

УДК 549.892.2

С.Н. Шанина, М.А. Богдасаров

АМИНОКИСЛОТНЫЙ АНАЛИЗ ЯНТАРЕЙ И ЯНТАРЕПОДОБНЫХ СМОЛ ЕВРАЗИИ

В работе изложены первые результаты изучения аминокислотного состава янтарей и янтареподобных ископаемых смол различных проявлений Евразии.

Объекты

Для исследований были отобраны пробы вязких и хрупких ископаемых смол из 15 различных проявлений и точек находок северной части Евразии, а также 2 пробы живицы современных хвойных (таблица 1).

Таблица 1 – Анализируемые пробы янтареподобных ископаемых смол Евразии

Шифр	Проявление	Возраст	Вид смол
АБ-054	Янтарный (Калининград)	Pg ₂	Сукцинит
МБ-011	Клесов (Украина)	Pg ₂₋₃	Гедано-сукцинит
НЮ-001	Песчаная р. (Пай-Хой)	K ₂	Ретинит
СШ-013	Войты оз. (Пай-Хой)	K ₂	Ретинит
СШ-012	Войты оз. (Пай-Хой)	K ₂	Ретинит
МБ-019	Уголяк (Хатанга)	K ₂	Ретинит
МБ-021	Янтардах (Хатанга)	K ₂	Геданит
МБ-010	Н.Агапа (Усть-Енисейск)	K ₂	Ретинит
МБ-013	Романиха (Хатанга)	K ₂	Ретинит
МБ-023	Найба (Сахалин)	Pg ₁	Румэнит
МБ-022	Страдубское (Сахалин)	Pg ₂	Ретинит
МБ-018	Тиммердых-Хая (Якутия)	K ₂	Ретинит
МБ-002	Артем (Приморье)	Pg ₂	Ретинит
АБ-057	Мал. Хинган (Д. Восток)	Pg ₂	Ретинит
МБ-003	Ани (Азербайджан)	K ₂	Ретинит
МБ-039	–	–	Живица <i>Picea ajanensis</i>
А-43	–	–	Живица <i>Pinus silvestris</i>

Методика

Все образцы предварительно растирались в порошок и обрабатывались различными растворителями для удаления поверхностных загрязнений и свободных аминокислот. Для извлечения связанных аминокислот образцы подвергались кислотному гидролизу в 6М HCl при температуре 105°C в течение 12 часов. Полученные гидролизаты фильтровались, отгонялись на роторном испарителе при температуре 45°C и перерастворялись в 0,05М HCl. Полученный раствор очищался от

солей металлов 0,01М HCl. Очистка проводилась на колонке, заполненной сорбентом Dowex 50W X8. Извлечение аминокислот осуществляли с помощью 2,5М NH₄OH. Полученный раствор отгоняли на ротаторном испарителе при температуре 45°C до полного удаления жидкости, перерастворяли в 0,1М HCl, замораживали и высушивали. Затем образцы этерифицировались пентафторпропионовым (PFP) ангидридом. Полученные N-PFP изопропиловые эфиры аминокислот растворяли в дихлорметане и переносили в виалы для хроматографии. Анализы выполнялись на газовом хроматографе GC-17A (Shimadzu) с пламенно-ионизационным детектором. Для разделения энантиомеров полученных эфиров аминокислот использовалась колонка Chirasil-Val (длина 50 м, внутренний диаметр 0,25 мм). В качестве газа-носителя применялся гелий. Температура испарителя – 250°C, температура пламенно-ионизационного детектора – 275°C. Анализ проводился при следующих условиях программирования температуры термостата колонок: 4 мин в изотермическом режиме при температуре 90°C, затем подъем температуры до 210°C со скоростью 4°C/мин. Время анализа – 70 минут [1].

Результаты исследований

Аминокислоты найдены во всех исследованных образцах. Содержание аминокислот изменяется от 0,05 до 0,4 мг/г в образцах (таблица 2). Максимальные концентрации аминокислот характерны для смолы современной сосны, янтара Прибалтики и Украины, а также ископаемой смолы Дальнего Востока (Малый Хинган). В данных образцах содержания аминокислот в 3–5 раз выше, чем в ретинитах Пай-Хоя, Хатанги, Сахалина и Якутии. Самое низкое содержание аминокислот установлено в ретините Южного Приморья (Артем). Не отмечено каких-либо изменений в содержании аминокислот в зависимости от возраста объектов. В ряде образцов содержание аминокислот было пересчитано с учетом содержания в них азота. Установлено, что среди ископаемых смол лучше всего сохранились аминокислоты в сукцините, где при низком содержании азота (0,17%) выявлено максимальное количество аминокислот (рисунок 1). В ретинитах Пай-Хоя, Сибири и Сахалина концентрации аминокислот значительно ниже, при довольно высоких содержаниях азота в образцах (около 1%).

