визначали при довжині хвилі 440,5 нм. Концентрацію хлорофілу а (C_a , мг/л) і b (C_b , мг/л) обчислювали за формулами: $C_a = 13,70 A_{665} - 5,76 A_{649}$; $C_b = 25,80 \times A_{649} - 7,60 \times A_{665}$, де: A_{665} — абсорбція розчину при довжині хвилі 665 нм; A_{649} — абсорбція розчину при довжині хвилі 649 нм.

Концентрацію каротиноїдів ($C_{кар}$, мг/л) обчислювали за формулою: $C_{кар} = 4,695 \times A_{440,5} - 0,268 (C_a + C_b)$, де: $A_{440,5}$ — абсорбція розчину при довжині хвилі 440,5 нм; $(C_a + C_b)$ — сумарний вміст хлорофілів а і b в розчині, мг/л.

Встановивши концентрацію пігментів в витяжці проводять розрахунок їх кількісного вмісту (X , мг/г) в досліджуваній сировині за формулою: $X = V \times C \times 100 / m \times 1000 \cdot (100 - W)$, де: V — об'єм спиртової витяжки, мл;

C — концентрація пігменту в спиртовому розчині, мг/л; m — наважка сировини, г; W — втрата у масі при висушуванні сировини, %.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати кількісного визначення пігментів у траві куничника звичайного і траві щучника дернистого наведені в таблиці.

За результатами досліджень, наведених у табл. 1, видно, що трава щучника дернистого накопичує пігментів більше, ніж трава куничника звичайного. Співвідношення хлорофілу а до хлорофілу b у траві куничника звичайного складає 3,9, що дає змогу віднести цю рослину до світлолюбивих. У траві щучника дернистого це співвідношення складає 2,44, що дозволяє віднести його до тих рослин, що люблять затінок.

ВИСНОВКИ

1. Спектрофотометричним методом проведено визначення кількісного вмісту хлорофілу а і b та каротиноїдів у траві куничника звичайного і щучника дернистого. Встановлено співвідношення хлорофілу а до хлорофілу b.

2. Отримані результати можуть бути використані при розробці методик контролю якості на лікарську рослинну сировину та отримані з неї субстанції, а також для подальшої роботи по введенню в культуру цих злаків, згідно з вимогами «Good agricultural practice».

ЛІТЕРАТУРА

1. Воскресенская Н.П. Фоторегуляторные реакции и активность фотосинтетического аппарата // Физиология растений. — 1987. — Вып. 4, Т.34. — С. 669-684.
2. Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растений и условия среды. — Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1989. — 180 с.
3. Мерзляк М.Н. Спектры отражения листьев и плодов при нормальном развитии, старении и стрессе / М.Н.Мерзляк, А.А.Гительсон, С.И.Погосян // Физиология растений. — 1997. — Т.44, №5. — С. 707-716.
4. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А.Павлиновой. — М.: Наука, 1971. — С. 154-170.
5. Lichtestaller H.K. Chlorophylls and carotenoids — pigments of photosynthetic biomembrans // Methods of Enzymology. — 1987. — Vol. 148. — P. 350-382.
6. Lichtestaller H.K. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaves extracts in different solvents / H.K.Lichtestaller, A.R.Wellburn // Biochem. Soc. Trans. — 1983. — Vol. 11. — №5. — P. 591-592.
7. Vogelmann T.C. Plants as Light Traps / T.C.Vogelmann, L.O.Bjorn // Physiol. plant. — 1986. — Vol. 68. — P. 704-708.

И.С.Бурлака, В.С.Кисличенко. Пигменты травы щучки дернистой и травы вейника наземного. Харьков, Украина.

Ключевые слова: трава щучки дернистой, трава вейника наземного, спектрофотометрия, хлорофилл а и b, каротиноиды.

С целью комплексного исследования лекарственного растительного сырья спектрофотометрическим методом было определено содержание хлорофилла а, b и каротиноидов в траве щучки дернистой и вейника наземного.

I.S.Burlaka, V.S.Kyslychenko. The pigments of Calamagrostis epigeios and Deschampsia caespitosa herbs. Kharkiv, Ukraine.

Key words: tussock grass, bush grass, spectrophotometry, chlorophyll a and b, carotenoids.

The content of chlorophyll a, b and carotenoids was determined by the spectrophotometry method with the purpose of complex research the raw material.

Надійшла до редакції 09.12.2011 р.