

Науковий часопис Національного педагогічного університету імені М.П. Драгоманова.
Серія 20. Біологія. – 2016. – випуск 6. – С. 63 – 68

УДК 577.115

Ніколасва Н.В., Гаркава К.Г., Брюзгіна Т.С.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ ПИЛКУ *CORYLUS AVELLANA* L. В УМОВАХ УКРАЇНИ ТА СЛОВАЧЧИНИ

Наведені результати дослідження складу жирних кислот в ліпідах пилку ліщини звичайної (*Corylus avellana* L.).

Жирні кислоти, ліпіди, пилко, ліщина звичайна, Corylus avellana L.

Хімічний склад пилку чоловічих гамет вищих рослин є предметом дослідження фізіологів і хіміків [2, 7, 8]. Широкий спектр біологічних функцій пилкових зерен забезпечується великою різноманітністю молекул. Це біополімери з невідомими компонентами і структурами та відомими – спорополенінами, флавоноїдами, каротиноїдами, лігніном, пектином, протеїнами, ліпідами, карбогідратами, нуклеїновими кислотами [2, 5, 6, 7]. Їх по сьогодні достеменно не вивчені компоненти пилку та їх розміщення у будові клітини. Проте проводяться дослідження з модифікації або вилучення окремих компонентів (алергенів, каротиноїдів, ліпідів) [4, 9].

У пилку вищих рослин ліпіди містяться у двох локалізаціях: шар зовнішньої оболонки пилкового зерна, відомий як «пилковий комплекс» та внутрішні цитоплазматичні ліпіди – продукти тильовани геному. Жирнокислотний склад ліпідів пилку залежить від виду рослин, екологічних факторів, а саме від ступеня антропогенного навантаження на територію. Визначення тильованих лік компонентів пилку дозволяє проаналізувати вплив екологічних факторів на вміст різних форм насичених і ненасичених жирних кислот [3, 13].

В нормі пилко містить органічні і жирні кислоти: мурашину, оцтову, валеріанову, лауринову, олеїнову, ліноленову, пальмітинову, міристинову. Дослідження з використанням тильованих лік електронної мікроскопії підтверджують, що ліпіди присутні в цитоплазмі у вигляді крапель, а в екзині пилкового зерна розташований жирозв'язуючий шар. Типовими стеролами є холестерол, фукостерол, тильованих лік β -ситостерол [12].

Нейтральні ліпіди входять до складу зовнішнього шару пилку [1]. Ліпідний вміст пилкових зерен досліджували шляхом ефірної екстракції [10]. Солберг і Ремедіос [11] дійшли висновку, що стінки пилкових зерен складаються з ліноленової, лінолевої та арахідонової кислот. Добсон [1] зазначає, що ліпіди у більшій кількості знаходяться у рослин, які запилюються бджолами.

Пилко *Corylus avellana* L. є об'єктом палінологічних, імунологічних, тильованих лік та тильованих досліджень, тоді як хімічний склад залишається недостатньо вивченим. Тому метою нашої роботи є дослідження тильованих лік складу ліпідів пилку ліщини звичайної (*C. avellana* L.) за допомогою газорідинної хроматографії на території України та Словаччини.

Матеріал і методика досліджень

Для дослідження ліпідного складу пилоквих зерен *C. avellana* L. відібрали 12 зразків в період цвітіння (кінець березня – початок квітня 2013 р., Україна; кінець січня 2014 р., Словаччина) з різних місць зростання: Ботанічний сад м. Кам'янець-Подільського Хмельницької тил., (БСК-П); Ботанічний сад ти. О.В. Фоміна м. Києва, (БСФ); Маріїнський парк м. Києва (МП); околиці цементного заводу м. Кам'янець-Подільського Хмельницької тил., (ЦЗК-П); Національний ботанічний сад ти. М.М. Гришка в м. Києві (НБС); локалітети у Словаччині – Чертова Пец, Банка, Модрова, Земіанске Подместіє, Моравче Лескове, ботанічний сад м. Нітра.

По 0,5 г пилку вміщували у пробірки та екстрагували хлороформ-метаноловою сумішшю у співвідношенні 2:1, витримували 30 хв. та відбирали нижню хлороформну фазу. Екстракцію проводили двічі, об'єднані хлороформні екстракти концентрували випарюванням до об'єму однієї краплі під струменем газоподібного азоту при температурі 45°C на водяній бані. Для проведення гідролізу та тильованих до сухого осаду ліпідів додавали 5 мл 1% сірчаної кислоти в метанолі та переносили в скляну ампулу, запаювали і витримували в термостаті при температурі 85°C 20 хв. Екстракцію тильованих жирних кислот проводили двічі тильованих лі сумішшю у співвідношенні 1:1. Об'єднані екстракти упарювали в потоці азоту при температурі 45°C на водяній бані.

