Istraživanje aminokiselina brdske gromotulje (Alyssum montanum L.) tankoslojnom kromatografijom

Maleš, Željan; Plazibat, Miško; Suban, Valentina

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2002, 58, 287 - 301**

Journal article, Published version
Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:486871

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Istraživanje aminokiselina brdske gromotulje (*Alyssum montanum* L.) tankoslojnom kromatografijom

ŽELJAN MALEŠ[1], MIŠKO PLAZIBAT[2] i VALENTINA SUBAN[3]

[1]Zavod za farmaceutsku botaniku Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, [2]Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb i [3]»Suban ljekovito bilje, d.o.o.«, Samobor

Thin-layer chromatographic analysis of amino acids in mountain madwort (*Alyssum montanum* L.)

S u m m a r y – The genus Alyssum L. belongs to the family Brassicaceae and comprises over 200 species, most of them growing in S. W. Asia, the E. Mediterranean and S. Europe. Mountain madwort, A. montanum L. is taxonomically difficult aggregate which is represented in Croatia by the following subspecies: A. montanum L. subsp. gmelinii (Jord.) Em. Schmid, A. montanum L. subsp. montanum, A. montanum L. subsp. pagense (Baumgartner) Hayek and A. montanum L. subsp. pluscanescens (Raim. ex Baumgartner) Trpin. Among these, the two latter are narrowly endemic.

Thin-layer chromatographic analysis of amino acids of the leaves, flowers and fruits of four Croatian subspecies of mountain madwort showed the presence of 11 amino acids: leucine, phenylalanine, valine, tryptophan, tyrosine, proline, alanine, threonine, serine, lysine and histidine. Comparing the intensity of coloration of separated amino acids a hypothesis is that the quantities are different among all taxa, with the most amount in A. montanum subsp. pagense. In addition, the chromatographic analysis indicated the differences in quantities among leaves, flowers and fruits within the same subspecies.

([1]Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia, [2]Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia and [3]»Suban medicinal plants, d.o.o.«, 10430 Samobor, Croatia)

UVOD

Alyssum L. – gromotulja, biljni je rod iz porodice *Brassicaceae* ili *Cruciferae*, reda *Brassicales*, razreda *Magnoliatae* (1). Porodica se sastoji od oko 380 rodova s više od 3200 vrsta koje formiraju veliku, lako prepoznatljivu i dobro definiranu taksonomsku cjelinu s četiri latice u obliku križa, o čemu govori i drugo validno ime *Cruciferae* (hrv. krstašice). Biljke ove porodice rastu u cijelom svijetu, no najviše ih je u umjerenoj zoni sjeverne polutke, posebno u zemljama oko Sredozemlja te u srednjoj i jugozapadnoj Aziji. Manje, ali ipak u značajnoj mjeri, ima ih na zapadu Sjeverne Amerike, na jugu Afrike i u Australiji, a vrlo su rijetke u tropskim područjima (2).

Mnoge gospodarski značajne biljke, a također i brojne korovne vrste nalaze se u ovoj porodici (3–5).

U hrvatskoj flori rod *Alyssum* zastupljen je s tri sekcije: *Psilonema* (C. A. Mey.) Hook. f., *Alyssum* L. i *Odontarrhena* (C. A. Mey.) Koch (6–8, 12, 14).

Većinu vrsta unutar sekcija relativno je lako razlikovati osim u tipičnoj sekciji *Alyssum*, a posebno u kompleksu *Alyssum montanum*, koji je vrlo polimorfan, što se odražava u znatnom broju opisanih svojti s različitim taksonomskim statusom (8–13).

Alyssum montanum L. – brdska gromotulja, niska je zeljasta trajnica koja samoniklo raste diljem Hrvatske.

U dostupnoj literaturi nisu pronađeni podaci o ispitivanju njezinog kemijskog sastava. Stoga je cilj ovog rada bio utvrditi nazočnost i sastav aminokiselina u četiri podvrste brdske gromotulje: *Alyssum montanum* L. subsp. *gmelinii* (Jord.) Em. Schmid (= *A. arenarium* C. C. Gmel., *A. gmelinii* Jord.) – Gmelinovoj gromotulji, *Alyssum montanum* L. subsp. *montanum* – običnoj brdskoj gromotulji, *Alyssum montanum* L. subsp. *pagense* (Baumgartner) Hayek (= *A. litorale* Trinajstić non Rupr., *A. montanum* proles *pagense* Baumgartner) – paškoj gromotulji i *Alyssum montanum* L. subsp. *pluscanescens* (Raim. ex Baumgartner) Trpin (= *A. samoborense* Horvat ex Kušan) – samoborskoj gromotulji.

BOTANIČKI PODACI

U okviru botaničkih podataka prikazana su morfološka obilježja porodice *Brassicaceae* i roda *Alyssum*, morfološka obilježja brdske gromotulje i njezinih podvrsta te njihova geografska rasprostranjenost i prirodna staništa.

Morfološka obilježja porodice Brassicaceae

Porodica *Brassicaceae* ili *Cruciferae* obuhvaća velik broj biljnih rodova i vrsta različite građe i izgleda. Vrste porodice *Brassicaceae* mogu biti jednogodišnje i dvogodišnje biljke, trajne zeleni, polugrmovi i grmovi te mala stabalca.

