

Andrzej STOŁYHWO¹, Lucjan JANSON²

¹Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej,
ul. Narutowicza 11, 80-952 Gdańsk
e-mail: stolyhwo@chem.pg.gda.pl

²Instytut Badawczy Leśnictwa,
Zakład Genetyki i Fizjologii Drzew Leśnych, Sękocin, 05-090 Raszyn

ZAWARTOŚĆ LIPIDÓW I SKŁAD KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W NASIONACH ŚWIERKA POSPOLITEGO (*PICEA ABIES* L. KARST.) PRZECHOWYWANYCH DŁUGOTERMINOWO

CONTENTS OF LIPIDS AND FATTY ACIDS COMPOSITION IN NORWAY
SPRUCE (*PICEA ABIES* L. KARST.) SEEDS DURING THE LONG-TERM
STORAGE

Abstract. *The decrease of fat contents in seeds of Norway spruce was observed when the time of their storage in the temperature -2°C extended. It was found that the fat content in seeds has decreased from the initial 36.6% of the dry mass down to 33.5% and 32.5% in the case of 15 and 20 years storage period, respectively. At the same time the germination capacity has decreased from 98% for fresh collected seeds to the levels of 70% and 30% for seeds stored in cool place for 15 and 20 years. The decrease of linoleic acid C_{18:2} content from 51% at the beginning to 49.0% and 48.6% was found in the composition of fatty acids after 15 and 20 years of seeds storage. In spruce seed oil, two polyunsaturated fatty acids NI-1 (3.5%) and NI-2 (24.7%) of unknown structure, were also found.*

Key words: *Picea abies* (L) Karst., Norway Spruce, seeds, storage, germination, lipids, acids, analysis.

1. WSTĘP

Głównymi składnikami nasion świerka, podobnie jak i nasion innych roślin, są białka, węglowodany oraz lipidy. Przez lipidy będzie się w dalszym ciągu rozumieć te wszystkie substancje, które dają się wyekstrahować z badanego materiału przy użyciu rozpuszczalników: eter naftowy i eter etylowy zmieszanych w proporcjach objętościowych jak 1:1. Przy takim sposobie definiowania lipidów okazuje się, że nasiona świerka zawierają od 32 do 37% lipidów (w odniesieniu do suchej masy).

Ekstrakt lipidów to olej koloru słomkowego o zapachu charakterystycznym dla nasion świerka i gorzkim smaku. Głównym składnikiem tego oleju są triacyloglicerole (trójglicerydy), często nazywane tłuszczami właściwymi, stanowiące blisko 99% wagowych całego ekstraktu lipidów.

Tłuszcze właściwe są to estry glicerolu oraz kwasów tłuszczowych (KT), stanowiących blisko 96% wagowych tłuszczu. W zależności od liczby wiązań podwójnych w łańcuchu węglowodorowym, kwasy tłuszczowe mogą być nasycone lub jednonienasycone – spełniające rolę głównie magazynu energii, bądź wielonienasycone (funkcjonalne) – biorące udział w ważnych procesach życiowych, związanych z oddychaniem i kiełkowaniem nasion.

Tłuszcze magazynują w sobie znaczne ilości energii, co szczególnie uwiadcza się przy ich spalaniu. Przy spalaniu (którym jest również i oddychanie nasion) jeden gram tłuszczu prowadzi do wytworzenia energii ponad 9 Kcal (37,2 J), podczas gdy energia spalania białek lub węglowodanów jest blisko o połowę niższa.

Tłuszcze odłożone w nasionach stanowią najbardziej ekonomiczny zapas energii, jaki będzie nieodzowny do wykorzystania przy kiełkowaniu i w pierwszych fazach rozwoju rośliny, szczególnie przy tworzeniu siewki. Obserwuje się, że w trakcie kiełkowania zawartość tłuszczu w kiełkujących nasionach szybko spada, co świadczy o licznych reakcjach chemicznych w nich zachodzących.

Dodatkową cechą tłuszczów jest to, że są one hydrofobowe, a zatem w mniejszym stopniu niż białka lub węglowodany są podatne na działanie drobnoustrojów, z reguły wymagających do swojego rozwoju środowiska wodnego.

Trwałość tłuszczów jest bardzo wysoka. Mogą się one rozkładać przez hydrolizę z wytworzeniem wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) w przypadku, gdy nasiona są niedostatecznie wysuszone lub przez utlenienie, gdy nasiona poddawane są działaniu podwyższonej temperatury w obecności tlenu z powietrza.

Tłuszcze zmagazynowane w nasionach chronione są bardzo skutecznie przed utlenieniem przez przeciwutleniacze, np. tokoferole obecne w lipidach nasion świerka.

Z praktyki składowania nasion w warunkach kontrolowanych wiadomo, że nasiona oddychają, a zatem zachodzą w nich bardzo powolne procesy spalania.

Zewnętrzną oznaką tego zjawiska jest pobieranie przez nasiona tlenu potrzebnego do spalania oraz wydzielanie dwutlenku węgla, będącego ostatnim produktem złożonych przemian spalania organicznych składników zawartych w nasionach.

