

УДК 664/633.854.54

- В. В. Титок**, доктор биологических наук, директор (ЦБС НАН Беларуси);  
**В. Н. Леонтьев**, кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой (БГТУ);  
**С. И. Вакула**, младший научный сотрудник (ИГЦ НАН Беларуси);  
**Н. В. Анисимова**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник (ИГЦ НАН Беларуси);  
**Т. В. Никитинская**, младший научный сотрудник (ИГЦ НАН Беларуси);  
**В. Г. Лугин**, кандидат химических наук, заведующий лабораторией (БГТУ);  
**Л. М. Шостак**, младший научный сотрудник (БГТУ);  
**А. В. Кильчевский**, член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, директор (ИГЦ НАН Беларуси);  
**Л. В. Хотылева**, доктор биологических наук, академик, главный научный сотрудник (ИГЦ НАН Беларуси)

### КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА СЕМЯН ЛЬНА МАСЛИЧНОГО – ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОЙ ПРАКТИКИ

Для проведения индивидуального отбора льна масличного по комплексу признаков качества семян существует необходимость в разработке и адаптации методик, позволяющих проводить качественный и количественный анализ с использованием минимальных навесок семян. Предложенная схема оценки состава семян льна позволяет оптимально использовать семенной материал индивидуальных растений для анализа: масличности (экстракционный метод Рушковского), содержания индивидуальных жирных кислот (газо-жидкостная хроматография), содержания белка и зольности (динамическая термогравиметрия), элементного состава (электронно-зондовый рентгенофлуоресцентный метод). Воспроизводимость результатов аналитических методик оценивали по показателям коэффициента варьирования, индексу воспроизводимости средних, сходимости данных по сезонам выращивания.

Single plant selection of flax by the complex of seed's quality traits imposes a need to develop and adapt methods that allow qualitative and quantitative analysis of minimum quantity of seeds. The proposed evaluation scheme of seed's composition enables an optimum use of seed material for analysis of individual plants: oil percentage (extraction method of Rushkovsky), fatty acid composition (vapor-liquid chromatography), protein and ash content (dynamic thermogravimetry), elemental composition (electron probe X-ray fluorescence method). Reproducibility of the results of analytical methods was assessed by the coefficient of variation, reproducibility index Sr, the convergence of data on seasonal cultivation.

**Введение.** Лен масличный (*Linum usitatissimum* L.) – одна из древнейших сельскохозяйственных культур, источник  $\omega$ -3 жирных кислот, полноценного белка, диетической клетчатки, минералов и других биологически ценных веществ [1]. Помимо различий, обусловленных влиянием генотипа и среды, вариабельность литературных данных о составе семян льна может быть связана методикой анализа, применяемой исследователями [2].

Сложное строение и состав семени льна не позволяют разделить его компоненты без использования сложного комплекса аналитических методов – экстракционного, хроматографического, термогравиметрического, рентгенофлуоресцентного. При этом используемые методы должны обеспечивать достаточную точность, максимальную сопоставимость и воспроизводимость результатов. Для селекционеров, помимо точности и прецизионности, важными аспектами любой методики анализа являются доступность, простота, экономия времени и семенного материала, что особенно ценно при проведении индивидуального

отбора с оценкой качества семян единичных растений.

Целью нашего исследования являлась разработка и оптимизация схемы качественного и количественного анализа семян льна масличного для индивидуального селекционного отбора по комплексу признаков.

**Основная часть.** Материал исследования – семена 25 сортов льна масличного, полученные в стандартных агротехнических условиях. Обмолот и очистка семян проведены вручную.

Анализировали следующие хозяйственно-ценные признаки семян льна: содержание масла (в процентах от массы семени), жирнокислотный состав (содержание  $\alpha$ -линоленовой, линолевой, олеиновой, стеариновой и пальмитиновой жирных кислот в процентах от общего содержания масла), расчетное йодное число, зольность (в процентах от массы семени), содержание белка (в процентах от массы семени), элементный состав (в микрограммах).

Количество масла в семенах льна определяли по сухому остатку после исчерпывающей экстракции (метод С. В. Рушковского) [3].

