

# LATVIJĀ SAVVAĻĀ AUGOŠU UN KULTIVĒTU OGU VIRSMAS VASKU SASTĀVA IZPĒTE

**Autori: Linards Kļaviņš\*, Jorens Kviesis, Lauris Arbidāns**

Saziņai: linards.klavins@gmail.com



## Kopsavilkums



Augu virsmas vasku izpēte sākās pirms 100 gadiem, kad tika izolēts C<sub>31</sub> alkāns no spinātu lapām. Virsmas vasku pētījumi ir strauji attīstījušies kopā ar jaunu analītisko metožu izveidošanu un pilnveidošanu. Mūsdienas, plaši tiek izmantotā gāzes hromatogrāfija/masas spektrometrija, kas ļauj efektīvi sadalīt sarežģītus maisījumus atsevišķās vielās un tās analizēt pēc to masas spektriem. Augu virsmas vaskiem ir būtiska nozīme auga iedarbībai ar biotiskajiem un abiotiskajiem faktoriem- šis ārējais auga slānis aizsargā augu no dehidrācijas, ekstrēmām temperatūrām un dažāda veida vides mainības, kā arī no kaitēkļu uzbrukumiem, pelējumiem, baktērijām. Nesenāko pētījumu motivācija ir iespēju izpēte paildzināt produktu derīguma termiņu un samazināt mikrobiālo infekciju riskus. Galvenās savienojumu grupas augu virsmas vaskos ir triterpenoīdskvalēna atvasinājumi, kam ir neskaitāmas bioloģiskās un farmakoloģiskās aktivitātes. Tiek veidoti dažādi augu lipīdus (ari vaskus) saturoši produkti, piemēram, funkcionālā pārtika, skaistum kopšanas produkti, kas patērētājam tiek piedāvāti kā inovatīvi un patērētājam draudzīgi dabas produkti.

## Rezultāti

### Virsmas vasku ekstrakcija

Virsmas vasku iegūšanai tika izmantotas neskartas, svaigas ogas. Aptuveni 300g ogu 24h tika mērcētas hloroformā (99.9% p.a.) vai heksāna/etil acetāta maisījumā (1:2), iegūtais ekstrakts tika žāvēts ar Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēts un ietvaicēts pazeminātā spiedienā. Tika iegūta istabas temperatūrā cieta, birstoša, ūdenī nešķīstoša pulverveida viela (Attēls 1). **Iegūtais ogu virsmas vasku daudzums- 0.3-0.5g vasku/300g svaigu ogu.**

**Attēls 1.** Iegūtie virsmas vasku ekstrakti. Hloroforma ekstraktiem piemita gaiša, viegli rozā krāsa, turpretim heksāna/etil acetāta ekstrakti bija zaļgani, kas liecina par hlorafile klātbūtni. (a) Virsmas vasku hloraforma ekstrakts. (b) Virsmas vasku heksāna/etil acetāta ekstrakts.



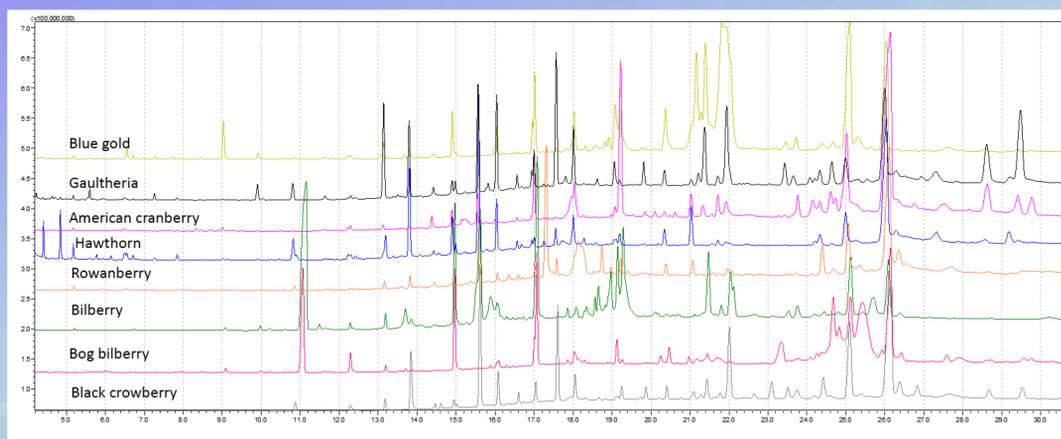
### Pētītās ogas

Apskatītas 8 dažādas savvaļā sastopamas ogu sugas un 8 krūmmleņu kultivāri.



