

УДК: 633.81:582.893:581.19:547.913

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ БОРЩЕВИКОВ *HERACLEUM* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХРОМАТО- РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОГО МЕТОДА

© А.С. Кушакова<sup>1\*</sup>, К.Г. Ткаченко<sup>2</sup>, И.Г. Зенкевич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Университетский пр., 26, Санкт-Петербург, 198504 (Россия) e-mail: saby1@yandex.ru

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.И. Комарова РАН, Санкт-Петербург (Россия)

Хромато-распределительный метод газохроматографического анализа основан на равновесном распределении анализируемых соединений в гетерофазных системах растворителей и определении их коэффициентов распределения для целей идентификации. С использованием двух гетерофазных систем установлен компонентный состав эфирных масел нескольких видов борщевиков.

*Ключевые слова:* борщевики (*Heracleum*), эфирное масло, компонентный состав, хромато-распределительный метод, коэффициент распределения, индексы удерживания, идентификация.

### Введение

Хромато-распределительный метод [1] основан на распределении анализируемых соединений в гетерофазных системах растворителей. Он предусматривает одновременное определение коэффициентов распределения компонентов ( $K_p$ ) характеризуемых образцов и их индексов удерживания (RI). Использование хромато-распределительного метода дает возможность разделить процедуру идентификации на две достаточно независимые стадии: отнесение анализируемого соединения к соответствующему гомологическому ряду (групповая идентификация) и уточнение его структуры (индивидуальная идентификация по индексу удерживания). Для групповой идентификации необходимы параметры, характеризующие классы соединений, причем такие, чтобы их можно было оценить, используя данные для минимального числа гомологов каждого ряда. В соответствии с этой концепцией в работе [2] был предложен дифференциальный параметр  $j$ , значение которого позволяет отнести анализируемое соединение к тому или иному гомологическому ряду:

$$j = a \times \text{RI} - \lg K_p, \quad (1)$$

где  $a$  – коэффициент селективности системы растворителей по отношению к разным гомологическим рядам, пропорциональный разности свободных энергий сольватации гомологической разности ( $\text{CH}_2$ ) в каждой из фаз [2].

Оптимальный вариант использования этого метода, как было показано в работе [3], – его сочетание с хромато-масс-спектрометрическим анализом. При отсутствии в базе данных масс-спектров каких-либо соединений, используя параметр  $j$ , можно сначала отнести их к определенным гомологическим рядам, а потом по индексу удерживания провести индивидуальную идентификацию.

Таким образом, не отрицая важности хромато-масс-спектрометрического анализа, заметим, что хромато-распределительный метод вполне может быть рекомендован для подтверждения правильности идентификации компонентов охарактеризованных эфирных масел. В данной работе с использованием этого метода определен компонентный состав шести образцов эфирных масел различных видов борщевиков *Heracleum*. Актуальность этой задачи объясняется тем, что представители рода *Heracleum* долгое время рассматривались как кормовые растения с большой биомассой.

Большое количество публикаций по составу эфирных масел борщевиков [4–10] позволяет ограничить перечень присутствующих в них веществ только определенными ранее компонентами. В такой ситуации их анализ становится возможным без привлечения данных хромато-масс-спектрометрии.

\* Автор, с которым следует вести переписку.

### Экспериментальная часть

Растительный материал для получения эфирных масел из разных видов рода *Heracleum* был собран из растений, выращиваемых на научно-опытной станции Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН «Отрадное» (Ленинградская область, Приозерский район, пос. Плодовое).

Эфирные масла корней, листьев, цветков получали из свежесобранного, а плодов – из воздушно-сухого сырья стандартным методом гидродистилляции [11]. Вид, орган, фаза вегетации, время сбора и содержание эфирного масла представлены в таблице 1.

Анализ эфирных масел проводили на хроматографе «Цвет 500» с пламенно-ионизационным детектором с использованием кварцевой капиллярной колонки 30 м × 0,32 мм с неподвижной фазой DB-1 (толщина слоя фазы 0,25 мм) в режиме программирования температуры от 60 до 200 °С со скоростью 4 °С/мин. Обработку хроматограмм осуществляли с помощью программного обеспечения MultiChrom 15 с последующей оценкой содержания отдельных компонентов по площадям пиков методом внутренней нормализации.

Для определения  $K_p$  в закрытый флакон объемом 10 мл помещали 0,5–2 мл гексана и 0,5–2 мл полярного компонента (ацетонитрил или 2,2,2-трифторэтанол) и добавляли 50–100 мкл эфирного масла так, чтобы его концентрация в расчете на суммарный объем растворителей не превышала 3%. Все полярные растворители были предварительно высушены над цеолитами NaA. Двухфазные системы растворителей встряхивали в течение 5–10 с и после расслаивания проводили газохроматографический анализ каждого из слоев в соответствии с рекомендациями, приведенными в работе [2].

