

УДК 631.547.1:581.19:633.521

Н. В. Анисимова, науч. сотрудник (ИГиЦ НАН Беларуси);
С. И. Вакула, мл. науч. сотрудник (ИГиЦ НАН Беларуси);
В. Н. Леонтьев, доцент (БГТУ); В. В. Титок, директор (ЦБС НАН Беларуси)

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ФИТИНА И НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФАТА В СЕМЕНАХ СОРТОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО

Пищевая и нутрицевтическая ценность льна масличного определяется присутствием в составе его семян различных биологически активных компонентов, к числу которых относится фитин. Целью работы является анализ содержания фитина и неорганического фосфата (Pi) в семенах коллекции сортов льна масличного. Выявлена генотипическая изменчивость по изученным показателям. Уровень фитина в льняной муке положительно коррелирует с содержанием Fe, Mn и Zn в озолонном остатке семян и отрицательно с ненасыщенными жирными кислотами. Связи между содержанием фитина и важнейшими показателями продуктивности не обнаружено. Выделены образцы с высоким и более низким содержанием фитина, рекомендованные для различных направлений хозяйственного и селекционного использования.

Food and nutraceutical value of flaxseed is defined by the presence of various biologically active components in its seed. Phytic acid is an antinutritional and a dietary component. Samples with high and low phytin content are intended for different economic and breeding usage. The purpose of work is the analysis of variation of phytin and phosphate (Pi) content in 25 cultivars of flaxseed and to select a sources of high and low phytic content. Statistical estimation revealed genetic variability of the studied parameters. Phytin level positively correlates with the level of seeds minerals (Fe, Mn and Zn) and is negative with polyunsaturated fatty acids. Connection between phytin and the major yield parameters was not revealed.

Введение. Семена льна (*Linum usitatissimum* L.) – важный диетический продукт и биологически активная добавка к пище, источник ценных нутриентов: белка, масла, витаминов, микроэлементов, фитина, пищевых волокон. Смешанная соль фитиновой кислоты (мио-инозитол-1,2,3,4,5,6-дигидрогекса-фосфата) – фитин – это основная форма запасания фосфатных групп и инозитола в семенах и плодах растений [1]. В покоящихся семенах на долю фитина приходится от 60 до 90% всего фосфора [2], у льна, например, доля фитина в обезжиренной муке составляет 1,8–3,0%, или ~70% общего фосфора семени [3].

Нутрицевтический статус и биологическая активность фитина неоднозначны. Фосфаты, входящие в состав фитина, не усваиваются организмом человека из-за отсутствия пищеварительного фермента фитазы [4]. Обладая сильными хелатирующими свойствами, фитиновая кислота образует комплексы с микроэлементами пищи, главным образом с K, Mg, Zn, Fe, Cu. Выявлено также, что фитин способен связываться с белком, изменяя конформацию белковой молекулы, тем самым влияя на его ферментативную активность, растворимость и усвояемость. Негативные аспекты воздействия фитина на организм человека и животных способствовали созданию низкофитиновых сортов кукурузы, ячменя, риса и сои [5], развитию технологий тепловых и ферментативных предобработок растительных продуктов.

Наряду с негативным влиянием на усвояемость микроэлементов и белка пищи, фитин

обладает целым рядом благоприятных для живого организма свойств. Он оказывает сильное антиоксидантное действие, способен ингибировать клеточный цикл и увеличивать активность Т-киллеров крови. Терапевтическое применение фитина связано с лечением сахарного диабета, атеросклероза, коронарной недостаточности, почечнокаменной болезни, ВИЧ-1, отравления тяжелыми металлами [1]. Благодаря наличию в молекуле фитина катионов металлов, он снижает в организме уровень холестерина, липидов, сахаров в крови, обладает антиканцерогенным эффектом [6]. Предполагают, что фитин играет важную роль в предотвращении агрегации тромбоцитов и лечении гиперкальциемии [7]. Фитин отличается высокой степенью комплексообразования, и поэтому может быть использован как лечебно-профилактическое средство при отравлении организма ионами металлов. Фитин стимулирует кроветворение, усиливает рост и развитие костной ткани, улучшает деятельность нервной системы при заболеваниях, связанных с недостатком фосфора в организме.

