

СОДЕРЖАНИЕ СТЕРИНОВ В ТКАНЯХ БЕРЁЗЫ ПОВИСЛОЙ И ТОПОЛЯ ДРОЖАЩЕГО

В результате проведённого исследования установлена годичная динамика содержания свободных и связанных стеринов в тканях берёзы повислой и тополя дрожащего, которая носит закономерный характер. Определены содержание и состав жирных кислот эфиров стеринов в побегах берёзы повислой и тополя дрожащего в ходе годового цикла. Изучено содержание стеринов в листьях в период вегетации.

Ключевые слова: эфиры, стерины, гликозиды, годовой цикл, жирные кислоты, олеиновая кислота, линолевая кислота.

A.N. Devyatlovskaya, L.N. Zhuravlyeva

STEROL CONTENT IN THE TISSUES OF BIRCH (BETULA PENDULA) AND POPLAR (PUPOLUS TREMULA)

As a result of the conducted research the annual dynamics of some free and corresponding sterols in the tissues of birch (*Betula pendula*) and poplar (*Pupulus tremula*) that has the regular character is determined. The content and the composition of the sterol ether fatty acid in the shoots of birch (*Betula pendula*) and poplar (*Pupulus tremula*) in the annual cycle course are determined. The sterol content in the leaves during the vegetation period is studied.

Key words: ethers, sterols, glycosides, annual cycle, fatty acid, oleic acid, linoleic acid.

Введение. Большое внимание уделяется вопросам, связанным с изучением состава биологически активных веществ древесных растений, важнейшими представителями которых являются липиды. Несмотря на многочисленные работы в области биохимии и физиологии древесных растений, липидный обмен изучен недостаточно.

Среди большого разнообразия растений широко изучены стерины цитрусовых. В работах авторов Л.Ш. Тушишвили, К.В. Сулаберидзе [1,2] изучен стериновый состав трёх видов цитрусовых: грейпфрута, апельсина и мандарина. В липидных экстрактах из кожуры грейпфрута и апельсина [3] методом тонкослойной хроматографии на силикагеле показано наличие свободных стеринов, стерингликозидов и этерифицированных стеринов. Процентное содержание стеринов в кожуре грейпфрута составляет 0,015–0,020 %, стерингликозидов 0,005–0,010, этерифицированных стеринов – 0,001 %.

Особенно подробно изучены стерины семян масличных культур. Это связано с тем, что в настоящее время липиды семян этих растений являются основным источником стеринов для их промышленного получения. По данным А.Е. Бейли [4], содержание стериновой фракции в растительных маслах различных культур составляет (% от масла): арахис – 0,25; клещевина – 0,50; кунжут – 0,60; лён – 0,40; рапс – 0,80; соя – 0,35; хлопчатник – 1,60.

Изучен групповой состав смолистых веществ, выделенных из древесины различных пород [5]. Наибольшее содержание стеринов – в смолистых веществах пихты и берёзы, наименьшее – в смолистых веществах кедра и сосны. Проведённые исследования фракции стероидов имеют следующий состав: β -ситостерин – 85 %, стигмастерин – 7, кампестерин – 3 %.

В работах сотрудников Санкт-Петербургской лесотехнической академии [6] исследовано содержание стеринов в хвое и побегах хвойных соответственно: у сосны – 12,7 и 10,0 %; ели 5,8 и 13,5; пихты 8,7 и 10,0 % от суммы нейтральных веществ. Ситостерин является спиртовой составляющей сложных эфиров. Во фракции стеринов также обнаружены кампестерин и в следовых количествах стигмастерин и холестерин.

Однако в рассмотренных работах приводится мало данных о стеринах древесных растений, произрастающих в Сибири. Отсутствуют сведения об их годичной динамике в различных тканях растений.

