

Аминокислотный состав семян амаранта хвостатого, произрастающего в Узбекистане

И.К. Азизов, Г.А. Ахмадова

Ташкентский фармацевтический институт,
Республика Узбекистан, 100015, Ташкент, ул. Ойбек, д. 45

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Азизов Исмаи Казимович – профессор кафедры фармацевтической химии Ташкентского фармацевтического института (ТашФИ), председатель Комитета по контролю за наркотиками Государственного центра экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изданий медицинского назначения и медицинской техники Агентства по развитию фармацевтической отрасли при Министерстве Здравоохранения Республики Узбекистан, доктор фармацевтических наук. Тел.: +9 (9890) 731-92-44. E-mail: gulrano_92@mail.ru. *ORCID*: 0000-0002-1553-4932

Ахмадова Гульрано Азим-кизи – докторант кафедры фармацевтической химии ТашФИ, PhD. Тел.: +9 (9890) 731-92-44. E-mail: gulrano_92@mail.ru. *ORCID*: 0000-0002-1757-1139

РЕЗЮМЕ

Введение. Семена амаранта – важная зерновая культура. Они характеризуются высоким содержанием белка, лизина и других аминокислот. Биологическая ценность белков растения превосходит таковую белков молока, приближаясь к животным. Белок амаранта имеет сбалансированный аминокислотный состав. Отсутствие клейковины и высокое содержание белка делает семена амаранта хвостатого ценным продуктом для больных целиакией. В последнее время перспективно получение натуральных белковых концентратов амаранта.

Цель исследования: изучить состав и количественное содержание аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого после экстракции гексаном жирного масла.

Материал и методы. Семена амаранта хвостатого заготовлены на территории Андижанской области Республики Узбекистан, в октябре 2019 г. Собранное сырье было высушено на воздухе без доступа прямых солнечных лучей. Содержание аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Разработана и валидирована ВЭЖХ-методика определения аминокислот в семенах амаранта хвостатого. После экстракции из семян жирного масла гексаном в шроте установлено наличие 20 аминокислот. Дана их количественная оценка, общее содержание аминокислот составило 7,5570 мг/г.

Заключение. Дана качественная характеристика и количественная оценка аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого, произрастающего в Узбекистане.

Ключевые слова: амарант хвостатый, *Amaranthus caudatus* L., белок, аминокислоты, ВЭЖХ

Для цитирования: Азизов И.К., Ахмадова Г.А. Аминокислотный состав семян амаранта хвостатого, произрастающего в Узбекистане. Фармация, 2021; 70 (7): 37–40. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-07-06>

AMINO ACID COMPOSITION OF THE SEEDS OF AMARANTH (*AMARANTHUS CAUDATUS*) GROWING IN UZBEKISTAN

I.K. Azizov, G.A. Akhmadova

Tashkent Pharmaceutical Institute, 45, Oibek St., Tashkent 100015, Republic of Uzbekistan

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Azizov Ismat Kazimovich – Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry of Tashkent Pharmaceutical institute (TashPhI), Chairman of narcotics control Committee of sue «State center for expertise and standardization of medicines, medical devices and medical equipment» Agency for the Development of the pharmaceutical industry under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +9 (9890) 731-92-44. E-mail: gulrano_92@mail.ru. *ORCID*: 0000-0002-1553-4932

Akhmadova Gulrano Azim-kizi – Doctoral student of the Department of Pharmaceutical Chemistry of TashPhI, PhD. Tel.: +9 (9890) 731-92-44. E-mail: gulrano_92@mail.ru. *ORCID*: 0000-0002-1757-1139

SUMMARY

Introduction. Amaranth seeds are an important cereal crop. They are high in protein, lysine, and other amino acids. The value of plant proteins exceeds the biological value of milk proteins, approaching that of animal protein. Amaranth protein has a balanced amino acid composition. The absence of gluten and the high level of protein make amaranth seeds a valuable product for patients with celiac disease. Recently, the preparation of natural amaranth protein concentrates has been promising.

Objective: to study the composition and quantitative content of amino acids in amaranth seed meal after extraction of fatty oil with hexane.

Material and methods. The amaranth seeds were harvested in the Andijan Region of the Republic of Uzbekistan in October 2019. The collected raw materials were dried in air, without direct sunlight. The content of amino acids in the amaranth seed meal was determined by HPLC.

Results. A HPLC procedure for the determination of the levels of amino acids in the amaranth seeds was developed and validated. After extraction of fatty oil from the seeds with hexane, their meal was found to contain 20 amino acids. The latter were quantified; the total content of the amino acids was 7.5570 mg/g.

Conclusion. The authors provide the qualitative characteristics and quantification of the amino acids in the seed meal of amaranth growing in Uzbekistan.