Так как фитин оказывает два противоположных эффекта, являясь антинутриентом с полезными для здоровья физиологическими и фармакологическими функциями, необходимо рассматривать два альтернативных направления селекционного и биотехнологического улучшения пищевых качеств льняного семени. При получении кормов, поскольку утилизация фитина моногастральными животными мини-

мальна, необходима дополнительная подкормка неорганическим фосфатом или добавление в рацион грибной фитазы [8]. Улучшить пищевые качества льняного семени для получения кормов можно также путем генетического снижения содержания фитина в семенах. Для создания же на основе фитина льна различного рода парафармацевтиков (биологически активных добавок, применяемых для профилактики, вспомогательной терапии и поддержки физиологической активности органов и систем) необходимы сорта, напротив, накапливающие высокие дозы данного компонента.

Основная часть. Исходя из вышеизложенного, оценка содержания фитина и неорганического фосфата (Pi) в семенах сортов и сортообразцов льна масличного позволит определить направления их наиболее эффективного использования.

В качестве материала для исследований взята коллекция сортов и сортообразцов льна масличного ИГиЦ НАНБ. Для определения неорганического фосфата был использован метод Лоури-Лопеса в модификации Скулачева [9]. Содержание фитина оценивали по методу, предложенному Lattma и Eskin [10]. Фотомет-

рию растворов проводили при длине волны 660 и 500 нм, для Pi и фитина соответственно (СФ-26, ЛОМО, СССР). Экстракцию и газохроматографическое определение жирных кислот проводили по модифицированному методу Welch на базе БГТУ (Hewlett-Packard 4890D, США). Анализ микроэлементного состава семян льна проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-5610 LV, оснащенного системой химического анализа EDX JED-2201 JEOL (Япония). Статистический анализ данных осуществляли в программной среде Statistica 7.0. (StatSoft, США).

В табл. 1 приведены значения основных показателей продуктивности сортов льна масличного. По признаку «масса семени» сорт Mivast достоверно превосходит остальные исследуемые образцы. Крупные семена имеют также сорта Blue Chip, Antares, Raluca, Небесный, у которых масса одного семени статистически достоверно превышает 7 мг. Причем у сорта Blue Chip высокая масса семени сочетается с высоким содержанием в нем фитина, что позволяет рекомендовать этот сорт в качестве возможного источника рассматриваемого компонента.

Таблица 1

Содержание фитина, неорганического фосфата в семенах льна масличного и основные показатели продуктивности

Но- мер	Сорт	Фитин, мкг/г	Pi, мкг/г	Фитин / Pi	Масса семени, мг	Масса семян с растения, г
1	Antares	34,53	2,51	13,76	7,50	0,53
2	Atalante	36,14	3,21	11,26	5,36	0,50
3	Blue Chip	39,47	2,64	14,95	7,56	0,48
4	Glenelg	35,33	2,55	13,85	6,32	0,53
5	Gold Flax	41,27	2,93	14,09	4,94	0,52
6	Deep Pink	34,65	2,57	13,48	4,88	0,42
7	Linota	34,97	2,67	13,10	4,86	0,31
8	McGregor	36,54	2,64	13,84	5,02	0,67
9	Omega	37,74	2,80	13,48	5,76	0,42
10	Raluca	34,53	2,92	11,83	7,40	0,72
11	Sandra	36,98	1,99	18,58	6,88	0,55
12	Somme	35,93	2,30	15,62	5,38	0,72
13	Воронежский	35,65	2,20	16,20	5,60	0,53
14	К-5627	35,73	2,63	13,59	6,96	0,69
15	К-5827	35,69	2,08	17,16	5,80	0,56
16	ЛМ-1	35,98	2,32	15,51	6,48	0,46
17	ЛМ-2	36,78	2,48	14,83	6,44	0,52
18	Небесный	33,77	2,62	12,89	7,32	0,75
19	SU-1-10	34,05	2,79	12,20	5,34	0,53
20	Cian	32,88	1,87	17,58	6,96	0,41
21	К-2398	32,04	2,59	12,37	5,16	0,39
22	Л-6582	36,94	2,61	14,15	5,80	0,77
23	К-6570	34,77	2,15	16,17	5,78	0,47
24	Flanders	34,37	2,80	12,28	5,18	0,52
25	Mivast	33,09	2,44	13,51	7,96	0,51

Крупносемянный сорт Mivast, напротив, отличается пониженным содержанием фитина. Этот сорт может быть использован в пищевой промышленности и кормопроизводстве, где увеличение доступности фосфора позволит повысить питательную ценность производимого продукта.