Przy krótkotrwałym składowaniu nasion – odpowiadającym okresowi 1-2 sezonów – powolny ubytek składników energetycznych na skutek ich spalania nie wpływa w sposób znaczący na energię i zdolność kiełkowania nasion. Natomiast nie wiadomo, czy przy długotrwałym składowaniu nasion (powyżej 10-15 lat) pewien ubytek zdolności kiełkowania nie jest już związany z nadmierną utratą składników energetycznych.

2. CEL BADAŃ

Celem niniejszej pracy było wstępne rozpoznanie, czy istnieje zależność pomiędzy zmianami zawartości tłuszczu i składu kwasów tłuszczowych a zmniejszeniem zdolności kiełkowania nasion świerka przechowywanych długoterminowo. Przy stosowaniu tej samej techniki badawczej dokonano wstępnej oceny zmian w składzie kwasów tłuszczowych w trakcie kiełkowania nasion.

3. MATERIAŁY I METODYKA BADAŃ

Do zbadania zawartości lipidów całkowitych w nasionach świerka pospolitego użyto nasion pochodzących ze zbioru z grudnia 1976 r. w Nadleśnictwie Zwierzyniec Białowieski oraz ze zbioru z listopada 1980 r. w Nadleśnictwie Istebna-Bukowiec. Nasiona z tych nadleśnictw były przechowywane w chłodniach w temperaturze -2°C przez 15 oraz 20 lat. Wilgotność nasion w trakcie przechowywania wynosiła 6-7% w odniesieniu do suchej masy. Chłodnię, w której przechowywano nasiona, rozmrażano co 2 tygodnie przez 24-36 godzin. W tym czasie stopniowo wzrastała temperatura pomieszczenia z -2°C do $8-10^{\circ}\text{C}$, w zależności od czasu rozmrażania i okresu letniego lub zimowego.

Jako materiału porównawczego do badań zawartości tłuszczu i składu kwasów tłuszczowych użyto nasion świerka z wyłuszcarni w Janowicach Wielkich zebranych w 1995 r., dla których okres przechowywania wynosił tylko 6 miesięcy.

Charakterystyka energii i zdolności kiełkowania nasion użytych do badań zestawiona jest w tabeli 1.

Tabela 1
Table 1

Charakterystyka energii i zdolności kiełkowania badanych nasion
Characteristic of energy and germination capacity of investigated seeds

Pochodzenie nasion Seeds origin	Rok zbioru Year of collection	Czas przechowywania w latach Time of storage in years	Masa 1000 nasion Mass of 1000 seeds g	Energia kiełkowania Energy of germination %	Zdolność kiełkowania Germination capacity %
Janowice Wielkie	1995	0,5	7,9	94	98
Istebna Bukowiec	1980	15	9,5	55	70
Zwierzyniec Białowieski	1976	20	7,2	7	30

Zawartość lipidów w nasionach świerka oznaczano techniką ekstrakcji metodą Soxhleta przy zastosowaniu mieszaniny rozpuszczalników heksanu i eteru etylowego pro analisy.

Liczbę jodową wyekstrahowanych lipidów oznaczano według Wijsa stosownie do procedury opisanej w metodzie AOAC nr 920.159 (Official Method of Analysis, 1990a).

Kiełkowanie nasion świerka prowadzono na kiełkownikach w warunkach standardowych.

Lipidy z kiełkowanych nasion izolowano przy użyciu ekstrakcji wg FOLCHA i in. (1957). Ekstrakty lipidów zmydlano i przeprowadzano w estry metylowe metodą AOAC nr 969.33 (Official Method of Analysis, 1990b).

Skład kwasów tłuszczowych po ich przeprowadzeniu w estry metylowe (EMKT) oznaczano techniką chromatografii gazowej GC według metody AOAC nr 963.22 (Official Method of Analysis, 1990c) chromatografem Hewlett Packard 5890 Series II wyposażonym w detektor płomieniowy jonizacyjny i dozownik typu split–splitless.

Separacje EMKT prowadzono na kolumnie kapilarnej z topionego kwarcu typu Rtx- 2330 (Restek, USA) o długości 100 m, średnicy 0,25 mm i grubości filmu fazy stacjonarnej 0,2 μm .

Chromatogramy rejestrowano na stacji roboczej przy użyciu programu HP-Chem, Hewlett Packard (Palo Alto, Calif, USA).

Dodatkowo skład kwasów tłuszczowych (jako EMKT) badany był przy użyciu chromatografii cieczowej wysokosprawnej (HPLC) przy użyciu detektorów równoległych, tj. uniwersalnego-laserowego-fotodyspersyjnego LLSD (Gdańsk Innovation Centre), wykrywającego wszystkie rozdzielone anality (STOŁYHWO i in. 1984; JANKOWSKI, STOŁYHWO 1995), oraz drugiego detektora z matrycą fotodiodową DAD (Diode Array Detector) Hewlett Packard typu 1050 (Palo Alto, Calif., USA). Przy użyciu DAD zdejmowano widma w zakresie UV-VIS kwasów

tłuszczowych, których nie udało się zidentyfikować techniką GC. Chromatogramy i widma rejestrowano przy użyciu stacji roboczej przy użyciu programu HP-Chem 3D.

Do separacji EMKT stosowano kolumnę typu HIBAR Lichrosphere C₁₈ o średnicy ziaren 5 μm (Merck, Darmstadt, RFN). Jako fazy ruchome stosowano mieszaniny acetonitrylu propanolu oraz heksanu 59/25/16 v/v/v.

