Journal of Siberian Federal University. Chemistry 4 (2008 1) 399-404
~ ~ ~

УДК 630.86.075.8

Состав фосфолипидов хвои сосны сибирской

Светлана А. Быстрякова, Людмила П. Рубчевская*
Сибирский государственный технологический университет
пр. Мира, 82, Красноярск, 660049 Россия [1]

Received 24.11.2008, received in revised form 15.12.2008, accepted 22.12.2008

Изучен состав фосфолипидов хвои сосны сибирской в различные периоды годового цикла. Установлены основные закономерности накопления и перераспределения фосфатидилэтаноламинов в хвое сосны сибирской в ходе онтогенеза.

Ключевые слова: фосфолипиды хвои сосны сибирской, состав, накопление и распределение.

Введение

В последнее время исследователи уделяют большое внимание изучению нелетучих липидных компонентов живых элементов хвойных растений. Среди них важное место занимают фосфолипиды. Работы по изучению состава фосфолипидов стали проводиться с конца XIX в., но лишь в последние десятилетия, благодаря использованию методов физико-химического и ферментативного анализов, достигнуты значительные успехи в области исследования их структуры. Фосфолипиды используются в медицине, ветеринарии, пищевой, парфюмерно-косметической, текстильной, кожевенной, химической промышленности. Именно поэтому в настоящее время резко возрос интерес к исследованию фосфолипидов древесной зелени хвойных растений, являющейся перспективным сырьем для их получения. Изучение состава фосфолипидов тканей хвойных растений имеет и другой важный аспект, связанный с установлением механизмов превращения липидов в ходе онтогенеза растения.

Ранее были изучены фосфатидилхолины хвои сосны сибирской [1]. В продолжение этих исследований в настоящей работе изучены групповой состав фосфолипидов хвои сосны сибирской в ходе годового цикла, жирнокислотный, позиционно-типовой и позиционно-видовой составы фосфатидилэтаноламинов [1].

Экспериментальная часть

Отбор проб хвои сосны сибирской проводили со свежесрубленных деревьев в течение 2003-2005 гг. во второй декаде каждого месяца. Результаты, приведенные в работе, – средние за трехлетний период исследования. Модельные деревья подбирали с учетом представительности проб в естественных древостоях в Емельяновском лесхозе Красноярского края. Общую липидную фракцию извлекали из хвои по методу Блайя и Дайера смесью растворителей хлороформ: изопропи-

* Corresponding author E-mail address: sibstu@sibstu.kts.ru
1 © Siberian Federal University. All rights reserved

ловый спирт в соотношении 1 : 2 по объему. Очистку липидов от нелипидных примесей проводили гель-фильтрацией по методикам, изложенным в [2-5].

Выделение фосфолипидов из суммарной фракции липидов проводили методом адсорбционной колоночной хроматографии. Полученный экстракт фосфолипидов использовали для определения его группового состава методом микротонкослойной хроматографии. Выделенные препараты отдельных групп фосфолипидов использовали для дальнейшего анализа. Состав жирных кислот фосфатидилэтаноламинов устанавливали, используя методы ГЖХ и ЯМР. Позиционное распределение жирных кислот в глицеридной части молекул фосфатидилэтаноламинов устанавливали методом ферментативного гидролиза [5]. По результатам анализа жирных кислот были выявлены позиционно-типовой и позиционно-видовой составы фосфатидилэтаноламинов [5].

Результаты и их обсуждение

Годичная динамика содержания фосфолипидов в хвое в ходе годового цикла и их групповой состав представлены на рис. 1.

В хвое сосны сибирской содержание фосфолипидов в ходе годового цикла изменяется в пределах 0,58 – 1,36 % с максимумом в декабре – январе (1,36 %) и минимумом в апреле (0,58 %). В групповом составе фосфолипидов хвои обнаружены фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилэтаноламины (ФЭ), фосфатидилсерины (ФС), фосфатидилинозиты (ФИ). Для каждой из указанных групп фосфолипидов характерна своя годичная динамика содержания. Для ФХ и ФЭ хвои отмечено наличие двух максимумов в зимний и летний период. В то же время ФС присутствуют в хвое в максимальном количестве лишь зимой, а изменение содержания в хвое ФИ в течение года незначительно.