**Attēls 2.** Dažas no pētījuma apskatītajām ogām. (a) Zilenes (*Vaccinium uliginosum* L.) (b) Pīlādzis (*Sorbus sorbus* L.) (c) Melnā vistene (*Empetrum nigrum* L.) (d) Gaultheria (*Gaultheria procumbens* L.) (e) Vilkābele (*Crataegus rhipidohylla*) (f) Krūmmellenes (*Vaccinium corymbosum* L.). Visas pētītās ogas tika ievāktas Latvijā un ekstrahētas svaigā veidā 4-6h pēc to ievākšanas.

### Virsmas vasku hromatogrāfiskā analīze

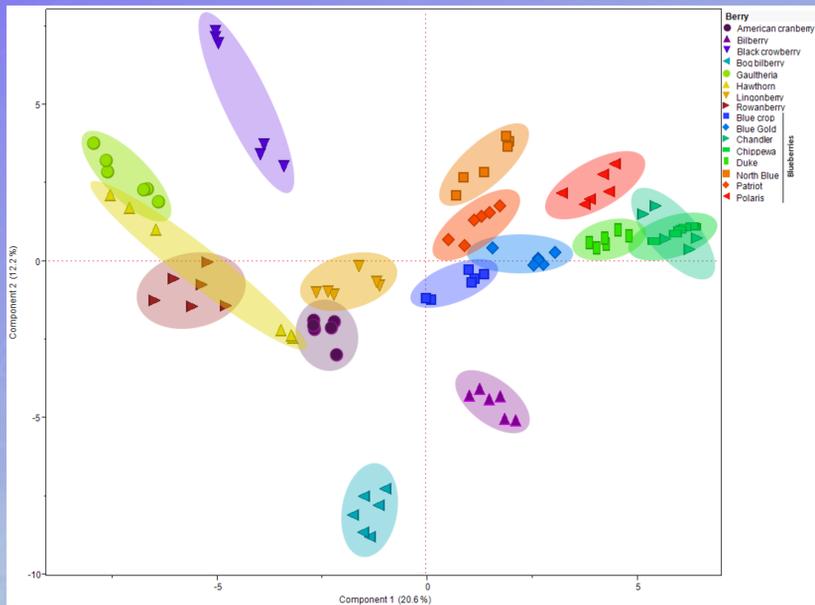


**Attēls 3.** Hromatogrammu vizuāls salīdzinājums, kas parāda atšķirības starp dažādām pētījumā apskatītajām ogām.

Kopā tika atrastas 80 dažādas vielas, no kurām 42 bija iespējams identificēt izmantojot NIST masas spektru datubāzi. Visvairāk dažādu vielu tika atrastas krūmmleņu kultivārā 'Chandler'- 57, vismazākā vielu daudzveidība tika atrasta lielogu dzērvenē- 38 vielas.

### Dažādām ogu sugām ir atšķirīgs virsmas vasku sastāvs

	Pīlādži	Vilkābele	Dzērvene	Gaultheria	Vistene	Brūklene	Parastā melle	Patriot	Polaris	Blue crop	Chandler	Duke	Blue Gold	Chippewa	North Blue
beta-Sitosterol	0.29	0.39	0.32	0.14	0.03	0.05	<LOD	0.04	0.03	0.07	0.09	0.03	<LOD	0.24	0.07
beta-amyirin	<LOD	0.02	0.20	0.96	0.36	0.24	0.76	1.79	1.91	<LOD	1.87	3.20	<LOD	2.58	1.44
alpha-amyirin	0.19	0.06	0.25	1.96	2.25	1.07	1.89	<b>9.52</b>	<b>11.07</b>	6.76	4.21	3.84	1.63	6.37	2.35
Lupeol	0.13	0.04	<LOD	<LOD	0.03	0.95	0.21	<LOD	<b>10.20</b>	9.21	1.42	1.02	<b>15.68</b>	<LOD	<LOD
Lanosterol	0.01	<LOD	<LOD	0.02	0.22	2.58	<LOD	<LOD	0.00	0.51	0.23	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Uvaol	<LOD	<LOD	0.44	<LOD	0.01	0.01	<LOD	<LOD	0.00	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ursolic acid	2.19	2.41	6.63	4.38	4.98	4.07	2.97	4.24	<b>9.30</b>	2.12	2.94	3.36	3.23	0.46	5.12