4. WYNIKI

4.1. Zawartość lipidów w nasionach świerka pospolitego o różnym okresie przechowywania

Ocena nasion o różnym okresie przechowywania wskazuje, że zawartość lipidów, głównie tłuszczu właściwego (trójglicerydów), ulega powolnemu, wyraźnemu zmniejszaniu. Zmiany takie ilustrują rezultaty oznaczeń zamieszczone w tabeli 2.

Z danych tych wynika, że w stosunku do nasion świeżych z 1995 r. (Janowice Wielkie), zawierających 36,6 % lipidów ich zawartość w nasionach starszych spada do 33,5% (Istebna-Bukowiec 1980 r.) oraz do 32,5% w nasionach z 1976 r. (Zwierzyniec Białowieski). Równocześnie, w miarę przedłużania czasu składowania nasion, wzrasta wyraźnie liczba kwasowa (LK) lipidów obecnych w nasio-

Tabela 2
Table 2

Zawartość oleju w próbach świerka pospolitego o różnej zdolności kiełkowania Changes of fat contents in the long-term stored seeds of Norway spruce

Pochodzenie nasion Seeds origin	Zawartość oleju w suchej masie Oil content in dry mass %	Liczba kwasowa mg KOH/1g oleju Acid value %	SNZ* %	Wilgotność nasion w czasie analizy Seeds moisture in the time of the analysis %	Zdolność kiełkowania Germination capacity %
Janowice Wielkie 1996	36,6(+/-0,1)	2,77	0,64	5,50	98
Istebna-Bukowiec 1980	33,5(+/-0,1)	4,73	–	6,41	70
Zwierzyniec Białowieski 1976	32,5(+/-0,1)	5,14	–	7,41	30

* Substancje nie ulegające zmydleniu

* Non saponifiable matter

nach (4,73 – Istebna-Bukowiec i 5,14 – Zwierzyniec Białowieski), co świadczy o powolnych, ale postępujących procesach hydrolizy powodujących powstawanie wolnych kwasów tłuszczowych. Przyrost ich ilości jest oznaką psucia się tłuszczu, czemu towarzyszy spadek zdolności kiełkowania.

W przypadku nasion składowanych przez 20 lat (Zwierzyniec Białowieski) zdolność kiełkowania zmniejszyła się do 30% przy równoczesnym spadku zawartości lipidów w tych nasionach do 32,5% i wzroście liczby kwasowej lipidów do 5,14. Obniżonej zdolności kiełkowania towarzyszy zmniejszona zawartość wysokonienasyconych (funkcjonalnych) kwasów tłuszczowych, co ilustrują wyniki zamieszczone w tabeli 3 niniejszej pracy.

4.2. Skład kwasów tłuszczowych w lipidach izolowanych z nasion świerka pospolitego

Lipidy izolowane z nasion świerka pospolitego w temperaturze otoczenia (20 °C) są konsystencji ciekłej, barwą i lepkością przypominają pospolite oleje roślinne. Z tego też względu lipidy izolowane z nasion świerka pospolitego można nazywać olejem z nasion świerka pospolitego.

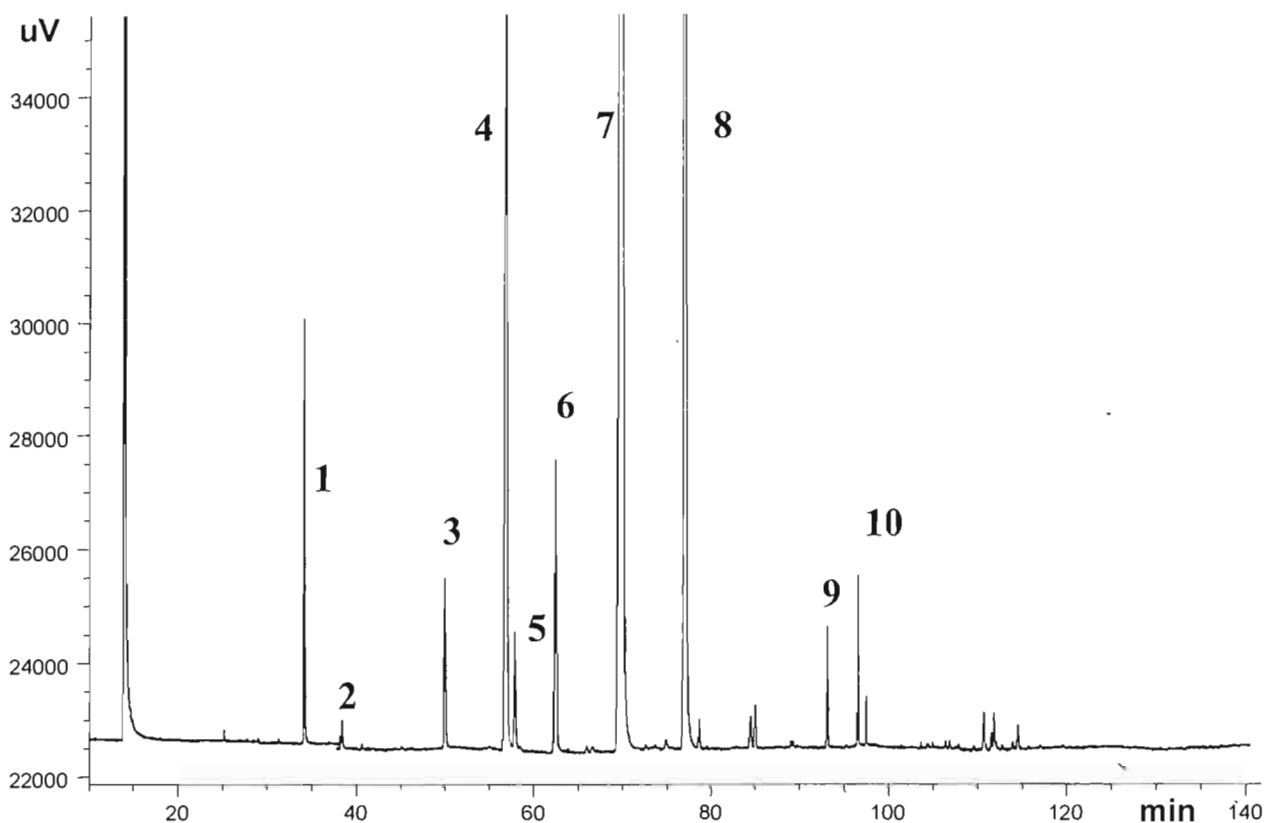
Skład jakościowy kwasów tłuszczowych w oleju ze świerka pospolitego odbiega istotnie od składu kwasów tłuszczowych w innych olejach roślinnych (ryc. 1). Oprócz powszechnie obecnych kwasów nasyconych (głównie palmitynowego C_{16:0} i stearynowego C_{18:0}), mononienasyconych (oleinowego C_{18:1}9c i oktadecenowego C_{18:1}11c) oraz dinienasyconych (głównie linolowego C_{18:2}9,12cc) na chromatogramie KT oleju z nasion świerka występują również inne kwasy tłuszczowe, nie występujące w pospolitych olejach roślinnych (np. rzepakowym, słonecznikowym, lnianym), których nie udało się z całkowitą pewnością zidentyfikować.

