

И.В. Лайковская, мл. науч. сотрудник; В.В. Титок, гл. науч. сотрудник;
В.Н. Леонтьев, доцент; И.Л. Акулович, аспирант

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ СЕМЯН МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

The content and ratios of fatty acids were compared during their gas-chromatographic fractionation in seeds and oil of some agricultural plants. The species- and varietal specificity of the fatty acid composition corresponding to FAO/WHO Codex Alimentarius standards was revealed in the crops under investigation. The possibility of analyzing trans-isomers of fatty acids was revealed in vegetable oils. The comparative analysis of the fatty acid content and determination of the iodine value were shown to be key criteria for identifying oils of a vegetable origin. The given method may be used in controlling the quality of raw materials and produce from seeds of oil-beating crops.

Цель работы состояла в разработке метода идентификации сортов масличных культур и растительных масел на основе газохроматографического анализа метиловых эфиров жирных кислот. Материалом для исследования служили оригинальные масла, а также семена традиционных и селекционно-модифицированных по жирнокислотному составу сортов ряда масличных сельскохозяйственных культур: подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) – сорта Антоновский и Первенец; сои (*Glycine max* L. Merrill.) – Heine и Wase Minoru; рапса (*Brassica napus* L.) – Frontier и Stellar, масличного льна (*Linum usitatissimum* L.) – McGregor, SU-1-10, 4-128 и Gold Flax; дикорастущих видов рода *Linum* – лен крупноцветковый (*L. grandiflorum* Desf., $2n = 16$), полуозимый (*L. bienne* Mill., $2n = 30$), многолетний (*L. perenne* L., $2n = 18$), австрийский (*L. austriacum* L., $2n = 18$), два подвида льна культурного (*L. usitatissimum* L.) – лен-долгунец (*L. usitatissimum* L. subsp. *usitatissimum* convar. *elongatum*, сорт Светоч, $2n = 30$) и лен межеумок (*L. usitatissimum* L. subsp. *usitatissimum* convar. *usitatissimum*, сорт Koto, $2n = 30$) по классификации [1].

Экстракцию и определение жирных кислот (ЖК) осуществляли по модифицированному нами методу Welch [2]. Микронавески образцов масел или размельченных семян помещали в раствор 2%-ной серной кислоты в абсолютном метаноле, содержащий гептадеканоевую кислоту – $C_{17:0}$ (внутренний стандарт) [3]. Запаянные в ампулах образцы подвергали гидролизу при 80°C для получения метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК). МЭЖК экстрагировали гексаном и определяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Hewlett-Packard 4890D, оснащенный пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой HP-Innowax 0,32 мм×30 м. Анализ проводили при скорости потока гелия $26\text{ см}^3/\text{с}$; температуре колонки 200°C ; инжектора и детектора – 250°C . Индивидуальные ЖК идентифицировали по времени удерживания при разделении стандартных смесей этих веществ (Supelco Park, USA) и оценивали в процентах от их общего содержания (рисунок). Йодное число (ЙЧ), характеризующее концентрацию ненасыщенных компонентов с двойными связями в общем пуле ЖК, оценивали по содержанию в пробах пальмитолеиновой, олеиновой, линолевой, α -линоленовой, эйкозеновой и эруковой кислот [4]. В табл. 1 приведены средние величины из трех аналитических повторностей.

Развитие технологии жиров и масел в последние десятилетия привело к тому, что внимание специалистов пищевой промышленности и медиков привлекает не столько брутто-состав сырья и продуктов, сколько содержание и соотношение в них ненасыщенных ЖК, а также уровень транс-изомеров ЖК в продуктах питания. В связи с многочисленными фактами фальсификации продуктов на основе масличных семян разработке

и практическому применению современных методов идентификации и контроля этого ценного пищевого и лекарственного сырья принадлежит решающая роль.