Во всех исследуемых образцах преобладают аминокислоты, содержащие алифатические группы, несколько меньше содержится гидроксильных и кислых аминокислот (таблица 2, рисунок 2). По распределению гетероциклических, ароматических и основных групп четких различий в исследуемых образцах не выявлено. По групповому и индивидуальному составу значительно отличаются образцы желтой смолы оз. Войты (Пай-Хой) и темно-желтого ретинита Артема (Приморье). Для них же характерны и самые низкие содержания аминокислот. Живица характеризуется повышенными содержаниями кислых аминокислот (глутаминовой и аспарагиновой). В ископаемых смолах содержание кислых аминокислот (особенно аспарагиновой кислоты) уменьшается, возрастает роль алифатических аминокислот (рисунки 2–5). Практически во всех ископаемых смолах, по сравнению с живицей, возрастает доля глицина.

Наиболее отличается от всех изученных ископаемых смол сукцинит Прибалтики. Для него характерно преобладание алифатических аминокислот и приблизительно одинаковое содержание аминокислот с гидроксильными и кислыми группами (рисунок 2). Среди индивидуальных аминокислот преобладают глицин, серин и глутаминовая кислота (рисунки 3, 5). В гедано-сукцините, а также в геданите и румэните индивидуальный и групповой составы аминокислот похожи. В отличие от

сукцинита в них практически в два раза уменьшается доля аминокислот с гидроксильными группами (рисунок 2). Среди индивидуальных аминокислот преобладают глутамин, глицин и серин (рисунки 3, 5). В образцах установлено присутствие метионина. Еще одна особенность геданита и гедано-сукцинита – наиболее низкие значения отношения аспарагиновой кислоты к глутаминовой.

Таблица 2 – Содержание аминокислот в янтарях и янтареподобных ископаемых смолах Евразии, мкг/г образца

Аминокислота	АБ-054	МБ-011	НЮ-001	СПШ-013	СПШ-012	МБ-019	МБ-021	МБ-010	МБ-013	МБ-023	МБ-022	МБ-018	МБ-002	АБ-057	МБ-003	МБ-039	А-43
D-Ala	–	0,3	0,8	–	1,0	0,3	0,2	–	0,4	0,4	0,4	0,3	0,2	13,1	0,4	0,2	0,2
L-Ala	19,4	26,6	7,2	3,4	12,8	6,5	9,0	15,9	21,7	12,1	13,9	12,4	3,1	49,5	8,8	11,4	23,9
D-Thr	1,9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,6	–	–	–
L-Thr	11,3	10,3	1,7	5,9	2,8	0,5	0,7	6,3	8,6	0,7	3,5	6,5	2,1	2,07	6,4	6,2	18,6
D-Val	2,2	–	–	–	–	–	0,7	–	–	–	–	–	–	5,5	0,8	0,6	–
L-Val	9,8	9,7	1,6	–	4,3	3,3	2,9	6,9	10,0	8,5	6,1	7,0	1,5	13,8	5,4	7,2	15,8
Gly	41,7	71,1	14,0	5,7	15,2	11,6	22,5	36,6	28,5	22,2	20,3	18,3	8,0	78,2	13,7	13,2	37,7
D-Alloile	–	–	–	–	–	–	0,5	0,8	3,9	–	0,4	–	0,5	–	0,5	0,5	–
L-Ile	7,0	0,7	5,0	18,6	7,3	2,1	1,4	1,8	1,8	3,4	8,9	3,5	2,4	4,4	1,9	1,3	15,2
D-Ser	3,6	9,0	–	–	–	1,6	2,8	3,5	–	3,9	6,4	3,8	0,7	–	–	4,0	–
L-Ser	41,5	35,5	15,3	3,3	20,4	8,9	10,4	17,9	31,9	17,3	18,0	12,0	10,8	110,5	15,0	9,8	54,3
D-Leu	–	0,2	–	–	–	0,5	1,2	0,2	–	0,2	0,1	0,9	–	9,9	–	0,4	0,3
L-Leu	15,6	27,9	3,7	1,0	6,1	3,7	10,0	19,3	23,4	12,2	6,7	17,6	3,5	29,4	9,7	13,0	29,4
D-Pro	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
L-Pro	11,1	23,9	2,8	2,1	12,3	3,1	2,6	11,7	13,2	3,4	3,0	2,6	0,2	3,1	1,8	2,5	29,9
D-Met	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
L-Met	–	1,7	–	–	–	–	1,2	0,6	–	–	–	–	–	–	–	1,0	8,0