Te niezidentyfikowane kwasy zaznaczono na chromatogramach i w tabelach jako NI-1 oraz NI-2.

Dla bliższego scharakteryzowania niezidentyfikowanych kwasów tłuszczowych wykonano dodatkowe badania technikami wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC z użyciem detektorów: laserowego fotodispersyjnego LLSD, wykrywającego wszystkie anality, oraz zainstalowanego równolegle detektora z matrycą fotodiodową DAD, wykrywającego tylko te anality, które charakteryzują się absorpcją promieniowania w zakresie UV-VIS. Przy użyciu detektora DAD zdejmowano jednocześnie widma absorbancji poszczególnych analitów

Chromatogramy te przedstawiono na rycinie 2, na której kanał detektora LLSD oznaczony jest jako ADC1 A, natomiast kanał detektora z matrycą fotodiodową jako DAD1 B.

Jak wynika z ryciny 2, w kanale ADC1A (detekcja uniwersalna) zarejestrowano 4 pasma elucji. Na wzorcach sprawdzono, że pasmom 1, 2 i 4 mogłyby odpowiadać odpowiednio kwasy tłuszczowe: C_{18:3} linolenowy (1) – ale nie tylko,



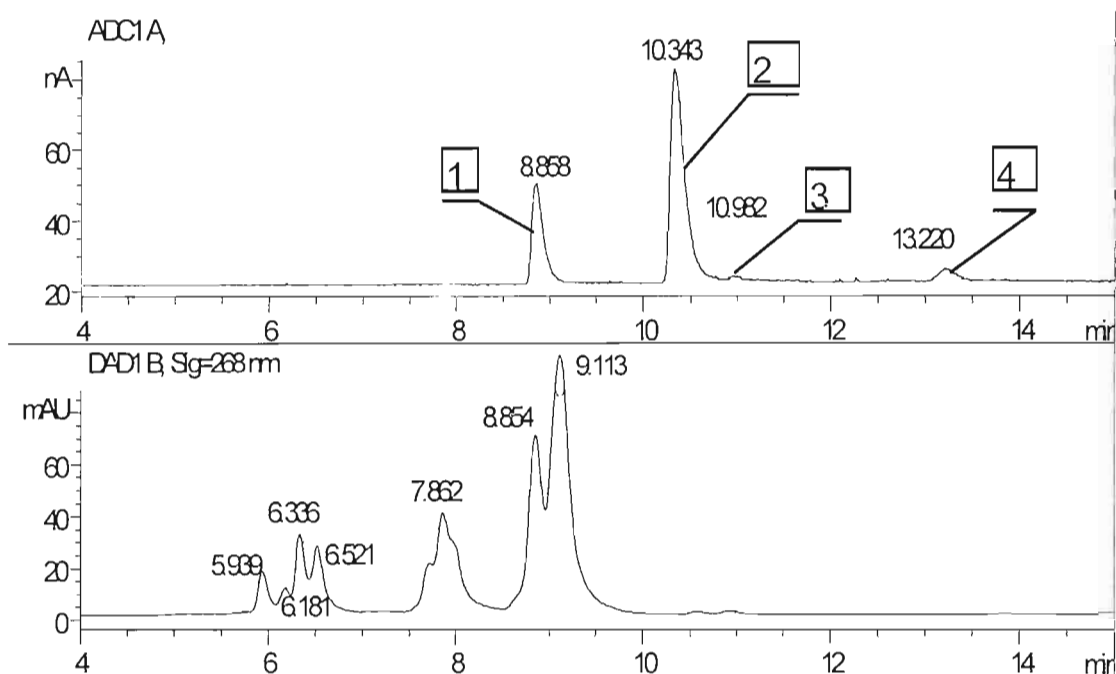
Ryc. 1. Skład kwasów tłuszczowych oleju z nasion świerka pospolitego *Picea abies* L. Oznaczenia kwasów: 1 – C_{16:0} palmitynowy, 2 – C_{16:1} oleopalmitynowy, 3 – C_{18:0} stearynowy, 4 – C_{18:1} 9c – oleinowy, 5 – C_{18:1} 11c oktadecenowy delta 11, 6 – NI-1 niezidentyfikowany, 7 – C_{18:2} 9,12cc linolowy, 8 – NI-2 niezidentyfikowany, 9 – C_{20:0} ikozenowy, 10 – C_{18:3} 9,12,15 linolenowy