Stabljika je dobro razvijena, uspravna, polegnuta ili se uzdiže pod različitim kutevima u odnosu na tlo, nosi na sebi izmjenično raspoređene listove

bez palistića, a može biti i bez listova. Neke vrste imaju dobro razvijenu podzemnu stabljiku u obliku podanka.

Listovi su jednostavni, različitog oblika, s peteljkama ili bez njih, dakle sjedeći te katkada obuhvaćaju stabljiku. Rijetko su perasto ili dlanasto sastavljeni.

Cvjetovi su dvospolni, zrakasto simetrični, rjeđe zigomorfni, skupljeni u grozdaste cvatove ili su pojedinačni. Ocvijeće se sastoji od čaške i vjenčića te je dvostruko (perijant), a ukoliko latice nisu razvijene, ocvijeće je jednostavno (perigon). Cvjetovi redovno imaju šest prašnika od kojih su dva kraća i četiri duža. Pri bazi prašnika i plodnice nalaze se nektariji različitog oblika. Nadrasla plodnica može biti jednogradna ili dvogradna, a sadrži od jednog do mnogo sjemenih zametaka.

Plodovi različitog oblika su suhi pucavci, komuške ili komuščice koje se otvaraju s dva zaklopca, dvoplodnički cijepavci koji se kad dozriju raspadaju na jednosjemene članke, a vrlo rijetko su nepucavci nalik na oraščić (1, 2).

Morfološka obilježja roda Alyssum L.

Rod *Alyssum* L. – gromotulja, obuhvaća vrste koje pripadaju različitim životnim oblicima, od zeljastih jednogodišnjica pa sve do manjih grmova.

Stabljike su pojedinačne ili pak više njih u busenu, a izdanci mogu biti sterilni te nose samo listove i fertilni s listovima, cvjetovima i plodovima. Površinu biljke pokrivaju, ovisno o smještaju, različiti oblici trihoma, od jednostavnih do zvjezdastih s većim brojem krakova.

Cvjetovi su na stapkama, smješteni u gustim grozdastim cvatovima koji se znatno produžuju postfloralnim razvitkom i sazrijevanjem plodova. Lapovi su usko jajasti i na oba kraja suženi, ubrzo nakon cvatnje otpadaju osim kod nekih vrsta kod kojih se nalaze i u plodnom stanju. Latice s različitim nijansama žute boje u gornjem su dijelu nepravilno valovite, izrubljene ili dvodjelne, dok se u donjem dijelu suzuju u dugi klin. Duži prašnici mogu biti jednostrano ili obostrano okriljeni dok se uz kraće ponekad nalaze jedan ili dva manja privjeska. Plodnica s dužim ili kraćim vratom uglavnom je zvjezdasto dlakava, a u svakom pretincu ima 1 ili 2 sjemena zametka.

Plod je komuščica u kojoj se nalaze okriljene ili neokriljene sjemenke svijetlo do tamnosmeđe boje.

Sekcija *Psilonema* obuhvaća jednogodišnje, rijetko dvogodišnje biljke, kojih je cvat jednostavni grozd. Prašničke niti su neokriljene i bez privjesaka, a u nekih vrsta pri bazi filamenata dužih prašnika nalaze se končasti nektariji. U svakom pretincu komuščice su po dvije sjemenke. U hrvatskoj je flori sekcija zastupljena vrstom *Alyssum alyssoides* (L.) L.

Sekcija *Alyssum* obuhvaća jednogodišnjice, dvogodišnjice i trajnice kojih je cvat jednostavni grozd. Većina prašničkih niti je okriljena ili s privjescima. U pretincima komuščice nalaze se po dvije sjemenke. U hrvatskoj flori zastupljene su vrste *Alyssum desertorum* Stapf., *Alyssum hirsutum* M. Bieb., *Alyssum montanum* L., *Alyssum repens* Baumg., *Alyssum simplex* Rudolphi i *Alyssum strigosum* Banks et Solander.

Sekcija *Odontarrhena* obuhvaća trajnice kojih je cvat jednostavni ili sastavljeni grozd, a prašničke niti su s krilcima ili privjescima, dok se u svakom pretincu komuščice nalazi po jedna sjemenka. U hrvatskoj flori zastupljene su vrste *Alyssum murale* Waldst. et Kit. i *Alyssum tortuosum* Willd. (8–13).