Продолжение таблицы 2 – Содержание аминокислот в янтарях и янтареподобных ископаемых смолах Евразии, мкг/г образца

Аминокислота	АБ-054	МБ-011	НЮ-001	СШ-013	СШ-012	МБ-019	МБ-021	МБ-010	МБ-013	МБ-023	МБ-022	МБ-018	МБ-002	АБ-057	МБ-003	МБ-039	А-43
D-Asp	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
L-Asp	22,4	21,2	1,2	0,9	5,0	3,3	9,6	18,2	17,1	16,3	4,0	15,2	4,1	22,6	8,1	16,1	54,3
D-Glu	1,8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,3	0,2	–	–	0,4	–	–
L-Glu	26,5	56,3	2,4	1,5	6,1	7,0	25,0	26,7	19,4	22,7	8,3	28,5	7,4	18,3	15,1	20,9	66,4
D-Phe	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
L-Phe	12,1	14,7	2,7	1,4	5,9	2,1	6,4	12,0	17,4	8,1	4,4	9,0	2,2	13,3	4,5	7,4	28,1
D-Tyr	1,2	–	1,2	0,6	0,9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
L-Tyr	2,7	6,6	0,6	1,2	2,2	1,6	4,1	4,5	3,9	4,4	2,1	2,4	0,7	30,5	1,6	3,1	12,4
D-Lys	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	3,2
L-Lys	8,7	15,4	5,2	1,5	5,9	3,0	13,0	6,7	–	8,5	3,1	6,1	0,2	–	0,4	5,2	21,1
Сумма	240,4	331,1	65,5	47,0	107,9	58,8	124,2	189,7	201,3	144,2	109,5	146,4	47,4	424,5	94,6	124,0	418,6
Сумма D	10,7	9,5	2,0	0,6	1,9	2,4	5,4	4,4	4,4	4,4	7,5	5,3	1,3	30,1	2,1	5,7	3,6
Сумма L	229,7	321,6	63,5	46,4	106,1	56,4	118,8	185,3	197,0	139,7	102,0	141,1	46,1	394,4	92,5	118,2	415,0
β-Ala	5,4	–	–	–	0,8	0,6	0,8	1,8	–	1,1	1,7	6,2	–	7,1	3,0	1,8	–
δ-AVA	–	–	–	–	7,3	1,3	7,7	–	–	–	–	1,0	9,7	–	10,2	2,7	–
γ-AVA	–	–	–	–	–	1,6	1,4	2,7	–	–	–	14,8	8,5	–	–	–	–

Примечания: – аминокислота не обнаружена; Ala – аланин, Thr – треонин, Val – валин, Alloile – аллоизолейцин, Ile – изолейцин, Ser – серин, Leu – лейцин, Pro – пролин, Met – метионин, Asp – аспарагиновая кислота, Glu – глутаминовая кислота, Phe – фенилаланин, Tyr – тирозин, Lys – лизин, β-Ala – β-аланин, δ-AVA – δ-аминовалериановая кислота, γ-AVA – γ-аминомасляная кислота.