Fig. 1. Composition of fatty acids of oil from Norway spruce (*Picea abies* L.) seeds. Acid denotes: 1 – C_{16:0} palmitic, 2 – C_{16:1} oleopalmitic, 3 – C_{18:0} stearic, 4 – C_{18:1} 9c – oleic, 5 – C_{18:1} 11c octadecanoic delta 11, 6 – NI-1 unidentified, 7 – C_{18:2} 9,12cc linoleic, 8 – NI-2 unidentified, 9 – C_{20:0} icosanoic, 10 – C_{18:3} 9,12,15 linolenic

C_{18:2} linolowy (2) oraz C_{18:1} oleinowy (4), co z wyjątkiem pasma nr 1 odpowiadałoby proporcjom ilościowym omawianych kwasów tłuszczowych, zidentyfikowanych już techniką GC zgodnie z chromatogramem z rycinie 1.

Pasmo elucji 1 okazało się niejednorodne, co można odczytać z kanału DAD (piki 8.854 oraz 9.113). Widma absorpcji w zakresie UV-VIS zarejestrowane w otoczeniu maksimum tych pików przedstawione są na rycinie 3.

Na rycinie 3 w otoczeniu piku 8.854 oraz piku 9.113 występują anality posiadające widma absorpcji 1, 2 i 3, charakterystyczne dla 3 wiązań podwójnych w układzie skoniugowanym. Takie układy wiązań podwójnych posiadają 3 maksima, z których środkowe (najwyższe) koresponduje z długościami fal 268 lub 272 nm – w zależności od położenia tych wiązań w łańcuchu węglowodorowym (JANKOWSKI, STOLYHWO 1995).



Ryc. 2. Chromatogramy (HPLC) estrów metylowych KT oleju z nasion świerka pospolitego wykonane przy użyciu detektorów: laserowego fotodispersyjnego LLSD (uniwersalny) – kanał ADC1 A i z matrycą fotodiodową DAD – kanał DAD1 B-UV-VIS (analityczna długość fali 268nm): 1 – w tym paśmie elucji występują kwasy tłuszczowe zawierające po 3 wiązania podwójne, struktura tych kwasów niezidentyfikowana, 2 – kwas linolowy $C_{18:2}$ 9,12c,c; 3 – pasmo elucji zawierające kwasy tłuszczowe o 2 wiązaniach podwójnych – struktura niezidentyfikowana, 4 – kwas oleinowy $C_{18:1}9c$

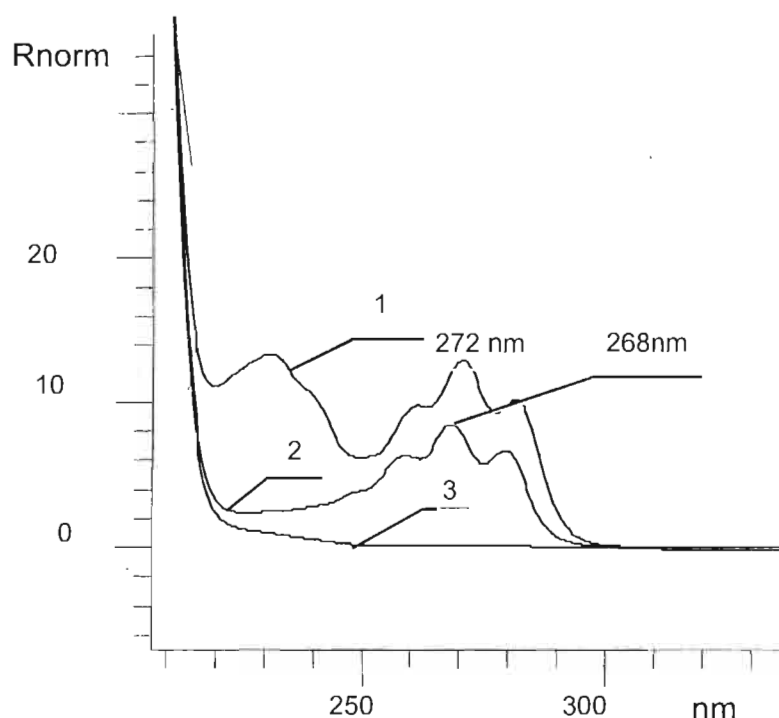
Fig. 2. Chromatograms of fatty acids methyl esters (fame) of *Picea abies* seed oil recorded by: — laser light scattering detector LLSD (Universal) – channel ADC1A, — DIOSA array detector DAD at 268 nm Bw 10 nm – channel DAD sig 268 nm

Na tej podstawie można sądzić, że w pikie nr 1 na rycinie 2 występują przypuszczalnie kwasy tłuszczowe o sprzężonym układzie wiązań podwójnych, co ilościowo korespondowałoby z pikem NI-2 na chromatogramie GC (ryc. 1).

