

August 2019

Study of amino-acid composition of seed of oats fruit (*Avena sativa* L.)

Nurullaeva Dilobar

Tashkent Pharmaceutical Institute, Uzbekistan, aurum_dilobar.pp@mail.ru

Farmanova Nodira

Tashkent Pharmaceutical Institute, Uzbekistan, farmanovan70@mail.ru

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/cce>

 Part of the [Other Chemical Engineering Commons](#)

Recommended Citation

Dilobar, Nurullaeva and Nodira, Farmanova (2019) "Study of amino-acid composition of seed of oats fruit (*Avena sativa* L.)," *CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING*: Vol. 2019 : No. 3 , Article 46.

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/cce/vol2019/iss3/46>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact sh.erkinov@edu.uz.

STUDY OF AMINO-ACID COMPOSITION OF SEED OF OATS FRUIT (AVENA SATIVA L.)

Dilobar NURULLAEVA (aurum_dilobar.pp@mail.ru), Nodira FARMANOVA (farmanovan70@mail.ru)
Tashkent Pharmaceutical Institute, Uzbekistan

For the first time, the amino acid composition of the seed oat fruit harvested in the Republic of Uzbekistan was studied. Chromatographic detection of amino acids was performed by the method of ascending one-dimensional paper chromatography; violet, red-violet and yellow staining was observed, indicating the presence of free amino acids in the raw material under study. The determination of the qualitative and quantitative content of amino acids of oat fruit was carried out by high performance liquid chromatography (HPLC) on an Agilent Technologies 1200 chromatograph, column 75x4.6 mm Discovery HS C18. Qualitative analysis and quantitative calculation of the concentration of the studied free amino acids was performed by comparing the retention time and peak areas of the standard and studied phenylthiocarbamate derivatives of amino acids. As a result of the research in the oats, 18 amino acids have been identified, 8 of which are irreplaceable. The predominant amino acid in the fruits of oats is glutamic acid, glycine, asparagine, and cysteine. Therefore, the obtained data allowed us to characterize the fruits of oats as a source of proteinogenic amino acids.

Keywords: amino acid, oat, chromatograph, irreplaceable, ninhydrin reaction, high performance liquid chromatography.

ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ПЛОДОВ ОВСА ПОСЕВНОГО (AVENA SATIVA L.)

Дилобар НУРУЛЛАЕВА (aurum_dilobar.pp@mail.ru), Нодира ФАРМАНОВА (farmanovan70@mail.ru)
Ташкентский фармацевтический институт, Узбекистан

Впервые изучен аминокислотный состав плодов овса посевного, заготовленного в Республике Узбекистан. Хроматографическое обнаружение аминокислот проводили методом восходящей одномерной бумажной хроматографии, наблюдалось фиолетовое, красно-фиолетовое и желтое окрашивание, свидетельствующее о наличии свободных аминокислот в исследуемом сырье. Определение качественного и количественного содержания аминокислот плодов овса посевного проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Agilent Technologies 1200, на колонке 75x4,6 мм Discovery HS C18. Качественный анализ и количественный расчет концентрации исследуемых свободных аминокислот проводили сравнением времени удерживания и площадей пиков стандартных и исследуемых фенилтиокарбаматных производных аминокислот. В результате проведенных исследований в плодах овса посевного было идентифицировано 18 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми. Преобладающими аминокислотами в плодах овса посевного являются глутаминовая кислота, глицин, аспарагин и цистеин. Следовательно полученные данные позволили характеризовать плоды овса посевного как источник протеиногенных аминокислот.

Ключевые слова: аминокислота, овес, хроматограф, незаменимые, ninhydrin реакция, высокоэффективная жидкостная хроматография.