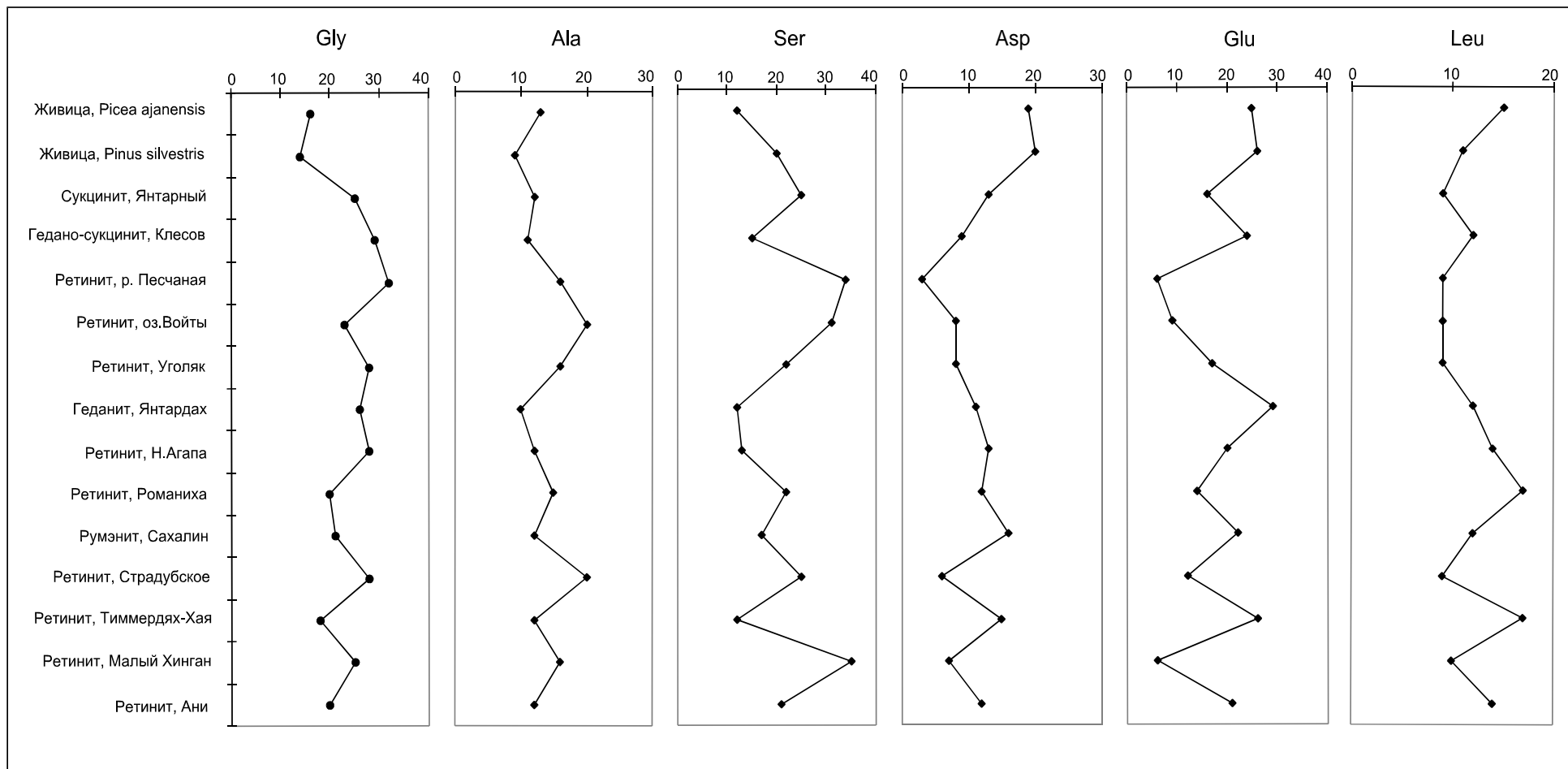


Рисунок 5 – Распределение некоторых аминокислот в янтарях, янтареподобных ископаемых смолах и живицах Евразии