Состав жирных кислот ФЭ хвои приведен в табл. 1. Полученные результаты

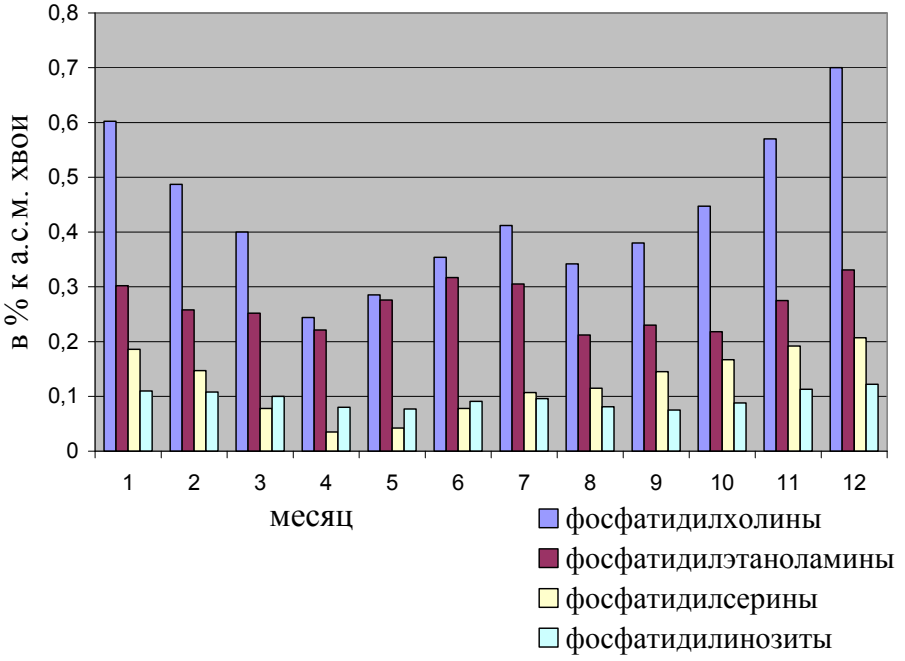

Рис. 1. Групповой состав фосфолипидов хвои сосны сибирской

Таблица 1. Состав жирных кислот фосфатидилэтаноламинов хвои сосны сибирской

Месяцы	Поло-жение*	Содержание, % к сумме кислот											
		$C_{10:0}$	$C_{12:0}$	$C_{14:0}$	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	$C_{20:0}$	$C_{20:4}$	$C_{22:0}$
Январь	Sn-1	0,80	0,65	0,45	18,90	4,20	14,66	34,85	12,74	10,45	0,80	0,70	0,80
	Sn-2	0,24	0,35	0,35	6,40	6,10	0,44	47,81	23,66	13,35	0,40	0,60	0,30
Февраль	Sn-1	0,50	0,80	0,30	16,90	3,80	18,60	35,70	12,10	8,90	0,90	0,50	1,00
	Sn-2	0,30	0,40	0,10	5,10	4,50	1,00	48,10	25,20	13,30	1,10	0,30	0,60
Март	Sn-1	0,40	0,80	0,40	20,85	2,20	17,86	30,00	15,86	10,63	0,50	0,30	0,20
	Sn-2	0,20	0,40	0,20	6,85	5,40	3,44	46,50	22,14	13,57	0,70	0,50	0,10
Апрель	Sn-1	0,50	0,60	0,70	22,00	3,00	12,12	32,34	16,82	9,80	0,82	0,60	0,70
	Sn-2	0,30	0,80	0,10	4,40	5,30	4,12	43,38	23,46	15,54	0,90	0,80	0,90
Май	Sn-1	0,60	0,50	0,60	21,46	3,12	12,87	30,80	17,70	9,65	1,20	0,80	0,70
	Sn-2	0,40	0,30	0,20	4,54	5,08	4,73	45,00	22,30	15,75	0,40	0,40	0,90
Июнь	Sn-1	0,60	0,70	0,80	19,00	3,60	10,20	35,55	17,25	9,70	1,50	0,60	0,50
	Sn-2	0,80	0,50	0,40	10,60	4,00	7,40	37,85	21,55	14,30	0,90	1,00	0,70
Июль	Sn-1	0,60	0,70	0,80	18,80	3,90	11,10	35,80	17,90	9,00	0,90	0,30	0,20
	Sn-2	1,00	0,90	0,60	10,00	4,70	6,20	37,20	21,60	14,80	1,30	0,90	0,80
Август	Sn-1	0,70	0,80	0,70	15,90	4,20	9,60	38,40	18,00	10,00	1,00	0,40	0,30
	Sn-2	0,50	0,60	0,50	12,10	5,80	6,90	36,60	19,80	13,60	1,70	0,90	1,00
Сентябрь	Sn-1	0,60	0,70	0,70	20,00	3,45	9,65	35,50	16,80	11,00	0,70	0,60	0,30
	Sn-2	0,20	0,30	0,30	6,00	6,75	6,35	41,30	22,60	15,00	0,50	0,20	0,50
Октябрь	Sn-1	0,70	0,60	0,50	17,60	5,60	7,80	34,45	18,85	12,80	0,40	0,40	0,30
	Sn-2	0,50	0,40	0,30	6,20	6,40	2,20	45,15	22,35	15,20	0,60	0,30	0,40
Ноябрь	Sn-1	0,40	1,20	0,85	15,60	3,10	6,40	36,15	20,40	13,80	1,20	0,40	0,50
	Sn-2	0,60	0,60	0,35	4,70	6,70	1,20	43,15	25,20	16,40	0,60	0,20	0,30
Декабрь	Sn-1	0,40	0,50	0,40	18,70	4,60	8,65	37,60	14,85	12,80	0,70	0,40	0,40
	Sn-2	0,20	0,10	0,20	6,70	5,40	1,75	42,80	25,35	17,00	0,10	0,20	0,20