SULI MEVASI (AVENA SATIVA L.)NING AMINOKISLOTALAR TARKIBINI O'RGANISH

Dilobar NURULLAEVA (aurum_dilobar.pp@mail.ru), Nodira ARMANOVA (farmanovan70@mail.ru)
Toshkent farmatsevtika instituti, O'zbekiston

Birinchi marta O'zbekiston Respublikasida tayyorlangan suli mevasining aminokislotalar tarkibi o'rganildi. Aminokislotalarning xromatografik tekshiruvini bir o'lchamli qog'ozli xromatografiya usuli bilan amalga oshirildi, o'rganilayotgan xom ashyo tarkibida erkin aminokislotalar mavjudligini ko'rsatuvchi binafsha, qizil-binafsha va sarg'ish dog'lar kuzatildi. Suli mevasi tarkibidagi aminokislotalarning sifat va miqdori yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli yordamida, Agilent Technologies 1200 xromatografida, 75x4,6 mm Discovery HS C18 kolonkada olib borildi. Tekshirilayotgan erkin aminokislotalarning sifat tahlili va konsentratsiyaning miqdoriy hisobi standart va o'rganilayotgan feniltiokarbamat aminokislotalar hosilalarini, ushlanish vaqti va pislarning maydoni bilan solishtirib olib borildi. Olib borilgan tadqiqot natijalariga ko'ra suli mevasi tarkibida 18 ta aminokislota aniqlandi, bulardan 8 tasi almashinmaydigan aminokislotalardir. Suli mevasidagi ustunlikka ega aminokislotalar glutamin kislota, glitsin, asparagin, va tsisteindir. Natijada olingan ma'lumotlar bizga suli mevasini proteinoagen aminokislotalar manbai sifatida xarakterlash imkonini berdi.

Kalit so'zlar: aminokislota, suli, xromatograf, almashinmaydigan, ningidrin reaksiyasi, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi.

Введение

Известно, что растительный белок очень ценен благодаря своему аминокислотному составу, так как аминокислоты являются главными строительными элементами в живом организме. Более 70 различных аминокислот выявлены в природе, но только около 20 из них играют важнейшую роль в жизни человека. По способности синтезироваться в организме человека, животных и растениях все аминокислоты делятся на заменимые, незаменимые и частично незаменимые. По химическому строению биологически важные аминокислоты представляют собой амфотерные соединения, содержащие одновременно амино NH_2 и карбоксильную (COOH) группы у атома углерода [1].

На протяжении веков люди полагались на растения для удовлетворения основных потреб-

ностей, таких как пища, одежда все они производились или изготавливались из сорта растений, а также растения легли в основу сложнейших практик традиционной медицины, которые тысячелетиями использовались людьми во многих странах [2].

Наличие аминокислот в растениях и их биологическая активность способствуют эффективному действию на организм, а также придают другим биологически активным веществам (БАВ) легко усваиваемую форму, одновременно потенцируя их фармакологический эффект [3, 4].

В связи с этим овес представляет большой интерес для дальнейшего исследования, так как овес является второй (после сои) зерновой культурой с самым высоким содержанием аминокислот и считается основным источником белка в рационах [5].

Таблица 1

Форма градиента

Время, мин	Компонента В в подвижной фазе, %
0-2,5	1-6, изократический
2,5-40	6-30, линейный
40,1-45	30-60, линейный
45,1-50	60-60, изократический

Овес (*Avena sativa* L.) - хорошо известная однолетняя культура в умеренном климате. В мире она признана здоровой пищей, содержащей значительное количество растворимых диетических волокон, β -глюканов, жирорастворимых витаминов Е и полиненасыщенных жирных кислот, также обладает хорошо сбалансированным питательным составом. Это хороший источник углеводов и качественного белка с хорошим аминокислотным балансом [6, 7].

Целью настоящего исследования явилось изучение аминокислотного состава плодов овса посевного, заготовленного в Республике Узбекистан.

Методы исследования

Для работы использовали сырье, заготовленное в Самаркандской области Республики Узбекистан в период полного созревания плодов в 2017-2018 гг. После сбора сырье высушивали на воздухе, под навесом при температуре 15-20 °С.

Образцы для исследований готовили следующим образом: 5 г измельченных плодов заливали 80% этиловым спиртом, экстрагировали в течение 1 ч на водяной бане при температуре 70 °С. Далее извлечение фильтровали, сырье промывали 80% этиловым спиртом, элюаты объединяли, деалкоголизировали до водного остатка на роторном испарителе, дважды обрабатывали хлороформом. Водный слой отделяли и сгущали под вакуумом до небольшого объема и проводили качественную реакцию на аминокислоты, при которой наблюдалось краснофиолетовое окрашивание, свидетельствующее о наличии аминокислот [8, 9].