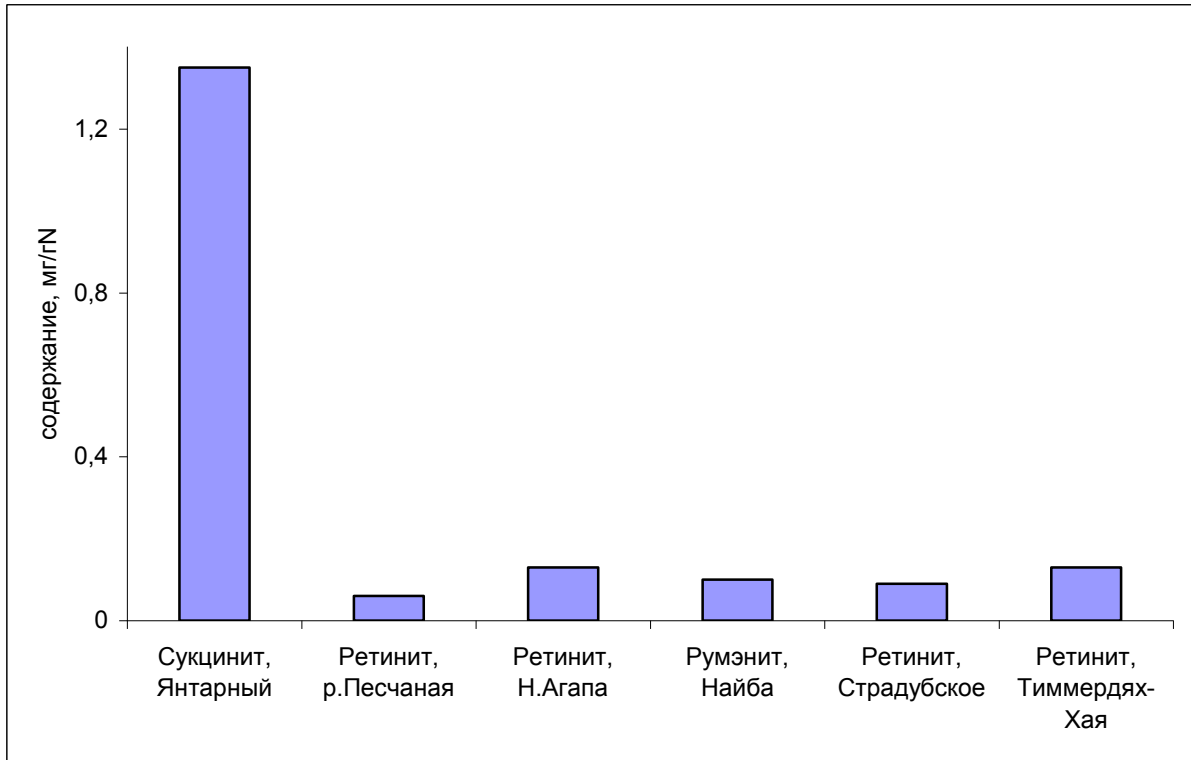


Рисунок 1 – Содержание аминокислот в янтарях и янтареподобных ископаемых смолах Евразии в пересчете на азот

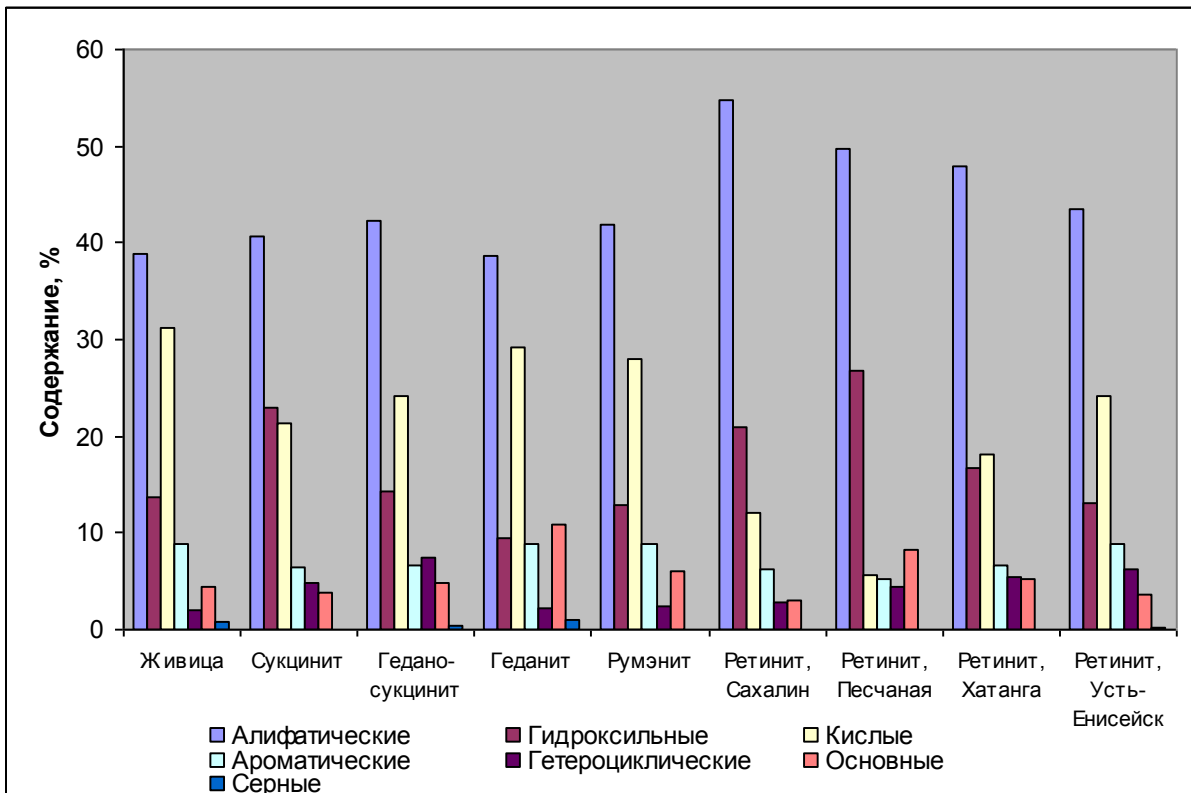


Рисунок 2 – Групповое распределение аминокислот в янтарях, янтареподобных ископаемых смолах и живицах Евразии

