



УДК 581.143.6+582.475.2+630*23

Определение оптимальных параметров ТСХ-разделения липидов семян *Pinus silvestris* Ledeb.

О. В. Музалевская, М. А. Баранова

Иркутский государственный университет, Иркутск
E-mail: Muzolga@mail.ru

Аннотация. Метод тонкослойной хроматографии удобен и экономичен в исполнении, позволяет проводить быстрый анализ состава сложных смесей липидов и применять его для оценки качества семян, благоприятных условий их выращивания и др. На данном этапе исследования проведён подбор системы растворителей для более полного разделения нейтральных липидов и фосфолипидов семян сосны обыкновенной *Pinus silvestris* Ledeb., которая является одной из доминирующих лесообразующих пород в Иркутской области и важнейшим сырьевым объектом. Методом ТСХ проведена предварительная оценка компонентного состава липидных фракций. Оптимальной системой при разделении нейтральных липидов семян сосны обыкновенной стала система растворителей гексан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (70:30:1), тогда как при разделении фосфолипидов лучшие результаты получены при использовании системы хлороформ – метанол – аммиак (65:35:3). Выявлено 10 классов НЛ и девять фракций ФЛ.

Ключевые слова: *Pinus silvestris* Ledeb., нейтральные липиды, фосфолипиды, тонкослойная хроматография.

Введение

Исследование липидного состава семян хвойных пород до сих пор остаётся актуальной задачей, поскольку они имеют широкое практическое применение во многих отраслях промышленности [1; 3; 9; 13; 18; 20; 24]. К настоящему времени хорошо изучен количественный биохимический состав семян кедра сибирского [7; 10; 12; 19; 21; 25; 26; 28], однако недостаточно достоверных данных о качественном и количественном составе липидов семян соседнего вида – сосны обыкновенной [4; 10; 23], хотя считается, что они обладают лечебным эффектом и с давних пор используются в народной медицине. Согласно литературным данным, содержание липидов в этих семенах варьирует от 5 до 15 % [4; 17].

Сосна обыкновенная наряду с кедром сибирским является одной из доминирующих лесообразующих пород в Иркутской области [2] и важнейшим сырьевым объектом, в связи с чем создание новых высокопродуктивных насаждений и лесовосстановление становятся сегодня весьма важной задачей. Применяя химические методы, можно оценивать содержание липидов семян, что позволяет выявить их качество, определить благоприятные условия для выращивания и районы использования [4]. Очевидно, потенциал простого и малозатратного экспресс-анализа липидного состава семян методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) [15; 22] использован в этом случае не до конца.

Целью настоящей работы стал подбор условий разделения классов липидов семян сосны обыкновенной *Pinus silvestris* Ledeb. на индивидуальные виды с использованием метода ТСХ.

Материалы и методы

Объект исследования – семена сосны обыкновенной (заготовитель: Россия, Иркутская область). Ядро семян, основным липидным компонентом которого являются нейтральные липиды, содержит значительные количества биологически активных веществ, включая жирные кислоты, фосфолипиды, гликолипиды и др. [6; 9].

Экстракцию общих липидов из растительных тканей проводили по методу Фолча [27]. Для этого образец ткани гомогенизировали в 15–20 объёмах смеси хлороформа и метанола (2:1), экстракт отмывали от нелипидных примесей слабым раствором KCl (0,74 %). После того, как произойдёт разделение на фазы, с помощью делительной воронки отбирали слой хлороформного раствора липидов. Концентрирование осуществляли с помощью азота [27]. Количество полученных липидов определяли гравиметрическим методом.

Для разделения липидов на фракции, учитывая их различную растворимость в одном и том же органическом растворителе и тот факт, что семена растений содержат большое количество нейтральных липидов, мешающих идентификации других классов, применяли метод осаждения ацетоном [14]. Осаждённые фосфолипиды и ацетоновую фракцию нейтральных липидов высушивали в токе азота, определяли вес и растворяли в определённом объёме хлороформа [14].

Разделение нейтральных липидов (НЛ) и фосфолипидов (ФЛ) семян сосны обыкновенной проводили методом одно- и двумерной тонкослойной хроматографии. В качестве сорбента использовали силикагель ЛС 5/40 (Chemapol, Чехия). На линию старта наносили пипеткой с дозатором анализируемую смесь (5–10 %), затем помещали пластинку в хроматографическую камеру с предварительно залитой в неё системой растворителей.

