

МНОГОМЕРНЫЙ АНАЛИЗ СПЕКТРОВ РЕНТГЕНОВСКОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ПОДХОД ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПЛОДОВ И СЕМЯН *MANGIFERA INDICA, ACTINIDIA DELICIOSA, NIGELLA SP.*

М.А. Морозова

к.х.н., доцент, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)
E-mail: gor-mariya@yandex.ru

А.В. Марухленко

аспирант, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Т.В. Максимова

к.фарм.н., доцент, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Дж. Ньямбосе

магистр, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Актуальность. Специфика растительного сырья как объекта рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) обусловлена неоднородным накоплением элементов на субклеточном и тканевом уровне – в растениях элементы присутствуют в адсорбированной, коллоидной, ионной формах, как органоминеральные комплексы и полимерные соединения. Поэтому исследование растительных субстратов ограничено наличием матричных эффектов, для учета которых необходим набор стандартов – образцов сравнения.

Цель работы – без применения стандарта исследовать степень обусловленных географией произрастания межвидовых и внутривидовых различий в элементных профилях растительных образцов, применяя метод главных компонент для обработки спектров рентгеновской флуоресценции.

Материал и методы. Предложенный подход применен для исследования элементных профилей плодов растений рода *Actinidia*, *Mangifera* и семян растений рода *Nigella*. Работа выполнена на энергодисперсионном рентгенофлуоресцентном спектрометре EDX-7000 Shimadzu. Для обработки данных методом главных компонент использовали ПО OriginPro 2017 (OriginLab, США).

Результаты. Показана эффективность метода главных компонент в обработке массива данных рентгеновской флуоресценции образцов. В результате анализа элементного состава высушенных семян плодов киви выявлено, что образцы, вне зависимости от региона произрастания, достаточно схожи по химическому составу, который, по-видимому, является видоспецифичным. Установлено, что применение РФА для оценки содержания кальция в съедобной части плода по стабильным и воспроизводимым результатам, полученным для семян в целом перспективно. На примере плодов манго показано, что измельчение тканей плода приводит к увеличению интенсивности сигнала флуоресценции всех элементов. Рентгенофлуоресцентный анализ позволяет открыть далеко не все элементы в составе растительной матрицы, однако соотношения значений сигналов флуоресценции складывается в характерную и видоспецифичную картину.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности исследований по оценке возможности использования РФА в совокупности с методом главных компонент для экспресс-анализа элементного состава растительного материала и визуализации различий, обусловленных особенностями накопления элементов растениями разных видов или регионов произрастания.

Ключевые слова: рентгенофлуоресцентная спектрометрия, элементный анализ, метод главных компонент, *Nigella*, *Actinidia*, *Mangifera*.

Для цитирования: Морозова М.А., Марухленко А.В., Максимова Т.В., Ньямбосе Дж. Многомерный анализ спектров рентгеновской флуоресценции как возможный подход для сравнительного изучения элементного состава плодов и семян *Mangifera Indica*, *Actinidia Deliciosa*, *Nigella sp.* Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(4):10–14. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-04-02>

Растительные материалы, наряду с природными минералами, все чаще становятся приоритетными объектами рентгенофлуоресцентного анализа (РФА). Данный метод обладает рядом преимуществ перед традиционной элементной спектроскопией (ААС, АЭС). В первую очередь, для РФА характерна высокая производительность за счет относительно простой пробоподготовки [1].

Специфика растительного сырья как объекта РФА обусловлена неоднородным накоплением элементов на субклеточном и тканевом уровне – в растениях элементы присутствуют в адсорбированной, коллоидной, ионной формах, как органоминеральные комплексы и полимерные соединения. Таким образом, исследование растительных субстратов ограничено наличием матричных эффектов, для учета которых необходим набор стандартов – образцов сравнения. Существующая международная коллекция достаточно разнообразна и постоянно пополняется [2, 3].