Dla potwierdzenia takiego przypuszczenia przyjęto, że piki NI-2 oraz NI-1 mogą być KT zawierającymi po 3 (NI-2) oraz 2 (NI-1) podwójne wiązania w cząsteczce. Przy takim założeniu obliczono z chromatogramu (ryc. 1) wielkość liczby jodowej LJ*.

Równocześnie w tym samym oleju oznaczono liczbę jodową przy zastosowaniu klasycznej metody „mokrej” wg Wijasa (Official Method of Analysis, 1990a).

*Ilość gramów J_2 , jaka stechiometrycznie przyłącza się do wiązań podwójnych kwasów tłuszczowych zawartych w 100 gramach oleju.



Ryc. 3. Widma UV-Vis pików; 1 – 8.854, 2 – 9.113, 3 – 10.343

Fig. 3. UV spectrum of peaks; 1– 8.854, 2 – 9.113, 3 – 10.343

Z porównania liczby jodowej obliczonej z chromatogramu równej 170.22 i oznaczonej metodą Wijsa wynoszącej 170,05 ($\pm 0,05$) wynika, że przyjęte wyżej założenie jest wysoce prawdopodobne.

Na podstawie wykonanych analiz technikami GC, HPLC oznaczenia liczby jodowej LJ oraz jej zgodności z liczbą jodową obliczoną z chromatogramu, można wnioskować, że:

- NI-1 jest kwasem $C_{18:2}$ o niezidentyfikowanej strukturze, ale posiadającym 2 wiązania podwójne,
- NI-2 jest kwasem $C_{18:3}$ o niezidentyfikowanej strukturze, ale posiadającym 3 wiązania podwójne.

Określenie struktury niezidentyfikowanych kwasów tłuszczowych NI-1 i NI-2 ma charakter zupełnie wstępny. Prawdopodobne mogą to być również kwasy tłuszczowe zawierające łańcuch węglowodorowy w formie cyklicznej lub rozgałęzionej, w której występują dwa (NI-1) lub 3 (NI-2) wiązania o strukturze skojarzonej.

Jeżeli NI-1 i NI-2 są kwasami o sprzężonym układzie wiązań podwójnych, jak to wstępnie identyfikowano, to przy LJ 170 olej z nasion świerka powinien charakteryzować się zdolnościami schnącymi, co zostało potwierdzone eksperymentalnie w laboratorium na próbkach oleju w trakcie realizacji niniejszej pracy. Układ sprzężonych wiązań podwójnych jest bowiem bardzo reaktywny z tlenem, szczególnie przy dostępie światła słonecznego.

Ta właściwość wskazuje, że olej z nasion świerka pospolitego mógłby być stosowany do wytwarzania szlachetnych (i kosztownych) farb dla malarstwa, bądź jako ekologiczny pokost do zabezpieczania powierzchni drewnianych.

Sprzężony układ dwu lub trzech wiązań podwójnych sugeruje również, że olej z nasion świerka pospolitego powinien wykazywać wysoką aktywność biologiczną.

Nieznany jest wpływ oleju z nasion świerka na zdrowie człowieka – potrzebne byłyby stosunkowo kosztowne badania możliwości wykorzystania go jako składnika preparatów farmaceutycznych. Wiadomo, że niektóre zwierzęta leśne odżywiają się nasionami świerka pospolitego.

4.3. Skład kwasów tłuszczowych nasion świerka pospolitego o różnym okresie ich długotrwałego przechowywania

Skład procentowy kwasów tłuszczowych w oleju z nasion przedstawiono w tabeli 3. Z danych w niej zawartych wynika, że długotrwałe składowanie nasion świerka pospolitego wyraża się znacznymi zmianami zawartości wysokonienasyconych (funkcjonalnych) kwasów tłuszczowych. Dotyczy to szczególnie kwasu linolowego, którego zawartość w nasionach świeżych (Janowice Wielkie) wynosiła 51%, podczas gdy w nasionach przechowywanych 20 lat (Zwierzyniec Biało-

Tabela 3

Table 3

Skład kwasów tłuszczowych w oleju wydzielonym z nasion świerka pospolitego (*Picea abies* L.) o różnej zdolności kiełkowania

Composition of fatty acids in oil secreted from Norway spruce (*Picea abies* L.) seeds of different germination capacity