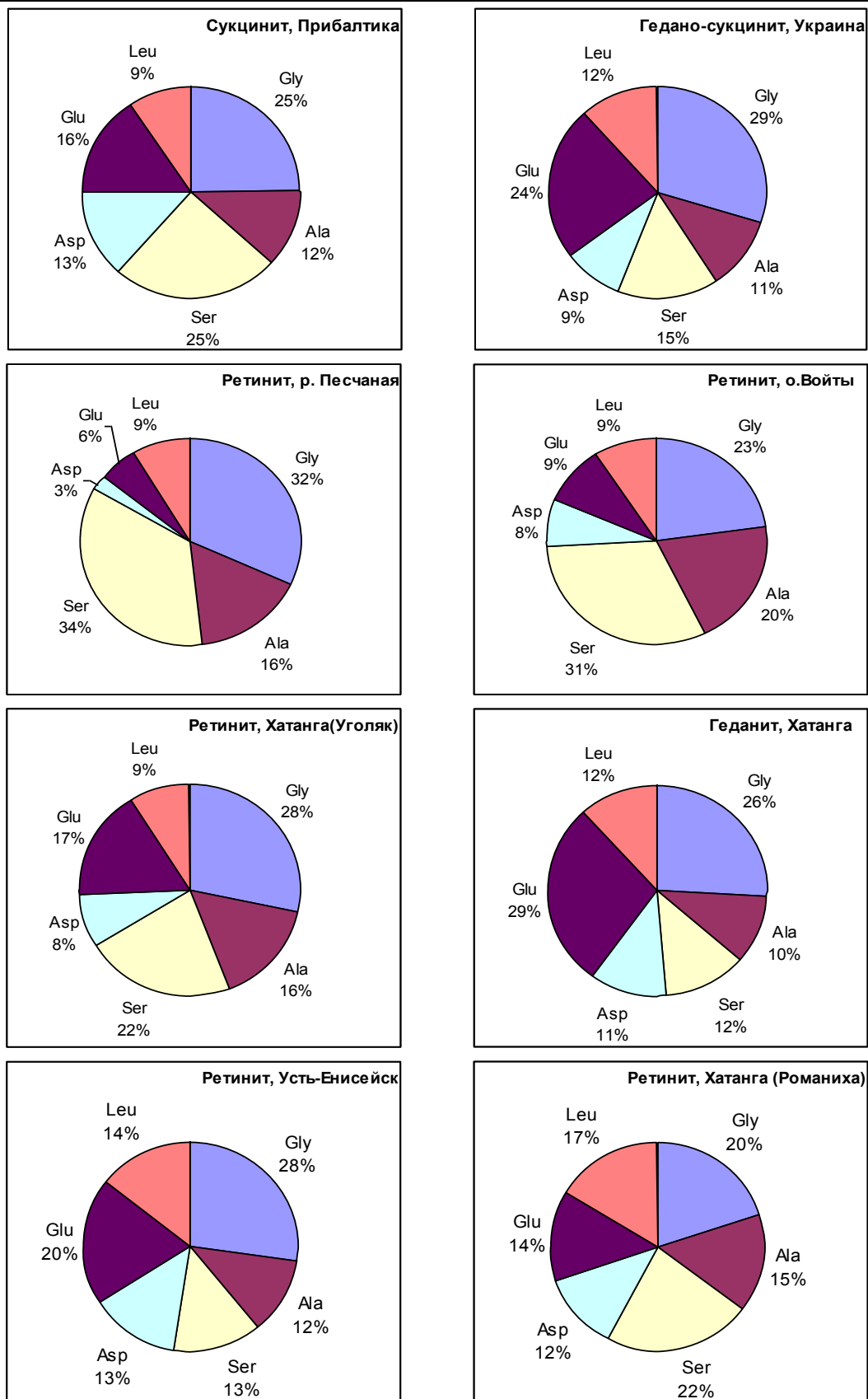


Рисунок 3 – Распределение индивидуальных аминокислот в янтарях и янтареподобных ископаемых смолах Евразии