Воздушно-сухой материал (50°C, силикагель, 72 ч) замораживали в жидком азоте (-195,75°C) и размалывали в фарфоровой ступке до однородного порошка, и засыпали в экстракционные патроны, изготовленные из фильтровальной бумаги белая лента (ОАО «Завод химреактивов-комплект», Россия). В аппарате Сокслета проводили 24-часовую экстракцию образцов смесью гексан-пропанол (1 : 1). Полноту извлечения жира проверяли по кольцевой пробе. После завершения экстракции патроны высушивали (50°C, силикагель, 72 ч), взвешивали. Содержание масла в пробе рассчитывали по сухому остатку.

Экстракцию и определение жирных кислот проводили по методу Welch [4] с модификациями. Триацилглицеролы этерифицировали до метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) раствором 2%-ной серной кислоты в абсолютном метаноле (условия: 3 ч при  $(80 \pm 1)^\circ\text{C}$ , в среде инертного аргона, внутренний стандарт – гептадекановая кислота C17:0; 0,27 мг/мл). Экстракцию осуществляли с использованием гексана (0,50 мл) при перемешивании на вихревом миксере (5,0 с). МЭЖК экстрагировали гексаном (0,50 мл, вихревой миксер) и разделяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Hewlett-Packard 4890D, оснащенный пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой HP-Innowax 0,32 мм  $\times$  30 м с размером носителя 0,50 мкм. Аналитическая скорость потока гелия 26 см/с, температура колонки 200,00°C, инжектора и детектора – 250,00°C. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Индивидуальные жирные кислоты идентифицировали по времени удерживания при разделении их стандартных смесей (Supelco Park, USA) и оценивали в процентах от весового суммарного содержания по отношению к внутреннему стандарту [5].

Термогравиметрический анализ образцов семян льна (5,00–5,10 мг) проводили на термоанализаторе TA-4000 (модуль ТГ-50) (Mettler Toledo STARe System, Швейцария), при скорости нагревания 5°C/мин и расходе воздуха 200 мл/мин в интервале температур 25–700°C. Кривые потери массы были рассчитаны при помощи программного обеспечения STARe [6].

Исследование элементного состава зольного остатка семян осуществляли с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-5610 LV, оснащенного системой химического анализа EDX JED-2201 JEOL (Япония). Анализ проводили в низковакуумном режиме работы электронного микроскопа с использованием детектора обратно отраженных электронов [7].

Для статистической обработки данных использовали программные продукты MS Excel, Statistica. Сходимость данных, полученных с использованием различных аналитических ме-

тодов (динамическая термогравиметрия / метод Кьельдаля), и для последовательных генераций семенного материала оценивали с использованием корреляционного анализа [8]. Для каждого варианта опыта (сорт – год) была предусмотрена трехкратная повторность, что в пределах аналитической методики позволяет оценить воспроизводимость результатов по критериям стандартного среднеквадратичного отклонения (СО) и коэффициента варьирования (КВ) [9]. Для показателей масляности, зольности и расчетного йодного числа масла был рассчитан индекс воспроизводимости средних (ИВСр), который в стандартах по статистическим методам анализа технологических процессов характеризует соответствие изменчивости статистически устойчивого процесса (метода) к ширине поля допуска [10]. В качестве допустимого разброса значений метода (ширины поля допуска) анализа было принято стандартное отклонение генеральной выборки по изучаемому компоненту или показателю качества семян.

Основными показателями качества семян льна являются содержание и состав масла, белка и зольных веществ, одновременный микроанализ которых в текущих условиях сложно осуществим. Поэтому для селекционной практики льна масличного был подобран комплекс методов, позволяющий оптимально использовать семенной материал и обеспечивающий воспроизводимость данных.

При средней урожайности 0,60 г (88 шт.) семян с растения льна [11], допустимый расход семян для проведения компонентного анализа составляет около 0,45 г семян, при этом для размножения перспективных образцов сохраняется 10–15 зерен. Современные методы позволяют предложить следующую схему расхода семян: 1) экстракционный анализ содержания масла в семенах – 0,30 г семян ( $\approx$ 40 шт.); 2) оценка состава масла семян льна с использованием газожидкостной хроматографии метиловых эфиров жирных кислот – 0,03 г семян (6 шт.); 3) динамическая термогравиметрия (ДТГ) семян для определения содержания в семенах льна зольных веществ, белка, нуклеиновых кислот и полимерных углеводов – 0,03 г семян (6 шт.); 4) элементный анализ зольного остатка семян льна после ДТГ методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. В предложенной схеме расход семян составляет 0,36 г, что позволяет сохранить около 0,24 г для размножения, гибридизации и отбора.