Хроматографическое обнаружение аминокислот проводили методом восходящей одномерной бумажной хроматографии (БХ) на бумаге (немецкая, марки FN-3 Mittelschnell laufend) в системе растворителей n -бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4:1:2) с использованием приема двойного разгона растворителей. Проявляли раствором нингидрина в ацетоне 2% [10]. Полученное ранее извлечение наносили на линию старта в количестве 10 мкл и хроматографировали в вышеописанных условиях.

Определение качественного и количественного содержания аминокислот плодов овса посевного проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на

хроматографе Agilent Technologies 1200 со спектрофотометрическим детектором. Хроматографическая колонка 75x4,6 mm Discovery HS C₁₈. Хроматографический анализ проводили в режиме градиентного элюирования.

Компонент А (подвижная фаза) – смесь 0,14 моль/л ацетата натрия и 0,05% триэтиламина (рН 6,4).

Компонент В - метилцианид. Скорость подачи элюента 1,2 мл/мин, поглощение 269 нм (таблица 1).

Использовали стандартные образцы следующих аминокислот (Sigma): аспарагин (асп), глутамин (глу), гидроксипролин (о-про), серин (сер), глицин (гли), гистидин (гис), аргинин (арг), треонин (тре), аланин (ала), пролин (про), тирозин (тир), валин (вал), лизин (лиз), изолейцин (илей), лейцин (лей), фенилаланин (фен), метионин (мет), цистин (цис), цистеин (цис-цис), триптофан (три), а также фенилизотиоцианат (Fluka), изопропиловый спирт (о.с.ч.), ацетат натрия (х.ч.), ацетонитрил о.с.ч. («Криохром», Россия), соляная кислота (х.ч.), гидроксид натрия (о.с.ч.), метилцианид о.с.ч.

Для построения градуировочной зависимости навески стандартных образцов растворяли в растворе кислоты хлористоводородной 1 моль/л. Аликвоты стандартного раствора 5, 10, и 15 мкл помещали в три пробирки. Для удаления кислоты хлористоводородной аликвоты высушивали досуха на водяной бане при температуре 60 °С в токе воздуха. К высушенным аминокислотам добавляли 0,10 мл раствора натрия гидроксида 0,15 моль/л, перемешивали, а затем добавляли 0,35 мл раствора фенилизотиоцианата в изопропиловом спирте и 0,05 мл бидистиллированной воды. Раствор оставляли на 20 мин при комнатной температуре, после чего высушивали досуха при температуре 60 °С. Сухой остаток растворяли в 1 мл бидистиллированной воды [10]. Полученные растворы подвергали хроматографическому анализу.

Для анализа аминокислот плоды овса посевного лиофилизировали, измельчали, отбирали навеску (200 мг) и экстрагировали смесью ацетонитрила с водой (1:9). В экстракте осаждали высокомолекулярные белки 20% трихлоруксусной кислотой (1:1) и после центрифугирования супернатант лиофилизировали. Сухой остаток растворяли в смеси триэтаноламин-этанол-вода (1:7:1) и высушивали. Эту операцию повторяли дважды для нейтрализации кислоты. Реакцией с фенилтиоизоцианатом синтезировали фенилтиокарбаматные производные (ФТК) аминокислоты по методу [11].

Выделение свободных аминокислот. К 1 мл исследуемого образца добавляли по 1 мл (точный объем) 20% трихлоруксусной кислоты, через 10 мин осадок отделяли центрифугирова-