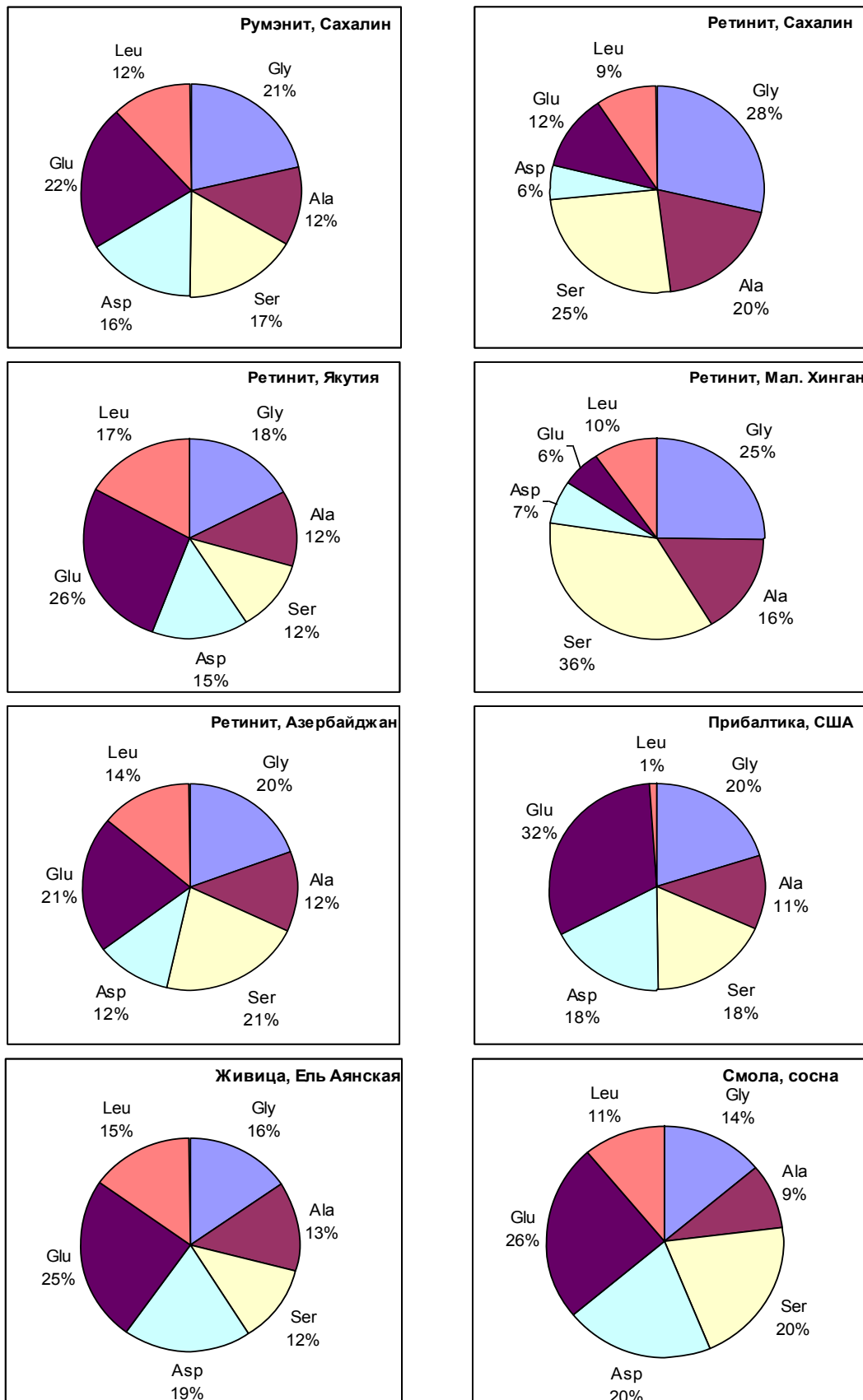


Рисунок 4 – Распределение индивидуальных аминокислот в янтареподобных ископаемых смолах и живицах Евразии

Значительные вариации в составе аминокислот характерны для ретинитов. Основные особенности изученных ретинитов – высокие содержания алифатических аминокислот (обычно более 40%) и отсутствие в них серосодержащей аминокислоты –

метионина (рисунок 2). В оранжево-красных и коричневых ретинитах доля кислых групп значительно ниже, чем в желтых, что вероятнее всего связано с их более высокой окисленностью. Среди индивидуальных аминокислот доминируют глицин, аланин, серин, лейцин и глутаминовая кислота (таблица 2, рисунки 3–5). Самыми низкими содержаниями кислых аминокислот отличаются ретиниты Пай-Хоя. Кроме того, здесь хорошо заметно изменение роли двух аминокислот: лейцина и изолейцина. Вместо обычного распределения, в котором лейцин обычно больше, чем изолейцин, здесь наблюдается противоположная картина. Особенно сильно это проявилось в образце светло-желтого сукцинита с оз. Войты (обр. СШ-13) для которого характерно резкое увеличение содержания изолейцина при резком понижении концентраций лейцина.

Довольно значительные отличия в составе аминокислот характерны и для ретинита Малого Хингана. Образец характеризуется резким преобладанием серина над треонином (0,02) при среднем значении показателя Thr/Ser 0,1–0,2. Кроме того, это единственный образец в котором среди ароматических аминокислот тирозин преобладает над фенилаланином.