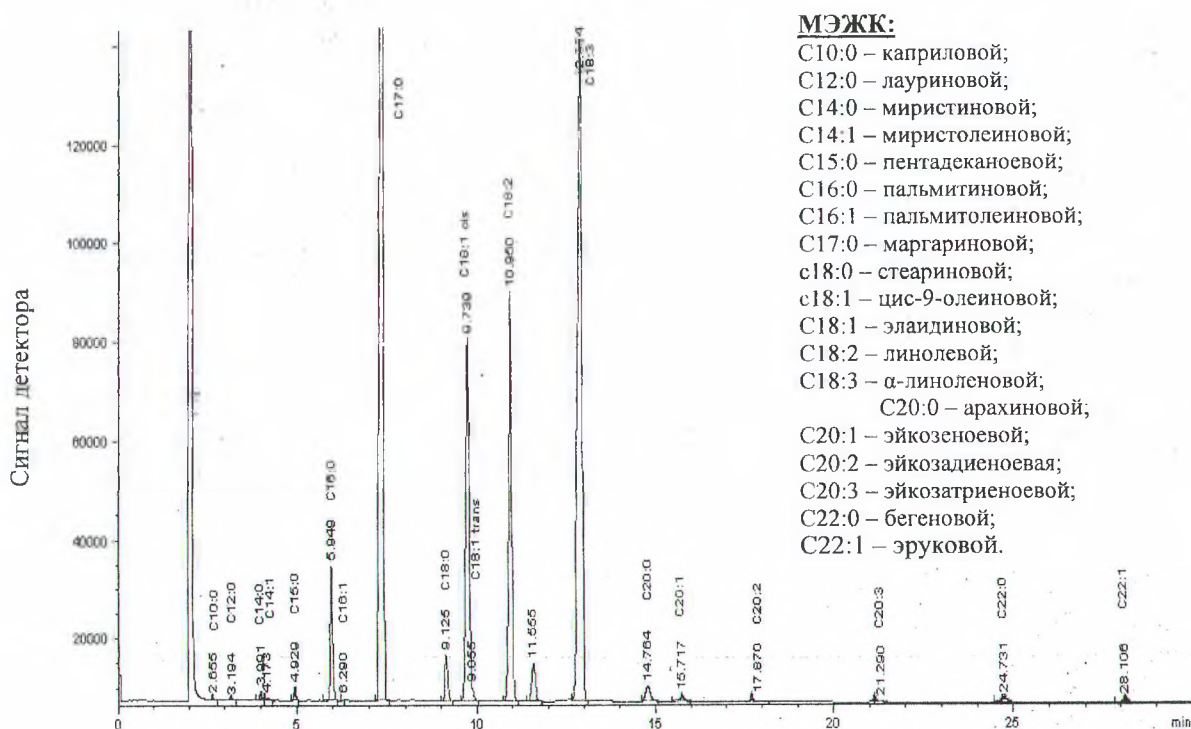


Рис. Хроматограмма разделения метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) из масла семян *Linum perenne* L.

Полученные нами результаты свидетельствуют о видовой и сортовой специфичности спектров ЖК у исследуемых культур (табл. 1). Наиболее высокое содержание ненасыщенных ЖК и, соответственно, максимальные величины ЙЧ обнаружены у сортов масличного льна канадской селекции McGregor и SU-1-10. У остальных видов масличных культур этот показатель снижался в следующей последовательности: соя – подсолнечник – рапс – олива. Несмотря на частичное перекрытие диапазонов варьирования ЙЧ и отдельных ЖК в маслах различных культур, эти показатели в совокупности позволяют идентифицировать и ранжировать образцы в соответствии со стандартами FAO/WHO. Обнаружена значительная вариабельность по уровню олеиновой кислоты, максимальное содержание которой отмечено у высокоолеиновых образцов сортов рапса (Stellar) и подсолнечника (Первенец). Среди образцов подсолнечника относительно высоким уровнем содержания пальмитиновой и α-линоленовой кислот выделяется пищевое коммерческое масло «Золото полей». Следует отметить дифференциацию сортов льна и рапса по содержанию ЖК в маслах для различного назначения: для технических и пищевых целей предпочтительно использовать высоколинолевые сорта McGregor и SU-1-10; для медицинских – образец 4-128 с невысоким уровнем α-линоленовой кислоты. Для пищевых целей целесообразно также использовать высокоолеиновый с низким содержанием эруковой кислоты (<1,0) сорт рапса Stellar.