Сухий осад розчиняли в 40-50 мкл чистого гексану, вводячи у випарювач хроматографа. Газохроматографічний аналіз спектру жирних кислот ліпідних фракцій пилку здійснювали за таких умов: на газовому хроматографі «Цвет-500» в ізотермічному режимі із полум'яно-іонізуючим детектором, використовуючи скляну колонку (2,0 м x 0,3 см), заповнену фазою 5% тильованих ліколь сукцинату на хроматоні М-АНМББ (зернування 0,125-0,160 мм), температура колонки – 180°C, температура випарювача – 250°C [14, 15, 16]. Кількісну оцінку спектру жирних кислот ліпідних фракцій проводили за методом нормування шляхом вимірювання площі піків тильованих похідних жирних кислот у порівнянні з стандартною сумішшю та визначали їх склад у відсотках, при цьому за 100 % було прийнято суму насичених жирних кислот.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel 2010.

Результати дослідження та їх обговорення

У спектрі жирних кислот пилку *C. avellana* L. ідентифіковано 5 насичених жирних кислот (міристинова C_{14:0}, пентодеканова C_{15:0}, пальмітинова C_{16:0}, гаптодеканова C_{17:0}, стеаринова C_{18:0}) і дві ненасичені жирні кислоти (олеїнова C_{18:1}, лінолева C_{18:2}). Результати дослідження наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Жирнокислотний склад ліпідів пилку ліщини звичайної (*Corylus avellana* L.) у %

Жирні кислоти	n	Сума	x±S	Σ
1	2	3	4	5
C _{14:0}	12	8,5	0,70±0,27	0,075
C _{15:0}	12	4,7	0,39±0,17	0,029
C _{16:0}	12	426,7	35,55±2,55	6,508

1	2	3	4	5
C _{17:0}	12	6	0,5±0,32	0,105
C _{18:0}	12	33,2	2,76±0,79	0,624
C _{18:1}	12	422,2	35,18±2,91	8,499
C _{18:2}	12	298,6	24,88±5,43	29,512

Умовні позначення: n – кількість зразків; $\bar{x} \pm S$ – середнє арифметичне і відносне відхилення; σ – дисперсія.

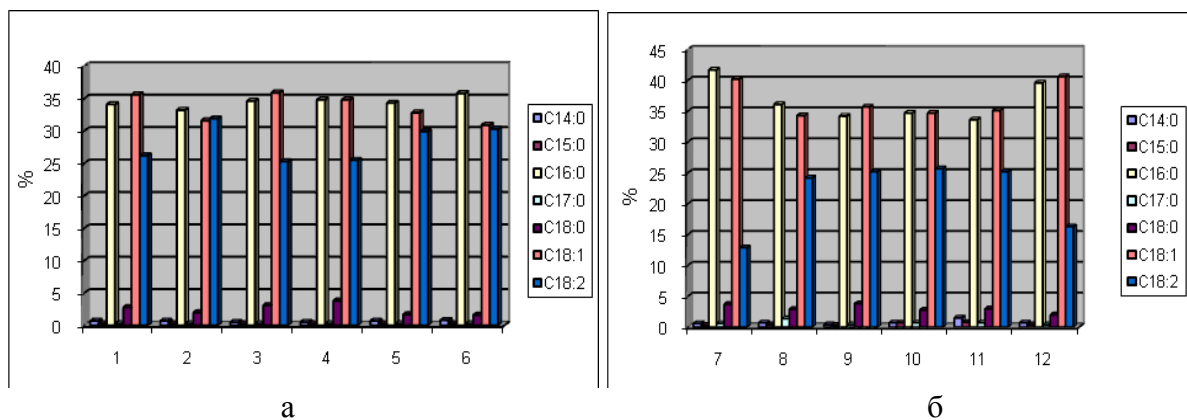


Рис.1. а – жирнокислотний склад ліпідів (%) у зразках пилку ліщини звичайної (*Corylus avellana* L.) заготовлених в Словаччині (1 – Чертова Пец; 2 – Банка; 3 – Модрова; 4 – Зем’янське Подмєстіс; 5 – Моравце Лєскове; 6 – ботсад м. Нітра); б – жирнокислотний склад ліпідів (%) у зразках пилку ліщини звичайної (*Corylus avellana* L.) заготовлених в Україні (7 – БСК-П; 8 – ЦЗК-П; 9 – НБС; 10 – БСФ; 11 – ТС; 12 – МП).