Morfološka obilježja vrste Alyssum montanum L. i njezinih podvrsta: subsp. gmelinii (Jord.) Em. Schmid, subsp. montanum, subsp. pagense (Baumgartner) Hayek i subsp. pluscanescens (Raim. ex Baumgartner) Trpin

Alyssum montanum L. – brdska gromotulja je rahlo do zbito busenasta, bijelo do sivo pustenasta biljka. Stabljike su do 30 cm visoke, polegnute ili uzdignute, gušće ili rjeđe zvjezdasto dlakave. Nose na sebi više, najčešće gusto raspoređenih listova i više cvjetova skupljenih u terminalni, u početku cvatnje gotovo štitasti cvat koji se razvojem biljke produžuje u uspravni grozd. Listovi stabljike obrasli su zvjezdastim dlakama različitog oblika i gustoće. Mogu biti lopatasti, okruglasti do eliptični te lancetasti do linearni s tim da su donji uglavnom veći od gornjih. Cvjetovi su svijetložuti ili jasnožuti, cvjetne stapke osim prileglih zvjezdastih dlaka mogu imati i strše će rašljaste dlake. Lapovi su 2–3 mm dugi te otpadaju nakon završene cvatnje. Latice su 3–6 mm duge, na vrhu zaobljene, obrnuto srcaste ili neznatno izrubljene. Duži prašnici su s obje strane ili samo na jednoj strani okriljeni, a krilca na vrhu mogu biti odrezana ili pak s 1–3 zubića. Plodni grozd u ovisnosti o podvrsti, može biti zbit, kratak ili produžen. Na plodnim stapkama nalaze se komuščice okruglastog, obrnutojajastog ili eliptičnog oblika do 8 mm duge s po dvije sjemenke u svakom pretincu.

Uz navedene opće karakteristike kompleksa *Alyssum montanum*, važno je istaknuti i osnovne razlike pomoću kojih se mogu raspoznati njegove podvrste. Tipična podvrsta, obična brdska gromotulja (*Alyssum montanum* subsp. *montanum*) ima stabljike u donjem dijelu polegnute, u sredini uzdignute, a zatim uspravne, duži prašnici su okriljeni samo na jednoj strani, zeljasta je trajnica (*Slika 1.*).

Samoborska gromotulja (*Alyssum montanum* subsp. *pluscanescens*) oblikom je slična tipičnoj podvrsti osim što su joj dijelovi razmjerno veći, a u Hrvatskoj se može naći samo na jednom mjestu u Samoborskom gorju (*Slika 2.*).

Gmelinova gromotulja (*Alyssum montanum* subsp. *gmelinii*) ima ukočene, uspravne stabljike, duži su joj prašnici okriljeni s obje strane i najčešće je dvogodišnja biljka (*Slika 3.*).

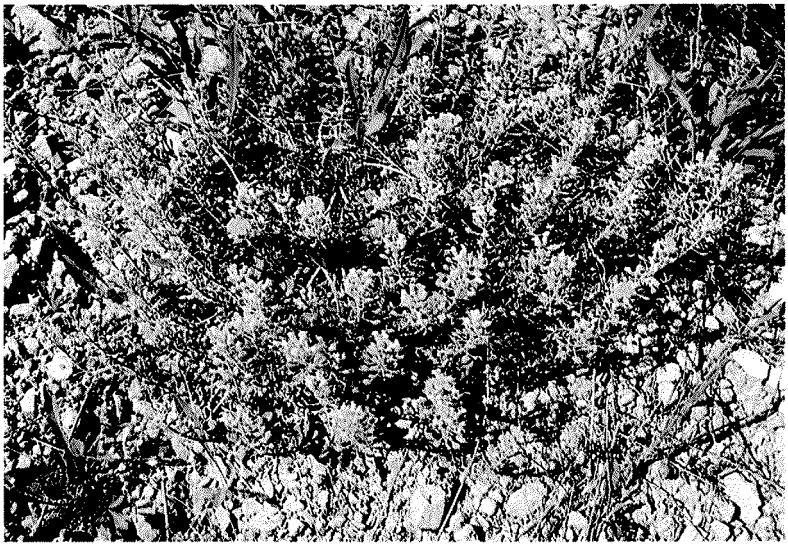
Paška gromotulja (*Alyssum montanum* subsp. *pagense*) (*Slika 4.*) ima sterilne izdanke s listovima u gustoj rozeti, a plodni joj je grozd zbit i kratak (8–13).

Geografska rasprostranjenost brdske gromotulje

Brdska gromotulja rasprostranjena je u velikom dijelu Europe (Austrija, Slovačka, Češka, Njemačka, Poljska, europski dio bivšeg SSSR-a, Mađarska, Rumunjska, Bugarska, Grčka, Makedonija, Albanija, Jugoslavija, Bosna i Hercegovina, Slovenija, Italija, Francuska, Španjolska), u jugozapadnoj Aziji



Slika 1. Alyssum montanum L. subsp. *montanum* – Obična brdska gromotulja

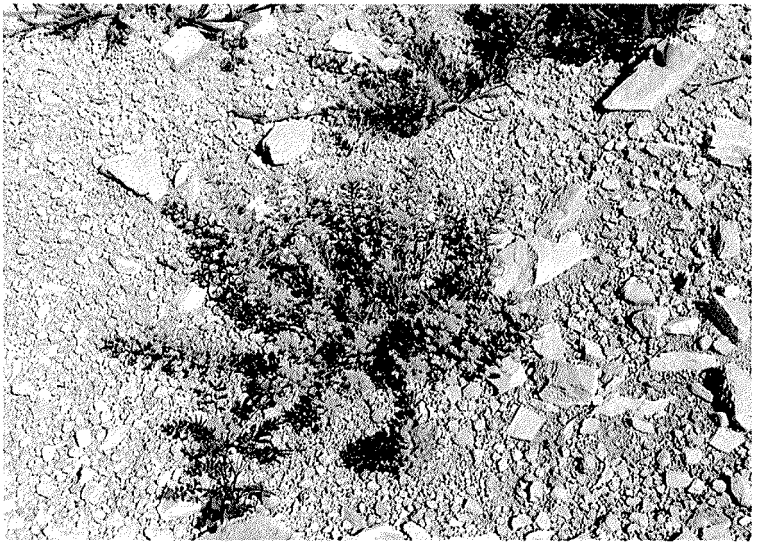


Slika 2. Alyssum montanum L. subsp. *pluscanescens* (Raim. ex Baumgartner) Trpin – Samoborska gromotulja

