

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПЛОДОВ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ

Е.Е. Логвинова^{1*}, И.А. Самылина², член-корр. РАН, докт. фарм. наук, профессор,
Т.А. Брежнева¹, А.И. Сливкин¹, докт. фарм. наук, профессор, Е.В. Блощицина¹

¹Воронежский государственный университет;
394006, Воронеж, Университетская пл., д. 1

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
119991, Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2

*E-mail: liza-ugl@mail.ru

Разработана методика подготовки плодов аронии черноплодной, имеющих окрашенные эпидермис и мякоть, к микроскопическому анализу. Методика апробирована при анализе свежих, высушенных и замороженных плодов.

Ключевые слова: арония черноплодная, *Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell., плоды, микроскопический анализ.

Арония черноплодная – *Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell. – это небольшое листопадное дерево или кустарник семейства розоцветных (*Rosaceae*). Родина растения – восточная часть Се-

верной Америки. В Россию арония черноплодная попала в 1935 г., позднее ее начали активно культивировать, особенно в нечерноземной зоне Европейской части страны. В качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) применяются плоды (*Fructus Aroniae melanocarpae*) как спазмолитическое, гипотензивное и антиоксидантное средство. Кроме того, настои плодов аронии используют в качестве вяжущего и гемостатического средства при кровотечениях [1, 2].

В Государственную фармакопею РФ XIII издания включены 2 фармакопейные статьи на сырье «Аронии черноплодной сухие плоды» и «Аронии черно-

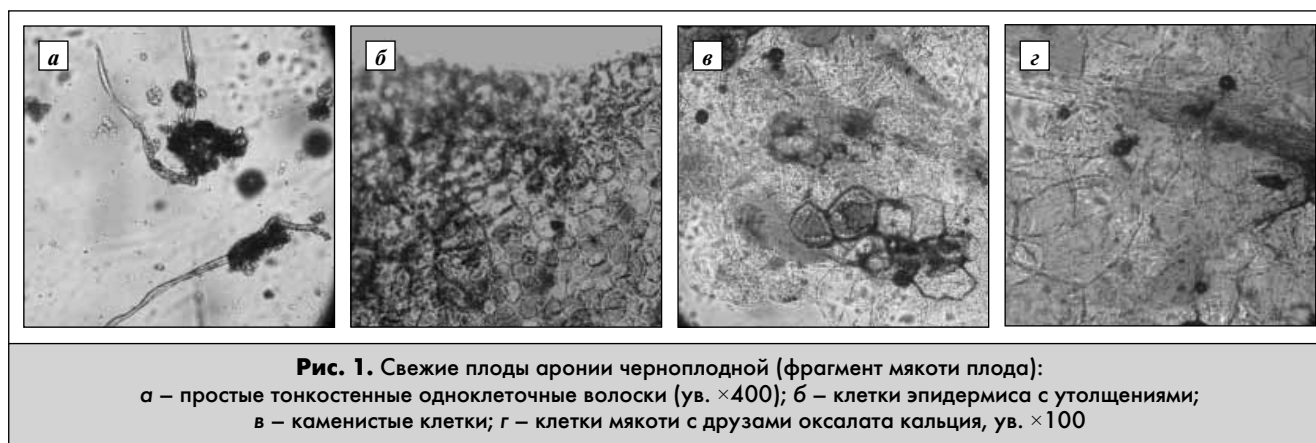


Рис. 1. Свежие плоды аронии черноплодной (фрагмент мякоти плода):
 а – простые тонкостенные одноклеточные волоски (ув. $\times 400$); б – клетки эпидермиса с утолщениями;
 в – каменистые клетки; г – клетки мякоти с друзами оксалата кальция, ув. $\times 100$

плодной свежие плоды» [3]. В плодах аронии черноплодной присутствуют антоциановые соединения, которые обеспечивают окраску сырья и создают определенные трудности при проведении микроскопического анализа.