На современном этапе развития науки и техники предусматривается широкое внедрение прогрессивных технологий, одной из которых является безотходная химическая переработка всей биомассы дерева. Древесная зелень, являющаяся отходом при традиционных способах заготовки и переработки древесины, представляет собой специфический вид лесного сырья, в составе которого присутствуют побеги и листья. Поэтому исследование стеринов древесных растений необходимо и с практической точки зрения.

Цель работы. Изучение содержания стеринов в тканях берёзы повислой и тополя дрожащего, определение состава жирных кислот эфиров и гликозидов стеринов в побегах.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования служили различные ткани берёзы повислой (*Betula pendula* Roth) и тополя дрожащего (*Populus tremula L.*) [7], произрастающих на территории Енисейского района Красноярского края. Биологический материал отбирали из средних ярусов, произрастающих на одном участке в одинаковых условиях.

Состав стеринов заметно меняется в зависимости от вида растения, его возраста, времени года, температуры и других факторов. Проведение данных исследований невозможно без установления представительности проб. С помощью методов математической статистики были определены статистические характеристики содержания стеринов в побегах и рассчитан размер выборки. Из полученных данных следует: для того, чтобы с вероятностью 95 % определить содержание стеринов в побегах берёзы и тополя, произрастающих в одинаковых условиях, отклоняющееся от среднего значения не более чем на 5 %, необходимо исследовать не менее 23 и 27 деревьев соответственно.

Липиды представляют собой сложную смесь веществ, относящихся к различным классам соединений. Общую липидную фракцию извлекали из анализируемых растительных тканей по методу Блайя и Дайера смесью растворителей (хлороформ – изопропиловый спирт). Суммарные липиды использовали для выделения нейтральных липидов и гликолипидов.

Свободные стерины и эфиры стеринов выделяли из нейтральных липидов методом тонкослойной хроматографии на силикагеле в системе растворителей (гексан-диэтиловый – эфир-уксусная кислота). Хроматограмму обрабатывали специфическими обнаружителями: концентрированная серная кислота – ледяная уксусная кислота – и нагревали при температуре 80 °C. Чистоту полученных веществ определяли методом микротонкослойной хроматографии [8].

Состав жирных кислот связанных стеринов побегов берёзы повислой и тополя дрожащего (как эфиров стеринов, так и гликозидов стеринов) устанавливали методом газожидкостной хроматографии. Компоненты идентифицировали по стандартным образцам метиловых эфиров жирных кислот и относительным временем удерживания. Количественное содержание компонентов определяли методом внутренней нормализации.

Результаты исследований и их обсуждение. Стерины наряду с фосфолипидами и гликолипидами являются важнейшими липидами клеточных мембран растений. Поэтому проведено сравнительное исследование стеринов различных тканей берёзы бородавчатой и осины обыкновенной, установлено влияние фенологического состояния дерева на их содержание и состав, так как оно зависит от времени года.

Стерины присутствуют в растениях в свободном и связанном состоянии в виде эфиров и гликозидов. На рисунках 1, 2 показано изменение содержания стеринов и их эфиров в побегах берёзы и тополя в различные периоды годового цикла.