i u sjevernoj Africi. U Hrvatskoj je obična brdska gromotulja rasprostranjena po cijelom teritoriju, osim Slavonije, s većom učestalošću u brdskim i planinskim predjelima. Gmelinova gromotulja rasprostranjena je pretežno u istočnoj, a paška u primorskoj Hrvatskoj. Samoborska gromotulja je endem Samoborskog gorja i okolice Žiča u Sloveniji.



Slika 3. Alyssum montanum L. subsp. *gmelinii* (Jord.) Em. Schmid – Gmelinova gromotulja



Slika 4. Alyssum montanum L. subsp. *pagense* (Baumgartner) Hayek – Paška gromotulja

Prirodna staništa brdske gromotulje

Prirodna staništa brdske gromotulje karakteristična su za svaku njenu podvrstu. Obična brdska gromotulja raste na suhim mjestima, po kamenitom terenu prvenstveno u brdskim i planinskim područjima. Gmelinova gro-

motulja niče na suhim, pjeskovitim mjestima nizinskog pojasa kontinentalnih krajeva. Paška gromotulja raste po kamenjaru i diluvijalnim pijes- cima otoka Paga i šire uzduž istočne obale Jadranskog mora. Samoborska gromotulja vezana je za strme, uglavnom jugu izložene obronke sa sipkim, gotovo pjeskovitim tlom koje zbog oskudnih uvjeta za razvoj biljaka nije obrašteno drvećem i grmljem (12–16).

EKSPERIMENTALNI DIO

Biljni materijal

Materijal za istraživanje predstavljali su listovi, cvjetovi i plodovi brdske gromotulje (*Alyssum montanum*) odnosno njenih četiriju podvrsta: Gmelinove gromotulje (*Alyssum montanum* subsp. *gmelinii*), obične brdske gromotulje (*Alyssum montanum* subsp. *montanum*), paške gromotulje (*Alyssum montanum* subsp. *pagense*) i samoborske gromotulje (*Alyssum montanum* subsp. *pluscanescens*). Vrsta uzorka, mjesto i vrijeme skupljanja prikazani su u tablici 1.

Tablica 1.
Biljni materijal, nalazište i datum skupljanja

Podvrsta	Oznaka uzorka	Vrsta uzorka	Nalazište	Datum skupljanja
A. montanum subsp. *gmelinii*	1a	list	Kalinovac	22.05.1993.
	1b	cvijet	Kalinovac	22.05.1993.
	1c	plod	Kalinovac	22.05.1993.
A. montanum subsp. *montanum*	2a	list	Tijarica (Trilj)	05.05.1990.
	2b	cvijet	Tijarica (Trilj)	05.05.1990.
	2c	plod	Tijarica (Trilj)	14.07.1990.
A. montanum subsp. *pagense*	3a	list	o. Pag	29.05.1995.
	3b	cvijet	o. Pag	29.05.1995.
	3c	plod	o. Pag	29.05.1995.
A. montanum subsp. *pluscanescens*	4a	list	Samoborsko gorje	23.06.1995.
	4b	cvijet	Samoborsko gorje	23.06.1995.
	4c	plod	Samoborsko gorje	23.06.1995.

1. Identifikacija biljnog materijala

Biljni materijal identificiran je u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i potvrđen je ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenih uzoraka.

2. Istraživanje prisutnosti aminokiselina tankoslojnom kromatografijom

Istraživani su ekstrakti listova, cvjetova i plodova Gmelinove, obične brdske, paške i samoborske gromotulje. Ekstrakti su pripremljeni tako da je 1 g praškasto usitnjenog biljnog materijala ekstrahiran s 10 ml vode 1 sat na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Bistri filtrat, nakon hlađenja, služio je kao otopina za kromatografsko ispitivanje. Kao poredbene supstancije uporabljene su 0,00001 %-tne vodene otopine leucina (Leu), fenilalanina (Phe), valina (Val), triptofana (Trp), tirozina (Tyr) prolina (Pro), alanina (Ala), treonina (Thr), serina (Ser), lizina (Lys) i histidina (Hys) (17).

Istraživanje prisutnosti aminokiselina provedeno je na dvjema nepokretnim fazama, i to na tankom sloju celuloze i 5%-tnog ionskog izmjenjivača Dowex 2-X8 (»Schleicher-Schüll«, Njemačka, Art. Nr. G 1440/A5), te na tankom sloju celuloze F (»Merck«, Njemačka, Art. Nr. 15036).