Цель работы – поиск оптимальных условий микроскопического анализа плодов аронии черноплодной.

Экспериментальная часть

Объектом исследования явились плоды аронии черноплодной, заготовленные на территории Воронежской области в период сентябрь–октябрь 2013 г. от культивируемых растений. ЛРС представ-

ляло собой шаровидные сочные, яблокообразные плоды аронии размером 10–15 мм в поперечнике. На верхушке плодов видны остатки околоцветника. Цвет – черный, пурпурно-черный с сизым налетом, поверхность – блестящая, мякоть – фиолетово-красная. Семена – мелкие, коричневые. Вкус плодов – кисловато-сладкий, вязущий. Внешние признаки заготовленных плодов соответствовали нормативной документации [3].

Часть заготовленных плодов была подвергнута заморозке в морозильной камере при температуре -18°C , другая высушена в сушильном шкафу при температуре 60°C . В исследованиях использовали микроскоп марки «Биомед-6». Микропрепараты готовили в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи ГФ XIII издания «Плоды» [3].

На начальном этапе микроскопического анализа изучали анатомические признаки свежемороженых плодов аронии без предварительной подготовки ЛРС. Для проведения эксперимента эпидермис отделяли от мякоти плода, с наружной поверхности методом соскабливания снимали волоски. Для эпидермиса были характерны крупные, плотно прилегающие клетки почти правильной пятиугольной формы. Оболочки клеток – четкие, с утолщением. На поверхности плода при соскабливании на месте остатка от чашечки обнаружены длинные тонкие одноклеточные волоски толщиной 20,9 мкм, длиной 0,47 мкм. Темно-красные клетки мякоти располагались рыхло, в мякоти встречались одиночные или расположенные группами каменистые клетки, друзы оксалата кальция и единичные кристаллы оксалата кальция с диаметром, равным 11,76 мкм (рис.1).

Семена аронии мелкие (толщина – 63,7 мкм, длина – 34,3 мкм, диаметр – 16,7 мкм), поэтому для получения поперечных срезов их запаивали в парафиновые кубики. Как показал анализ, эпидермис семенной кожуры состоит из тонкостенных клеток, далее находится слой склеренхимы. В эндосперме и зародыше содержатся жирное масло и алейроно-

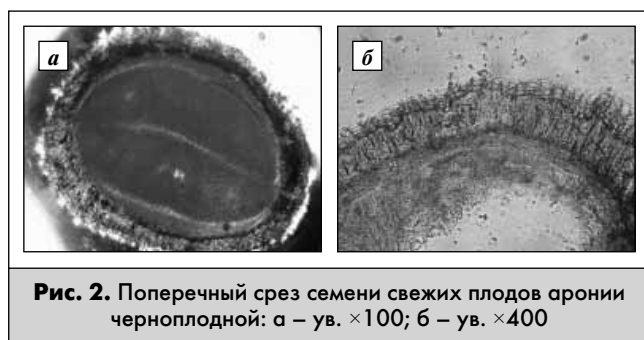


Рис. 2. Поперечный срез семени свежих плодов аронии черноплодной: а – ув. $\times 100$; б – ув. $\times 400$



Рис. 3. Высушенные плоды аронии черноплодной (фрагменты плода без дополнительной обработки): а – клетки мякоти с друзами оксалата кальция и каменистые клетки; б – простые одноклеточные волоски Ув. $\times 100$

вые зерна. Семя представлено крупными семядолями, окруженными слоем ровных клеток (рис. 2).

Для проведения микроскопического анализа высушенных плодов аронии их предварительно измельчали. Выявлению анатомических признаков в плодах аронии мешают пигменты и антоциановые соединения, присутствующие в сырье и окрашивающие основные диагностические элементы в темно-красный цвет (рис. 3). Для анализа подобных окрашенных объектов специалисты рекомендуют использовать кипячение ЛРС в 5% растворе гидроксида натрия для обесцвечивания [5]. После такой пробоподготовки в сырье наблюдалось отсутствие антоцианов (рис. 4.). Однако данный способ имеет такие недостатки: необходимость использования опасного реагента, а также в процессе кипячения сырья изменяется окраска и деформируются некоторые диагностически значимые элементы.