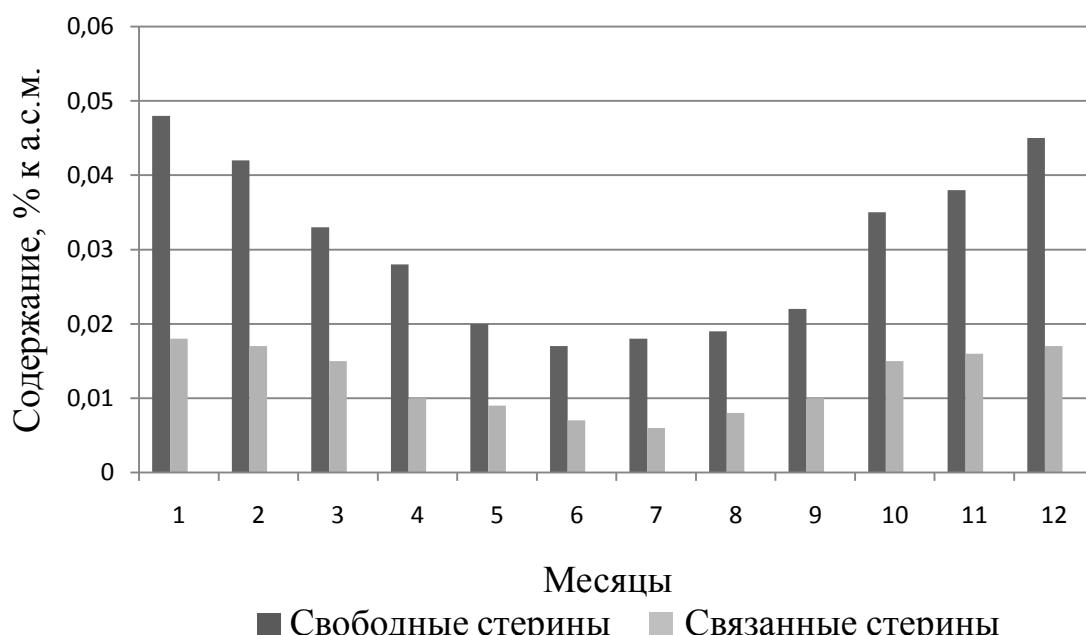


Рис. 1. Динамика содержания свободных и связанных стеринов в побегах берёзы

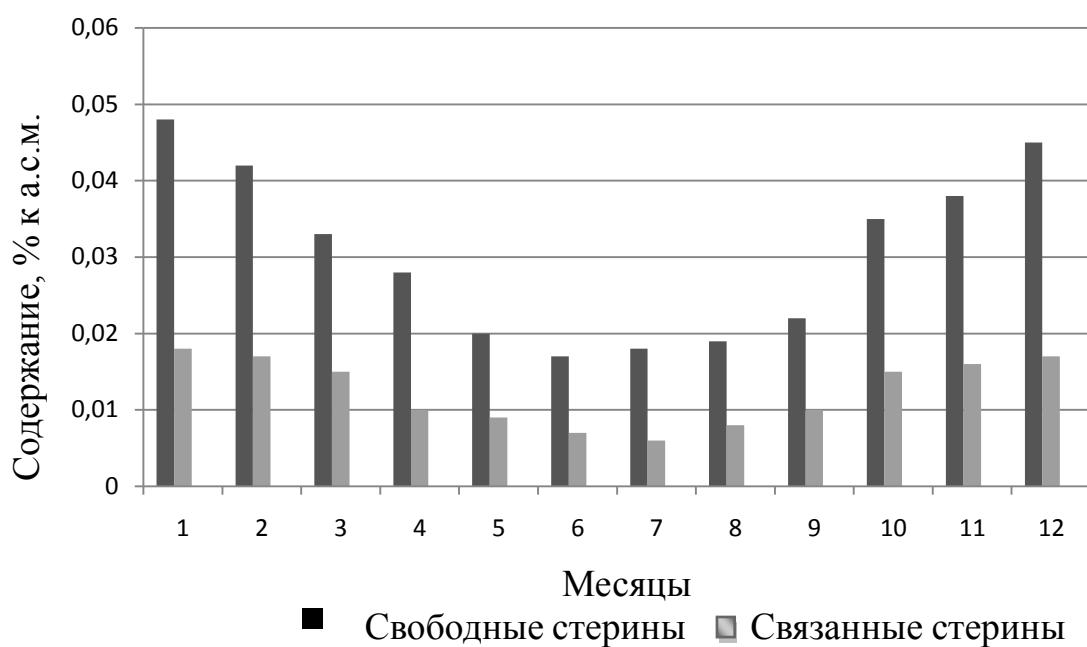


Рис. 2. Динамика содержания свободных и связанных стеринов в побегах тополя

Полученные результаты свидетельствуют, что содержание свободных стеринов в побегах изменяется в интервалах 0,019–0,048 % для берёзы, 0,015–0,041 % для тополя. Количество связанных стеринов в побегах берёзы и тополя также меняется в течение годового цикла: 0,008–0,018 % и 0,070–0,016 % соответственно.

