

УДК 581.17:547.426.23:582.675.1

С. Н. ШИШ

**СПЕЦИФИКА ВЛИЯНИЯ ЭКЗОГЕННОЙ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ
И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА
НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И СОСТАВ МАСЛА ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ
(*NIGELLA SATIVA* L.)**

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: svetlana.shysh@gmail.com*

В настоящей работе оценено влияние экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) в концентрации 10^{-6} – 10^{-11} % и электромагнитного излучения (ЭМИ) в частотном диапазоне 53–78 ГГц (время воздействия 8, 12 и 20 мин) на ростовые процессы и состав масла семян чернушки посевной (*Nigella sativa* L.). В полевых опытах показан дозозависимый эффект действия обработок на ростовые процессы чернушки. Установлены отличия в жирнокислотном составе масла после предпосевной обработки ЭМИ и АЛК.

Ключевые слова: чернушка посевная (*Nigella sativa* L.), семена чернушки, масло чернушки, 5-аминолевулиновой кислоты, электромагнитное излучение.

S. N. SHYSH

**THE SPECIFIC EFFECT OF EXOGENOUS 5-ALA AND MILLIMETER RANGE EMR
ON THE GROWTH PROCESSES AND THE OIL COMPOSITION OF NIGELLA SEED (*NIGELLA SATIVA* L.)**

*Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: svetlana.shysh@gmail.com*

The effect of exogenous 5-ALA (concentration 10^{-6} – 10^{-11} %) and electromagnetic radiation (EMR) (53–78 GHz, the exposure time – 8, 12 and 20 min) on black cumin (*Nigella sativa* L.) growth processes and seed oil composition were estimate. In field experiments dose-dependent effect of the treatments on the growth processes of black cumin has been shown. Differences in the oil fatty-acid composition after EMR and 5-aminolevulinic acid (ALA) pre-treatment was established.

Keywords: black cumin (*Nigella sativa* L.), semen nigella, oil nigella, 5-aminolevulinic acid, electromagnetic radiation.

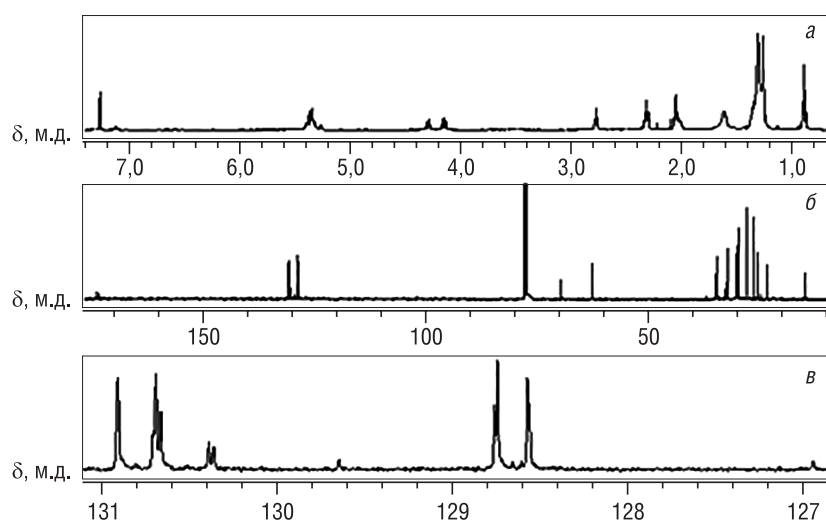
Введение. Перспективной культурой для возделывания на территории Беларуси является *Nigella sativa* L. (чернушка посевная) ввиду биологической ценности семян и масла этого растения [1]. *N. sativa*, растение сем. Лютиковые, родом из Южной и Юго-Западной Азии, Северной Африки и Южной Европы. С древнейших времен она используется в качестве важного лекарственного растения и пряности для овощей, бобовых и различных видов хлебобулочных изделий [2]. В ряде работ, посвященных исследованию состава и свойств масла *N. sativa*, приводятся данные о его благотворном влиянии на организм человека и животных [1]. На сегодняшний день описаны наиболее активные компоненты масла *N. sativa*, основными из которых являются жирные кислоты (ЖК) и характерное соединение с антиканцерогенными свойствами – тимохинон [2]. Поэтому актуальным является изучение не только способов повышения посевных качеств и ростовых процессов у *N. sativa*, произрастающей в Беларуси, но и влияния предпосевных воздействий на метаболизм ЖК и тимохинона в семенах.