Так как антоцианы растворяются в воде, изучали возможность использования кипячения в воде для просветления препарата плодов аронии перед их микроскопированием. Установлено, что часть антоцианов все же остается в сырье даже после многократной экстракции водой (рис. 5).

Согласно данным литературы, лучшим просветляющим реагентом в анализе подобных окрашенных объектов считается хлоралгидрат. Поэтому на заключительном этапе пробоподготовки плоды аронии, предварительно обработанные водой, помещали на сутки в раствор хлоралгидрата и затем анализировали (рис. 6).

Таким образом, предварительная многократная обработка плодов водой обеспечивает наиболее полное удаление антоциановых соединений из анализируемого объекта, а последующее замачивание в растворе хлоралгидрата дает более четкое представление об анатомо-диагностических признаках без их повреждения.

Вывод

Разработана методика подготовки плодов аронии черноплодной, имеющих окрашенные эпидер-

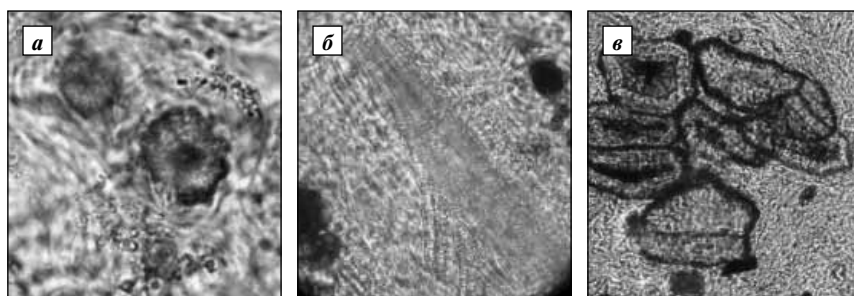


Рис. 4. Высушенные плоды аронии черноплодной (фрагменты плода после кипячения в 5% растворе гидроксида натрия: а – друзы оксалата кальция; б – сосуды проводящего пучка (ув. $\times 400$); в – каменистые клетки (ув. $\times 100$))

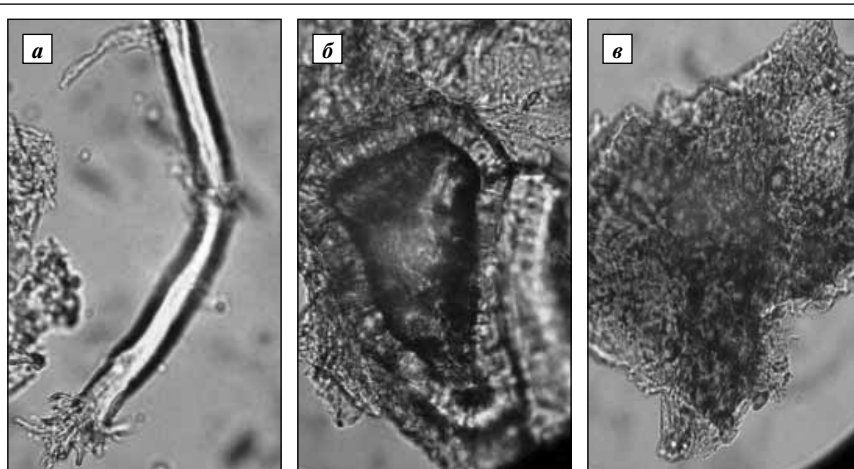


Рис. 5. Высушенные плоды аронии черноплодной (фрагменты плода после многократной экстракции водой): а – простой одноклеточный волосок; б – каменистые клетки; в – мякоть плода. Ув. $\times 400$

мис и мякоть, к микроскопическому анализу. Методика апробирована при анализе свежих, высушенных и замороженных плодов.