Nazwa kwasu Acid name	Symbol kwasu Acid symbol	Pochodzenie nasion Origin of seeds		
		Janowice Wielkie	Istebna Bukowiec	Zwierzyniec Białowieski
		świeże fresch seeds	15-letnie 15 years old seed	20-letnie 20 years old seeds
%				
laurynowy lauric	C _{14:0}	0,05	0,04	0,05
palmitynowy palmitic	C _{16:0}	2,81	2,45	2,75
stearynowy stearic	C _{18:0}	1,63	1,51	1,71
oleinowy oleic	C _{18:1} 9c	13,39	12,17	13,59
oktadecenowy 11c octadecenoic 11c	C _{18:1} 11c	1,12	1,61	1,09
linolowy linoleic	C _{18:2} 9,12 cc	51,00	49,07	48,57
linolenowy linolenic	C _{18:3} 9,12,15	1,56	1,55	1,53
NI-1	??	3,47	2,69	3,58
NI-2	??	24,68	25,71	23,59

wieski) wynosiła 48,6%. Obniżonej zawartości kwasu linolowego oraz zmniejszeniu całkowitej zawartości lipidów towarzyszyła większa liczba kwasowa tego tłuszczu (psucie się na skutek hydrolizy), zaś nasiona cechowała bardzo obniżona zdolność kiełkowania – 30% (Zwierzyniec Białowieski).

4.4. Zmiany w składzie kwasów tłuszczowych w trakcie kiełkowania nasion

Oznaczone zmiany składu kwasów tłuszczowych w trakcie kiełkowania nasion zestawiono sumarycznie w tabeli 4. Jak wynika z danych przedstawionych w tabeli, skład kwasów tłuszczowych w nasionach świerka ulega istotnym zmianom pomiędzy 7 i 14 dniem kiełkowania. Dla przykładu zawartość procentowa kwasu palmitynowego w składzie kwasów tłuszczowych wzrasta z 2,7% w pierwszym dniu do 4,5% w 14 dniu kiełkowania. W tym okresie następuje gwałtowny spadek całkowitej zawartości tłuszczu w nasionach, który intensywnie zużywany jest do podtrzymywania funkcji życiowych.

Spada również zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych, np. zawartość kwasu linolowego $C_{18:2}$ z 49,9 w pierwszym dniu do 46,0% w 14 dniu kiełkowania. Podobnie spadkowi ulega zawartość niezidentyfikowanego NI-2 z 24,3% do 21,2 % w 14 dniu kiełkowania. Bardzo istotny jest natomiast przyrost zawartości kwasu linolenowego z 0,3% w pierwszym dniu kiełkowania do 2,5% w 14 dniu.

Z powyższego wynikałoby, że 14-dniowa siewka po wyczerpaniu zapasów rozpoczyna już samoistną wegetację wykorzystując składniki pokarmowe z produktów fotosyntezy.

Procesy zachodzące w trakcie kiełkowania nasion świerka pospolitego są bardzo złożone, a ich wyjaśnienie wymaga pracochłonnych badań.

5. WNIOSKI

1. Obserwowana zawartość tłuszczu w nasionach uległa zmniejszeniu z 36,6% do 32,5% po 20 latach składowania nasion w warunkach kontrolowanych.

2. Przyrostowi liczby kwasowej tłuszczu (psucie się tłuszczu na skutek hydrolizy) towarzyszy wyraźny spadek zdolności kiełkowania nasion. Z tego też względu istotne jest przechowywanie nasion o możliwie najniższej wilgotności, co powinno zapobiegać hydrolizie tłuszczu i spadkowi zdolności kiełkowania.

3. W nasionach przechowywanych długoterminowo stwierdzono niższą zawartość wysokonienasyconych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza kwasu linolowego $C_{18:2}$ – 48,6% w nasionach przechowywanych od 1976 r. (Zwierzyniec

Tabela 4

Table 4

Zmiany w składzie kwasów tłuszczowych w nasionach świerka w trakcie ich kiełkowania (% udziału w składzie KT)

Changes in the fatty acids of Norway spruce seeds during their germination (percentage of FFA composition)

Skrócony symbol Abbreviation	Nazwa kwasu zwyčajowa lub systematyczna Common or syste- matic name of acid	Numer próby Sample number (dni od wysiewu w kiełkowniku) (days from sowing in germinator)				
		1 (1dzień) (1 day)	2 (2 dni) (2 days)	3 (4 dni) (4 days)	4 (7 dni) (7 days)	5 (14 dni) (15 days)
C _{14:0}	mirystynowy myristic	0,06	0,06	0,05	0,07	0,28
Ni		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,11
Ni		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,10
Ni		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,10
Ni		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,38
C _{16:0}	palmitynowy palmitic	2,72	2,70	2,57	2,45	4,53
C _{16:1d7}	palmito-oleinowy oleopalmitic	0,07	< 0,05	0,07	0,07	0,20
C _{16:1}	palmito-oleinowy oleopalmitic	0,26	0,26	0,25	0,24	0,66
C _{16:2}		< 0,05	< 0,05	0,05	< 0,05	0,08
C _{17:0}	margarynowy margaric	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,05
C _{18:0}	stearynowy stearic	1,54	1,55	1,51	1,30	1,62
C _{18:1d9}	oleinowy oleic	12,85	12,90	12,89	12,86	12,62
C _{18:1d11}	oktadecenowy d11 octadecenoic d11	1,29	1,26	1,35	1,21	1,05
NI-1		3,23	3,29	3,38	3,40	3,26
C _{18:2 t,c}		0,16	0,12	0,15	0,10	0,26
C _{18:2}	linolowy linoleic	49,90	50,08	49,87	49,69	46,01
Ni-		0,11	0,12	0,11	0,12	0,11
NI-2		24,32	24,29	24,45	24,65	21,19
C _{20:0}	eikozanowy eicosanoic	0,31	0,31	0,30	0,31	0,62
Ni		< 0,05	< 0,05	–	–	0,11
C _{18:3}	linolenowy linolenic	0,27	0,31	0,36	0,49	2,57
C _{20:1}		0,33	0,34	0,35	0,36	0,34
Ni		< 0,05	< 0,05	< 0,05	–	0,19
Ni		0,79	0,79	0,78	0,82	0,65
Ni		0,99	1,06	0,96	1,12	1,10
Ni		0,20	0,19	0,21	0,21	0,30
C _{22:0}	behenowy behenic	0,11	0,06	0,13	0,14	0,70