Определение  $K_p$  осуществляли по результатам анализа равных объемов каждой из фаз системы растворителей. Дозирование проводили шприцем МШ-10, объем проб составлял 5 мкл. Значения  $K_p$  принимали равными отношению площадей пиков каждого компонента в двух слоях:  $K_p = C_1/C_2 \approx S_1/S_2$ .

Линейно-логарифмические индексы удерживания определяли в соответствии с рекомендациями руководства [12]. Расчеты проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и программы QBasic.

Таблица 1. Характеристика образцов *Heracleum*

№	Вид	Орган, фаза вегетации	Время сбора	Выход эфирного масла, %*
1	<i>H. lehmannianum</i>	Листья, конец вегетации	13.09.83	0,2
2	<i>H. lehmannianum</i> Bunge	Листья, конец плодоношения	12.08.83	0,2
3	<i>H. dissectum</i> Ledeb.	Корни, цветение	20.06.83	0,5
4	<i>H. sosnowskyi</i> Manden	Корни, цветение	05.07.83	1,0
5	<i>H. pubescens</i> (Hoffm.) Bieb. syn. <i>H. circassicum</i> Manden	Корни, цветение	01.07.83	0,5
6	<i>H. moellendorffii</i> Hance	Корни, цветение	23.06.83	0,4

\* Навеска сырья составляла 100 г, время выделения эфирного масла – 2 ч

### Обсуждение результатов

Цель настоящей работы состояла в идентификации основных компонентов эфирных масел борщевиков с использованием хромато-распределительного метода. После определения  $K_p$  и RI рассчитывали значения параметра  $j$  (уравнение 1). Для отнесения компонента к соответствующему ряду сравнивали полученные значения параметра  $j$  с данными для разных гомологических рядов [13, 14], затем по индексу удерживания уточняли структуру компонента (индивидуальная идентификация).

В таблице 2 представлены результаты идентификации компонентов эфирных масел борщевиков, в том числе их индексы удерживания, усредненные по данным для всех шести образцов, номер образца, значение параметра  $j$  и содержание компонента в образце (С, % масс.), определенное методом внутренней нормализации. Для сравнения в таблице также приведены значения параметра  $j$  в разных гетерофазных системах, рассчитанные по литературным данным [13, 14] и некоторые значения индексов удерживания базы данных NIST [15] на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых фазах.

При идентификации компонентов эфирных масел борщевика использовали линейно-логарифмические индексы удерживания [12] совместно с коэффициентами распределения в двух гетерофазных системах: гексан/2,2,2-трифторэтанол и гексан/ацетонитрил. Определенные экспериментально индексы удерживания сравнивали со значениями индексов удерживания на фазах SE-30 и DB-1 базы данных NIST [15], а коэффициенты распределения – с данными, полученными в работах [13, 14]. Для образцов 1–3 использовали систему гексан/2,2,2-трифторэтанол [13], обладающую большей селективностью по отношению к разным гомологическим рядам, а для образцов 4–6 – систему гексан/ацетонитрил, наиболее подробно охарактеризованную коэффициентами распределения различных соединений.