Оптимизация предложенной схемы включала: оценку погрешности (для метода исчерпывающей экстракции) и воспроизводимости методик при анализе коллекции генотипов льна четырех генераций (для показателей маслячно-

сти, расчетного йодного числа масла, зольности); адаптацию сложных физико-химических методов для анализа биологического материала семян льна (динамическая тегограмметрия, рентгенофлуоресцентный анализ).

Классическими методами анализа содержания масла в семенах льна являются экстракционные методы [12, 13]. В практике широко распространены косвенные, требующие калибровки по методу полной экстракции тесты, такие как ядерный магнитный резонанс и спектроскопия в ближней инфракрасной области [14]. Кроме того, разработаны недорогие экспресс-методы анализа масличности льна с использованием рефракто- [15] и пикнометрии [16, 17]. Для анализа содержания липидов в семенах льна мы использовали экстракционный метод Рушковского [3], преимуществами которого являются высокая производительность (одновременный анализ большого количества образцов) и экономный расход растворителя. При этом источником ошибок могут служить: неравномерный помол материала, размазывание масла по ступке, плохая предварительная просушка семян и патронов [18].

Использование жидкого азота на этапе измельчения семенного материала позволило решить вопросы с неравномерным помолом и потерями масла вследствие размазывания по ступке. Для оценки уровня систематической погрешности, обусловленной остаточной влажностью, образцы воздушно-сухих цельных и размолотых семян льна (по 25 навесок) были просушены в сухожаровом шкафу до постоянного веса (в среднем 2 ч при 105°C). Средняя влажность цельных семян льна – 6,34%, КВ = 0,02, размолотых – 2,88%, КВ = 0,08.

Более высокая изменчивость влагосодержания размолотых семян, вероятно, является результатом варьирования тонины помола. Таким образом, остаточная влажность аналитических патронов обуславливает завышение уровня масла в семенах на 2,49–3,28%, которое можно не учитывать при сравнительной оценке селекционной ценности образцов льна, однако при стандартизации и товароведческой оценке сырья следует делать поправку на завышение абсолютных данных.

Для оценки воспроизводимости результатов метода Рушковского был использован массив данных, объединяющий 300 повторностей опыта по 4 поколениям 25 сортов льна. Достоверная корреляция среднесортных значений масличности по 4 годам исследования ( $r = 0,56$ ) подтверждает сохранение ранжирования сортов и характеризует использованный метод анализа как корректно воспроизводящий взаимосвязанные данные. КВ масличности в индивидуаль-

ном образце семян (вариант сорт – год) составил 0,002–0,08, при этом в 74% случаев значения не превышали 0,05. Для расчета ИВСр были использованы значения КВ [9]. При ширине поля допуска  $\pm 2,39\%$  ИВСр составил 1,08 (0,28–9,58). В настоящее время газо-жидкостная хроматография МЭЖК является стандартным методом исследования состава и строения природных и синтетических липидов [20]. В составе льняного масла представлены пять главных жирных кислот (ЖК): пальмитиновая ( $\approx 5\%$ ), стеариновая ( $\approx 3\%$ ), олеиновая ( $\approx 18\%$ ), линолевая ( $\approx 14\%$ ) и  $\alpha$ -линоленовая ( $\approx 50\%$ ) [19].

Для каждого генотипа льна характерно уникальное соотношение концентраций жирных кислот, сохраняемое при варьировании средовых условий выращивания. Таким образом, достоверная сходимость результатов жирнокислотного анализа семян различных генераций будет являться косвенным подтверждением достоверности и воспроизводимости используемого метода анализа.

Корреляционные соотношения содержания  $\alpha$ -линоленовой ( $r = 0,92$ ), линолевой ( $r = 0,99$ ), стеариновой ( $r = 0,60$ ) и пальмитиновой кислот ( $r = 0,51$ ) в масле семян льна урожая четырех лет статистически достоверны (табл. 1). Конвергенция данных по уровню олеиновой кислоты ( $r = 0,51$ ) недостоверна, что, вероятно, обусловлено особенностями метаболизма жирных кислот льняного семени, в котором олеиновая кислота играет роль лабильного предшественника для биосинтеза линолевой и  $\alpha$ -линоленовой кислот [20].