Низкие значения массы семени (достоверно ниже 5 мг) отмечены у сортов Linota, Deep Pink, по содержанию фитина эти образцы находятся на среднем уровне. У низколиноленового сорта Gold Flax, также обладающего мелкими семенами (масса одного семени составляет 4,9 мг), выявлено высокое содержание фитина в семени. Это объясняется существованием отрицательной зависимости между содержанием фитина и величиной йодного числа, на которую указывается в литературе [11].

Об общей продуктивности растения льна масличного можно судить по проявлению признака «масса семян с растением». Высокие значения массы семян с растением характерны для сортов и сортообразцов: Л-6582, Небесный, а также Raluca и Somme (выше 0,7 г). Однако по содержанию фитина в муке семян эти формы находятся на среднем уровне, за исключением сорта Небесный.

Нам не удалось обнаружить достоверной корреляции между показателями продуктивности и содержанием фитина (для связи фитина и массы семян с растением $r = 0,105$, для связи фитина с массой отдельного семени $r = 0,121$). Полученные нами результаты согласуются с имеющимися в литературе сведениями. Так, на отсутствие связи между количеством фитина и продуктивностью ($r = 0,027$) указывают авторы статьи [12]. Можно сделать вывод, что факторы, влияющие на урожайность, не влияют на обеспеченность растения фосфором.

В метаболизме прорастающих семян важная роль принадлежит неорганическому фосфату, основным источником которого в семенах является фитин. Поскольку Pi является аллостерическим ингибитором фитазы, логично предположить, что при повышенном исходном соотношении фитин / Pi в глобоидах алейроновых зерен создаются благоприятные условия для активного функционирования этого фермента [13].

В наших исследованиях наибольшая величина признака «содержание Pi» отмечена у сортов Atalante (3,21 мкг/г), а также Flanders, SU-1-10 (2,8 и 2,79 мкг/г, соответственно), наименьшая – в семенах сортов Cian и Sandra (ниже 2 мкг/г). Сравнительный анализ соотношения фитин / Pi показал, что максимальное значение этого показателя обнаружено у тех же сортов, характеризующихся низким содержанием Pi (Cian и Sandra).

В связи с тем, что в инициации метаболических процессов при прорастании семян ключевая роль может принадлежать соотношению фитин / Pi, была проведена оценка регрессионной зависимости между величиной соотношения фитин / Pi в покоящихся семенах и элементами продуктивности у исследуемых генотипов. Наши результаты не показали наличие достоверной коррелятивной связи между этими показателями. Так, коэффициент детерминации (R^2) для пары признаков «фитин / Pi» и «масса семени» составил 0,020, а для показателей «фитин / Pi» и «общая продуктивность растения» – 0,015.

В табл. 2 приведены значения коэффициентов корреляции между содержанием фитина, Pi, фитин / Pi и основными жирными кислотами.

Таблица 2

Результаты корреляционного анализа содержания фитина, неорганического фосфата и жирных кислот в семенах льна масличного

ЖК	Фитин / Pi	Фитин	Pi
C18:3	-0,06	-0,58*	-0,18
C18:2	0,00	0,62*	0,26
C18:1	0,19	-0,20	-0,27
C18:0	0,07	-0,33	-0,19
C16:0	0,16	0,22	-0,09

Примечание. ЖК – жирная кислота; C18:3 – α -линоленовая; C18:2 – линолевая; C18:1 – олеиновая; C18:0 – стеариновая; C16:0 – пальмитиновая; * – достоверно при $\alpha \leq 0,05$.

Как видно из приведенных данных, высокая положительная корреляция существует между количеством фитина и линолевой кислотой, тогда как связь фитина с α -линоленовой кислотой достоверно отрицательная. Следовательно, содержание фитина статистически значимо связано с жирнокислотным составом льняного масла. Увеличение концентрации фитина сопровождается снижением ненасыщенности жирных кислот и увеличением доли насыщенных кислот в общем количестве масла семени. Уровень фитина также отрицательно связан с общим уровнем фенольных кислот $r = -0,355$ [12]. Следовательно, в семени льна существует обратная связь содержания фитина и других компонентов, обладающих антиоксидантной активностью (полиненасыщенные жирные и фенольные кислоты).