Таблица 2. Результаты идентификации компонентов эфирных масел борщевиков

RI	Образец 1		Образец 2		Образец 3		Образец 4		Образец 5		Образец 6		$j$ [13, 14] ± $s_j$	RI (NIST) [15]	Компонент
	$j$	C, %	$j$	C, %	$j$	C, %	$j$	C, %	$j$	C, %	$j$	C, %			
934±3	–	–	0,34	0,5	–	–	0,27	3,0	–	0,3	0,18	4,0	0,19±0,06	939	α-Пинен
944±2	–	–	–	–	–	–	0,42	0,4	–	0,2	0,41	0,8	0,26±0,05	954	Камфен
967±3	–	–	–	1,1	–	–	0,53	1,0	0,60	0,9	–	–	–	968	Вербенен
975±3	1,14	0,5	–	0,8	–	–	0,29	1,7	–	–	–	–	–	975	Сабинен
978±2	–	–	–	–	–	4,6	0,49	0,5	0,41	2,6	0,43	76,1	0,22	979	β-Пинен
1018±4	–	–	0,87	1,5	–	1,9	0,76	47,9	0,69	63,5	0,99	0,5	0,77±0,07	1018	<i>n</i> -Цимол
1026±3	0,87	2,9	0,56	37,3	–	2,9	0,57	13,6	0,48	20,4	0,55	6,5	0,48±0,05	1029	Лимонен
1036±2	0,95	0,8	0,65	2,8	–	2,3	0,59	0,5	–	–	–	–	0,66±0,06	1037	( <i>Z</i> )-Оцимен
1054±2	1,24	0,2	1,24	5,3	1,50	13,7	0,49	8,2	0,41	7,1	–	0,3	0,49±0,05	1060	γ-Терпинен
1083±2	–	–	0,79	0,6	–	0,8	–	16,9	–	0,3	0,61	0,5	0,52±0,05	1089	Терпинолен
1170±3	1,73	0,8	1,64	2,3	1,71	5,3	–	–	–	–	–	10,2	2,2±0,1*	1178	Гексил- бутират
1187±2	–	–	1,66	1,5	–	1,3	–	–	–	–	–	–	2,2±0,1*	1190	Октилацетат
1225±7	2,12	2,3	1,73	5,2	–	2,9	–	–	–	–	–	–	2,2±0,1*	1225	Гексил-2- метил- бутират
1267±2	2,25	88,3	1,84	34,7	2,11	57,3	1,53	0,3	–	–	–	0,4	2,2±0,1*	1272	Пентил- гексаноат
1325±4	–	–	1,55	0,2	–	0,9	–	–	–	–	–	0,2	2,2±0,1*	1335	Октил- изобутират
1362±3	–	–	1,51	0,6	1,85	2,6	–	–	–	–	–	0,4	2,2±0,1*	1374	Октил- бутират
1409±2	–	–	1,73	0,4	–	–	–	–	–	–	–	–	2,2±0,1*	1425	Октил- изовалерат
1594±3	–	–	1,78	0,6	2,85	1,7	–	–	–	–	–	–	2,2±0,1*	1575	Октил- капронат
Σ, %		95,7		95,6		98,0		93,8		95,2		99,8			

Примечание: \* значение параметра  $j$  в системе гексан/2,2,2-трифторэтанол; анализ образцов 1–3 проводили в системе гексан/ацетонитрил; 4–6 – в системе гексан/2,2,2-трифторэтанол; символ Σ соответствует суммарному содержанию идентифицированных компонентов.

Как было отмечено выше, значительное количество публикаций по составу эфирных масел различных видов борщевиков [4–10] позволяет предполагать присутствие в них ограниченного круга веществ, включающего в основном монотерпены, сесквитерпены и сложные эфиры (алкилалканоаты).

Надежность идентификации компонентов сложных смесей рассматриваемым методом зависит от их относительного содержания в образцах. Поскольку концентрации образцов в гетерофазных системах не могут превышать приблизительно 3% [2], то для компонентов, содержание которых в эфирных маслах менее 0,5%, погрешности определения коэффициентов распределения значительно возрастают. С этим связаны наблюдаемые вариации значений  $K_r$  и  $j$ , представленные в таблице 2.

Целесообразно рассмотреть порядок идентификации отдельных компонентов в порядке увеличения их индексов. Соединения с индексами удерживания от 900 до 1100 лучше охарактеризованы значениями  $K_r$  в системе гексан/ацетонитрил. Значения параметра  $j$  в этой системе в диапазоне 0,27–0,49 типичны для монотерпеновых углеводородов  $C_{10}H_{16}$ . Конечно же, монотерпены не относятся к одному и тому же гомологическому ряду, но одинаковое значение формальной неопределенности ( $FN = 3$ ) объясняет незначительные вариации параметра  $j$  этой группы веществ. Увеличение  $j$  до 0,53–0,60 указывает на углеводороды состава  $C_{10}H_{14}$  ( $FN = 4$ , вербенен), а  $j = 0,76$  – на ароматический углеводород ( $FN = 4$ , *n*-цимол).

В состав эфирных масел борщевиков, как было установлено в работе [7] входят алкилалканоаты; значение параметра  $j$  алкилацетатов в системе гексан/2,2,2-трифторэтанол составляет 2,2±0,1 [13], а в системе гексан/ацетонитрил – 1,02±0,12 [2]. В соответствующую область хроматограммы попадает большое число компонентов эфирных масел. Перекрытие хроматографических пиков разных компонентов объясняет закономерные вариации значений  $K_r$  и, следовательно, параметров  $j$ . Идентификацию сложных эфиров проводили с использованием индексов удерживания, приведенных в работе [7]. Образец №1 был дополнительно охарактеризован в системе гексан/ацетонитрил; например, значение  $j = 1,01$  для компонента с индексом удерживания 1268 позволяет однозначно отнести его к сложным эфирам.