Для разделения липидов на классы с помощью одномерной ТСХ использовали разные системы растворителей, но лучший результат дали смеси: хлороформ – метанол – вода (65:35:3) (для фосфолипидов) и гексан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (70:30:1) (для нейтральных липидов) [14].

После достижения элюентом линии финиша пластинку высушивали и проявляли серной кислотой или антроновым реагентом [16]. Идентификацию классов липидов проводили по показателю R_f .

Результаты и обсуждение

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) не требует дорогостоящего оборудования и реактивов, характеризуется простотой выполнения, не оказывает разрушающего воздействия на липиды и позволяет, быстро разделив сложные смеси липидов на классы, а фосфолипиды – на подклассы, получить достоверные данные [5; 11].

На начальных этапах исследования спектра липидов, выделенных из семян сосны обыкновенной методом ТСХ, необходимо выбрать оптимальные условия разделения. В нашем случае более удачной для изучения классов липидов оказалась, как и ранее для семян кедра сибирского *P. sibirica* Du Tour [8], система растворителей: гексан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (70:30:1).

При разделении нейтральных липидов общего экстракта семян сосны обыкновенной (рис. 1, а) были идентифицированы следующие липиды: стеролы (R_f 0,18), высшие алифатические спирты (0,32), жирные кислоты (0,36), высшие алифатические альдегиды (0,75), углеводороды (0,96). На хроматограмме НЛ ацетоновой фракции семян сосны обыкновенной (рис. 1, б) выявлены диалкильные эфиры глицерола (0,09), стеролы (0,18), жирные кислоты (0,36), высшие алифатические спирты (0,32), триацилглицеролы (0,65) и углеводороды (0,96). Все липиды имеют значения R_f , сходные с данными из опубликованных исследований [14]. Следует отметить, что лучше прошло разделение НЛ общего экстракта.

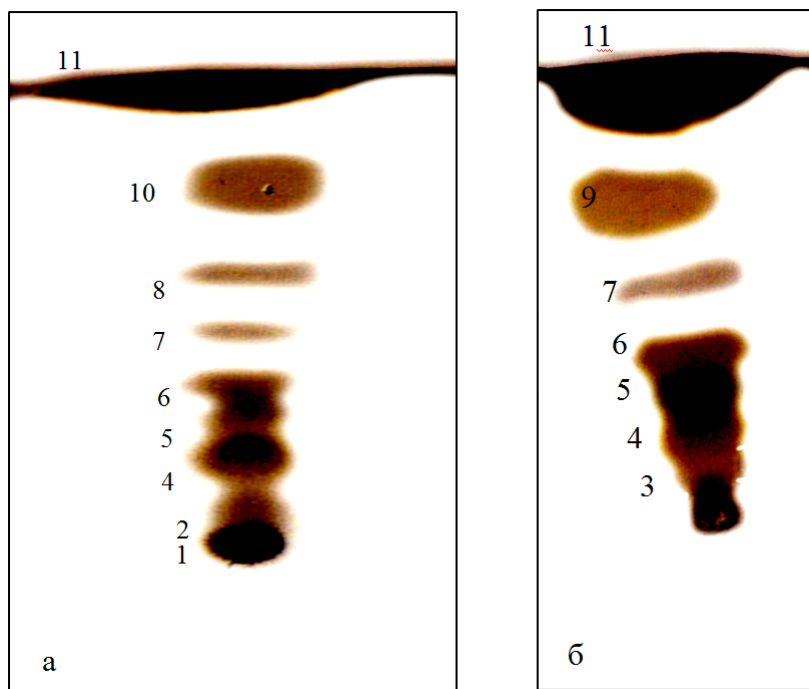


Рис. 1. Разделение нейтральных липидов семян сосны методом одномерной ТСХ: а) общий экстракт; б) ацетоновая фракция. Система растворителей: гексан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (70:30:1). Реагент: 10%-ная серная кислота в этаноле. 1 – полярные липиды; 2 – не идентифицировано; 3 – диалкиловые эфиры глицерина; 4 – стеролы; 5 – высшие алифатические спирты; 6 – жирные кислоты; 7 – не идентифицировано; 8 – не идентифицировано; 9 – триацилглицеролы; 10 – высшие алифатические альдегиды; 11 – углеводороды

Фосфолипиды изучаемых семян, как и другие растительные ФЛ, являются сложными многокомпонентными комплексами, групповой состав которых варьирует в зависимости от многих факторов: источника, условий выделения и способов фракционирования, поскольку молекулы имеют близкие строение и полярность, склонны к полиморфизму [5; 11]. В связи с этим возникают трудности при разделении ФЛ на подклассы, оценке отдельных компонентов, а значит необходимо подобрать условия, максимально отвечающие перечисленным требованиям.

