

УДК 577.115+665.322

І. О. Алексєєвська, В. М. Шепеленко, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет

ОСОБЛИВОСТІ СКЛАДУ КАРБОНІЛЬНИХ КОМПОНЕНТІВ ПОВЕРХНЕВИХ ЛІПІДІВ ВОДНИХ РОСЛИН

Досліджено склад карбонільних компонентів поверхневих ліпідів водних рослин. Встановлений значний вміст оксосполук у поверхневих ліпідах водних рослин, який досягає 60 %. Визначено значну гетерогенність оксосполук поверхневих ліпідів водних рослин.

Carbonyl components content of aquatic plants' surface lipids has been studied. High concentration of oxo-compounds in surface lipids of aquatic plants has been shown. It could reach 60 % of total value. Sufficient heterogeneity of surface lipids has been demonstrated. Unsaturated character of oxo-components in aquatic plants' surface lipids has been assumed in the present work.

Вступ

Поверхневі ліпіди (ПЛ) листя рослин – позаклітинний гідрофобний шар, біохімічний бар'єр, який забезпечує пасивну стійкість рослинного організму, перша точка контакту рослин із навколишнім середовищем. ПЛ – гетерогенна суміш естерів, жирних кислот, алканів, алканолів і міnorних компонентів, що мають гідрофобність за рахунок значної величини вуглецевого радикала ($C_{13}-C_{36}$) [7; 8]. Найважливіші функції ПЛ – захист фотосинтетичного апарату рослини від УФ-опромінення, проникнення гідрофільних токсикантів, патогенів і комах [7; 8; 11].

Особливу увагу на сьогоднішній день привертають водні рослини, які можуть бути застосовані для очищення стічних вод. Показано, що водні рослини здатні накопичувати забруднювачі води та летючі органічні поллютанти. Окремі автори припускають, що ПЛ водних рослин повинні мати унікальний склад за рахунок того, що вони повинні додатково захищати фотосинтетичний апарат рослини та важливі клітинні компоненти не тільки від УФ-опромінення, а й від променів, що відбиваються від поверхні води.

Вивчення складної гетерогенної суміші ПЛ потребує розробки нових підходів із використанням сучасних спектрометричних і хроматографічних методів. До актуальних аспектів вивчення ПЛ відносяться питання родо- та видоспецифічних особливостей складу ПЛ, існування закономірностей формування ПЛ у процесі розвитку рослини, залежність газостійкості та інших видів стійкості рослин зі складом ПЛ [7–9; 11].

Матеріал і методи дослідження

Об'єкти досліджень – окремі рослини наступних видів: аїр болотний (*Acorus calamus* L.), осока гостра (*Carex acuta* L.), рогіз вузьколистий (*Typha angustifolia* L.), рогіз широколистий (*T. latifolia* L.), очерет звичайний (*Phragmites communis* (Cav.) Trin. ex Steud.), ситник розложистий (*Juncus effusus* L.). Рослини були зібрані по берегах р. Самара (Дніпропетровська обл.).

Екстракцію поверхневих ліпідів проводили за методиками J. T. Martin зі співавторами [11]. Певну масу зразка свіжого листя обробляли очищеним і перегнаним хлороформом у співвідношенні 1 : 2 за об'ємом. Екстракцію проводили протягом 30 с трічі. Об'єднані екстракти сушили над безводним Na_2SO_4 при $+20^{\circ}C$ протягом двох годин. Екстракт фільтрували, промивали хлороформом, упарювали в потоці азоту та отримували сумарну фракцію, яку зважували. 2,4-динітрофенілгідразони

(2,4-ДНФГ) оксосполук отримували по реакції з 2,4-динітрофенілгідразином після розчинення сумарних ПЛ у етанолі [2].

На першому етапі для відпрацювання оксосполук проведена серія аналізів для різних співвідношень об'ємів спиртових екстрактів і осаджувального розчину. Внаслідок підбору експериментальних умов [4; 5] відпрацьована методика з оптимальним (10 : 1) співвідношенням екстракту й осаджувального розчину. Розраховували кількість оксосполук (у %) до загальної кількості.

Тонкошарову хроматографію 2,4-ДНФГ проводили та пластини Silufol висхідним способом у системі розчинників «діетиловий етер : хлороформ» у співвідношенні 1 : 10 [3]. Хроматограми висушували та фарбували в парах йоду. Для ідентифікації окремих сполук використовували величину *R_f*. Хроматографічну рухливість речовин дослідних зразків порівнювали з такою для чистих речовин.

Аналіз інфрачервоних спектрів поглинання ПЛ проводився на приладі FT-IR System 2000PE (Germany) у суспензії речовини й вазелінового масла на оптичному склі з броміду кальцію. Аналізували по 30 мг проби [4].