Таблица 1

**Воспроизводимость аналитических методов**

Признак	$r$	КВ	ИВСр
Масличность, %	0,56*	0,03	1,08
Йодное число, г/100 мл	0,76*	0,06	1,40
Зольность, %	0,90*	0,03	3,45

*Примечание:*  $r$  – средний коэффициент корреляции 2005–2009 гг. \* Достоверно при  $P \leq 0,05$ . КВ – коэффициент варьирования. ИВСр – индекс воспроизводимости средних: <1 – низкая; >1,00 – удовлетворительная; >1,33 – высокая воспроизводимость.

Расчетное йодное число масла (ЙЧ) вычисляли путем умножения процентного содержания каждой жирной кислоты на соответствующий коэффициент и сложением результатов [21]. Для значений ЙЧ были рассчитаны:  $r = 0,76$ , КВ = 0,06, ИВСр = 1,40 (ширина поля допуска  $\pm 2,30$  – среднее стандартное отклонение генеральной выборки). Полученные статистические показатели соответствуют высокому уровню воспроизводимости результатов аналитического метода (газо-жидкостной хроматографии МЭЖК).

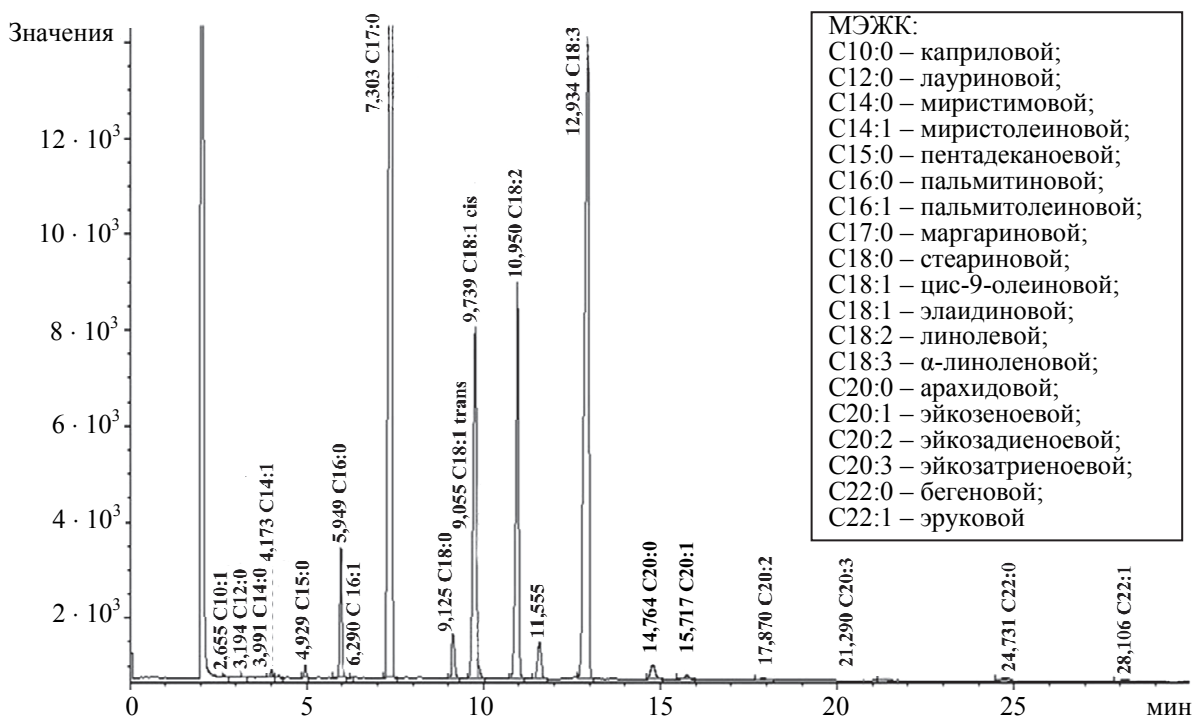


Рис. 1. Хроматограмма разделения метиловых эфиров жирных кислот (сорт McGregor)