Приведенные результаты (рисунок) позволяют оценить содержание цис/транс-изомеров олеиновой кислоты. Содержание транс-9-олеиновой кислоты по всей выборке исследуемых образцов составило 0,49–2,45%, что существенно ниже стандартов, установленных в рамках европейского проекта TRANSFAIR для этого показателя [6].

Жирнокислотный состав растительных масел является показателем метаболического статуса покоящихся семян, и его определение может служить надежным методом «фингер-принтинга» для хемотаксономии покрытосеменных растений [7]. Уровень и соотношения от-

дельных жирных кислот в масле генетически детерминированы, но зависят от сроков хранения семян и условий культивирования растений. Основными жирными кислотами масла семян представителей рода *Linum* являются: пальмитиновая (C16:0; hexadecanoic), стеариновая (C18:0; octadecanoic), олеиновая (C18:1(n-9); cis-9-octadecenoic), линолевая (C18:2(n-6); linoleic) и α -линоленовая (C18:3(n-3); cis/trans linolenic) [16]. Сравнительный анализ количественного содержания и соотношения жирных кислот в масле исследуемых видов льна выявил межвидовую гетерогенность по этим показателям (табл. 2).

Таблица 1

Содержание жирных кислот (C_{16:0} – пальмитиновая, C_{18:0} – стеариновая, C_{18:1} – олеиновая; C_{18:2} – линолевая; C_{18:3} – α -линоленовая; транс C_{18:1} – транс-9-олеиновая, %) и величина йодного числа (ЙЧ) в семенах и масле различных сельскохозяйственных культур*

Виды, сорта растений; масла	Жирные кислоты (%)					ЙЧ	транс-C _{18:1}
	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}		
Подсолнечник*	<u>5.0–7.0</u>	<u>2.7–6.5</u>	<u>14.0–39.4</u>	<u>48.3–74.0</u>	<u>0.0–0.3</u>	<u>118–141</u>	–
Антоновский	7,41	5,01	16,36	70,11	0,11	142,5	0,48
Первенец	4,02	3,92	88,34	2,31	0,07	86,2	0,67
Подсолнечное							
Алея	6,74	4,96	27,72	56,05	0,07	127,4	0,52
Донской янтарь	6,72	4,61	26,17	58,55	0,05	130,6	0,55
Золотая семечка	6,71	4,93	26,17	56,87	0,04	127,5	0,53
Золото полей	11,98	4,19	23,51	49,51	4,69	124,4	1,46
Mister Cook	6,77	4,28	27,71	57,10	0,06	129,3	0,52
Алей	6,75	4,56	27,08	57,75	0,06	129,9	0,51
Алея	6,84	4,60	27,49	56,86	0,05	128,6	0,50
Золотое зернышко	6,66	4,28	29,38	55,54	0,07	140,3	0,53
Станичное	6,79	5,07	20,80	63,62	0,13	135,0	0,49
Фермер	6,59	4,52	30,93	53,80	0,19	126,6	0,49
Олива*	<u>7.5–20.0</u>	<u>0.5–5.0</u>	<u>55.0–83.0</u>	<u>3.5–21.0</u>	<u><1.5</u>	<u>75–94</u>	–
Оливковое	9,68	3,13	72,49	10,54	0,61	87,0	1,22
Соя*	<u>8.0–13.5</u>	<u>2.0–5.4</u>	<u>17–30</u>	<u>48.0–59.0</u>	<u>4.5–11.0</u>	<u>124–139</u>	–
Heine	14,19	4,98	24,19	50,52	6,15	133,13	1,13
Wase Minoru	15,02	4,02	21,42	50,87	8,67	137,42	0,79
Лен	–	–	–	–	–	–	–
McGregor	6,20	4,27	14,79	18,59	54,95	189,5	0,63
SU-1-10	5,29	4,13	12,12	15,24	61,99	199,8	0,54
4-128	6,38	3,53	17,38	58,19	13,52	152,1	0,59
Gold Flax	6,38	3,88	14,73	72,23	1,58	142,6	0,62
Рапс*	<u>1.5–6.0</u>	<u>0.5–3.1</u>	<u>8.0–60.0</u>	<u>11.0–23.0</u>	<u>5.0–13.0</u>	<u>94–120</u>	–
Frontier	4,23	2,31	63,16	18,60	7,42	112,7	1,09
Stellar	3,47	2,52	79,41	7,72	3,10	95,2	1,32
Хлопчатник*	<u>21.4–26.4</u>	<u>2.1–3.3</u>	<u>14.7–21.7</u>	<u>46.7–58.2</u>	<u>0.0–0.4</u>	<u>100–123</u>	–
Хлопковое	25,16	2,92	19,84	46,90	0,11	104,0	0,67