Ранее в работах авторов была представлена технология экспресс-контроля элементного состава растительного сырья с использованием РФА; приемлемость результатов доказана на основе сравнения с данными ААС с электротермической атомизацией и применением международного референс-образца [4].

Ц е л ь р а б о т ы – без применения стандарта исследовать степень обусловленных географией произрастания межвидовых и внутривидовых различий в элементных профилях растительных образцов, применяя метод главных компонент для обработки спектров рентгеновской флуоресценции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на энергодисперсионном рентгенофлуоресцентном спектрометре EDX-7000 Shimadzu. Спектр рентгеновской флуоресценции каждого образца записывали по 3 раза при одинаковых настройках прибора: кювета универсальная, майларовая пленка для определения тяжелых металлов и серы, полипропиленовая пленка для определения легких элементов; ширина коллиматора – 10 мм, время экспозиции – 100 с, атмосфера – воздух. Для обработки полученных результатов использовали ПО OriginPro 2017 (OriginLab, США).

Объекты исследования: плоды киви разных регионов происхождения (Абхазия – 3 плода, Иран – 3 плода, Чили – 3 плода, Китай – 3 плода, Новая Зеландия – 3 плода и Турция – 3 плода), закупленные в торговых сетях Москвы (Россия).

Образцы, отобранные для исследования, по внешним признакам относились к виду *A. deliciosa* [5]. Исследуемые плоды *Mangifera indica* включали по одному образцу из Перу, Китая, Израиля, Египта, Бразилии, а также два плода манго, страна происхождения которых была не установлена. Таким образом, сравнение элементных профилей фруктов проводили для растений одного вида или рода, произрастающих на разных географических территориях. Исследовали также семена двух родственных видов чернушки: дамасской (*Nigella damascena* L.) и посевной (*Nigella sativa* L.), семейство Ranunculaceae. Три образца семян *N. damascena* L., официального лекарственного растительного сырья с липолитической активностью, получены от производящих растений биологической коллекции ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР. В торговых сетях Москвы были приобретены три образца семян *N. sativa* L., известных как пряность под названием «черный тмин».

В случае семян проведение пробоподготовки не требовалось: семена помещали в кювету плотным слоем (примерно 1 г), накрывали соответствующей пленкой и записывали спектры рентгеновской флуоресценции. Со свежих плодов киви снимали поперечный срез высотой 3–5 мм, для получившегося фрагмента перикарпия записывали спектры флуоресценции. После из сочной мякоти мезокарпия выбирали семена, промывали водой на складчатом фильтре и сушили при комнатной температуре в течение 7 дней. Со свежих плодов киви снимали экзокарпий, сушили в тех же условиях, затем проводили РФА с наружной стороны экзокарпия. При исследовании плодов манго анализировали фрагменты сочной мякоти, высушенный цельный и измельченный экзокарпий плода (сушили при комнатной температуре 7 дней с финальным досушиванием в сухожаровом шкафу при 70 °С, 1 ч).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование семян чернушки методом РФА показало, что элементный состав образцов вида *N. damascena* L. (образцы №№ 1, 4, 5) практически идентичен: в каждом удалось выявить присутствие Ca, K, S, Cl, Si, Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Br. Различия в элементном составе образцов семян *N. sativa* L. (№№ 2, 3 и 6) были выражены значительно – так, образец № 3 не содержал хлор, в образце № 2 не обнаружен рублидий и бром, но в то же время присутствовал фосфор.

Применение метода главных компонент (ГК=2) позволило выявить различия между семенами чернушек двух разных видов (рис. 1).