Як в українських, так і в словацьких зразках (рис. 1) виявили високі концентрації пальмітинової (16:0), олеїнової (18:1) та лінолевої (18:2) кислот. На екологічно забруднених територіях зменшується кількість лінолевої, ліноленової, пентадеканової, міристинової, стеаринової жирних кислот.

Територія заготовки зразків пилку у Словаччині не зазнає істотного антропогенного навантаження, тому показники жирнокислотного складу є відносно стабільними у своїй динаміці. Українські зразки відрізняються між собою, а саме – високі значення пальмітинової і олеїнової жирних кислот у зразках №7 і 12 (НБС і с. Терновка, відповідно). Нижчі значення цих кислот у зразках №9 (МП), №10 (БСФ) і №11 (БСК-П), оскільки ці території піддаються інтенсивному антропогенному навантаженню, зокрема, близьке розташування автомагістралей, шумовий фактор, промислові підприємства (м. Кам’янець-Подільський).

В таблиці 2 показано, що у зразках пилку *C. avellana* високі показники ненасичених жирних кислот (60,3-63,5%), нижча кількість припадає на поліненасичені жирні кислоти (25,5-31,9%).

Сума насичених і ненасичених жирних кислот пилку ліщини звичайної
(*Corylus avellana* L.) у %

Жирні кислоти	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ΣНЖК	38,2	36,5	38,8	39,7	37,3	38,8	46,9	41,5	39,1	39,6	39,7	43,1
ΣННЖК	61,8	63,5	61,2	60,3	62,7	61,2	53,1	58,5	60,9	60,4	60,3	56,9
ΣПНЖК	26,2	31,6	25,3	25,5	29,9	30,3	12,9	24,2	25,2	25,7	25,2	16,3

Умовні позначення: ΣНЖК – сума насичених жирних кислот; ΣННЖК – сума ненасичених жирних кислот; ΣПНЖК – сума поліненасичених жирних кислот; 1-6 – зразки заготовлені в Словаччині (1 – Чертова Пец; 2 – Банка; 3 – Модрова; 4 – Зем’янське Подместіє; 5 – Моравце Лєскове; 6 – ботсад м. Нітра; 7 – БСК-П; 8 – ЦЗК-П; 9 – НБС; 10 – БСФ; 11 – ТС; 12 – МП).

Результати досліджень свідчать про те, що пилок ліщини звичайної містить значну кількість пальмітинової ($C_{16:0}$), олеїнової ($C_{18:1}$) та лінолевої ($C_{18:2}$) кислот і невеликої кількості міристинової ($C_{14:0}$), пентадеканової ($C_{15:0}$) та гаптодеканової ($C_{17:0}$) кислот. Відсутня арахідонова кислота ($C_{20:4}$).

Висновки

Жирнокислотний склад ліпідів *C. avellana* має видоспецифічний характер, а його дослідження розширюють уявлення про особливості даної групи рослин. Знання специфіки метаболізму пилку дозволить більш широко використовувати її для екологічного моніторингу.

За допомогою методу газорідинної хроматографії досліджено жирнокислотний склад ліпідів пилку ліщини звичайної та ідентифіковано 7 жирних кислот, що дозволило зробити такі висновки:

1. Пилок володіє досить високою кількістю пальмітинової жирної кислоти (основна кислота лецитинової фракції фосфоліпідів), олеїнової кислоти, лінолевої жирної кислоти (основна есенціальна кислота, що входить до складу поліненасичених жирних кислот).

2. Зразки мають підвищену ненасиченість (близько 60%), яка виконує захисну функцію під час процесу пероксидації ліпідів.

3. Зразки пилку *C. avellana* (№1-6), заготовлені в Словаччині, однорідні і за ліпідним комплексом майже не відрізняються між собою, мають найбільшу кількість лінолевої кислоти.

4. Зразки пилку *C. avellana* №8 (околиці цементного заводу м. Кам’янець-Подільського Хмельницької обл.) і №9 (Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка в м. Києві) заготовлені в Україні за кількістю і якістю жирних кислот не відрізняються від словацьких зразків, за виключенням зразків №7 (Ботанічний сад м. Кам’янець-Подільського Хмельницької обл.) і №12 (Маріїнський парк м. Києва), в яких відзначений понижений рівень поліненасичених жирних кислот за рахунок зниженого

вмісту лінолевої кислоти. Оскільки, до складу стінок пилоквих зерен входить лінолева кислота, то зниження її вмісту може свідчити про вплив зовнішніх факторів навколишнього середовища на пилок *C. avellana*.

5.