* Подчеркнутые данные отражают стандартный диапазон варьирования показателей в маслах в соответствии с нормами Codex alimentarius FAO/WHO [5].

Содержание жирных кислот (мас. % от их суммы), их сумма (Σ , мкг/мг сырой массы) и величина йодного числа (ЙЧ, отн. ед.) в семенах различных видов льна

Жирные кислоты	Виды льна					
	Лен-долгунец	Лен-межеумок	<i>L. grandiflorum</i>	<i>L. austriacum</i>	<i>L. perenne</i>	<i>L. bienne</i>
C10:0	0,05	0,05	0,08	0,06	0,05	0,05
C12:0	НД*	НД	0,08	0,32	НД	0,01
C14:0	0,15	0,12	0,23	0,26	0,29	0,09
C14:1 <i>n</i> -9	0,06	0,06	0,09	0,07	0,06	0,06
C15:0	0,22	0,19	0,32	0,47	0,41	0,16
C16:0	5,70	6,12	7,71	5,34	4,63	6,17
C16:1 <i>n</i> -9	0,04	0,06	0,17	0,05	0,05	0,04
C18:0	4,67	3,47	6,84	2,89	2,37	2,90
C18:1 <i>n</i> -9-cis	28,03	16,94	35,94	25,60	19,26	16,92
C18:1 <i>n</i> -9-trans	0,47	0,64	0,81	0,54	0,43	0,64
C18:2 <i>n</i> -6	13,53	17,52	12,58	21,03	23,09	17,40
C18:3 <i>n</i> -3	46,34	54,19	34,20	40,58	47,00	54,95
C20:0	0,22	0,16	0,43	1,31	1,13	0,13
C20:1 <i>n</i> -9	0,24	0,21	0,36	0,54	0,43	0,24
C20:2 <i>n</i> -6	НД	0,05	НД	0,29	0,21	0,03
C20:3 <i>n</i> -3	НД	0,08	НД	НД	0,05	0,08
C22:0	0,28	0,14	0,16	0,60	0,50	0,13
C22:1 <i>n</i> -9	НД	НД	НД	0,05	0,04	НД
Σ	285,60	253,76	194,17	200,26	217,57	292,61
ЙЧ	177,1	196,0	151,8	173,1	188,5	197,8

* НД – не детектированы.

Отличительной особенностью масла семян *L. grandiflorum* является максимальное содержание пальмитиновой, стеариновой, олеиновой кислот и минимальное – линолевой и α -линоленовой. Обратная тенденция по соотношению этих компонентов обнаружена у *L. perenne*. Для льна-долгунца отмечены средние величины содержания основных жирных кислот. Сопоставление величин йодного числа, отражающего концентрацию моно- и полиненасыщенных компонентов в общем пуле жирных кислот, позволило выделить *L. bienne* и лен-межеумок как виды льна, характеризующиеся наиболее высоким значением этого показателя.