* Sn-1 и Sn-2: 1-е и 2-е положения в глицеридной части молекул фосфатидилэтаноламинов.

Таблица 2. Основные молекулярные формы фосфатидилэтаноламинов хвои сосны сибирской

Месяцы	Молекулярные формы	Содержание, % к сумме ФЭ	Молекулярные формы	Содержание, % к сумме ФЭ
Январь	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	16,66 8,24 4,65 6,10	C18:3 / C18:1 C16:0 / C18:1 C18:0 / C18:1 C18:0 / C18:2	5,00 9,00 7,00 3,47
Февраль	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	17,17 9,00 4,75 5,82	C18:3 / C18:1 C16:0/ C18:1 C18:0 / C18:1 C18:0 / C18:2	4,28 7,37 9,70 4,61
Март	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	13,95 6,64 4,07 7,37	C18:3 / C18:1 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	5,00 9,70 4,61 8,30
Апрель	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	14,00 7,60 5,00 7,30	C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1 C18:2 / C18:2	9,54 5,16 5,26 3,95
Май	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	13,86 6,90 4,85 8,00	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:3	4,00 4,80 9,66 3,40
Июнь	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	13,45 7,66 5,10 6,53	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	3,72 7,20 4,10 3,86
Июль	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	13,32 7,73 5,30 6,66	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	3,86 7,00 4,10 4,13
Август	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	14,10 7,60 5,22 6,60	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	3,56 5,82 3,15 3,51
Сентябрь	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	14,66 8,02 5,32 6,94	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	3,80 8,26 4,52 4,00
Октябрь	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	15,55 7,70 5,23 8,51	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	4,21 7,95 3,93 3,52
Ноябрь	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	15,60 9,11 5,93 8,80	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	5,14 6,73 3,93 2,76
Декабрь	C18:1 / C18:1 C18:1 / C18:2 C18:1 / C18:3 C18:2 / C18:1	16,10 9,53 6,39 6,36	C18:2 / C18:2 C16:0/ C18:1 C16:0/ C18:2 C18:0 / C18:1	3,76 8,00 4,74 3,70

Таблица 3. Позиционно-типовой состав фосфатидилэтаноламинов хвои сосны сибирской

Месяцы	Содержание, % к сумме ФЭ			
	U / S *	U / U	S / U	S / S
Январь	5,34	57,60	33,92	3,14
Февраль	5,25	55,75	35,65	3,35
Март	7,01	51,98	36,14	4,87
Апрель	7,21	55,35	33,13	4,31
Май	7,10	54,95	33,60	4,35
Июнь	14,20	52,50	26,20	7,10
Июль	13,92	53,00	26,20	6,88
Август	16,54	54,46	22,24	6,76
Сентябрь	9,53	57,82	28,03	4,62
Октябрь	7,64	64,46	24,94	2,96
Ноябрь	6,20	67,70	24,00	2,10
Декабрь	6,50	63,75	27,00	2,75

* U – сумма непредельных кислот, ацилирующих Sn-1 – положение глицеридной части молекул ФЭ.
S – сумма предельных кислот, ацилирующих Sn-2 – положение глицеридной части молекул ФЭ.