Використана література:

1. Dobson H.E.M. Survey of pollen and pollenkit lipids – chemical cues to flower visitors / H.E.M. Dobson // *American Journal of Botany*, 1988. – V. 75. – P. 170-182.
2. Keijzer C.J. The progress of anther dehiscence and pollen dispersal. 2. The formation and transfer mechanism of pollenkit, cell wall development in the locule tissues and a function of the orbicules in pollen dispersal / C.J. Keijzer // *New Phytology*, 1987. – V. 105. – P. 499-507.
3. Knox R.B. The pollen grain / R.B. Knox // *Embryology of the angiosperm.* – New York: Springer-Verlag. – 1984. – P. 197-271.
4. Lord R.C. Laser Raman spectroscopy of biomolecules: Structural studies of ragweed allergens Ra5 / R.C. Lord, G.A. Petsko, B.A. Seaton, L. Goodfriend // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 1985. – V. 41. – P. 199-203.
5. Paunov V.N. Sporopollenin micro-reactors for in-situ preparation, encapsulation and targeted delivery of active components / V.N. Paunov, G. Mackenzie, S.D.J. Stoyanov // *Journal of Materials Chemistry*, 2007. – V. 17. – P. 609-612.
6. Piffanelli P. Biogenesis and function of the lipidic structures of grains / P. Piffanelli, J.H.E. Ross, D.J. Murphy // *Sexual Plant Reproduction*, 1998. – V. 11. – P. 65-80.
7. Prah A.K. Studies on Sporopollenin Biosynthesis: The Effect of Inhibitors of Carotenoid Biosynthesis on Sporopollenin Accumulation // A.K. Prah, H. Springstube, K. Grumbach, R. Wiermann // *Zeitschrift für Naturforschung*, 1986. – V. 40. – P. 621-626.
8. Schulte F. Chemical characterization and classification of pollen / F. Schulte, J. Lingott, U. Panne, J. Kneipp // *Analytical Chemistry*, 2008. – V. 80. – P. 9551-9556.
9. Scott R.W. Extraction and identification of lipids from loblolly pine pollen / R.W. Scott, M.J. Strohl // *Phytochemistry*, 1962. – V. 1. – P. 189-193.
10. Stanly R.G. Pollen: biology, biochemistry, management / R.G. Stanly, H.F. Linskes. – 1st edn. Springer, Heidelberg, Germany, 1974. – 307 p.
11. Solberg Y. Chemical composition of pure and bee-collected pollen // Y. Solberg, G. Remedios // *Meldinger fra Norges Lanbrukshoegskole*, 1980. – V. 18. – P. 2-12.
12. Surbek M. Characterization of pollen by elastic and inelastic light scattering / M. Surbek. – Bochum, 2009. – 159 p.
13. Tommy E. Tompson. Lipid content and fatty acids of pecan pollen / T.E. Tompson, Samuel D. Senter, L.J. Grauke // *HortScience*, 1993. – V. 28, № 12. – P. 1191-1193.
14. Гудзенко А.В. Дослідження жирнокислотного складу ехінацеї пурпурової / А.В. Гудзенко, О.О. Цуркан, Т.В. Ковальчук // *Фітотерапія. Часопис*, 2009. – №2. – С.63-65.
15. Рівіс Й.Ф. Газохроматографічне визначення окремих високомолекулярних жирних кислот у складі ліпідів / Й.Ф. Рівіс, Б.Б. Данилик // *Укр. біохім. журнал.* – 1995. – Т. 67, №4. – С. 96-99.
16. Яременко О.Б. Оцінка жирнокислотного складу ліпідів крові у хворих на ревматоїдний артрит / О.Б. Яременко, О.Ю. Камиш, Т.С. Брюзгіна // *Медична хімія*, 2005. – №2. – С.86-88.

Н.В. Николаева, К.Г. Гаркава, Т.С. Брюзгина

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ПЫЛЬЦЫ *CORYLUS AVELLANA L.* В УСЛОВИЯХ УКРАИНЫ И СЛОВАКИИ

Представлены результаты исследования состава жирных кислот в липидах пыльцы лещины обыкновенной (*Corylus avellana L.*) с помощью газожидкостной хроматографии. Образцы собраны из разных территорий Украины и Словакии. Выявленные и идентифицированы 5 насыщенных и 2 ненасыщенные жирные кислоты.

N.V. Nikolaieva, K.G. Garkava, T.S. Bryuzgina

FATTY ACID COMPOSITION OF LIPID POLLEN OF *CORYLUS AVELLANA L.* IN THE CONDITIONS OF UKRAINE AND SLOVAKIA

There are the results of investigation of the composition of fatty acids in the lipids of hazelnut (*Corylus avellana L.*) pollen by gas-liquid chromatography at the article. Samples were collected from different territories of Ukraine and Slovakia. There were detected and identified five of saturated and two unsaturated fatty acids.

Надійшла 22.07.2014 р.