**Attēls 4.** Principiālo komponentu analīze (PCA) izmantojot GC/MS datus. Analīze tika veikta izmantojot visu datu kopu (*non-targeted analysis*). Katram ogu vasku paraugam tika veikti seši atkārtējumi (3 atkārtējumi hloraforma un 3 atkārtējumi heksāna/etil acetāta ekstraktiem). Pirmie divi komponenti izskaidro 33% datu no datu kopas.



Veiktā PCA analīze parāda būtiskas atšķirības starp dažādām ogu sugām balstoties uz to virsmas vasku sastāvu. Pētītie krūmmleņu kultivāri parāda savstarpēju līdzību, bet, piemēram, parastās mellenes un zilenes ir būtiski atšķirīgas no krūmmellenēm. Veiktās ekstrakcijas, izmantojot divu veidu šķīdinātājus, dod līdzīgus rezultātus, neskatoties uz to, vilkābeles un melnās vistenes ekstrakti, atkarībā no izmantotā šķīdinātāja, parāda atšķirīgus rezultātus. Tas norāda uz ekstrakcijas optimizācijas nepieciešamību, balstoties uz ekstraktā vēlamo ekstraktvielu sastāvu.

**Tabula 1.** Ogu vasku slānī esošie fitosteroli un to kvantificēšanas dati. Fitosterolu klātbūtne apstiprināta pēc to izdalīšanās indeksa (*Kovat's retention index*) un savienojuma masas spektra. Visas vērtības izteiktas g vielas/100g ogu vasku ekstrakta. <LOD- vielas saturs mazāks par detekcijas limitu. Lielākajā koncentrācijā tika atrasts alpha-amyirin un Lupeol krūmmleņu kultivārā 'Polaris'.

**Secinājumi:** Pētījumā tika apskatītas 16 dažādas ogas un ogu kultivāri un pētītas to atšķirības atkarībā no ogu virsmas vasku sastāva. Virsmas vasku izpēte tika veikta izmantojot gāzes hromatogrāfiju/masas spektrometriju (GC/MS), ekstraktvielas tika sililētas un ekstraktos esošie savienojumi identificēti kā TMS esteri. Kā vielas ar vislielāko koncentrāciju ekstraktos tika atrasti fitosteroli (diterpeni, triterpeni), alkāni, spirti (tajā skaitā otrējie spirti), taukskābes. Kopumā tika atrastas 80 dažādas vielas, no kurām 42 tika identificētas pēc to masas spektra un izdalīšanās indeksa. Iegūtie rezultāti tika izmantoti, lai veiktu daudzfaktoru analīzi (PCA). PCA sagrupēja pētītās ogas atkarībā no to virsmas vasku sastāva- tas parāda atšķirības starp dažādu sugu ogām un to savstarpējo līdzību. Krūmmleņu kultivāri savā starpā ir līdzīgi, bet tika novērotas būtiskas atšķirības ar citām *Vaccinium* ģints ogām. Ogu un augļu virsmas vasku izpēte var dot būtisku ieguldījumu šo produktu glabāšanas termiņa paildzināšanai, tādējādi paaugstinot produktu kvalitāti un mazinot tirgotāju un ogu audzētāju zaudējumus kaitēkļu uzbrukuma gadījuma vai nepareizas uzglabāšanas rezultātā.

**Acknowledgements:** This work was supported by the European Regional Development Fund within the project No. 1.1.1.1/16/A/047 "Genus *Vaccinium* berry processing using 'green' technologies and innovative, pharmacologically characterized biopharmaceutical products".