Лучшие результаты по определению ФЛ были получены при использовании системы хлороформ – метанол – вода в соотношении 65:35:3, ранее подобранной нами в качестве наиболее эффективной для разделения семян кедра сибирского [8], хотя как оптимальная для разделения ФЛ семян описана смесь растворителей хлороформ – ацетон – метанол – уксусная кислота – вода в соотношении 12:6:3:3:1 [5]. Поскольку даже небольшие изменения состава смеси (например, в соотношении 65:35:5 или 65:35:4) сказывались на величине R_f , оказалось весьма важным соблюдать точную дозировку частей.

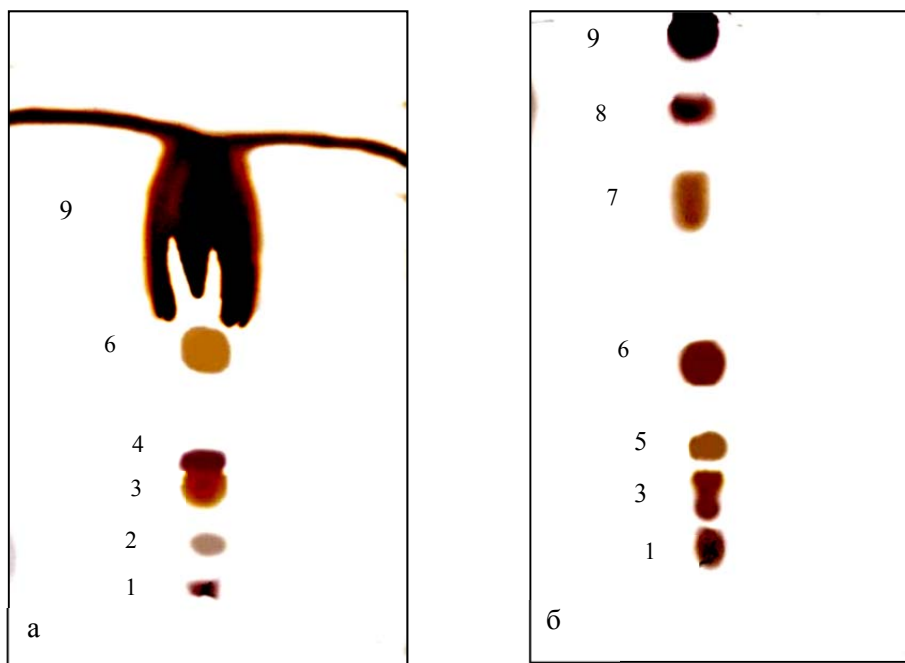


Рис. 2. Разделение фосфолипидов семян сосны обыкновенной методом одномерной ТСХ: а) общий экстракт; б) фосфолипидная фракция. Система растворителей: хлороформ – метанол – аммиак (65:35:3). Реагент: 10%-ная серная кислота в этаноле. 1 – фосфатидилсерин; 2 – лизофосфатидилсерин; 3 – сфинголипиды; 4 – неидентифицированная фракция; 5 – фосфатидилэтанолламин; 6 – фосфатидилэтанолламин; 7 – фосфатидилглицерофосфат; 8 – неидентифицированная фракция; 9 – неидентифицированная фракция

Разделение ФЛ общего экстракта семян сосны обыкновенной (рис. 2, а) с помощью одномерной ТСХ показало содержание лизофосфатидилсерина (0,06), сфинголипидов (0,21), фосфатидилэтаноламина (0,51). Состав фосфолипидной фракции семян (рис. 2, б) свидетельствует о содержании таких фосфолипидов, как фосфатидилсерин (0,06), сфинголипиды (0,21), фосфатидилхолин (0,33) и фосфатидилэтаноламин (0,51). Полученное значение R_f каждого пятна сравнивали с литературными данными [14].