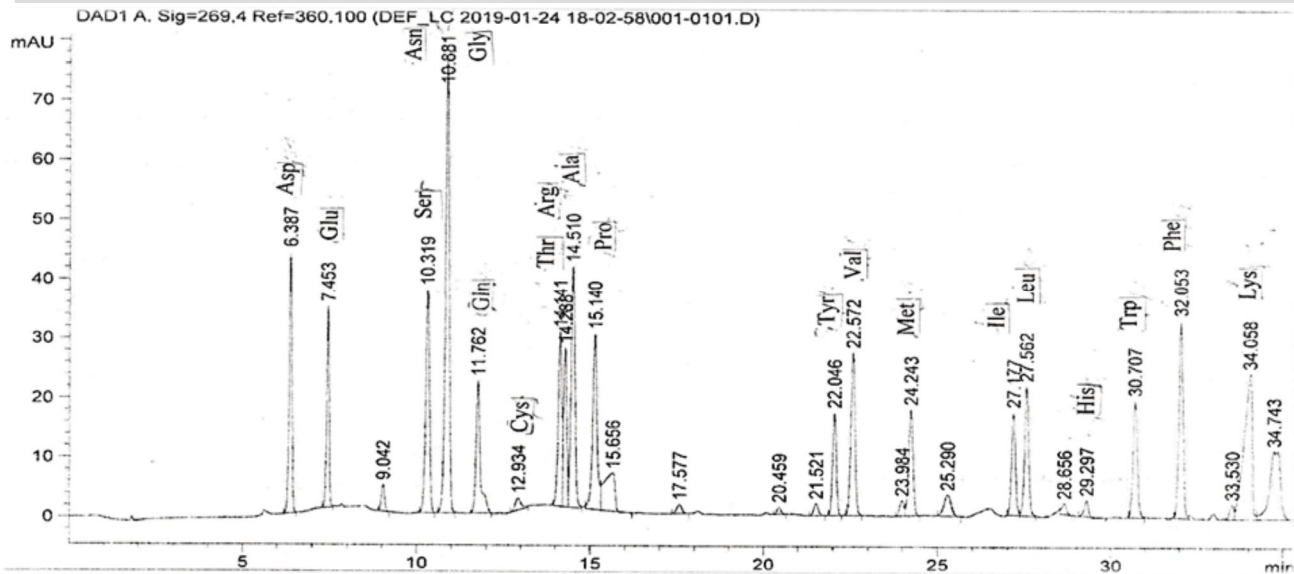


Рисунок 1. Хроматограмма аминокислот плодов овса посевного

нием при 8000 об/мин в течение 15 минут. Далее отобранную (0,1 мл) надосадочную жидкость лиофильно высушивали.

Качественный анализ и количественный расчет концентрации исследуемых свободных аминокислот проводили сравнением времени удерживания и площадей пиков стандартных и исследуемых ФТК-производных аминокислот.

Таблица 2
 Содержание аминокислот в плодах овса посевного, определенных методом ВЭЖХ

№	Аминокислота	Исследуемое сырье (мг/г)	% от общего количества
1	Asp	0,17622	6,789670
2	Glu	0,369406	14,233040
3	Ser	0,070419	2,713212
4	Gly	0,223147	8,597752
5	Asn	0,223481	8,610621
6	Gln	0,095339	3,673368
7	Cys	0,206408	7,952806
8	Thr*	0,112937	4,351411
9	Arg*	0,105792	4,076117
10	Ala	0,170498	6,569210
11	Pro	0,140211	5,402266
12	Tyr	0,133494	5,143463
13	Val*	0,176169	6,787711
14	Met*	0,072106	2,778211
15	Ile*	0,112526	4,335576
16	Leu*	0,092134	3,549881
17	Phe*	0,028471	1,096974
18	Lys HCl*	0,086653	3,338700
	Всего	2,595411	100,0

*- незаменимые аминокислоты

Результаты и обсуждение

Проведенная нингидриновая реакция позволила получить предварительное заключение о наличии в исследуемом сырье аминокислот, которое послужило для дальнейшего более углубленного исследования его состава. В результате хроматографического исследования сырья *Avena sativa* L. методом БХ после проявления раствором нингидрина в ацетоне 2% на хроматограммах в видимом свете были обнаружены пятна с характерным фиолетовым, красно-фиолетовым и желтым окрашиванием, что свидетельствует о наличии свободных аминокислот в плодах исследуемого образца. Результаты исследования по изучению качественного и количественного содержания аминокислот методом ВЭЖХ представлены в таблице 2 и на рис. 1.

Как видно из таблицы 2 и рис 1., плоды овса посевного содержат 18 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми (валин, изолейцин, метионин, лейцин, фенилаланин, лизин). По результатам полученных данных обнаруженные аминокислоты имеют следующее расположение:

Glu>Asn>Gly>Cys>Val>Asp>Ala>Pro>Tyr>
 >Thr>Ile>Arg>Gln>Leu>Lys>Ser>Met>Phe.