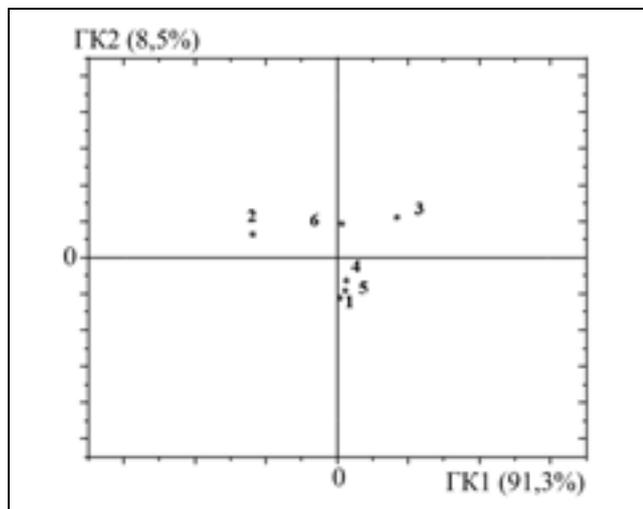


Рис. 1. Сравнение элементных профилей семян двух видов рода *Nigella* методом главных компонент (ГК): график счетов в координатах GK1-GK2, описано более 99% исходных данных; 1, 4, 5 – образцы семян *N. damascena* L., 2, 3, 6 – семена *N. sativa* L.

В соответствии с результатами элементного анализа, семена двух видов образовали на координатной плоскости две выраженные группы: точки 1, 4, 5 соответствуют образцам семян *N. damascena* L., а точки 2, 3, 6 – образцам семян *N. sativa* L. Близкое расположение образцов семян чернушки дамасской (№№ 1, 4, 5) можно объяснить тем, что они были выращены на одной территории – в ботаническом саду ФГБНУ ВИЛАР. Образцы семян чернушки посевной (№№ 2, 3, 6) характеризуются большей дисперсией, отражающей вариабельность элементного состава среди образцов одного вида. Расположение точек, соответствующих двум видам, в разных частях координатной плоскости главных компонент достоверно подтверждает тот факт, что семена растений разных видов можно отличить по их элементным профилям.

В сравнении с прочими органами растений семена наименее подвержены изменениям химического состава при хранении. Кроме того, при работе с семенами на результаты РФА не оказывают влияние окружающие ткани, насыщенные водой и органическими компонентами, а монодисперсный состав анализируемой массы семян обеспечивает стабильную интенсивность флуоресцентного излучения и высокую воспроизводимость результатов анализа. Рентгенофлуоресцентный анализ элементного состава высушенных се-

мян плодов киви показал, что фрукты, вне зависимости от региона произрастания, достаточно схожи по химическому составу, который, по видимому, является видоспецифичным. Выявлено высокое содержание кальция и калия, что соответствует литературным данным [5]: по различным оценкам концентрация калия в плодах киви около 300 мг/100 г, кальция – до 65 мг/100 г. Было показано наличие прямой зависимости между содержанием кальция в семенах и его присутствием в сочной мякоти плодов киви: во всех исследуемых географических группах $r \geq 0,7$ при $p = 0,95$. Мелкие игольчатые кристаллы оксалата кальция в рафид-содержащих клетках идиобластов являются основной причиной механического раздражения слизистых оболочек рта при употреблении плодов киви. Именно поэтому, в целях улучшения пищевых характеристик, ведется разработка новых сортов актинидии с более низким содержанием оксалатов [5, 6]. Таким образом, применение РФА перспективно для оценки содержания кальция в съедобной части плода по стабильным и воспроизводимым результатам, полученным для семян.

Сравнение спектров высушенных семян, экзокарпия, а также сочного мезокарпия плодов киви с использованием метода главных компонент (число ГК=5) позволило выявить различия и дифференцировать плоды на группы в соответствии с регионами произрастания производящих растений (рис. 2).

Дисперсия точек на плоскости многомерного пространства не только отражает степень схожести элементного состава образцов внутри одной группы, но и, в определенной степени, позволяет заметить близость между группами плодов с точки зрения географического расположения производящих их растений. Например, территориально близко расположенные Иран, Абхазия и Турция – источники плодов киви, элементный состав которых близок – соответствующие точки перекрываются на плоскости ГК; элементный профиль киви из Новой Зеландии – уникален, на плоскости ГК нет пересечений с другими группами.