Корреляционный анализ взаимосвязи содержания фитина с важнейшими микроэлементами в семенах льна масличного показал наличие статистически значимых положительных корреляций между фитином и Mn, Fe, Zn. Топографическое картирование распределения индивидуальных микроэлементов выявило ассоциацию с глобоидами только Mn, вероятно, вы-

сокие общие концентрации Fe, Zn в клетках и их связь с ферментами маскируют накопление данных элементов в составе алейроновых зерен. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3
Результаты корреляционного анализа содержания фитина, неорганического фосфата и микроэлементов в семенах льна масличного

Элемент	Фитин / Pi	Фитин	Pi
Na	0,19	-0,22	-0,30
Mg	-0,10	0,19	0,19
Al	-0,27	-0,04	0,23
K	-0,13	-0,11	0,09
Ca	0,02	0,15	0,01
Mn	0,15	0,56*	0,10
Fe	0,04	0,47*	0,13
Cu	-0,06	-0,03	0,07
Zn	0,04	0,45*	0,14
Mo	0,27	-0,17	0,37

* Достоверно при $\alpha \leq 0,05$.

Закключение. Таким образом, полученные результаты показали значительную генотипическую гетерогенность в содержании фитина, неорганического фосфата и соотношения фитин / Pi в семенах льна масличного, что указывает на потенциальную возможность селекционного изменения этих показателей в разных направлениях с целью повышения пищевой,нутрицевтической или фармакологической ценности льносемени. Выделены образцы с высоким содержанием фитина в семенах (Gold Flax, Blue Chip, Omega), которые, принимая во внимание его полезные свойства для человеческого организма, могут быть рекомендованы к использованию внутрицевтической и фармацевтической промышленности. Сорта с пониженным содержанием фитина найдут применение в кормопроизводстве. Так, использование в составе кормов для моногастральных животных сортов льна масличного с низким содержанием фитина позволяет значительно увеличить доступность фосфора.

Установлена сопряженность концентрации фитина в семенах с долей ненасыщенных жирных кислот. В случае необходимости получения низколениоленовых сортов с невысоким содержанием фитина и, напротив, высоколиноленовых, обогащенных фитином, потребуются дополнительные генетико-селекционные исследования для получения заданного сочетания генов. Обнаружены достоверные положительные корреляции фитина с некоторыми микроэлементами (Mn, Fe, Zn).

Литература

1. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review / V. Kumar [et al.] // Food chemistry. – 2010. – Vol. 120. – P. 945–959.
2. Соболев, А. М. Отложение веществ в запас / А. М. Соболев, Л. П. Жданова // Физиол. семян; под ред. А. А. Прокофьева. – М., 1982. – С. 48–101.
3. Bhatti, R. S. Compositional analysis of laboratory-prepared and commercial samples of linseed meal and of hull isolated from flax / R. S. Bhatti, P. Cherdkiatgumchai // J. Am. Oil Chem. Soc. – 1990. – Vol. 57. – P. 79–84.
4. Holm, P. B. Transgenic approaches in commonly consumed cereals to improve iron and zinc content and bioavailability / P. B. Holm, K. N. Kristiansen, H. B. Pedersen // J. Nutr. – 2002. – Vol. 132, № 3. – P. 514–516.
5. Raboy, V. Progress in Breeding Low Phytate Crops / V. Raboy // J. Nutr. – 2002. – Vol. 132, № 3. – P. 503–505.
6. Raboy, V. *myo*-Inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate / V. Raboy // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 63, № 6. – P. 1033–1043.
7. Thompson, L. U. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods / L. U. Thompson // Food Res. Int. – 1993. – Vol. 26. – P. 131–149.
8. Oomah, B. D. Phytic acid content of flaxseed as influenced by cultivar, growing season, and location / B. D. Oomah, E. O. Kenaschuk, G. Mazza // J. Agric. Food Chem. – 1996. – Vol. 44. – P. 2663–2666.
9. Скулачев, В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи / В. П. Скулачев. – М.: Наука, 1962. – 153 с.
10. Lattma, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination / M. Lattma, M. Eskin // J. Agric. Food Chem. – 1980. – Vol. 28, № 6. – P. 1315–1315.
11. Азаркович, М. И. Мобилизация белка и фитина в алейроновых зернах семян клешевины при прорастании / М. И. Азаркович, М. И. Дмитриева, А. М. Соболев // Физиол. раст. – 1999. – Т. 46, № 3. – С. 410–418.
12. Oomah, B. D. Phenolic acid in flaxseed / B. D. Oomah, E. O. Kenaschuk, G. Mazza // J. Agric. Food Chem. – 1995. – Vol. 43, № 11. – P. 2016–2019.
13. Seed phosphorus and inositol phosphate phenotype of barley low phytic acid genotypes / J. A. Dorsch [et al.] // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 62. – P. 691–706.

Поступила 26.03.2010