Kao pokretne faze primjenjene su dvije smjese otapala: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V) i n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V/) (17).

Detekcija odijeljenih aminokiselina provedena je nakon prskanja kromatograma ninhidrin reagensom i grijanja 5–10 minuta na 100 °C (18).

REZULTATI I RASPRAVA

Vodeni ekstrakti listova, cvjetova i plodova Gmelinove, obične brdske, paške i samoborske gromotulje ispitani su na prisutnost aminokiselina tankoslojnom kromatografijom (*Slike 5.–12.),* a dobivene aminokiseline i pripadajuće im R_F vrijednosti dane su u tablicama 2. i 3.

Kromatografskim odjeljivanjem vodenih ekstrakata listova, cvjetova i plodova Gmelinove, obične brdske, paške i samoborske gromotulje na nepokretnoj fazi celuloza F s ionskim izmjenjivačem Dowexom i uz pokretnu fazu n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V) uočeno je 11 mrlja (*Slike 5. i 6.*). Usporedbom R_F vrijednosti ljubičastih mrlja 1, 3, 7, 8 i 9 s poredbenim supstancijama, uočeno je da odgovaraju leucinu, valinu, alaninu, treoninu i serinu. Plavoljubičasta mrlja 2 identificirana je kao fenilalanin, a sivoljubičaste mrlje 4 i 5 prema R_F vrijednostima odgovaraju triptofanu i tirozinu. Žuta mrlja 6 bojom i R_F vrijednošću odgovara prolinu, a za crvenoljubičastu mrlju 10 i smeđeljubičastu mrlju 11 utvrđeno je da pripadaju lizinu i histidinu.

Usporedbom intenziteta obojenja odijeljenih aminokiselina, možemo pretpostaviti da je količina aminokiselina među različitim podvrstama brdske gromotulje različita. Mrlje dobivene tankoslojnom kromatografijom ekstrakata paške gromotulje najintenzivnijeg su obojenja. Nešto slabijeg intenziteta su mrlje dobivene odjeljivanjem ekstrakata Gmelinove gromotulje, dok kromatogrami ekstrakata obične brdske i samoborske gromotulje pokazuju mrlje najslabijeg intenziteta.

Također, analizom dobivenih mrlja unutar pojedine vrste, možemo uočiti i razlike u intenzitetu obojenja između ekstrakata listova, cvjetova i plodova.

Tablica 2.
R_F vrijednosti odijeljenih aminokiselina na tankom sloju celuloze F i Dowexa

Nepokretna faza: celuloza F + Dowex			Pokretna faza	
Broj	aminokiselina	kratica	I	II
1	Leucin	Leu	0,60	0,66
2	Fenilalanin	Phe	0,55	0,59
3	Valin	Val	0,43	0,47
4	Triptofan	Trp	0,41	0,45
5	Tirozin	Tyr	0,37	0,40
6	Prolin	Pro	0,28	0,32
7	Alanin	Ala	0,23	0,26
8	Treonin	Thr	0,20	0,24
9	Serin	Ser	0,16	0,21
10	Lizin	Lys	0,10	0,15
11	Histidin	His	0,08	0,10

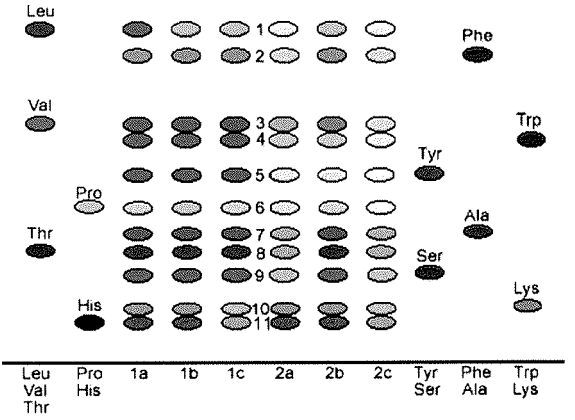
Pokretna faza I: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)
Pokretna faza II: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)

Tablica 3.
R_F vrijednosti odijeljenih aminokiselina na tankom sloju celuloze

Nepokretna faza: celuloza F			Pokretna faza	
Broj	aminokiselina	kratica	I	II
1	Leucin	Leu	0,58	0,63
2	Fenilalanin	Phe	0,51	0,56
3	Valin	Val	0,43	0,45
4	Triptofan	Trp	0,40	0,43
5	Tirozin	Tyr	0,37	0,38
6	Prolin	Pro	0,28	0,28
7	Alanin	Ala	0,23	0,25
8	Treonin	Thr	0,20	0,21
9	Serin	Ser	0,15	0,16
10	Lizin	Lys	0,11	0,12
11	Histidin	His	0,09	0,10