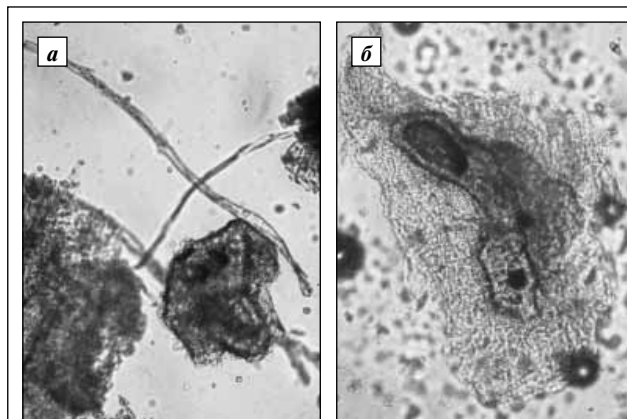


Рис. 6. Высушенные плоды аронии черноплодной (фрагменты плода после обработки хлоралгидратом): а – простой одноклеточный волосок; б – каменистые клетки в мякоти плода. Ув. $\times 100$

ЛИТЕРАТУРА

1. Разаренова К.Н., Жохова Е.В. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *Geranium* L. флоры северо-запада. Химия растительного сырья, 2011; 4: 187–192.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара: Офорт, СамГМУ Росздрава, 2007; 1239.
3. Логвинова Е.Е., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Качественный и количественный анализ флавоноидов в плодах рябины

черноплодной. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2015; 8: 47.

4. Государственная фармакопея РФ XIII издания, т. 2, 3. М.: МЗ РФ, 2016. (электронное издание).
5. Самылина И.А., Ермакова В.А., Бобкова Н.В., Аносова О.Г. Фармакогнозия. Атлас: том 3. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009; 488.

Поступила 28 октября 2014 г.

IMPROVEMENT OF A PROCEDURE FOR MICROSCOPIC ANALYSIS OF CHOKEBERRIES (*ARONIA MELANOCARPA*)

E.E. Logvinova¹; Professor I.A. Samylina², PhD; T.A. Brezhneva¹, PhD; Professor A.I. Slivkin¹, PhD; E.V. Bloschitsina¹

¹*Voronezh State University; 1, Universitetskaya Sq., Voronezh 394006*

²*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991*

SUMMARY

Black chokeberries (*Aronia melanocarpa*) have spasmolytic, antihypertensive, and antioxidative effects. They contain anthocyanins that ensure the coloring of raw materials, which gives rise to certain difficulties during microscopic analysis. A procedure to prepare black chokeberries to be microscopically analyzed has been developed. Multiple water reprocessing of raw materials promotes the most complete removal of anthocyanins from an analyzed object and further wetting in chloral hydrate solution for 24 hours gives a clear idea of the anatomical and diagnostic signs without their damage. The procedure has been tested when analyzing fresh, dried, and frozen berries.

Key words: black chokeberry, *Aronia melanocarpa* (Michx.)Ell., berries, microscopic analysis.

REFERENCES

1. Razarenova K.N., Zhokhova E.V. Comparative evaluation of the content of tannins in some species of the genus *Geranium* L. Flora Northwest. Chemistry of plant raw materials, 2011; 4: 187–192 (in Russian).
2. Kurkin V.A. Pharmacognosy, Samara: Ofort, SamGMU Medical, 2007; 1239 (in Russian).
3. Logvinova E.E., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids in fruits of black chokeberry. Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry, 2015; 8: 47 (in Russian).
4. State Pharmacopoeia of the RF, XIII ed., vol. 2, 3 Moscow: Minzdrav RF, 2016. (electronic publishing) (in Russian)
5. Samylina I.A., Ermakova V.A., Bobkova N.V., Anosova O.G. Pharmacognosy. Atlas.: vol. 3. Moscow: GEOTAR-Media, 2009; 488 (in Russian).