В основе термоаналитических методов лежит изучение свойства образца при изменении температуры в заданных условиях [22], в биологии эти методы позволяют получать ценную информацию о строении, составе и свойствах тканей и органов [23]. Состав и термохимические свойства цельного льняного семени оценивали с использованием метода динамической термogrавиметрии (ДТГ). Предварительная оптимизация метода включала опыты по термическому анализу отдельных тканей и компонентов семян: интактные и обезжиренные семядоли с зародышем, семенные оболочки, льняное масло, запасные белки. Корреляционный анализ подтверждает высокую степень сходимости результатов содержания белка (до 22% массы семени), полу-

ченных с использованием ДТГ и классическим аналитическим методом Кьельдаля ( $r = 0,80$ ) [24, 25]; между данными ДТГ и количеством липидов, извлеченных в ходе исчерпывающей экстракции в аппарате Сокслета ( $r = 0,71$ ).

Анализ кривой зависимости изменения массы семени от температуры (ТГ) позволяет судить о термостабильности и составе целостного семени льна. Так на первом этапе из образца удаляется вода (25–100°C), затем последовательно распадаются протеины (230–370°C), жирные кислоты (370–460°C), нуклеиновые кислоты (460–530°C) и полимерные углеводы (530–700°C) [26]. Потеря массы семени при ДТГ составляет 95,23–96,78% (рис. 2), остаточная зольность – 3,22–4,77%.

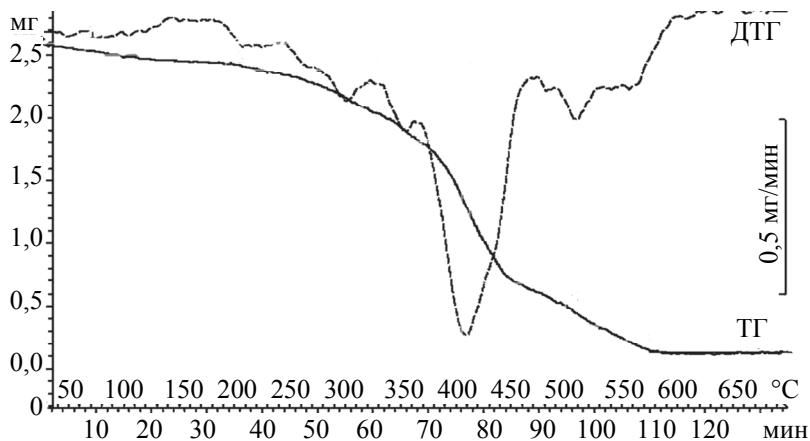


Рис. 2. Термический анализ семян сорта Atalante. Интервалы потери массы, °C: 25–100 вода; 100–230 низкомолекулярные протеины; 230–370 запасные белки; 370–460 липиды; 460–530 нуклеиновые кислоты; 530–700 полимерные углеводы

Воспроизводимость ДТГ оценивали по результирующей потере массы – зольному остатку семян. Коэффициент парной корреляции между среднесортowymi значениями зольности семян льна урожаяев 2005 и 2007 гг. составил 0,90. Разбегу данных по трем повторностям опыта оценивали по показателям стандартного отклонения и коэффициента варьирования. При среднем КВ 0,03 и ширине поля допуска  $\pm 0,27$  средний ИВСр составил 3,45, таким образом, по результирующей потере массы метод ДТГ дает высоко воспроизводимые (в пределах анализируемого образца) данные.

После ДТГ зола семян льна сохраняет микрогранулированную структуру (рис. 3), характерную для глобидов – запасующих органелл семян. Для оценки элементного состава золы был использован количественный электронно-зондовый энергодисперсионный (рентгенофлуоресцентный) анализ (рис. 4), в основе которого лежит предположение [27] о том, что интенсивность характеристического излучения  $I_A$ , испускаемого атомами элемента А, пропорциональна концентрации  $C_A$  этого элемента в образце. Рентгеновский микроанализ позволяет определять атомный состав материалов практически во всем интервале концентраций с точностью около 2%.