Схожие результаты получены для мякоти и высушенного экзокарпия плодов манго: в сочной мякоти вследствие матричного эффекта окружающих тканей было обнаружено меньшее число элементов, однако различить плоды по регионам произрастания все равно удалось. Кроме того, на примере плодов манго показано, что измельчение приводит к увеличению интенсивности сигнала флуоресценции всех элементов.

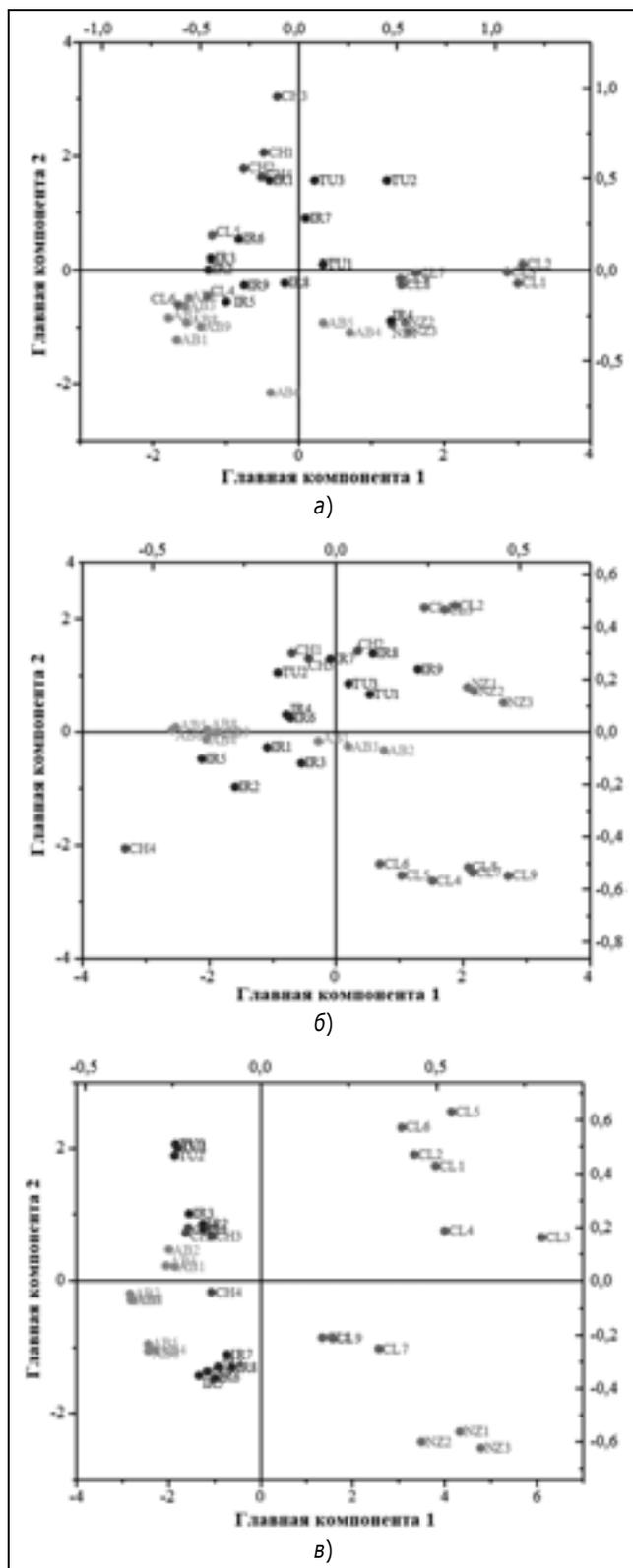


Рис. 2. Сравнение элементных профилей плодов *Actinidia* sp. методом ГК: графики счетов в координатах ГК1-ГК2 (CH – образцы из Китая, AB – Абхазии, TU – Турции, NZ – Новой Зеландии, CL – Чили, IR – Ирана): а – мезокарпий (сочная мякоть); б – семена (высушенные); в – экзокарпий (высушенный)