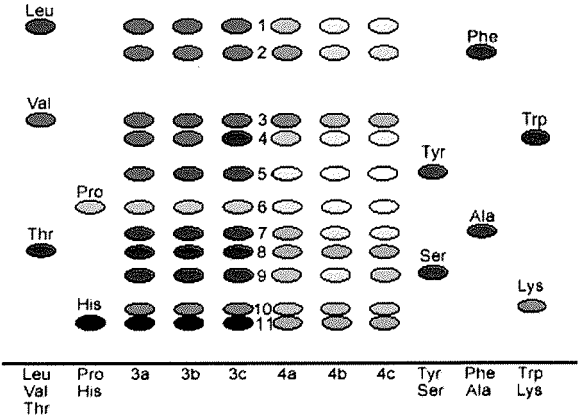
Pokretna faza I: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)
Pokretna faza II: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)

To se najbolje uočava na kromatogramu ekstrakata obične brdske gromotulje (*Slika 5.*) gdje je intenzitet mrlja dobivenih iz ekstrakta cvjetova najjači (2b), a najslabiji u ekstraktu plodova (2c). Na kromatogramu ekstrakata listova, cvjetova i plodova Gmelinove gromotulje, najjači intenzitet obojenja pokazuju



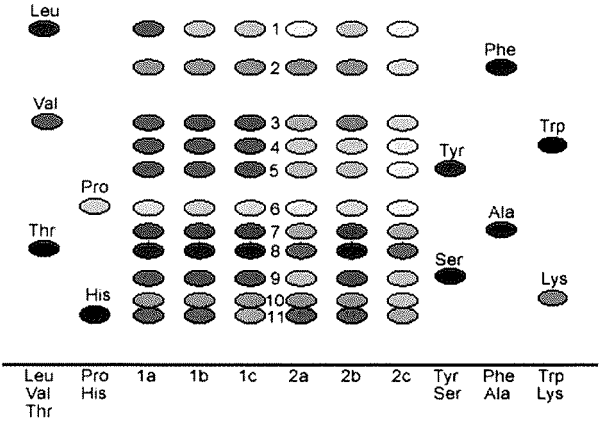
Slika 5. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova Gmelinove i obične brdske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F + Dowex
Pokretna faza: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
1a=vodeni ekstrakt listova Gmelinove gromotulje
1b=vodeni ekstrakt cvjetova Gmelinove gromotulje
1c=vodeni ekstrakt plodova Gmelinove gromotulje
2a=vodeni ekstrakt listova obične brdske gromotulje
2b=vodeni ekstrakt cvjetova obične brdske gromotulje
2c=vodeni ekstrakt plodova obične brdske gromotulje



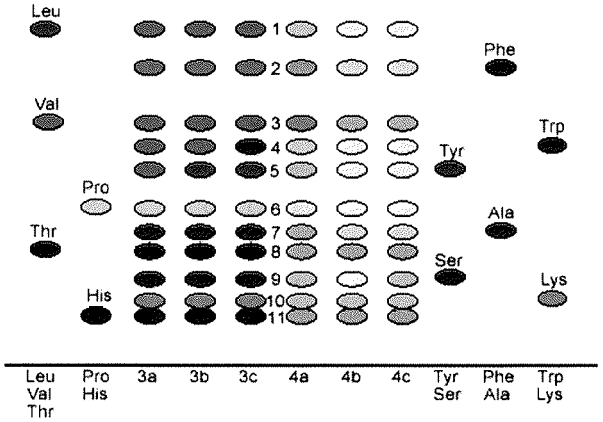
Slika 6. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova paške i samoborske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F + Dowex
Pokretna faza: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
3a=vodeni ekstrakt listova paške gromotulje
3b=vodeni ekstrakt cvjetova paške gromotulje
3c=vodeni ekstrakt plodova paške gromotulje
4a=vodeni ekstrakt listova samoborske gromotulje
4b=vodeni ekstrakt cvjetova samoborske gromotulje
4c=vodeni ekstrakt plodova samoborske gromotulje



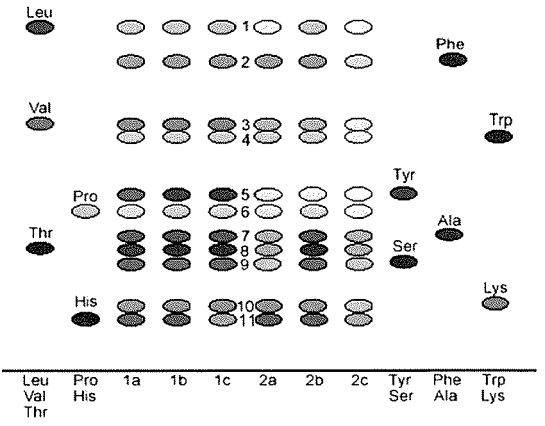
Slika 7. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova Gmelinove i obične brdske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F
Pokretna faza: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
1a=vodeni ekstrakt listova Gmelinove gromotulje
1b=vodeni ekstrakt cvjetova Gmelinove gromotulje
1c=vodeni ekstrakt plodova Gmelinove gromotulje
2a=vodeni ekstrakt listova obične brdske gromotulje
2b=vodeni ekstrakt cvjetova obične brdske gromotulje
2c=vodeni ekstrakt plodova obične brdske gromotulje