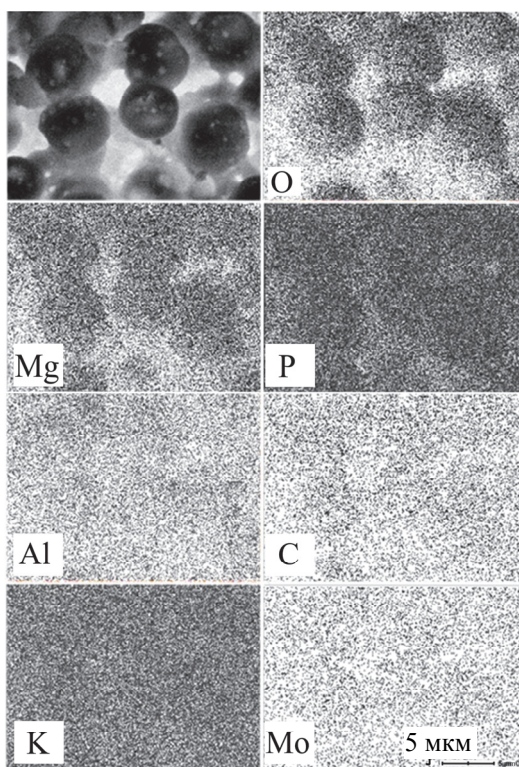


Рис. 3. Электронно-микроскопическое изображение зольного остатка семян льна сорта Flanders. Темные точки соответствуют эмиссионным квантам: кислорода – О; магния – Mg; фосфора – P; алюминия – Al; углерода – С; калия – К; молибдена – Мо

Препараты золы семян исследовали с помощью сфокусированного высокоэнергетического пучка электронов в сканирующем электронном микроскопе (рис. 3). Для определения концентрации элементов в образцах был использован метод трех поправок, или ZAF-метод, позволяющий оценить состав по измерениям интенсивностей характеристических спектральных линий (EDX-спектрах) на образце и на эталонах (рис. 4).

К сожалению, элементный состав семян льна был проанализирован только на единичном образце каждого сорта, что не позволяет оценить воспроизводимость данных. Однако полученные результаты химического состава золы семян льна совпадают с литературными данными (среднее содержание элементов в семенах: Na – 0,37 мг/г; Mg – 15,36 мг/г; Al – 0,42 мг/г; К – 21,57 мг/г; Са – 3,72 мг/г; Fe – 0,39 мг/г; Zn – 1,46 мг/г).

Статистические показатели воспроизводимости данных (КВ и ИВСр) рассчитаны для концентраций семи элементов: калия, натрия, магния, фосфора, железа, цинка и кальция (табл. 2). Воспроизводимость данных EDX-анализа коррелирует с общим содержанием исследуемого элемента в образце. Так, например, для макроэлементов К, Р, Mg, показана высокая интенсивность спектральных линий (выше 17 кэВ), соответствующая высокому содержанию элементов в зольном остатке, а также низкие значения коэффициента варьирования и высокие значения индекса воспроизводимости средних по анализируемому образцам. Коэффициент корреляции между средним содержанием элемента в образце и коэффициентом варьирования опыта составляет  $-0,85$  (достоверно при  $\alpha \leq 0,02$ ). Таким образом, электронно-зондовый рентгенофлуоресцентный анализ содержания следовых количеств минеральных элементов в зольном остатке семян льна может давать высокую погрешность.

Таблица 2

#### Воспроизводимость EDX-анализа

Элемент	Масса (зола)	КВ	ИВСр
К	32,75	0,02	5,83
Na	0,21	0,12	0,19
Mg	17,37	0,02	3,02
P	43,3	0,01	7,36
Fe	0,52	0,21	0,28
Zn	1,55	0,17	0,50
Ca	4,14	0,11	0,67

Примечание: ИВСр: <1 – низкая; >1,00 – удовлетворительная; >1,33 – высокая воспроизводимость.