Цель настоящего исследования – определение влияния экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) и электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (ЭМИ) на ростовые процессы и состав масла *N. sativa*, произрастающей в Центральной Беларуси.

Материалы и методы исследования. В качестве стимулирующих факторов использовали экзогенную АЛК и ЭМИ, так как имеется ряд работ, подтверждающих их росторегуляторное действие [3, 4]. Концентрации были выбраны исходя из имеющихся в литературе результатов об эффективности влияния сверхнизких концентраций ряда химических соединений [5]. Предпосевная обработка семян АЛК проводилась методом инкрустации [6] в четырех рабочих концентрациях (АЛК 1 – 10^{-6} %; АЛК 2 – 10^{-7} ; АЛК 3 – 10^{-9} ; АЛК 4 – 10^{-11} %) и ЭМИ в трех режимах: Р1 (53–78 ГГц, 20 мин), Р2 (64–66 ГГц, 12 мин), Р3 (64–66 ГГц, 8 мин). Обработка ЭМИ проводилась в Институте ядерных проблем БГУ на запатентованной лабораторной установке для микроволновой обработки семян различных сельскохозяйственных культур в широком частотном диапазоне (от 37 до 120 ГГц) с плавной регулировкой мощности от 1 до 10 мВт. Для анализа были взяты семена *N. sativa*, собранные с растений, выращенных в 2014 г. на экспериментальном участке отдела биохимии и биотехнологии растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Перед тем как проводить экстракцию, семена измельчали в агатовой ступке. Затем 50 мг измельченных семян заливали 1 мл дейтерированного хлороформа (CDCl_3) и в закрытой емкости выдерживали в течение 12 ч. Перед записью спектров ЯМР растворы фильтровали. Готовили экстракты и записывали спектры для нескольких образцов каждого вида. Для количественного определения содержания масла его экстракцию проводили из 1 г семян.

ЯМР-спектроскопия проведена канд. хим. наук Е. Д. Скаковским в лаборатории физико-химических методов исследования ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси». Спектры ЯМР-растворов в CDCl_3 записаны на спектрометре AVANCE-500 (Bruker) с рабочей частотой 500 и 126 МГц для ядер ^1H и ^{13}C соответственно. Запись проводили при температуре 293 К в 5-миллиметровых стандартных ампулах. Накопление сигналов для протонных спектров осуществляли в течение 10 мин, а для углеродных – в течение 12 ч. В качестве внутреннего стандарта в случае ядер ^1H использовали сигнал CHCl_3 (примесь в CDCl_3 , $\delta = 7,27$ м. д.), для ядер ^{13}C – сигнал растворителя ($\delta = 77,7$ м. д.). Экспериментальные данные по ЯМР-анализу получены и обработаны с помощью пакета программ XWIN-NMR 3.5 [7], для статистической обработки результатов исследования использованы программы М. Excel и Stadia 8.0.

Результаты и их обсуждение. В результате ряда лабораторных экспериментов по изучению всхожести и морфометрических параметров ювенильных растений *N. sativa* установлено, что отклик растений на изучаемые воздействия зависит от агрономических качеств семян и не имеет стабильного эффекта. Отмечено, что стимулирующий эффект от ЭМИ во всех режимах и АЛК 3 наблюдается у семян *N. sativa* с низкой всхожестью (до 10 %) [8]. При всхожести 50–60 % стимулирующего эффекта нами не установлено. Показано, что в процессе роста максимальные отличия от контроля по высоте растений при действии ЭМИ и АЛК наблюдается на начальных этапах роста.