С наступлением периода покоя содержание стеринов в побегах увеличивалось, достигая максимальной величины в декабре – январе во время наиболее низких температур. В марте общее содержание стеринов в побегах уменьшалось по сравнению с их уровнем в материале, собранном в январе. Начиная с сентября, понижение температуры воздуха приводило к заметному увеличению содержания стеринов в побегах.

Концентрация связанных стеринов в побегах берёзы и тополя также меняется в течение годового цикла. Наблюдается повышенное их содержание в зимнее время года и снижение их количества в летний период.

Уравнения регрессии содержания свободных стеринов в побегах берёзы и тополя в течение годового цикла имеют вид соответственно:

$$\begin{aligned}y(x) &= 0,0671 - 0,0234 \cdot x + 0,0012 \cdot x^2; \\y(x) &= 0,0493 - 0,0147 \cdot x + 0,0013 \cdot x^2.\end{aligned}$$

Уравнения регрессии связанных стеринов в побегах берёзы повислой и тополя дрожащего в течение годового цикла представлены следующими формулами соответственно:

$$\begin{aligned}y(x) &= 0,02831 - 0,0071 \cdot x + 0,0006 \cdot x^2; \\y(x) &= 0,02160 - 0,0037 \cdot x + 0,0004 \cdot x^2.\end{aligned}$$

Исследование стеринов листьев берёзы и тополя в процессе активной вегетации растений показало, что в период с мая по сентябрь содержание стеринов подвергалось сильным изменениям. Максимальное накопление этих веществ наблюдали в июне в период созревания. В августе в листьях нашли значительно меньше свободных стеринов, чем в июле (рис. 3, 4). Характер годовой динамики содержания эфиров стеринов в листьях берёзы и тополя схож с динамикой связанных стеринов. Исходя из постулата о свободных стеринах как биологических предшественниках эфиров стеринов (Гудвин, 1986), можно предполагать, что некоторая часть свободных стеринов постоянно переходит в связанную форму.