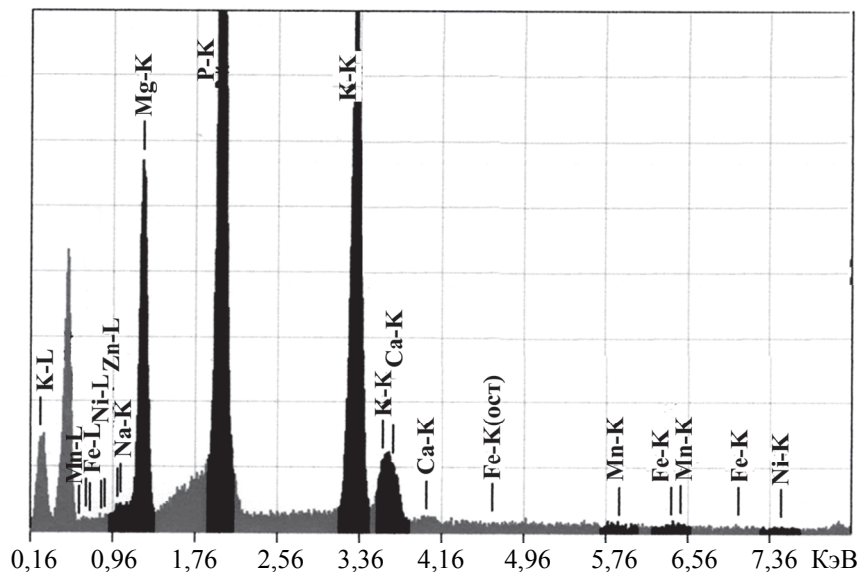


Рис. 4. EDX-спектр золы семян сорта Flanders (показаны Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Zn)

**Заключение.** С учетом многообразия сортов и форм льна, различающихся концентрацией и составом липидов, содержанием белка и другими показателями комплексная идентификация состава семян позволит установить их сортовую принадлежность, соответствие технологическим требованиям, селекционную ценность индивидуальных растений для отбора и гибридизации.

В работе были использованы современные методы анализа, однако сложное строение и состав семян льна обусловили необходимость предварительной адаптации и оптимизации используемых аналитических подходов, оценки воспроизводимости получаемых данных. Метод исчерпывающей экстракции Рушковского был оптимизирован применением жидкого азота для размалывания семян и введением поправочного коэффициента на остаточную влажность. Динамическая термогравиметрия цельных семян позволяет проводить одновременный анализ уровня масла, белка, углеводов и зольных веществ. Метод был оптимизирован при сепаратном сжигании отдельных компонентов и органов семян (семядоли, семенная оболочка, масло, запасной белок). Адекватность воспроизведения данных компонентного анализа семян льна подтверждает корреляционная сходимость результатов ДТГ и специализированных методик – азотометрии белка по Кьельдалю и исчерпывающей экстракции по Рушковскому. Использование озоленного остатка для анализа элементного состава семян увеличило эффективность электронно-зондового рентгено-флуоресцентного анализа, так как глубина проникновения зондов в частицы золы выше, чем в ткани интактного семени.

Согласно показателям коэффициента варьирования и индекса воспроизводимости Ср,

данные экстракционного анализа масличности, хроматографического определения концентрации индивидуальных жирных кислот, термогравиметрической оценки зольности и электронно-зондового рентгенофлуоресцентного анализа элементного состава характеризуются высокой репродуктивностью и малой разбегом данных по повторностям опыта.

Предложенная методическая схема позволяет проводить качественный и количественный анализ по комплексу признаков с использованием минимальных навесок семян: 0,3 г – экстракционный анализ масличности (метод Рушковского), 0,03 г – газо-жидкостная хроматография МЭЖК, 0,03 г – термогравиметрический анализ состава семян, электронно-зондовый рентгенофлуоресцентный анализ элементного состава озоленного остатка после термического анализа. Общий расход семян на проведение анализа семян по комплексу признаков составляет около 0,36–0,45 г, что позволяет использовать остаток семян (0,15–0,24 г) для размножения перспективных образцов и проведения индивидуального отбора.

#### Литература

1. Минкевич И. А. Лен масличный. М.: Госиздательство сельскохозяйственной литературы, 1957. 179 с.
2. Structure, Composition, and Variety Development of Flaxseed / J. K. Daun [a. o.] // Flaxseed in Human Nutrition; ed. by L. U. Thompson, S. C. Cunnane. Champaign, IL: AOCS Publishing, 2003. P. 1–40.
3. Петров К. П. Методы биохимии растительных продуктов. Киев: Вища школа, 1978. 224 с.
4. Welch R. W. A Micro-method for the Estimation of Oil Content and Composition in Seed

Crops // J. Sci. Food Agr. 1977. Vol. 28, No. 4. P. 635–638.

5. Хроматографический анализ жирнокислотного состава липидов – метод идентификации биологических объектов / В. Н. Леонтьев [и др.] // Труды Белорусского государственного технологического университета. Сер. IV. Химия и технология орган. веществ. 2005. Вып. XIII. С. 100–101.