Спектры ЯМР хлороформенного экстракта семян *N. sativa*: а – ^1H , б – ^{13}C , в – ^{13}C (область двойных связей)

Установлены жирнокислотный и компонентный составы семян растений чернушки посевной при культивировании в Центральном ботаническом саду и его изменения под воздействием АЛК и ЭМИ, а также компонентный состав масла контрольных и опытных растений. Согласно полученным спектральным данным (см. рисунок), основную часть масла *N. sativa* составляют триацилглицериды. Кроме того, в значительных количествах присутствуют парацимол и тимохинон, спектры поглощения которых подробно описаны в работе [7]. В составе масла исследованных образцов содержатся линолевая, олеиновая, эйкозодиеновая кислоты, насыщенные кислоты, а также тимохинон и парацимол. Выявлено, что предпосевная обработка приводит к изменению в количественном составе ЖК и тимохинона. Так, под влиянием обработок АЛК во всех концентрациях отмечено увеличение количества ЖК, лучший эффект наблюдался при обработке АЛК 10^{-11} % (содержание линолевой кислоты увеличивается на 15 %, олеиновой – на 29, эйкозодиеновой – на 39 %). Воздействие ЭМИ приводит к перераспределению в количестве ЖК в сторону их увеличения в процентном отношении к общему количеству ЖК в контроле (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Содержание компонентов в хлороформных экстрактах семян *Nigella sativa* L., %

Соединение	Контроль	АЛК 1	АЛК 2	АЛК 3	АЛК 4	Эпин 1	Режим 1	Режим 2	Режим 3
Линолевая кислота	55,4	55,1	55,7	58,1	63,9	58,4	63,4	60,4	64
Олеиновая кислота	13,6	16,9	13,8	15,3	17,6	16	13,7	11,1	14,5
Эйкозодиеновая кислота	3,8	3,9	3,6	3,3	5,3	3,2	3,5	2,9	3,5
Насыщенные ЖК	21,4	16,1	21,7	17,7	9,7	18,2	16,4	22,6	14,9
Парацимол	2,3	3,5	1,6	1,8	0,1	0,8	0,1	0,1	0,1
Тимохинон	0,6	1,2	0,4	0,9	0,3	0,6	–	–	–

П р и м е ч а н и е. В табл. 1, 2 приведены средние значения по выборкам, величина среднего не превышала 5 %.

По данным многочисленных работ, тимохинон обладает рядом положительных свойств – противовоспалительным, противосудорожным, антиоксидантным, противомикробным и др. Тимохинон способен также ингибировать синтез гистаминов и рост раковых клеток [9], поэтому повышение его содержания является важным показателем. Проведенные нами исследования показали, что данный эффект отмечен при обработке АЛК 1 (содержание тимохинона увеличивается практически в 2 раза по отношению к контролю), в то время как воздействие ЭМИ приводит к расходованию тимохинона в процессе роста растения, в результате чего накопления тимохинона в семенах не происходит.

На основании ЯМР-спектров ^{13}C проведена оценка относительного содержания ненасыщенных ЖК, а также их распределение в триацилглицеридах. Так, углероды при двойной связи ЖК имеют следующие химические сдвиги: для олеиновой кислоты δ составляет 130,36; 130,39; 130,69; 130,71 м. д., для линолевой – 128,57; 128,58; 128,75; 128,77; 130,67; 130,69; 130,91 м. д. Все сигналы являются дублетами (кроме последнего) и имеют различные химические сдвиги, обусловленные местом присоединения кислотных остатков к концевым или центральной гидроксильным группам глицерина. Сравнение интегральных линий в этих дублетах позволяет оценить положение кислотных остатков в молекуле триглицерида (табл. 2). Если таковое отсутствует, соотношение составляет 2:1.

Т а б л и ц а 2. Соотношение ненасыщенных жирных кислот, присоединенных к боковым гидроксильным группам глицерина, и идентичных кислот, присоединенных к центральной гидроксильной группе глицерина, в масле семян *Nigella sativa* L.