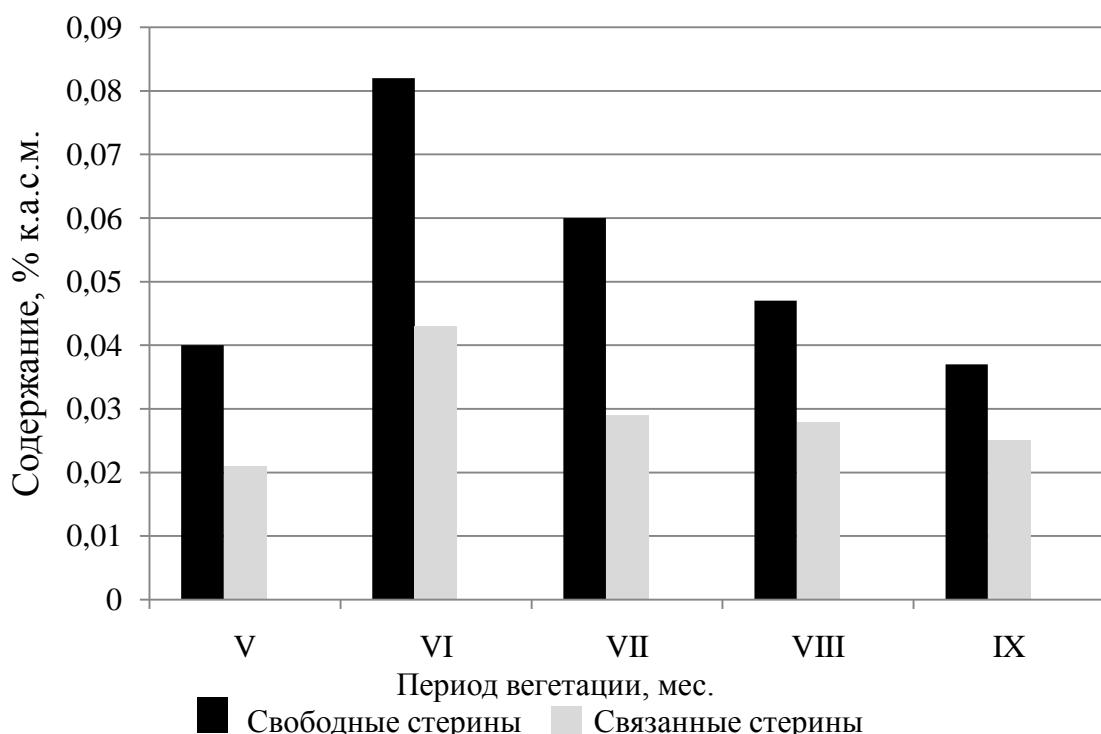


Рис. 3. Содержание свободных и связанных стеринов в листьях берёзы

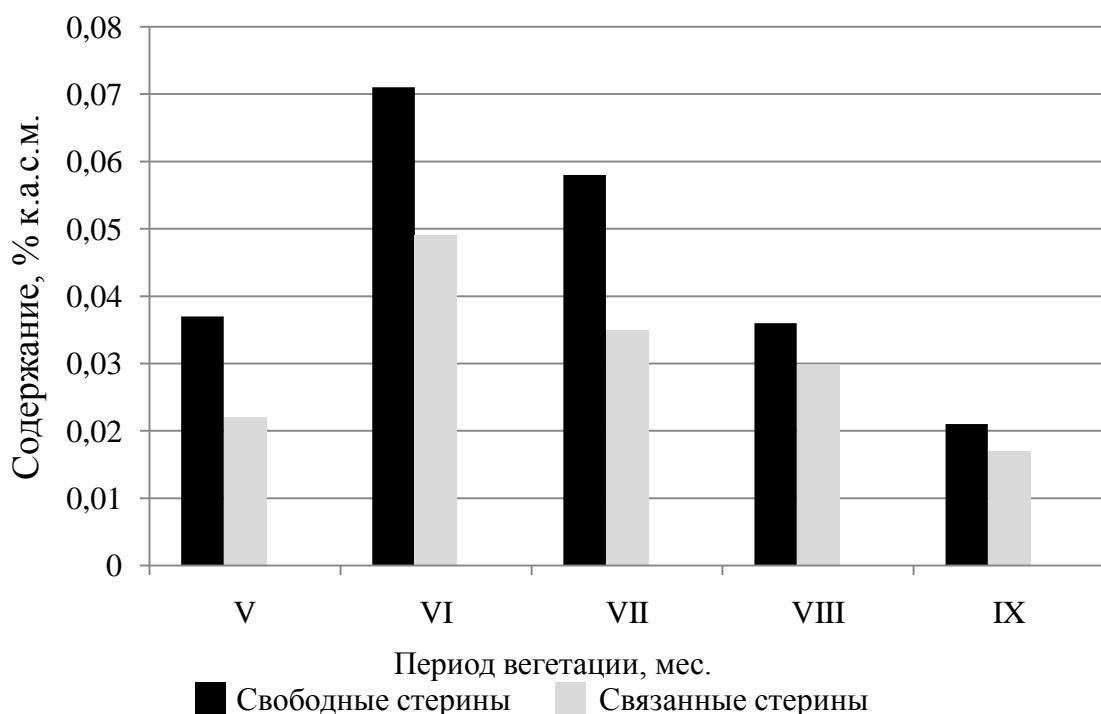


Рис. 4. Содержание свободных и связанных стеринов в листьях тополя

Состав жирных кислот связанных стеринов побегов (как эфиров стеринов, так и гликозидов стеринов) устанавливали методом хроматографии. Жирные кислоты, полученные путём щелочного гидролиза связанных эфиров побегов, метилировали диазометаном. Анализировался жирнокислотный состав в течение годового цикла. Результаты хроматограмм представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Состав кислот эфиров и гликозидов стеринов побегов берёзы, % к сумме кислот