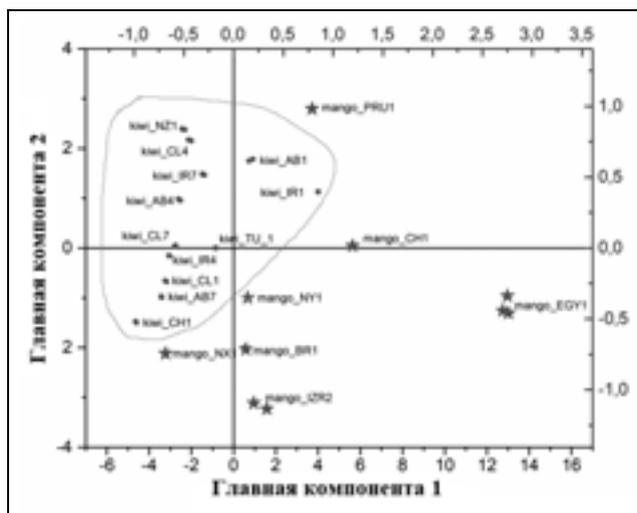


Рис. 3. Сравнение элементных профилей высушенного экзокарпия плодов манго и киви по шести элементам (график счетов в координатах ГК1-ГК2), которые имеют значимый сигнал флуоресценции на спектре – К, Са, Р, Zn, Fe, Cl

Несмотря на то, что РФА позволяет открыть далеко не все элементы в составе растительной матрицы, соотношения значений сигналов флуоресценции складывается в характерную и видо-специфичную картину (рис. 3).

ВЫВОДЫ

Растениям, как гетерофазным системам, присуще природное неравномерное распределение элементов между отдельными частями, обусловленное механизмами их накопления. Полученные результаты показали, что вне зависимости от вида пробы подходы многомерного анализа позволяют воспроизводимо отразить сходства и различия за счет особенностей элементных профилей.

Таким образом, исследования по оценке возможности использования РФА в совокупности с методом главных компонент для экспресс-анализа элементного состава растительного материала и визуализации различий, обусловленных особенностями накопления элементов растениями разных видов или регионов произрастания, можно считать перспективными.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Injuk J., Van Grieken R.* Literature trends in X-ray emission spectrometry in the period 1990–2000. A review. *X-ray Spectrum*. 2003; 32: 35–39.
2. *Roelandts E., Gladney S.* Consensus values for NIST biological and environmental Standard Reference Materials. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 1998; 360: 327–338.
3. *Montanha G.S., Rodrigues E.S., Marques J.P.R., de Almeida E., Dos Reis A.R., Pereira de Carvalho H.W.* X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) applied to plant science: challenges towards

- in vivo* analysis of plants. *Metallomics: Integrated Biometal Science*. 2020; 12(2): 183–192.
- Макарова М.П., Сыроешкин А.В., Максимова Т.В., Матвеева И.С., Плетенева Т.В. Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019; 8(2): 93–97.
 - Nishiyama I. Fruits of the *Actinidia* Genus. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2007; 52: 293–324.
 - Richardson D.P., Ansell J., Drummond L.N. The nutritional and health attributes of kiwifruit: a review. *European Journal of Nutrition*. 2018; 57: 2659–2676.

Поступила 22 ноября 2021 г.