Аналіз ультрафіолетових спектрів поглинання ПЛ проводився на приладі UV-Specord при довжині хвилі 250–500 нм. Для цього аналізу листя на дві години заливали діетиловим етером. Екстракти випаровували з наступним розчиненням у невеликій кількості етилового спирту [1].

Результати та їх обговорення

Альдегіди та кетони (оксосполуки) – найменше вивчені речовини, що входять до складу ПЛ. Існує обмежена кількість даних як про структуру оксосполук, так і про поширеність їх у складі ПЛ різних рослин. Нами вперше показано (табл. 1) значний вміст оксосполук у ПЛ листя водних рослин. Вміст 2,4-ДНФГ оксосполук у водних рослин становить 40–60 % сумарних ПЛ.

Таблиця 1

Концентрація 2,4-ДНФГ у поверхневих ліпідах рослин

Назва рослин	Кількість 2,4-ДНФГ, % до суми поверхневих ліпідів
<i>Acorus calamus</i>	60,6
<i>Carex acuta</i>	55,4
<i>Typha angustifolia</i>	40,4
<i>Phragmites communis</i>	50,5

Найбагатшим на вміст оксосполук виявився аїр болотний (*Acorus calamus*). Вміст у ньому оксосполук становить 60,6 % сумарних ПЛ. Такий вміст карбонільних сполук – незвичайне явище для листя рослин. Вміст оксосполук на рівні 55–58 % показано лише для ПЛ зерна сорго [1]. За компонентним складом 2,4-ДНФГ похідні ПЛ сильно відрізняються (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика компонентного складу 2,4-ДНФГ-похідних за даними тонкошарової хроматографії

Назва рослини	Значення <i>R_f</i>
<i>Acorus calamus</i>	0,064; 0,100; 0,173; 0,300; 0,436; 0,518; 0,600; 0,791; 0,882; 0,955
<i>Carex acuta</i>	0,075; 0,159; 0,224; 0,346; 0,720; 0,766; 0,888; 0,916
<i>Typha angustifolia</i>	0,044; 0,097; 0,212; 0,300; 0,487; 0,566; 0,673; 0,743; 0,893
<i>Phragmites communis</i>	0,094; 0,179; 0,745; 0,773; 0,858; 0,924

За даними компонентного складу 2,4-ДНФГ-похідних ПЛ можна відмітити значну гетерогенність останніх у водних рослин. Максимальна гетерогенність оксосполук притаманна *Acorus calamus* (10 компонентів). Нами вперше встановлено, що у

водних рослин у ПЛ містяться оксосполуки різної полярності, тобто з різною довжиною вуглецевого ланцюга. Якщо припустити, що ми маємо справу з монооксосполуками (дикетони та диальдегіди майже не згадуються у складі ПЛ вивчених рослин), то, порівнюючи хроматографічну рухливість отриманих 2,4-ДНФГ-похідних із даними, отриманими раніше [6], можна припустити, що їхній вуглецевий ланцюг складається з більше ніж C_{30} (більш неполярні оксосполуки), а не C_{28} (більш полярні оксосполуки). Тобто, спектр оксосполук у водних рослин включає сполуки з довжиною ланцюга більше C_{30} (4 компоненти) і менше C_{28} (від 2 до 4 компонентів). Базуючись на даних [6], можна припустити наявність оксигенованого компонента з довжиною ланцюга C_{29} , оскільки відповідна зона на хроматограмі має R_f значення якого знаходиться між значеннями R_f для C_{28} та C_{30} компонентів. Для формулювання детальних висновків, безумовно, потрібні хромато-мас-спектрометричні дослідження.

Нами вивчалися ІЧ-спектри ПЛ карбонільвмісних сполук досліджених водних рослин (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика ІЧ-спектрів поглинання карбонільвмісних сполук досліджених рослин

Рослина	Смуга поглинання, ν cm^{-1}	Співвідношення інтенсивностей смуг поглинання
<i>Typha latifolia</i>	1640	—
	1710	1 : 1,75
	1740	1 : 1,65
<i>Juncus effusus</i>	1640	1 : 1
	1710	1 : 1,35
	1740	1 : 1,95

Якщо порівнювати ці дані з аналогічними даними для хвойних рослин [4], очевидно, що у спектрах водних рослин присутня ще одна смуга поглинання, що свідчить про більшу гетерогенність карбонільних сполук у складі поверхневих ліпідів водних рослин.

У хвойних область карбонільного поглинання має дві чітко виражені смуги 1710–1740 cm^{-1} . У водних рослин в області карбонільного поглинання з'являється ще одна смуга – 1640 cm^{-1} , що підтверджує дані, отримані у попередньому розділі, щодо більшої гетерогенності оксосполук водних рослин, яких немає у складі ПЛ хвойних. Припущено, що саме оксосполуки відіграють значну роль у формуванні блискучої поверхні листка, здатної відбивати сонячне світло. Аналізуючи дані, представлені у таблиці 3, можна відмітити, що для водних рослин знайдено поглинання у довголанцюговій області 1640 cm^{-1} . Це може свідчити про ненасиченість оксосполук у складі ПЛ водних рослин. Отже, вірогідно, що поряд із більшою гетерогенністю для оксосполук ПЛ водних рослин характерна більша ненасиченість.