Key words: amaranth, *Amaranthus caudatus* L., protein, amino acids, HPLC.

For reference: Azizov I.K., Akhmadova G.A. Amino acid composition of the seeds of amaranth (*Amaranthus caudatus*) growing in Uzbekistan. *Farmatsiya*, 2021; 70 (7): 37–40. <https://doi.org/10/29296/25419218-2021-07-06>

Введение

Амарант хвостатый, или ширица (*Amaranthus caudatus* L.) – мощное однолетнее травянистое растение семейства амарантовых (*Amaranthaceae*) с толстым прямым стеблем высотой до 150 см. Мелкие, чаще всего красные цветки, собраны в верхушечные длинные густые колосовидно-метельчатые соцветия, эффектно свисающие с растения в виде пучка. Длина соцветий может достигать 45 см. Родина амаранта хвостатого – Южная Америка, но растение широко распространено как сорняк в обоих полушариях от тропиков до умеренной зоны. В Республике Узбекистан амарант хвостатый является локализованным растением.

Многие части растения, включая листья и семена, съедобны и употребляется в пищу в Индии и Южной Америке. Из семян получают муку для выпечки, а свежие листья употребляют в салатах. В медицине нашло применение амарантовое масло, богатое полиненасыщенными жирными маслами и скваленом. Витамин Е, содержащийся в амарантовом масле, находится в своей редкой токотриенольной разновидности, которая в 40–50 раз эффективнее обычных токоферольных форм [1–3].

Семена амаранта – важная зерновая культура. В последнее время их все чаще называют «зерном XXI века», поскольку по содержанию питательных веществ семена амаранта более ценны, чем пшеница [4]. Семена амаранта характеризуются высоким содержанием белка, лизина и других аминокислот. Биологическая ценность белков растения превосходит таковую белков молока, приближаясь к животным. При оценке пищевой ценности по 100-бальной системе белок сои равен 68 условным единицам, ячменя – 63, пшеницы – 57, кукурузы – 44, амаранта – 75. Белок коровьего молока имел коэффициент равный 72 баллам [5].

Белок амаранта имеет наиболее сбалансированный аминокислотный состав. Содержание лизина в нем в 2 раза выше, чем у пшеницы. По содержанию треонина, фенилаланина, тирозина и триптофана он приравнивается к белку молока. Отсутствие клейковины и высокое содержание белка делает семена амаранта хвостатого цен-

ным продуктом для больных целиакией (непереносимостью глютена) и вегетарианцев. В смеси с другими зерновыми культурами он может стать ценным пищевым продуктом в рационе питания, покрывающим дефицит белка и повышающим физиологическую и питательную ценность за счет взаимного обогащения белков [6].

В последнее время перспективно получение натуральных белковых концентратов амаранта. Наряду с этим в недостаточной мере изучен аминокислотный состав шрота семян амаранта хвостатого после извлечения жирного масла.

Цель исследований – изучить состав и количественное содержание аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого, после экстракции гексаном жирного масла.

Материал и методы

Объектом исследования служили семена амаранта хвостатого, выращиваемого в Андижанской области Республики Узбекистан.

Для определения содержания аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Идентификацию ФТК-аминокислот проводили на хроматографе Agilent Technologies 1200 на колонке 75×4.6 mm Discovery HS C18. Подвижная фаза «А» – 0,14M CH₃COONa + 0,05% ТЭА (триэтиламин) рН 6,4; подвижная фаза «В» – ацетонитрил для ВЭЖХ. Хроматографические условия: скорость потока 1,2 мл/мин, температура колонки 25°C, длина волны 269 нм, объем введения 5 мкл.

При разработке методики определения использовали стандартные образцы (СО) аминокислот – аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты, глутамина, оксипролина, серина, глицина, гистидина, аргинина, треонина, аланина, пролина, тирозина, валина, лизина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, метионина, цистина и цистеина.

Испытуемый образец и стандарт растворяли в этиловом спирте и перед нанесением фильтровали через фильтр Миллипор с размерами пор 0,2 мкм.

Результаты и обсуждение

Для построения градуировочной зависимости использовали исходный концентрированный раствор СО аминокислот в 1М растворе хлористоводородной кислоты. Для этого в пять пробирок помещали соответственно по 150, 100, 50, 25 и 15 мкл исходного раствора и высушивали при 65°С в потоке воздуха, поступающем через капилляр при разряжении, создаваемом водоструйным насосом. К высушенным аликвотам добавляли 0,10 мл раствора гидроксида натрия 0,15М и тщательно перемешивали. Затем приливали 0,35 мл раствора фенилизотионата в изопропиловом спирте, перемешивали и добавляли 0,05 мл дистиллированной воды. В случае мутности раствора пробирку прогревали 10–15 с на водяной бане при 60°С до просветления раствора. Выдерживали 20 мин при комнатной температуре и сразу высушивали на бане при 60°С в течение 10–15 мин. Сухой остаток растворяли в 1 мл дистиллированной воды и фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