Следует отметить, что моноаминодикарбоновые кислоты исследуемого сырья представлены аспарагиновой и глутаминовой кислотами. Преобладающей аминокислотой в плодах овса посевного является глутаминовая кислота, которая является составной частью фолиевой кислоты, она участвует в важных процессах обмена веществ, в переаминировании (наряду с аспарагиновой кислотой), в окислительном дезаминировании с образованием 2-кетоглутаровой кислоты, вовлекаемой в цикл трикарбоновых кислот, в декарбоксилировании, приводящем к образованию важного нейтрального агента γ -амино

-мясляной кислоты, и тем самым оказывает существенное влияние на физиологическое состояние организма. В комплексе с другими БАВ (полисахаридами, липидами, макро- и микроэлементами) обнаруженные аминокислоты также усиливают терапевтическую значимость плодов овса посевного и дают возможность создания новых препаратов комбинированного действия на основе указанного вида лекарственного растительного сырья.

Закключение

Впервые изучен аминокислотный состав плодов овса посевного, заготовленных в Республике Узбекистан, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В исследуемом сырье было идентифицировано 18 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми. Полученные данные позволили характеризовать плоды овса посевного как источник протоиогенных аминокислот.

REFERENCES

1. Skurikhin I.M., Tutel'yan V.A. *Tablitsy khimicheskogo sostava i kaloriynosti produktov pitaniya. Spravochnik* [Tables of chemical composition and calorie content of food. Directory]. Moscow, DeliPrint Publ., 2007. 320 p.
2. Ramawat K.G., Merillon J.M. *Bioactive molecules and medicinal plants*. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K, 2008. 379 p.
3. Syrovaya A.O., Shapoval L.G., Makarov V.A., Petyumina V.N., Grabovetskaya Ye.R., Andreyeva S.V., Nakonechnaya S.A., Bachinskiy R.O., Luk'yanova L.V., Kozub S.N., Levashova O.L. *Aminokisloty glazami khimikov, farmatsevtov, biologov: v 2-kh t. Tom 1* [Amino acids through the eyes of chemists, pharmacists, biologists: in 2 volumes. Volume 1] Kharkov, Shchedra sadiba plyus, 2014. 228 p.
4. Drozdova L.I., Lupilina T.I. *Aminokislotnyy sostav travy ikotnika serogo* [Amino acid composition of hiccup gray grass]. *Vestnik VGU, SERIYA: Khimiya, biologiya, farmatsiya*, 2015, pp. 125-128.
5. Webster F.H., Wood P.J. *Oats: Chemistry and Technology*. AACCC International, Inc. Published 1986. Second edition 2011. 376 p.
6. Sternaa V., Zuteb S., Brunavaa L. Oat Grain Composition and its Nutrition Benefice. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2016, no. 8, pp. 252-256.
7. Prasad Rasane R., Jha A., Sabikhi L., Kumar A., Unnikrishnan V.S. Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, vol. 52, no. 2, pp. 662–675. doi: 10.1007/s13197-013-1072-1.
8. Nikiforov L.A., Belousov M.V., Fursa N.S. *Izucheniye aminokislotnogo sostava ryaski maloy (Lemna minor L.)* [The study of the amino acid composition of small duckweed (Lemna minor L.)]. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*, 2011, vol.10, no. 5, pp. 74-77. doi:10.20538/1682-0363-2011-5-74-77
9. Zenkova Ye.A., Degtyarev Ye.B. 1,2,3,4-tetragidro, 1,4-dioks, 2,2,3,3-tetragidrokso, 2,2,3,3-tetragidroksinaftalinskaya reagent dlya obnaruzheniya biogennykh aminov metodom TSKH i istochnik polucheniya ningidrinovogo reaktivа [1,2,3,4-tetrahydro, 1,4-dioxo, 2,2,3,3-tetrahydroxynaphthalene as a reagent for the detection of biogenic amines by TLC and a source for the production of ninhydrin reagent]. *Khim.-farm.zhurn.*, 2000, vol. 34, no. 2. pp. 46-48.
10. Razarenova K.N., Zakharova A.M., Protasova I.D. i Zhokhova Ye.V. *Aminokislotnyy sostav nadzemnoy chasti Geranium pratense L., Geranium sylvaticum L., Geranium palustre L.* [Amino acid composition of the aerial part of Geranium pratense L., Geranium sylvaticum L., Geranium palustre L.]. *Butlerovskiyе soobshcheniya*, 2012, vol. 31, no. 8, pp. 73-78.
11. Steven A., Cohen D.J. *Amino Acid Analysis Utilizing Phenylisotiocyanate Derivatives*. *Analyt. Biochem.*, 1988, vol. 17, no. 1, pp. 1-16.