Białowieski), w porównaniu z 51,0% w nasionach przechowywanych od 1996 r. (Janowice Wielkie).

4. W trakcie realizacji niniejszej pracy nie udało się zidentyfikować struktury kwasów oznaczonych jako NI-1 oraz NI-2, występujących w oleju z nasion świerka pospolitego w ilości odpowiednio około 3,5% oraz 24,7%. Widma absorpcji promieniowania UV z charakterystycznym tripletem z maksimum absorbancji przy 268 nm wskazują, że w NI-2 występuje układ trzech wiązań podwójnych, natomiast w NI-1 przypuszczalnie układ dwóch sprzężonych wiązań podwójnych. Potrzebne są dodatkowe badania, aby ostatecznie wyjaśnić strukturę tych niezidentyfikowanych kwasów tłuszczowych.

5. Olej z nasion świerka pospolitego daje się technicznie stosunkowo łatwo pozyskiwać, np. przez tłoczenie na zimno. Ze względu na wysoką zawartość kwasu linolowego oraz KT o sprzężonym układzie wiązań podwójnych (właściwości schnące) może znaleźć zastosowanie jako składnik kosztownych farb dla artystów – malarzy lub ekologicznych pokostów itp.

6. Ze względu na wysoką zawartość kwasu linolowego i wysokoreaktywnych kwasów tłuszczowych o skoniugowanych wiązaniach najszerze zastosowanie może znaleźć jako składnik tłuszczowy preparatów farmaceutycznych lub kosmetyków. Potrzebne są dodatkowe badania w tym zakresie.

Praca została przyjęta przez Komitet Redakcyjny 28 lipca 1998 r.

CONTENTS OF LIPIDS AND FATTY ACIDS COMPOSITION IN NORWAY SPRUCE (*PICEA ABIES* L. KARST.) SEEDS DURING THE LONG-TERM STORAGE

Summary

The aim of the research was formulated as general recognition of the following problems:

— The relationship between the fat content and the germination capacity of Norway spruce seeds during the long-term storage.

— The dependence between the germination capacity and the fatty acids composition of Norway spruce seeds during long-term storage particularly in relation to the composition of the high-unsaturated fatty acids.

— The influence of germination on the composition of the fatty acids in seeds.

Samples of Norway spruce seeds stored in cooler for 15 (origin of seeds Istebna-Bukowiec) and 20 years (origin of seeds Zwierzyniec Białowieski) as well as "fresh" seeds collected in the 1995 (Janowice Wielkie) were investigated. It was found that fat content in seeds stored for 20 or 15 years was significantly lower (33.5% and 32.5% of seed dry mass, respectively), than in seeds of 6 months storing period (36.6%). Similarly, the germination capacity of seeds of different length of storage was extremely diverse – about 70% for "fresh" and about 30% for seeds of prolonged storing period.

It was also found that fat acid value was higher while germination capacity lower as the seeds were subjected to the extended storing period. For that reason, it is important to store seeds in the dry conditions to prevent fat hydrolysis and decrease of germination capacity.

The significant changes in the composition of fatty acids of the Norway spruce seeds were observed between 7th and 14th day after sowing. For example the content of palmitic acid in the overall composition of fatty acids in seeds raised from 2.7% in the 1st day up to 4.5% in the 14th day after sowing. It was not only due to the biosynthesis of this fatty acid but also probably as a result of slower oxidation rate as compared to unsaturated fatty acids. However the most biologically important fatty acids like linoleic and unidentified NI-2 decrease their content in the fatty acid composition initial 49.9% and 24.32% in the first day down to 46.0% and 21.19% in the 14th day, respectively.

(transl. by P. L.)

PIŚMIENNICTWO

- FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G. H. 1957: A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- JANKOWSKI W., STOŁYHWO A. 1995: Unusual Fatty Acid Composition of Cuticular Lipid from Leaves of *oenothera*. *J. Plant. Physiol.*, 145: 215-220.
- Official Method of Analysis of the AOAC 15th Ed. 1990a: Method No 920.159. ss. 956.
- Official Method of Analysis of the AOAC 15th Ed. 1990b: Method No 969.33 ss. 963.
- Official Method of Analysis of the AOAC 15th Ed. 1990c: Method No 963.22. ss. 964
- STOŁYHWO A., COLIN H., GUIOCHON G. 1983: Use of Light Scattering as a Detector Principle in Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.*, 265: 1-18.
- STOŁYHWO A., COLIN H., MARTIN M., GUIOCHON G. 1984: Study of the Qualitative and Quantitative Properties of the Light Scattering Detector. *J. Chromatogr.*, 288: 253-275.