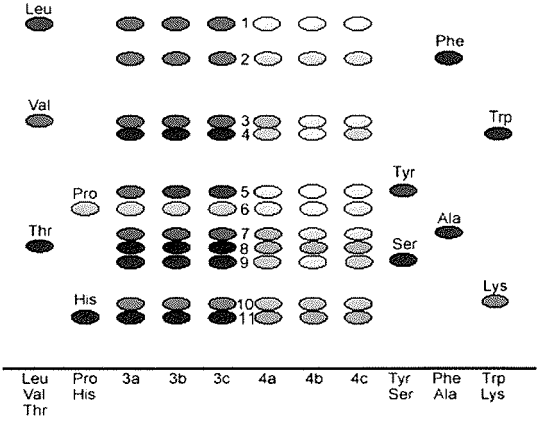
Slika 8. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova paške i samoborske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F
Pokretna faza: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
3a=vodeni ekstrakt listova paške gromotulje
3b=vodeni ekstrakt cvjetova paške gromotulje
3c=vodeni ekstrakt plodova paške gromotulje
4a=vodeni ekstrakt listova samoborske gromotulje
4b=vodeni ekstrakt cvjetova samoborske gromotulje
4c=vodeni ekstrakt plodova samoborske gromotulje



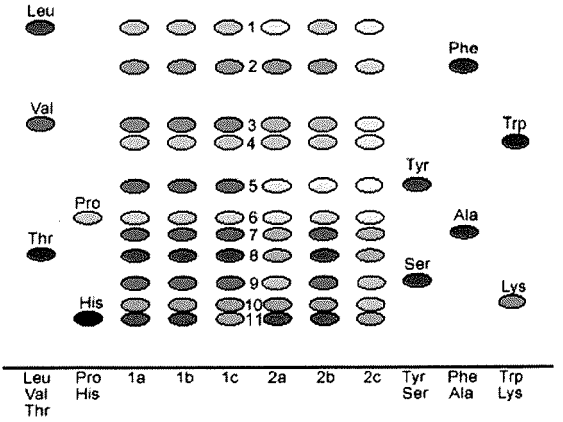
Slika 9. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova Gmelinove i obične brdske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F + Dowex
Pokretna faza: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
1a=vodeni ekstrakt listova Gmelinove gromotulje
1b=vodeni ekstrakt cvjetova Gmelinove gromotulje
1c=vodeni ekstrakt plodova Gmelinove gromotulje
2a=vodeni ekstrakt listova obične brdske gromotulje
2b=vodeni ekstrakt cvjetova obične brdske gromotulje
2c=vodeni ekstrakt plodova obične brdske gromotulje



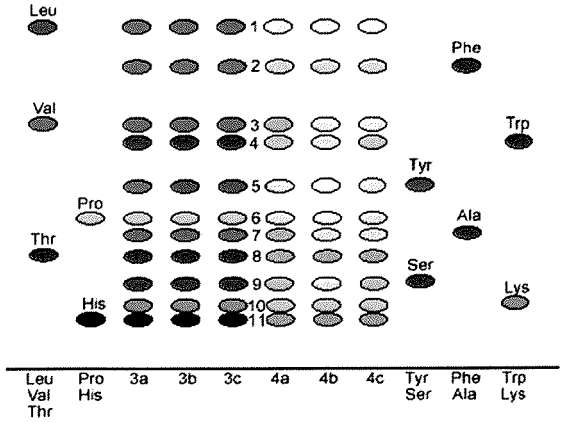
Slika 10. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova paške i samoborske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F + Dowex
Pokretna faza: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
3a=vodeni ekstrakt listova paške gromotulje
3b=vodeni ekstrakt cvjetova paške gromotulje
3c=vodeni ekstrakt plodova paške gromotulje
4a=vodeni ekstrakt listova samoborske gromotulje
4b=vodeni ekstrakt cvjetova samoborske gromotulje
4c=vodeni ekstrakt plodova samoborske gromotulje



Slika 11. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova Gmelinove i obične brdske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F
Pokretna faza: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
1a=vodeni ekstrakt listova Gmelinove gromotulje
1b=vodeni ekstrakt cvjetova Gmelinove gromotulje
1c=vodeni ekstrakt plodova Gmelinove gromotulje
2a=vodeni ekstrakt listova obične brdske gromotulje
2b=vodeni ekstrakt cvjetova obične brdske gromotulje
2c=vodeni ekstrakt plodova obične brdske gromotulje



Slika 12. Kromatogram aminokiselina listova, cvjetova i plodova paške i samoborske gromotulje

Nepokretna faza: celuloza F
Pokretna faza: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)
Detekcija: ninhidrin reagens
3a=vodeni ekstrakt listova paške gromotulje
3b=vodeni ekstrakt cvjetova paške gromotulje
3c=vodeni ekstrakt plodova paške gromotulje
4a=vodeni ekstrakt listova samoborske gromotulje
4b=vodeni ekstrakt cvjetova samoborske gromotulje
4c=vodeni ekstrakt plodova samoborske gromotulje

mrlje dobivene iz ekstrakta listova (1a), dok su mrlje dobivene odjeljivanjem ekstrakata cvjetova (1b) i plodova (1c) podjednakog intenziteta (*Slika 5.*). Na kromatogramu dobivenom odjeljivanjem ekstrakata paške gromotulje (*Slika 6.*). podjednak je intenzitet mrlja dobiven iz ekstrakata pojedinih biljnih dijelova. Kromatogram ekstrakata samoborske gromotulje pokazuje najslabiji intenzitet mrlja, a posebno su slabog intenziteta mrlje dobivene odjeljivanjem ekstrakata njenih cvjetova i plodova (*Slika 6.).*

Slična kromatografska slika dobivena je i u drugoj pokretnoj fazi n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:40:10 V/V/V) (*Slike 9. i 10.*). R_F vrijednosti dobivene u ovoj pokretnoj fazi nešto su više od prethodnih, ali je dobiveno lošije odjeljivanje (Tablica 2.).