Заключение

В ходе проведённых исследований осуществлялся подбор оптимального состава систем растворителей для ТСХ-разделения липидов семян сосны обыкновенной. Оптимальной системой при разделении НЛ семян сосны обыкновенной стала система растворителей гексан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (70:30:1), а при разделении ФЛ – система хлороформ – метанол – аммиак (65:35:3). Выявлено 10 классов НЛ, среди которых не удалось идентифицировать три фракции со значениями R_f 0,06; 0,45 и 0,51, а также 9 фракций ФЛ, из которых не идентифицированы три со значениями R_f 0,28; 0,75 и 0,93.

Полученные данные могут представлять интерес для разработки актуального экспресс-анализа липидного состава семян. Для того, чтобы избежать большого числа неидентифицированных липидов, улучшить качество липидного анализа методом ТСХ, планируется дальнейшая работа по выявлению наиболее эффективного состава систем растворителей и их комбинаций (в основном для нейтральных липидов), а также использование других специфических обнаружителей для определения отдельных липидов.

Список литературы

1. Биологическая активность соевых фосфолипидов / О. М. Ипатова [и др.] // Биомед. химия. – 2004. – Т. 50, № 5. – С. 436–450.
2. Бобров Е. Г. Лесообразующие хвойные СССР / Е. Г. Бобров. – М.: Наука, 1978. – 188 с.
3. Болдырев А. А. Биомембранология / А. А. Болдырев, Е. И. Кяйвяряйнен, В. А. Илюха. – Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. – 226 с.
4. Войтюк В. П. Испытательные и сортоиспытательные культуры сосны обыкновенной на Волини / В. П. Войтюк, З. Н. Коритан. – Киев, 1999. – 70 с.
5. Выбор оптимальных параметров разделения фосфолипидов в тонком слое сорбента / Е. Ф. Сафонова [и др.] // Хим.-фармацевт. журн. – 2002. – Т. 36, № 4. – С. 41–43.
6. Головкин Б. Н. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б. Н. Головкин. – М.: Наука, 2001. – 764 с.
7. Дейнека В. И. Исследование триглицеридного состава масла *Pinus sibirica* Du Tour / В. И. Дейнека, Л. А. Дейнека // Химия природ. Соединений. – 2003. – № 2. – С. 126–128.
8. Донская Л. И. Состав нейтральных липидов и фосфолипидов семян *Pinus sibirica* Du Tour / Л. И. Донская, О. В. Музалевская // Растит. ресурсы. – 1994. – Вып. 3. – С. 64–66.
9. Ефремов А. А. Перспективы малотоннажной переработки кедровых орехов в продукты пищевого и технического назначения / А. А. Ефремов // Химия растит. сырья. – 1998. – № 3. – С. 83–86.