Изменения аминокислотного состава, скорее всего, начинают происходить при попадании смолы в почву и/или на этапе размыва и переноса смолы. Они связаны с процессами разрушения исходных белковых соединений и дальнейшим вхождением отдельных аминокислот в состав высокомолекулярных и высококонденсированных органических структур фоссилизированного органического вещества, что и способствовало их сохранению. Значительные же вариации в составе аминокислот ископаемых смол вероятнее всего связаны с разнообразными условиями формирования и сохранности залежей ископаемых смол Северной Евразии, а также несомненным влиянием вечной мерзлоты на сохранность образцов Пай-Хоя, Сахалина и Сибири.

Результаты исследований свидетельствуют, что в живицах современных хвойных (ели и сосны) в основном преобладают гидрофильные аминокислоты (глутаминовая и аспарагиновая кислоты, глицин, серин, аланин, пролин, лизин, треонин) и содержится значительно меньше гидрофобных аминокислот (лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин и тирозин). Известно, что полярные гидрофильные аминокислоты обеспечивают эластичность химических соединений [2]. В ископаемых смолах и, особенно в ретинитах, содержание гидрофильных аминокислот уменьшается. Этот факт может служить объяснением хрупкости ретинитов по сравнению с вязкими смолами, поскольку содержания аспарагиновой и глутаминовой кислот в них значительно ниже.

Практически во всех образцах даже в свежей смоле (живице) хвойных установлено присутствие D-аланина и значительных количеств глицина, которые часто входят в состав стенок микроорганизмов. Этот факт может служить одним из подтверждений о возможности присутствия внутри смол остатков различных микроорганизмов. То есть аминокислоты в ископаемых смолах, вероятно, имеют два основных источника происхождения: собственно клетки растений и микроорганизмы, попадавшие в древнюю живицу на ранних стадиях ее превращения в смолу.

Для всех образцов установлено резкое преобладание L-форм аминокислот (таблица 2). Следовательно, в изученных смолах практически не идут процессы рацемизации аминокислот (переход L- в D-форму), которые возможны в ходе диагенетических преобразований. Это подтверждает результаты, полученные ранее [3], где отсутствие рацемизации в ископаемых смолах связывают с «безводными свойствами янтарной матрицы». В гидрофобных образованиях, к которым относятся и ископаемые смолы, процессы рацемизации замедляются или подавляются, в связи с чем, заключенные в них аминокислоты сохраняют свою стереометрию.

Во многих образцах ископаемых смол и живиц найдены в небольших концентрациях β-аланин, δ-аминовалериановая кислота и γ-аминомасляная кислота, которые могут образовываться в процессе диагенеза за счет реакций декарбоксилирования аспарагиновой и глутаминовой кислот.

Выводы

Аминокислоты найдены во всех исследованных образцах ископаемых смолах и живиц Северной Евразии, их содержание изменяется от 0,05 до 0,4 мг/г образца. Источником аминокислот, помимо стенок растений могут быть и различные микроорганизмы, заключенные внутри смолы. Для всех ископаемых смол характерно замедление процессов рацемизации аминокислот. В вязких смолах видно значительное преобладание полярных гидрофильных аминокислот, что и обеспечивает их большую пластичность. Аминокислотный состав ископаемых смол Северной Евразии отражает не столько особенности родового и видового состава древней растительности, сколько связан с условиями фоссилизации самих ископаемых смол.

Работа выполнялась в рамках совместного проекта БРФФИ № X06P-042 и РФФИ № 06-05-81007 «Ископаемые смолы Северной Евразии».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шанина, С. Н. Определение энантиомеров аминокислот в природных органических соединениях / С. Н. Шанина, Д. А. Бушнев // Органическая минералогия : тез. докл. конф. – Петрозаводск, 2005. – С. 63–64.
2. Дроздова, Т. В. Геохимия аминокислот / Т. В. Дроздова. – М. : Наука, 1977. – 200 с.
3. Wang, X. S. Amino Acids in the Amber Matrix and in Entombed Insects // Amber, Resinite and Fossil Resins / K. B. Anderson, J. C. Crelling (Ed.). – Washington, DC : American Chemical Society Symposium Series, 1994. – P. 255–262.

S.N. Shanina, M.A. Bogdasarov. Amino-Acids Analysis of Ambers and Amber-Like Fossil Resins of Eurasia

The first results of studying of amino-acids structure of amber and amber-like fossil resins of various displays of Eurasia are stated in the article.