| Наименование кислоты | Январь | | Апрель | | Июль | | Октябрь | |
|----------------------|--------|-----------|--------|-----------|-------|-----------|---------|-----------|
| | Эфиры | Гликозиды | Эфиры | Гликозиды | Эфиры | Гликозиды | Эфиры | Гликозиды |
| Лауриновая | 0,49 | 0,72 | 0,12 | 1,94 | 0,10 | 0,55 | 0,29 | 0,70 |
| Миристиновая | 0,15 | 0,63 | 0,21 | 1,03 | 0,12 | 0,40 | 0,20 | 0,35 |
| Пальмитиновая | 13,42 | 12,1 | 15,35 | 15,07 | 18,61 | 17,02 | 13,84 | 14,90 |
| Пальмиолеиновая | 2,61 | 8,39 | 3,13 | 5,83 | 2,31 | 4,3 | 1,38 | 3,76 |
| Стеариновая | 12,14 | 8,12 | 18,37 | 9,81 | 17,23 | 9,03 | 12,89 | 8,29 |
| Олеиновая | 11,01 | 18,31 | 12,92 | 16,02 | 14,43 | 14,55 | 13,51 | 19,35 |
| Линолевая | 14,13 | 13,35 | 12,31 | 13,21 | 12,41 | 11,58 | 16,42 | 14,07 |
| Линоленовая | 34,14 | 30,13 | 25,23 | 30,11 | 21,40 | 26,89 | 34,30 | 30,26 |
| Арахиновая | 1,84 | 0,94 | 9,22 | 3,90 | 7,96 | 6,20 | 2,01 | 1,47 |
| Бегеновая | 0,53 | 0,20 | 0,88 | 0,69 | 0,45 | 0,95 | 0,41 | 0,15 |
| Лигноцериновая | 0,47 | 0,36 | 0,74 | 0,60 | 0,51 | 0,34 | 0,32 | 0,31 |
| Не идентифицировано | 9,07 | 6,75 | 3,52 | 1,79 | 4,47 | 8,20 | 4,43 | 6,39 |

Таблица 2

Состав кислот эфиров и гликозидов стеринов побегов тополя, % к сумме кислот

| Наименование кислоты | Январь | | Апрель | | Июль | | Октябрь | |
|----------------------|--------|-----------|--------|-----------|-------|-----------|---------|-----------|
| | Эфиры | Гликозиды | Эфиры | Гликозиды | Эфиры | Гликозиды | Эфиры | Гликозиды |
| Лауриновая | 1,08 | 0,86 | 0,93 | 1,26 | 0,47 | 0,91 | 0,75 | 0,87 |
| Миристиновая | 0,90 | 0,72 | 0,54 | 0,90 | 0,38 | 0,72 | 0,83 | 0,64 |
| Пальмитиновая | 11,90 | 14,13 | 19,29 | 16,96 | 21,12 | 18,93 | 10,41 | 13,21 |
| Пальмиолеиновая | 1,50 | 1,67 | 1,93 | 2,91 | 3,19 | 3,89 | 1,93 | 1,49 |
| Стеариновая | 11,88 | 10,16 | 14,71 | 16,12 | 15,26 | 17,74 | 12,65 | 10,32 |
| Олеиновая | 14,72 | 16,70 | 12,17 | 14,29 | 12,68 | 10,96 | 16,54 | 16,89 |
| Линолевая | 11,92 | 10,23 | 8,24 | 8,14 | 7,23 | 8,87 | 10,73 | 12,74 |
| Линоленовая | 23,33 | 27,14 | 20,13 | 23,21 | 17,34 | 19,18 | 24,21 | 22,66 |
| Арахиновая | 5,18 | 3,18 | 4,90 | 2,29 | 4,15 | 5,95 | 5,43 | 4,87 |
| Бегеновая | 4,83 | 4,21 | 2,98 | 3,97 | 2,64 | 2,98 | 3,92 | 4,01 |
| Лигноцериновая | 4,86 | 3,37 | 4,17 | 2,94 | 3,17 | 1,81 | 4,11 | 3,72 |
| Не идентифицировано | 7,90 | 7,63 | 10,01 | 7,01 | 12,37 | 8,06 | 8,49 | 8,58 |