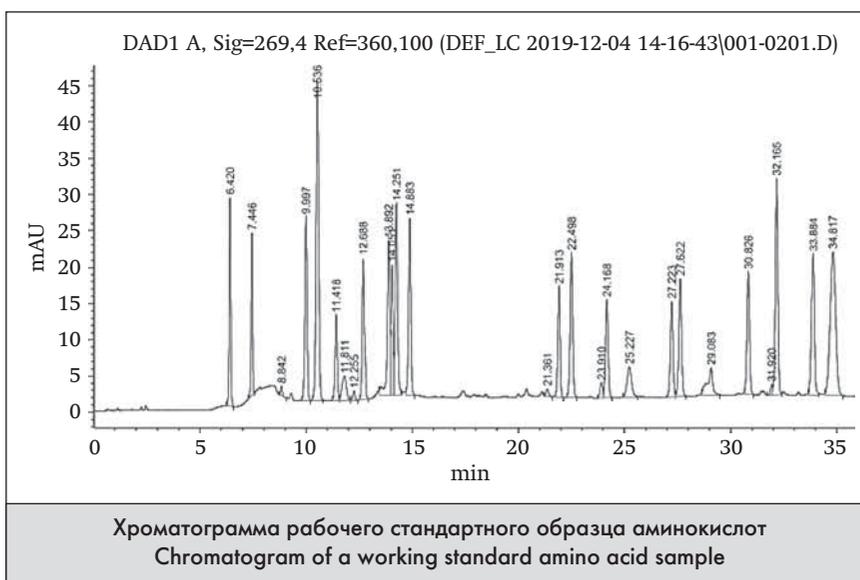
Полученные растворы последовательно вводили в хроматографическую колонку. Хроматограмма рабочего стандартного образца аминокислот представлена на рисунке.

При приготовлении исследуемого образца вначале проводили осаждение белков и пептидов водного экстракта в центрифужных стаканах. Для этого к 1 мл исследуемого образца добавляли по 1 мл (точный объем) 20% трихлоруксусной кислоты. Через 10 мин осадок отделяли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 15 мин. 0,1 мл надосадочной жидкости лиофильно высушивали.

Полученные растворы фильтровали через фильтр Миллипор, с размером частиц пор 0,2 мкм и хроматографировали в указанных условиях. На основании площади пиков рассчитывали количественное содержание аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 5},$$

где: S_1 – площадь пика аминокислот по хроматограмме испытуемого образца; a_0 – концентрация аминокислот в растворе стандарта, мг/мл; S_0 – площадь пика аминокислот по хроматограмме



раствора стандарта; a_1 – концентрация аминокислот в растворе испытуемого образца, мг/мл.

Метрологические характеристики разработанной методики представлены в табл. 1.

Валидационные исследования разработанной методики были проведены по показателям линейность и прецизионность. Линейность методики определяли получением хроматограмм растворов в 80, 90, 100, 110, 120% концентрациях от номинального. Коэффициент корреляции линейного графика составил $R^2=0,9987$. Параметр «прецизионность аналитической методики» включает в себя повторяемость, промежуточную прецизионность и воспроизводимость. Правильность методики устанавливали методом добавок, где отклик вычисляли путем исследуемого образца с известной концентрацией субстанции. Прецизи-

Таблица 1

Метрологическая характеристика методики ВЭЖХ количественного определения аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого (f=4; t=2,78; P=95%)

Table 1

Metrological characteristics of HPLC procedure for the quantification of amino acids in the amaranth seed meal (f = 4; t = 2.78; P = 95%)

| № | Навеска образца, г | Сумма аминокислот | Метрологические характеристики |
|---|--------------------|-------------------|---|
| 1 | 2,001 | 7,557 | $X_{\text{сред}}=7,5886$ $S^2=0,0000052$ $S=0,002277$ $\Delta X_{\text{сред}}=0,002831$ $\hat{\epsilon}=0,27\%$ |
| 2 | 2,004 | 7,605 | |
| 3 | 2,012 | 7,589 | |
| 4 | 2,002 | 7,591 | |
| 5 | 2,006 | 7,601 | |

Таблица 2
Содержание аминокислот в семенах амаранта хвостатого

присутствие 20 аминокислот с общим содержанием 7,5570 мг/г (табл. 2).