6. Van de Velde K., Kiekens P. Thermal Degradation of Flax: the Determination of Kinetic Parameters with Thermogravimetric Analysis. J. Appl. Polym. Sci. 2002. Vol. 83, No. 12. P. 2634–2643.

7. Чалых А. Е., Алиев А. Д., Рубцов А. Е. Электронно-зондовый микроанализ в исследовании полимеров. М.: Наука, 1990. 192 с.

8. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйшая школа, 1973. 319 с.

9. Гармаш А. В., Сорокина Н. М. Метрологические основы аналитической химии / ред. Т. Н. Шеховцова. М.: Высший химический колледж РАН, 2005. 34 с.

10. Boyles, R. The Taguchi Capability Index, American Society for Quality Control / J. of Qual. Techn. 1991. Vol. 23, No. 1. P. 17–26.

11. Вакула С. И. Анализ межсортной изменчивости льна масличного (*Linum usitatissimum* L.) // Молодежь в науке – 2007: прил. к журн. «Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». В 4 ч. Ч. 1: Серия биологических наук; серия медицинских наук; ред.: И. Д. Волотовский [и др.]. Минск: Бел. Наука, 2008. С. 51–56.

12. AOAC Official Methods of Analysis. Arlington. VA. 1984. P. 507.

13. Oomah B. D. Processing of Flaxseed Fiber, Oil, Protein and Lignan // Flaxseed in Human Nutrition; ed. by L. U. Thompson, S. C. Cunnane. Champaign, IL: AOCS Publishing, 2003. P. 363–386.

14. Orman B. A., Schumann R. A. Comparison of Near-infrared Spectroscopy Calibration Methods for the Prediction of Protein, Oil, and Starch in Maize Grain // Jr. Agric. Food Chem. 1991. Vol. 39., No. 5. P. 883–886.

15. Geddes W. F., Lehberg F. H. Flax Studies II. An Improved Refractometric Method for Esti-

imating the Oil Content of Flaxseed. // Can. J. Res. 1936. No. 14. P. 45–61

16. Zimmerman D. C. The Relationship Between Seed Density and Oil Content in Flax // J. Amer. Oil Chem. Soc. 1962. No. 39, 2. P. 78–79.

17. Shewfelt A. L., Putt E. D. A Rapid Method for Estimating the Oil Content of Sunflower Seeds // Can. J. Plant Sci. 1958. No. 38. P. 419–423.

18. Тютюнников Н. Б. Химия жиров. М.: Пищевая промышленность, 1966. 632 с.

19. Шаповалова Е. Н., Пирогов А. В. Хроматографические методы анализа. М: МГУ, 2010. 109 с.

20. Ohlrogge J., Browse J. Lipid Biosynthesis // The Plant Cell. 1995. Vol. 7, No. 7. P. 957–970.

21. Жиры и масла животные и растительные. Определение йодного числа. Национальный стандарт российской федерации: ГОСТ Р ИСО 3961–2010. Введ. 01.01.2012. М.: Стандартинформ, 2012. 28 с.

22. Майорова А. Ф. Термоаналитические методы исследования // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 10. С. 50–54.

23. Термический анализ и сканирующая электронная микроскопия с электронно-зондовым микроанализом в комплексных исследованиях структуры биологических объектов: [для сельскохозяйственных культур] / В. Н. Леонтьев [и др.] // Материалы, технологии, инструменты. 2005. Т. 10, № 4. С. 109–115.

24. Cohen J. V. Practical Organic Chemistry. Yorkshire: Macmillan & Company, 1913. 356 p.

25. Способ определения содержания белка в семенах льна масличного: пат. ВУ 13275 С1 2010.06.30, РБ. № 13275 // Афіцыйны бюлетэнь нацыянальнага цэнтра інтэлектуальнай уласнасці. № 3. 2010. С. 121.

26. Термогравиметрический анализ биологически активных компонентов семян льна культурного (*Linum usitatissimum* L.) / С. И. Вакула [и др.] // Вест. ФФИ. 2009. № 1(47). С. 69–78.

27. Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis / J. I. Goldstein [a. o.]. NY: Springer US., 2003. 689 p.

Поступила 24.02.2014