Из полученных данных видно, что набор кислот, входящих в состав эфиров стеринов и гликозидов стеринов, представлен рядом С₁₂ – С₂₄, тогда как в их количественном содержании наблюдаются различия. Основную долю кислот эфиров стеринов и гликозидов стеринов в побегах берёзы и тополя составляют непредельные кислоты. Для побегов содержание эфиров стеринов непредельных кислот повышенено в осенне-зимний период. По степени убывания непредельные кислоты эфиров у берёзы и тополя располагаются в следующем порядке: линоленовая, олеиновая и линолевая. Количественное соотношение предельных и непредельных кислот в ходе вегетации изменяется незначительно.

Среди предельных кислот преобладают пальмитиновая и стеариновая кислоты с максимумом в весенне-летний период. Качественный состав жирных кислот гликозидов стеринов в побегах одинаков, а количественный различен. На протяжении всего годового цикла основную массу кислот составляют непредельные, их количество достигает до 70 % у берёзы и 67 % у тополя.

В процессе исследования установлена годичная динамика содержания свободных стеринов и связанных стеринов в тканях берёзы повислой и тополя дрожащего. Показано, что оно зависит от фенологического состояния дерева, а годичная динамика их содержания носит закономерный характер. Максимальное содержание стеринов приходится на период покоя, а минимальное – на период вегетации. Стерины листьев в процессе активной вегетации растений подвергались сильным изменениям с уменьшением их количества в фазе опадения. Кислоты ряда C₁₆ и C₁₈ являются основными в эфирах стеринов и гликозидов.

Выходы. Таким образом, повышенное содержание стеринов в клеточных мембранах влияет на свойства растительных тканей, такие как морозоустойчивость, степень адаптации растений к неблагоприятным условиям среды, засухоустойчивость. Древесная зелень, являющаяся отходом при заготовке и переработке древесины, остаётся практически невостребованной. Изучение древесной зелени позволит полнее использовать природные растительные ресурсы как дополнительный источник получения биологически активных веществ.

Литература

1. Тушишвили Л.Ш., Дурмишидзе С.В. Стерины мякоти грейпфрута, апельсина и мандарина // Химия природных соединений. – 1982. – № 7. – С. 478.
2. Тушишвили Л.Ш., Сулаберидзе К.В. Динамика содержания стеринов в листьях цитрусовых в период покоя // Сообщ. АН ГССР. – 1986. – Т. – 123. – № 2. – С. 401–404.
3. Далакишвили И.М., Гусакова С.Д. Липиды семян *Paliurus spina-chrisfi* // Химия природных соединений. – 1985. – № 4. – С.322.
4. Щербаков В.Г. Биохимия и товароведение масличного сырья. – М.: Пищевая пром-сть, 1979. – 335 с.
5. Фенгел Д., Вегенер Г. Древесина (химия, ультраструктура, реакция): пер. с англ. / под ред. А.А. Леоновича. – М.: Лесн. пром-сть, 1988. – 512 с.
6. Рощин В.И. Состав, строение и биологическая активность терпеноидов из древесной зелени хвойных растений: автореф. дис. ... д-ра хим. наук: 20.06.95. – СПб., 1995. – 35 с.
7. Черкашина М.В., Петухова Г.А. Влияние техногенных эмиссий Тобольского нефтехимического комбината на изменение морфофизиологических показателей берёзы повислой (*Betula pendula roth.in tent.fl. germ*) и тополя дрожащего (*Populus tremula l.in sp.pl.*) // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 2 – С. 41–43.
8. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 322 с.