В масле семян исследуемых видов льна кроме основных обнаружены минорные жирные кислоты: каприловая (C10:0; n-decanoic), лауриновая (C12:0; dodecanoic), миристиновая (C14:0; tetradecanoic), миристолеиновая (C14:1; cis-9-tetradecenoic), пентадекановая (C15:0; pentadecenoic), пальмитолеиновая (C16:1(*n*-9); cis-9-hexadecenoic), элаидиновая (C18:1(*n*-9); trans-9-octadecenoic), арахиновая (C20:0; n-eicosanoic), эйкозеновая (C20:1(*n*-9); eicosenoic), эйкозодиеновая (C20:2(*n*-6); cis-11, 14-eicosadienoic), эйкозатриеновая (C20:3(*n*-3); cis-11, 14, 17-eicosatrienoic), бегеновая (C22:0; docosanoic) и эруковая (C22:1(*n*-9); cis-13-docosenoic) (табл. 2). Следует отметить, что некоторые из них, а именно лауриновая, эйкозодиеновая, эйкозатриеновая и эруковая кислоты, выявляются не у всех исследуемых видов льна. Так, эруковая кислота обнаружена только у *L. austriacum* и *L. perenne*. По данным ряда исследователей, состав жирных кислот имеет значение для понимания эволюции видов льна [9]. Было обнаружено, что высокое содержание α -линоленовой кислоты в масле семян льна коррелирует с меньшей сложностью генетической системы и указывает на более примитивный тип. Результаты наших исследований опровергают это утверждение и показывают, что минимальное количество α -линоленовой кислоты обнаружено в семенах у *L. grandiflorum* и *L. austriacum* – наиболее примитивных из изученных видов льна.

Таким образом, сравнительное изучение содержания ЖК и определение йодного числа показали, что эти параметры служат ключевыми критериями для идентификации масел сельскохозяйственных культур. Эти данные в совокупности с результатами химических тестов – определением кислотного и перекисного чисел, оценкой коэффициента омыления – дают возможность однозначно судить о видовой принадлежности, происхождении и качестве растительных масел. Метод является перспективным способом контроля качества продуктов питания, поскольку превосходит традиционные методы [3] по аналитическим характеристикам. Определение жирнокислотного состава методом газожидкостной хроматографии может быть использовано при контроле качества сырья и продукции и служить основой системы непрерывного контроля при производстве продуктов питания и медицинских препаратов из семян масличных культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Diederichsen A. Comparison of genetic diversity of flax (*Linum usitatissimum* L.) between Canadian cultivars and world collection // Plant Breed. – 2001. – Vol. 120. – P. 360–362.
2. Welch R.W. A micro-method for the estimation of oil content and composition in seed crops // J. Sci. Food Agr. – 1977. – Vol. 28. – P. 635–638.
3. Daun J.K., Ackman R.G. Identity of fats and oils: the role of traditional chemical and physical tests - today and in the future // INFORM. – 2001. – Vol. 12. – P. 1108–1114.
4. AOCS Recommended Practice Cd 1c-85. Calculated Iodine Value. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society. Ed. by D. Firestone. 5th edn. AOCS. – Champaign. IL. – 1998.
5. CODEX Standard for named vegetable oils CX-STAN 210 // Codex Alimentarius. – 2001. – Vol. 8. – P. 11–25.
6. Ledoux M., Laloux L., Sauvant D. Les isomeres trans des acides gras: origine et presence dans l'alimentation // Science alimentaria. – 2000. – Vol. 20. – N 4-5. – P. 393–411.
7. Tsevegсүren N., Aiyzetmüller K., Brühl L. et al. Seed oil fatty acids of Mongolian compositae: the trans-fatty acids of *Heteropappus hispidus*, *Asterothamnus centrali-asiaticus* and *Artemisia palustri* // J. High Resol. Chromatogr. – 2000. – Vol. 23. – N 5. – P. 360–366.
8. Seed Oil Fatty Acids - SOFA Database Retrieval/ <http://www.bagkf.de/sofa/>.
9. Поляков А.В. Биотехнология в селекции льна: монография. – Тверь, 2000. – 180 с.