Соединение	Контроль	АЛК 1	АЛК 2	АЛК 3	АЛК 4	Режим 1	Режим 2	Режим 3
Линолевая кислота	1,46	1,41	1,37	1,54	1,49	1,27	1,49	1,64
Олеиновая кислота	1,27	1,14	1,42	1,56	1,16	1,24	1,39	1,35

Приведенные в табл. 2 данные показывают, что обе ненасыщенные кислоты в большинстве случаев находятся в центральном положении глицерина (особенно олеиновая), а насыщенные кислоты присоединяются преимущественно к боковым гидроксильным группам, т. е. находятся в положении 1 и 3.

Заключение. Таким образом, влияние ЭМИ и АЛК на ростовые процессы *N. sativa* наиболее выражено в начале вегетационного периода. ЯМР-анализ хлороформных экстрактов семян чернушки позволил выявить отличия в их жирнокислотном составе и строении триацилглицеридов под влиянием предпосевной обработки ЭМИ и АЛК. Установлено наличие в семенах *N. sativa* парацимола и тимохинона и их количественные изменения при обработке АЛК и ЭМИ. Показано снижение количества парацимола и тимохинона в семенах *N. sativa* под воздействием ЭМИ.

Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ № Б14М-073.

Автор выражает благодарность заведующему лабораторией физико-химических методов исследования ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси» канд. хим. наук Е. Д. Скаковскому за помощь в проведении ЯМР-анализа экстрактов семян чернушки, канд. физ.-мат. наук В. Н. Родионовой и другим сотрудникам лаборатории радиофизических исследований НИИ Ядерных проблем БГУ за помощь в проведении физических обработок семян, а также научным руководителям канд. биол. наук, доценту А. Г. Шутовой и канд. биол. наук, доценту Ж. Э. Мазец за помощь в планировании и проведении исследований.

Список использованной литературы

1. Нурмагомедова, П. М. Свойства чернушки посевной (*Nigella sativa*) / П. М. Нурмагомедова, М. Г. Омариёва // Медицина и здравоохранение: материалы II междунар. науч. конф. – Уфа, 2014. – С. 62–65.
2. Belete, Y. HPTLC assay of thymoquinone in black seed and black seed oil (*Nigella sativa* L.) and identification of thymoquinone conversion with UV-VIS / Y. Belete, E. Dagne // J. of Drug Delivery & Therapeutics. – 2014. – N 4 (4). – P. 5–9.
3. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапиролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск: Беларус. навука, 2012. – 413 с.
4. Петров, И. Ю. Стимуляция процессов жизнедеятельности в растениях микроволновым излучением / И. Ю. Петров, Э. В. Морозова, Т. В. Моисеева // Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине и биологии: сб. докл. – М.: ИРЭ АН СССР, 1991. – Т. 2. – С. 502–504.
5. Галь, Л. Н. Физические принципы функционирования материи живого организма / Л. Н. Галь. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2014. – 400 с.
6. Шиш, С. Н. Особенности влияния эпина и 5-аминолевулиновой кислоты на ростовые процессы *Calendula officinalis* L. / С. Н. Шиш, А. Г. Шутова, Ж. Э. Мазец // Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем: тр. Белорус. гос. ун-та. – 2013. – Т. 8. – Ч. 2. – С. 125–129.
7. Анализ хлороформных экстрактов семян чернушки / Е. Д. Скаковский [и др.] // Тр. БГТУ. Сер. Химия, технология органических веществ и битехнология. – 2015. – № 4 (177). – С. 234–239.
8. Шиш, С. Н. Особенности реакции антиоксидантной системы растений *Calendula officinalis* L. и *Nigella sativa* L. на химические и физические воздействия / С. Н. Шиш, А. Г. Шутова, Ж. Э. Мазец // Образование и наука в Беларуси. – Минск: БГПУ, 2014. – С. 322–326.
9. Рудь, Н. К. Основные результаты фитохимического и фармакологического исследования чернушки посевной / Н. К. Рудь, А. М. Сампиев, Н. А. Давитаян // Науч. ведомости. Сер. Медицина. Фармация. – 2013. – № 25 (168). – Вып. 24. – С. 207–212.

Поступила в редакцию 22.03.2016