свидетельствуют, что в составе ФЭ присутствуют кислоты С12 – С 22. Непредельные кислоты представлены олеиновой (С18:1), линолевой (С18:2), линоленовой (С18:3), пальмитолеиновой (С16:1). Следует отметить, что кислота С18:1 количественно преобладает среди непредельных кислот ФЭ. Среди предельных кислот количественно доминируют пальмитиновая ($C_{16:0}$) и стеариновая ($C_{18:0}$). Доля декановой ($C_{10:0}$), лауриновой ($C_{12:0}$), миристиновой ($C_{14:0}$), арахиновой ($C_{20:0}$), бегеновой ($C_{22:0}$) кислот по сравнению с остальными кислотами невелика. В ходе годового цикла прослеживается закономерность изменения состава жирных кислот ФЭ: повышение доли непредельных кислот в осенне-зимний период и снижение их содержания в летний период. В молекулах ФЭ жирные кислоты распределены между Sn-1 и Sn-2 – положениями неравномерно. В позиционно-видовом составе основными молекулярными формами являются соединения, в молекулах которых Sn-1 положение ацилировано пальмитиновой, олеиновой, линолевой, линоленовой кислотами, а Sn-2 положение – непредельными кислотами: олеиновой, линолевой, линоленовой. Среди них в течение годового цикла количественно преобладает молекулярная форма С18:1 / С18:1 (табл. 2, 3). В позиционно-типовом составе ФЭ основную массу составляют соединения U / U и S / U типов (S – ацилы предельных кислот, U – ацилы непредельных кислот). Их суммарное содержание в течение годового цикла изменяется от 76 % до 90 % от суммы ФЭ. Количество ФЭ, имеющих позиционно-типовые составы U / S и S / S типов, не превышает 23 %. В период покоя происходит накопление ФЭ с позиционно-типовым составом U / U (более 50 % от суммы ФЭ).

Таким образом, на основании выполненных исследований установлено:

- фосфолипиды хвои сосны сибирской представлены фосфатидилхолинами, фосфатидилэтаноламинами, фосфатидилсеринами, фосфатидилинозитами;

- годичная динамика содержания фосфолипидов в хвое сосны сибирской имеет закономерный характер; для всех групп фосфо-

липидов характерно их накопление в зимний период;

- в осенне-зимний период в хвое сосны сибирской происходит накопление фосфатидилэтаноламинов, в молекулах которых Sn-2 – положение ацилировано непредельными кислотами;

- в течение годового цикла в составе фосфатидилэтаноламинов количественно доминируют такие соединения, в молекулах которых Sn-1 и Sn-2 – положения ацилированы олеиновой кислотой, т.е. имеющие позиционно-видовой состав C18:1 / C18:1.

Список литературы

1. Быстрякова С.А., Рубчевская Л.П. Фосфолипиды хвои сосны сибирской. Сборник статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции «Лесной и химический комплексы – проблемы и решения». Красноярск, 2006. Т. 1. С. 157 – 159.
2. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 322 с.
3. Мухамедова Х. С., Толибаев И., Глушникова А. И. Очистка суммы фосфолипидов семян хлопчатника и кенафа от примесей сопутствующих веществ. *Химия природных соединений.* 1988. N 6. С. 785-789.
4. Яковенко Г. М., Михно А. И. Метод выделения и распределения по классам липидов листьев и хлоропластов растений. *Физиология и биохимия культурных растений.* 1971. Т. 3, N 6. С. 651-656.
5. Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В., Молотковский Ю.Г., Батраков С.Г., Барсуков Л.И., Проказова Н. В. Препаративная биохимия липидов. М.: Наука, 1982. 256 с.
6. Игнатова Е.В. Полярные липиды древесной зелени лиственницы сибирской: Дис. …канд. хим. наук. Красноярск, 1992. 165 с.

Phospholipid Composition of Pinus Sibirica Needles

Svetlana A. Bistriakova and Ludmila P. Rubtchevskaya

Siberian State Technological University,
82 Mira, Krasnoyarsk, 660049 Russia

Annual variation in the phospholipid composition of Pinus sibirica needle was studied. Basic regularities of phosphatidilethanolamins accumulation and redistribution in needles of Pinus sibirica during ontogenesis were established.

Keywords: phospholipids of needles of Pinus sibirica, composition, accumulation, redistribusion.