Проведений аналіз УФ-спектрів виявив поглинання в області з довжиною хвилі 250–550 нм, що відповідає такому для сполук, які мають у своєму складі ненасичені сполуки, або хромофори (табл. 4).

Таблиця 4

Максимуми поглинання розчинів поверхневих ліпідів водних рослин (нм)

Назва рослини	λ_{max} , (нм)
<i>Phragmites communis</i>	373, 405, 417, 295, 312, 360
<i>Carex acuta</i>	420, 297, 300, 380, 405, 409, 470
<i>Typha angustifolia</i>	295, 300, 298, 308, 335, 355, 370, 405, 415, 500
<i>Acorus calamus</i>	295, 300, 305, 307, 312, 315, 323, 330, 338, 345, 350, 360, 405, 520

ПЛ досліджених рослин містять значну кількість речовин, що мають ненасичений характер або хромофорні групи (або перше та друге разом). На нашу думку, це можуть бути ненасичені жирні кислоти, флавоноїди, цинамати та інші сполуки, а не тільки альдегіди та кетони.

Висновок

На основі отриманих даних вперше показано наявність оксосполук (альдегідів і кетонів) у поверхневих ліпідах листя водних рослин. Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів оксосполук становить 40–60 % сумарних поверхневих ліпідів. Методом тонкошарової хроматографії показано компонентний склад 2,4-динітрофенілгідразонів оксосполук поверхневих ліпідів рослин, який становить 6–10 компонентів.

Найбільшу гетерогенність оксосполук показано для поверхневих ліпідів *Acorus calamus*. Вивчені ІЧ-спектри поверхневих ліпідів водних рослин. Поглинання в карбонільній області 1640 см^{-1} підтверджує гетерогенність оксосполук поверхневих ліпідів водних рослин. За допомогою УФ-спектроскопії показано ненасичений характер поверхневих ліпідів водних рослин, що значно відрізняє їх від поверхневих ліпідів інших рослин та підкреслює їх унікальні властивості.

Бібліографічні посилання

1. **Мамаду Д.** Поверхневі ліпіди зерна сорго та кукурудзи: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: К., 2002. – 18 с.
2. **Органикум.** – М.: Мир, 1979. – 442 с.
3. **Прохорова М. И.** Большой практикум по углеводному и липидному обмену / М. И. Прохорова, З. Н. Тупикова. – Л.: ЛГУ, 1965. – 220 с.
4. **Спектральні та термогравіметричні характеристики поверхневих ліпідів хвої різного віку** / Н. І. Штеменко, О. В. Батюкова, О. В. Штеменко, Т. В. Дрик // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т. 71, № 3. – С. 119–121.
5. **Штеменко Н. І.** Особливості складу поверхневих ліпідів листя хвойних / Н. І. Штеменко, О. В. Дукачова, Л. Ф. Заморуєва // Укр. біохім. журн. – 1997. – Т. 69, № 4. – С. 61–65.
6. **Штеменко Н. І.** Неполярні компоненти і оксигеновані сполуки поверхневих ліпідів сорго / Н. І. Штеменко, Мамаду Д., І. І. Паталах // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – Вип. 8. – Д.: Вид-во ДНУ, 2000. – С. 61–66.
7. **Epicuticular wax** of olive leaves / G. Bianchi, G. Vlahov, C. Anglani, C. Murelly // Phytochemistry. – 1993. – Vol. 32. – P. 49–52.
8. **Influence** of leaf surface on spore deposition and the epiphytic growth of phytopathogenic fungi / E. A. Allen, H. C. Hoch, J. R. Streadman, R. G. Stavelly // Microbial ecology of leaves. Andrews J. H., Hirano S. S., eds. – New York: Springer-Verlag, 1991. – P. 87–110.
9. **Jetter R.** Epicuticular crystals of nonacosan-10-ol: In vitro reconstruction and factor influencing crystal chain habits / R. Jetter, M. Riederer // Planta. – 1994. – Vol. 195. – P. 227–270.
10. **Kerstiens G.** Signaling across the divide: a wider perspective of cuticular structure – function relationships // Trends in plant science. – 1996. – Vol. 1. – P. 125–129.
11. **Martin J. T.** Defense mechanism of plants against fungi: fungistatic properties of apple leaf wax / J. T. Martin, R. F. Batt, R. T. Burchill // Nature. – 1957. – Vol. 180. – P. 796–797.

Надійшла до редколегії 17.01.06.