MULTIDIMENSIONAL ANALYSIS OF X-RAY FLUORESCENCE SPECTRA AS A POSSIBLE APPROACH FOR A COMPARATIVE STUDY OF THE ELEMENTAL COMPOSITION OF FRUIT AND SEEDS OF *MANGIFERA INDICA*, *ACTINIDIA DELICIOSA*, *NIGELLA SP.*

© Authors, 2022

M.A. Morozova

Ph.D. (Chem.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)
E-mail: qor-mariya@yandex.ru

A.V. Marukhlenko

Post-graduate Student, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

T.V. Maksimova

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

J. Nyambose

Post-graduate Student, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Faculty of Physical, Mathematical and Natural Sciences, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Relevance. The specificity of plant raw materials as an object of XRF is due to the heterogeneous accumulation of elements at the subcellular and tissue levels – in plants, elements are present in adsorbed, colloidal, ionic forms, as organomineral complexes and polymeric compounds. Thus, the study of plant substrates is limited by the presence of matrix effects, which require a set of standards – reference samples.

The purpose of this work is to investigate the degree of interspecific and intraspecific differences in the elemental profiles of plant samples without using a standard by the means of principal component analysis for X-ray fluorescence spectra processing.

Material and methods. The proposed approach was applied to study the elemental profiles of fruits genus *Actinidia*, *Mangifera* and seeds of plants genus *Nigella*. The work was performed on an EDX-7000 Shimadzu energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometer. For data processing by the principal component method, OriqinPro 2017 software (OriqinLab, USA) was used.

Results. As a result of the work, the efficiency of the principal component method in processing the X-ray fluorescence data is shown. Thus, the analysis of the elemental composition of dried seeds of kiwi fruits showed that the samples, regardless of the region of growth, are quite similar in chemical composition, which, apparently, is species specific. It has been established that the use of XRF to assess the calcium content in the edible part of the fruit according to stable and reproducible results obtained for seeds is promising. On the example of mango fruits, it was shown that the grinding of fruit tissues leads to an increase in the intensity of the fluorescence signal of all elements. It has been shown that X-ray fluorescence analysis doesn't make it possible to reveal all elements in the composition of the plant matrix, however, the ratio of fluorescence signals adds up to a characteristic and species-specific pattern.

Conclusion. The results obtained indicate the possibility of using the technique for express analysis of the elemental composition of plant objects and raw materials, including for the purpose of establishing the type of producing plant or determining its geographical region of origin.

Key words: X-ray fluorescence spectrometry, elemental analysis, dominant component analysis, *Nigella*, *Actinidia*, *Mangifera*, identification.

For citation: Morozova M.A., Marukhlenko A.V., Maksimova T.V., Nyambose J. Multidimensional analysis of x-ray fluorescence spectra as a possible approach for a comparative study of the elemental composition of fruit and seeds of *Mangifera Indica*, *Actinidia Deliciosa*, *Nigella* sp. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2022;25(4):10–14. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-04-01>

REFERENCES

- Injuk J., Van Grieken R. Literature trends in x-ray emission spectrometry in the period 1990–2000. A review. *X-ray Spectrum*. 2003; 32: 35–39.
- Roelands E., Gladney S. Consensus values for NIST biological and environmental Standard Reference Materials. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 1998; 360: 327–338.
- Montanha G.S., Rodrigues E.S., Marques J.P.R., de Almeida E., Dos Reis A.R., Pereira de Carvalho H.W. X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) applied to plant science: challenges towards *in vivo* analysis of plants. *Metallomics: Integrated Biometal Science*. 2020; 12(2): 183–192.
- Makarova M.P., Syroeshkin A.V., Maksimova T.V., Matveeva I.S., Pleteneva T.V. Features of Microelements Express-determination in Medicinal and Nonofficial Plants by X-Ray-Fluorescence Analysis. *Drug development & registration*. 2019; 8(2): 93–97. (In Russ.)
- Nishiyama I. Fruits of the *Actinidia* Genus. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2007; 52: 293–324.
- Richardson D.P., Ansell J., Drummond L.N. The nutritional and health attributes of kiwifruit: a review. *European Journal of Nutrition*. 2018; 57: 2659–2676.