Table 2
The content of amino acids in the amaranth seeds

| № | Аминокислота | Время удерживания | S ₀ PCO аминокислот | S ₁ аминокислоты амаранта | Концентрация аминокислот прота семян амаранта хвостатого, мг/г |
|----|---------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------------|--|
| 1 | Аспарагиновая | 6,42 | 152,2 | 100,1 | 0,4111 |
| 2 | Глутаминовая | 7,446 | 107,7 | 103,7 | 0,6018 |
| 3 | Серин | 9,997 | 185,6 | 38,1 | 0,1283 |
| 4 | Глицин | 10,536 | 191,6 | 36,6 | 0,1194 |
| 5 | Аспарагин | 10,536 | 191,9 | 36,8 | 0,1198 |
| 6 | Глутамин | 11,418 | 85,4 | 58,8 | 0,4303 |
| 7 | Цистеин | 11,811 | 47,8 | 245,7 | 3,2126 |
| 8 | Треонин | 12,688 | 148,5 | 58,9 | 0,2480 |
| 9 | Аргенин | 13,892 | 178,2 | 112,4 | 0,3942 |
| 10 | Аланин | 14,251 | 210,6 | 93,7 | 0,2781 |
| 11 | Пролин | 14,883 | 179,9 | 50,4 | 0,1751 |
| 12 | Тирозин | 21,913 | 115 | 35,3 | 0,1918 |
| 13 | Валин | 22,498 | 169 | 31,6 | 0,1169 |
| 14 | Метионин | 24,168 | 117,9 | 15,7 | 0,0832 |
| 15 | Изолейцин | 27,223 | 112,9 | 18,6 | 0,1030 |
| 16 | Лейцин | 27,622 | 143,8 | 23,6 | 0,1026 |
| 17 | Гистидин | 29,083 | 66,3 | 15,6 | 0,1471 |
| 18 | Триптофан | 30,825 | 147,5 | 61,4 | 0,2602 |
| 19 | Фенилаланин | 32,165 | 253,6 | 75,4 | 0,1858 |
| 20 | Лизин | 33,884 | 192,9 | 76,5 | 0,2479 |
| | Сумма: | | | | 7,5570 |

онность методики доказывали путем сравнения результатов анализа, проведенного как в одинаковых условиях, так и при изменении внешних обстоятельств. Результаты определения правильности и прецизионности соответствовали нормативным требованиям, критерии приемлемости по относительному стандартному отклонению (RSD, %) для всех уровней концентраций не превышал 2%. Для определения промежуточной прецизионности измеряли содержание фармацевтического активного ингредиента в шести пробах, полученных разными аналитиками в разные дни.

Разработанная и валидированная методика использована для определения аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого. Установлено

Заключение

Разработана и валидирована ВЭЖХ-методика определения аминокислот в шроте семян амаранта хвостатого, произрастающего в Узбекистане. Установлено, что в шроте семян содержится 20 аминокислот, дана их количественная оценка.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Офицеров Е.Н., Костин В.И. Углеводы амаранта и их практическое использование. Под ред. Оводова Ю.С. Ульяновск, 2001; 180.
2. Растительные лекарственные средства Абу Али ибн Сино (справочник). Ташкент, 2003.
3. Высочина Г.И. Амарант (*Amaranthus* L.): химический состав и перспективы использования. Химия растительного сырья. 2013; 2: 514.
4. Кононков П.Ф., Гинс В.К., Гинс М.С. Амарант – перспективная культура XXI века. М.: РУДЫ, 1999.
5. Caselato-Sousa V.M., Amaya-Farfan J. State of knowledge on amaranth grain. J. of Food Science. 2012; 77: 93–104. DOI:10.1111/j.1750-3841.2012.02645.x
6. Офицеров Е.Н., Костин В.И. Углеводы амаранта и их практическое использование. Ульяновск, 2001; 180.

References

1. Officerov E.N., Kostin V.I. Amaranth carbohydrates and their practical use. Ed. Ovodova Yu.S. Ulyanovsk, 2001; 180 (in Russian).
2. Directory «Herbal medicines Abu Ali ibn Sino», Tashkent, 2003 (in Russian).
3. Vysochina G.I. Amaranth (*Amaranthus* L.): chemical composition and prospects of use. Khimiya rastitel'nogo syr'ya. 2013; 2: 514 (in Russian).
4. Kononkov P.F., Gins V.K., Gins M.S. Amaranth is a promising culture of the XXI century. Moscow: RUDY, 1999 (in Russian)
5. Caselato-Sousa V.M., Amaya-Farfan J. State of knowledge on amaranth grain. J. of Food Science. 2012; 77: 93–104. DOI:10.1111/j.1750-3841.2012.02645.x
6. Ofitserov E.N., Kostin V.I. Amaranth carbohydrates and their practical use. Ulyanovsk, 2001; 180 (in Russian).

Поступила 29 сентября 2021 г.

Received 29 September 2021

Принята к публикации 23 октября 2021 г.

Accepted 23 October 2021