10. Жирнокислотный состав липидов эндосперма и зародыша семян *Pinus sibirica* и *Pinus sylvestris* / С. П. Макаренко [и др.] // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 4. – С. 535–540.
11. Исследование фракционного состава фосфолипидных компонентов липосомального препарата липоферол с усовершенствованием метода тонкослойной хроматографии / А. И. Шанская [и др.] // Гематология. – 2014. – Т. 15. – С. 718–730.
12. Исследование химического состава белково-липидного продукта из кедровых орехов / Т. Г. Колесникова [и др.] // Техн. и технол. пищ. произв. – 2013. – № 2. – С. 22–26.
13. Кабанов Н. Е. Хвойные деревья и кустарники Дальнего Востока / Н. Е. Кабанов. – М. : Наука, 1977. – 175 с.
14. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М. : Мир, 1975. – 321 с.
15. Кизеев А. Н. Позиционно-типовой и позиционно-видовой состав триацилглицеринов из масла семян подсолнечника / А. Н. Кизеев // Мол. ученый. – 2013. – № 6. – С. 241–244.
16. Кирхнер Е. Тонкослойная хроматография / Е. Кирхнер. – М. : Мир, 1979. – 606 с.
17. Крамер Д. Физиология древесных растений / Д. Крамер, Т. Козловский. – М. : Лесн. пром-сть, 1983. – 464 с.
18. Алаудинова Е. В. Липиды меристем лесобразующих хвойных пород центральной Сибири в условиях низкотемпературной адаптации. 3. Особенности обмена нейтральных липидов / Е. В. Алаудинова, В. А. Поваляева, П. В. Миронов // Химия раст. сырья. – 2010. – № 1. – С. 67–74.
19. Особенности жирнокислотного состава некоторых растений Якутии в период формирования криорезистентности / К. А. Петров [и др.] // Вестн. СВФУ. – 2011. – С. 26–30.
20. Пахомова И. Г. Эссенциальные фосфолипиды: свойства и особенности / И. Г. Пахомова, Ю. П. Успенский // Гастроэнтерология. – 2010. – № 1. – С. 75–79.
21. Пермяков Б. Г. Кедр наш сибирский / Б. Г. Пермяков – Иркутск : Вост.-Сиб. кн. изд-во, 1986. – 208 с.
22. Подбор оптимальных условий разделения фосфолипидных комплексов, полученных из семян подсолнечника / А. С. Сикорская [и др.] // Сорбцион. и хроматогр. процессы. – 2009. – Т. 9, вып. 2. – С. 215–220.
23. Эколого-физиологическая характеристика сосны обыкновенной / Т. А. Сазонова [и др.]. – Петрозаводск : Verso, 2011. – 207 с.
24. Эффективность использования кедрового масла в комплексном лечении больных с артериальной гипертонией / Ю. В. Бахтин и [др.] // Вопр. питания. – 2006. – Т. 75, № 1. – С. 51–53.
25. ЯМР-анализ масел кедрового ореха (*Pinus sibirica*) и семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / Е. Д. Скаковский [и др.] // Журн. прикл. спектроскопии. – 2007. – Т. 74. – С. 528–532.
26. Fatty acid composition of Pinaceae as taxonomic markers / R. L. Wolff [et al.] // Lipids. – 2001. – Vol. 36, N 5. – P. 439–451.
27. Folch J. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. H. Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, N 1. – P. 497–509.
28. General characteristics of *Pinus* spp. seed fatty acid compositions, and importance of delta5-olefinic acids in the taxonomy and phylogeny of the genus / R. L. Wolff [et al.] // Lipids. – 2000. – Vol. 35, N 1. – P. 1–22.

Optimal Parameters for the TLC-separation of *Pinus silvestris* Seed Lipids

O. V. Muzalevskaya, M. A. Baranova

Irkutsk State University, Irkutsk

Abstract. The thin-layer chromatography method is convenient and economical in the performance, is allowed to conduct a rapid analysis of the composition of complex lipid mixtures and apply it to assess of the quality of the seeds, favorable conditions for their growth, etc. At this stage of the study, a solvent system was selected for a more complete separation of neutral lipids and phospholipids of the pine seeds *Pinus silvestris* Ledeb, which is one of the dominant forest-forming species in Irkutsk region and the most important raw material. TLC carried out a preliminary assessment of the component composition of lipid fractions. The solvent system hexane-diethyl ether-acetic acid (70: 30:1) was carried out by the optimal system for separation of neutral lipids of pine seeds. The best results were obtained separating of phospholipids and using the chloroform-methanol-ammonia system (65:35:3). Ten classes of NL and nine fractions of PL were revealed.

Keywords: *Pinus silvestris* Ledeb, neutral lipids, phospholipids, thin layer chromatography.