Nepokretna faza celuloza F dala je gotovo identičnu sliku kao i celuloza F s ionskim izmjenjivačem, za obje pokretne faze (*Slike 7. i 8.,11. i 12..*), uz izuzetno dobro odjeljivanje i nešto niže R_F vrijednosti od prethodno navedenih (Tablica 3.).

Unutar kromatograma dobivenih iz ekstrakata pojedinih biljnih dijelova također uočavamo razliku u intenzitetu obojenja pa možemo zaključiti da su pojedine aminokiseline jače zastupljene od drugih. Npr. u ekstraktu listova Gmelinove gromotulje najintenzivnija je mrlja koja odgovara valinu, a najslabijeg intenziteta mrlja koja odgovara fenilalaninu. U ekstraktu cvjetova i plodova Gmelinove gromotulje, najintenzivnije su mrlje valina i prolina, a najslabijeg intenziteta mrlje fenilalanina i leucina (*Slika 7.).*

ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da listovi, cvjetovi i plodovi Gmelinove, obične brdske, paške i samoborske gromotulje sadrže sljedeće aminokiseline: leucin (Leu), fenilalanin (Phe), valin (Val), triptofan (Trp), tirozin (Tyr), prolin (Pro), alanin (Ala), treonin (Thr), serin (Ser), lizin (Lys) i histidin (His).

Usporedbom intenziteta obojenja odijeljenih aminokiselina može se pretpostaviti da se količina aminokiselina razlikuje u različitim podvrstama brdske gromotulje. Dobiveni rezultati pokazuju da paška gromotulja sadrži veću količinu aminokiselina u odnosu na ostale podvrste.

Kromatografska analiza pokazuje i razliku u količini aminokiselina među listovima, cvjetovima i plodovima unutar iste podvrste.

Literatura – References

1. W. S. *Judd,* C. S. *Campbell,* E. A. *Kellog,* P. F. *Stevens,* Plant systematics, a phylogenetic approach, Sinauer Associates, Inc., Publishers Sunderland, Massachusetts 1999, 326.
2. O. E. *Schulz, Cruciferae.* In A. *Engler* et K. *Prantl* Eds., Die natürlichen Pflanzenfamilien, 2 Aufl., Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig 1936, 17B, 227.
3. K. D. *Dubravec,* I. *Dubravec,* Kultivirane biljne vrste Hrvatske i susjednih područja, Školska knjiga, Zagreb 1998, 17.
4. N. *Hulina,* Korovi, Školska knjiga, Zagreb 1998, 84.
5. R. C. *Rollins,* Contr. Gray Herb. **210** (1980) 1.
6. I. A. *Al-Shehbaz,* J. Arnold Arb. **68** (1987) 185.

7. T. R. *Dudley*, J. Arnold Arb. **45** (1964) 358.
8. P. W. *Ball*, T. R. *Dudley*, *Alyssum* L. In T. G. *Tutin*, N. A. *Burges*, A. O. *Chater*, J. R. *Edmondson*, V. H. *Heywood*, D. M. *Moore*, D. H. *Valentine*, S. M. *Walters*, D. A. *Webb* Eds., Flora Europaea, Volume 1, 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge 1993, 359.
9. A. *Hayek*, Repert. Spec. Nov. Reg. Veg. **30** (1) (1925) 438.
10. F. *Kušan*, Acta Bot. Croat. **29** (1970) 183.
11. M. *Plazibat*, Nat. Croat. **6**, Suppl. 1 (1997) 22.
12. I. *Trinajstić*, *Alyssum* L. In I. *Trinajstić* Ed., Analitička flora Jugoslavije 2 (3), Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Sveučilišna naklada Liber, Zagreb 1983, 287.
13. D. *Trpin*, Razpr. Mat.-Prir. Razr. Akad. Znan. v Ljubljani **31** (24) (1990) 375.
14. R. *Domac*, Flora Hrvatske, Školska knjiga, Zagreb 1994, 123.
15. G. *Hegi*, Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Band IV/1, Verlag Paul Parey, Berlin et Hamburg 1986, 283.
16. H. *Meusel*, E. *Jäger*, E. *Weinert*, Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora, Karten, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1965, 183.
17. H. *Wagner*, S. *Bladt*, E. M. *Zgainski*, Drogenanalyse, Springer Verlag, Berlin 1983, 288.
18. H. K. *Berry*, C. *Leonard*, H. *Peters*, M. *Granger*, N. *Chunekahira*, *Clin. Chem.* **14** (1968) 1033.