References

1. Ipatova O.M., Prozorovskaya N.N., Torkhovskaya T.N., Baranova B.C., Guseva D.A. Biologicheskaja aktivnost soevyh fosfolipidov [Bioactivity of soybean phospholipids]. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical Chemistry], 2004, vol. 50, no. 5, pp. 436-450. (in Russian).
2. Bobrov E.G. *Lesoobrazujushhie hvoynje SSSR* [Forest Forming Coniferous of the USSR]. Moscow, Nauka Publ., 1978, 188 p. (in Russian).
3. Boldyrev A.A., Kjjajvjarjajnen E.I., Iljuha V.A. *Biomembranologija* [Biomembranology]. Petrozavodsk, Karelian NC RAN Publ., 2006, 226 p. (in Russian).
4. Vojtjuk V.P., Koritan Z.N. *Ispytatel'nye i sortoispytatel'nye kul'tury sosny obyknovennoj na Volyni* [Strain-testing of Scots Pine in Volyn']. Kiev, 1999, 70 p.
5. Safonova E.F., Nazarova A.A., Selemenev V.F. Vybór optimal'nyh parametrov razdelenija fosfolipidov v tonkom sloe sorbenta [Optimal Parameters of Separation of Phospholipids in Thin Sorbent Layer]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal* [Pharmaceutical Chemistry Journal], 2002, vol. 36, no. 4, pp.41-43. (in Russian).
6. Golovkin B.N. *Biologicheski aktivnye veshhestva rastitel'nogo proishozhdenija* [Plant-Based Bioactive Substances]. Moscow, Nauka Publ., 2001, 764 p. (in Russian).
7. Dejneka V.I., Dejneka L.A. Issledovanie trigliceridnogo sostava masla *Pinus sibirica* Du Tour [Triglycerides in *Pinus sibirica* Oil]. *Himija prirodnyh soedinenij* [Chemistry of Natural Compounds], 2003, no. 2, pp. 126-128.
8. Donskaja L.I., Muzalevskaja O.V. Sostav nejtral'nyh lipidov i fosfolipidov semjan *Pinus sibirica* Du Tour [Neutral Lipids and Phospholipids in *Pinus sibirica* Seeds]. *Rastitel'nye resursy* [Plant Resources], 1994, vol. 3, pp. 64-66. (in Russian).
9. Efremov A.A. Perspektivy malotonnazhnoj pererabotki kedrovyyh orehov v produkty pishhevogo i tehničeskogo naznachenija [Perspectives of Processing of *Pinus sibirica* Seeds into Food and Technical Raw Products]. *Khimija rastitel'nogo syr'ja* [Chemistry of plant raw material], 1998, no. 3, pp. 83-86. (in Russian).
10. Makarenko S.P., Konenkina T.A., Putilina T.E., Donskaja L.I., Muzalevskaja O.V. Zhirnokislotnyj sostav lipidov jendosperma i zarodysha semjan *Pinus sibirica* i *P. sylvestris*

[Lipid Composition of Endosperms and Germs of *Pinus sibirica* and *P. sylvestris* Seeds]. *Fiziologija rastenij* [Plant Physiology], 2008, vol. 55, no. 4, pp. 535-540. (in Russian).

11. Shanskaja A.I., Puchkova S.M., Nedachina N.A., Hmylova G.A. Issledovanie frakcionnogo sostava fosfolipidnyh komponentov liposomalnogo preparata lipoferol s usovershenstvovaniem metoda tonkoslojnoj hromatografii [Fractional Composition of Phospholipid Components in Liposomal Preparation Lipoferol with improved TLH Method]. *Gematologija* [Gematology], 2014, vol. 15, pp. 718-730. (in Russian).

12. Kolesnikova T.G., Subbotina M.A., Shubenkina N.S. Issledovanie himicheskogo sostava belkovo-lipidnogo produkta iz kedrovyyh orehov [Chemical Composition of Protein and Lipid Product Extracted from Siberian Pine Seeds]. *Tehnika i tehnologija pishhevyh proizvodstv*. [Food Processing: Techniques and Technology], 2013, no. 2, pp. 22-26. (in Russian).

13. Kabanov N.E. Hvoynye derev'ja i kustarniki Dal'nego Vostoka [Coniferous Trees and Shrubs of Far East]. Moscow, Nauka Publ., 1977, 175 p. (in Russian).

14. Kejts M. *Tehnika lipidologii: Vydelenie, analiz i identifikacija lipidov* [Lipidology: Extraction, Analysis and Identification of Lipids]. Moscow, Mir Publ., 1975, 322 p. (in Russian).

15. Kizeev A.N. Pozicionno-tipovoj i pozicionno-vidovoj sostav triacilglicerinov iz masla semjan podsolnechnika [Triacylglycerol Composition of Oilseed Seed Oil]. *Molodoj uchenyj* [Young Scientist], 2013, no. 6, pp. 241-244. (in Russian).

16. Kirhner E. *Tonkoslojnaja hromatografija* [Thin-layer Chromatography]. Moscow, Mir Publ., 1979, 606 p. (in Russian).

17. Kramer D., Kozlovskij T. *Fiziologija drevesnyh rastenij* [Wood Plants Physiology]. Moscow, Lesnaja promyshlennost' Publ., 1983, 464 p. (in Russian).

18. Alaudinova E.V., Povaljaeva V.A., Mironov P.V. Lipidy meristem lesoobrazujushih hvoynnyh porod Central'noj Sibiri v uslovijah nizkotemperaturnoj adaptacii. 3. Osobennosti obmena neitral'nyh lipidov meristem pochek *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. i *Pinus sylvestris* L. *Khimiya rastitel'nogo syr'ja* [Chemistry of plant raw material], 2010, no. 1, pp. 67-74. (in Russian).

19. Petrov K.A., Perk A.A., Chepalov V.A., Ohlopkova Zh.M. Osobennosti zhirnokislotojnogo sostava nekotoryh rastenij Jakutii v period formirovanija kriorezistentnosti [Characteristics of Fatty Acid Composition of Some Plants of Yakutia during the Development of Cryoresistance]. *Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta im. M. K. Ammosova* [Herald of North-Eastern Federal University], 2011, vol. 8, no. 2, pp. 26-29. (in Russian).

20. Pakhomova I.G., Uspenskii Yu.P. Essentsial'nye fosfolipidy: svoistva i osobennosti [Essential Phospholipids: Characteristics and Features]. *Gastroenterologiya* [Gastroenterology], 2010, no. 1, pp. 75-79. (in Russian).

21. Permjakov B. G. *Kedr nash sibirskij* [Siberian Pine]. Irkutsk, Vostochno-Sibirskoye knizhnoye izdatel'stvo Publ., 1986, 208 p. (in Russian).

22. Sikorskaya A.S., Nazarova A.A., Selemenev V.F. Podbor optimal'nyh uslovij razdelenija fosfolipidnyh kompleksov, poluchennyh iz semjan podsolnechnika [Selection of Optimal Regimes for the Separation of Phospholipid Complexes Extracted from Oilseed Seeds]. *Sorbcionnye i hromatograficheskie processy* [Sorption and Chromatographic Processes], 2009, vol. 9, no. 2, pp. 215-220. (in Russian).

23. Sazonova T.A., Bolondinskii V.K., Pridacha V.B. *Ekologo-fiziologicheskaja harakteristika sosny obyknovnoy* [Ecological and Physiological Characteristics of Scots Pine]. Petrozavodsk, Verso Publ., 2011, 207 p. (in Russian).

24. Bakhtin Yu.V., Budaeva V.V., Vereshchagin A.L., Egorova E.Yu., Zhukova E.E., Saratkov A.S. Jefferektivnost' ispol'zovanija kedrovogo masla v kompleksnom lechenii bol'nyh s arterial'noj gipertoniej [Effectiveness of Siberian Pine Oil in Complex Therapy of Arterial Hypertension]. *Voprosy pitaniya* [Problems of Nutrition], 2006, vol. 75, no. 1, pp. 51-53. (in Russian).

25. Skakovskii E.D., Tychinskaya L.Yu., Gaidukevich O.A., Kulakova A.N., Petlitskaya N.M. JaMR-analiz masel kedrovogo oreha (*Pinus sibirica*) i semjan sosny obyknovennoj (*Pinus sylvestris* L.) [TLS-analysis of Oils in *Pinus sibirica* and *Pinus sylvestris* Seeds]. *Zhurnal prikladnoi spektroskopii* [Journal of Applied Spectroscopy], 2007, vol. 74. pp. 528-532. (in Russian).

26. Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Sheard P.R., Richardson R.I., Hughes S.I., Whittington F.M. Fatty acid composition of Pinaceae as taxonomic markers. *Lipids*, 2001, vol. 36, no. 5, pp. 439-451.

27. Folch J., Lees M., Stanley G.H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, vol. 226, no. 1, pp. 497-509.

28. Wolff R.L., Pedrono F., Pasquier E., Marpeau A.M. General characteristics of *Pinus* spp. seed fatty acid compositions, and importance of delta5-olefinic acids in the taxonomy and phylogeny of the genus. *Lipids*, 2000, vol. 35, no. 1, pp. 1-22.

Музалевская Ольга Васильевна
кандидат биологических наук, доцент
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
тел.: (3952) 24-18-55
e-mail: Muzolga@mail.ru

Muzalevskaya Olga Vasilyevna
Candidate of Science (Biology),
Associate Professor
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
tel.: (3952) 24-18-55
e-mail: Muzolga@mail.ru

Баранова Мария Александровна
магистрант
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
тел.: (3952) 24-18-55
e-mail: MBaranova@mail.ru

Baranova Mariya Aleksandrovna
Undergraduate
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003, Russian
Federation
tel.: (3952) 24-18-55
e-mail: MBaranova@mail.ru