Таким образом, хромато-распределительный метод действительно позволяет проводить идентификацию основных компонентов эфирных масел без привлечения масс-спектрометрических данных.

Дополнительно комментируя полученные результаты, можно заметить, что у всех видов *Heracleum* к концу периода вегетации в составе эфирных масел значительно повышается содержание сложных эфиров и уменьшается содержание монотерпенов. В образце №1, соответствующем самому позднему времени сбора, содержание пентилгексаноата, как представлено в таблице 2, достигает 88%.

В завершение обсуждения возможностей хромато-распределительного метода целесообразно отметить еще один немаловажный аспект этого способа идентификации. Безусловно, использование современных хромато-масс-спектрометров и алгоритмов компьютерной идентификации характеризуется многочисленными достоинствами, но в то же время не лишено и существенного недостатка. Представление результатов в виде списков идентифицированных соединений не всегда предполагает доступность информации о свойствах компонентов анализируемых образцов и даже об их структурах. Достаточно часто злоупотребление таким формальным способом идентификации приводит к появлению трудноустраняемых ошибок в результатах. Применение же хромато-распределительного метода, особенно в варианте предварительного отнесения к гомологическим рядам, принципиально не может быть реализовано без использования полной структурной и хроматографической информации о характеризующих соединениях. Это, конечно же, определяет его большую трудоемкость и, возможно, меньшую популярность. Однако дидактическая ценность такого подхода при подготовке специалистов в областях как хромато-масс-спектрометрического анализа, так и фитохимии, представляется несомненной.

### Выводы

На примере эфирных масел шести видов борщевиков показано, что хромато-распределительный метод даже без привлечения хромато-масс-спектрометрического анализа достаточно эффективен для идентификации входящих в их состав компонентов. Информативность рассматриваемого метода зависит от количества соединений или гомологических рядов, охарактеризованных коэффициентами распределения или параметрами  $j$ , в той или иной гетерофазной системе растворителей.

### Список литературы

1. Березкин В.Г., Ложилова В.Д., Панков А.Г., Ягодковский В.Д. Хромато-распределительный метод. М., 1976. 112 с.
2. Зенкевич И.Г., Васильев А.В. Сравнительная оценка информативности дополнительных данных при газохроматографической идентификации. Новые возможности использования коэффициентов распределения в системе гексан/ацетонитрил // Журнал аналитической химии. 1993. Т. 48, №3. С. 473–486.
3. Isidorov V.A., Zenkevich I.G., Krajewska U., Dubis E.N., Jaroszynska J. Gas chromatographic analysis of essential oils with preliminary partition of components // Phytochem. Anal. 1999. V. 12. Pp. 87–90.
4. Evergetis E., Michaelakis A., Kioulos E., Koliopoulos G., Haroutounian S.A. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from six Apiaceae family taxa against the West Nile virus vector *Culex pipiens* // Parasitol. Res. 2009. V. 105, N1. Pp. 117–124.
5. Ibadulaeva S.D. Essential oil of *Heracleum antasiaticum* // Chem. Nat. Comp. 2000. V. 36. Pp. 218–225.
6. Papageorgiou V.P., Ochir G., Motl O., Argyriadou N., Dunkel H. Composition of the Essential Oil from *Heracleum dissectum* // J. Nat. Prod. 1985. V. 48. Pp. 851–853.
7. Ткаченко К.Г., Зенкевич И.Г. Состав эфирных масел из плодов некоторых видов *Heracleum L.* // Растительные ресурсы. 1987. Вып. 1. С. 87–92.
8. Ткаченко К.Г., Зенкевич И.Г. Состав эфирных масел из листьев и корней *Heracleum Lehmannianum* Bunge и *H. Ponticum* (Lipsky) Schischk., интродуцированных в Ленинградскую область // Растительные ресурсы. 1987. Вып. 2. С. 225–228.
9. Сацыперова И.Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения. Л., 1984. 223 с.
10. Ткаченко К.Г. Динамика биомассы и содержание в ней эфирного масла у некоторых видов р. *Heracleum L.*, выращенных в Ленинградской области // Растительные ресурсы. 1985. Т. 21, вып. 4. С. 429–439.
11. Государственная фармакопея СССР. XI изд. М., 1987. Т. 1. С. 290–295.
12. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г., Карцова Л.А., Зенкевич И.Г., Калмановский В.И., Каламбет Ю.А. Практическая газовая и жидкостная хроматография. СПб., 2002. 360 с.
13. Kushakova A.S., Zenkevich I.G. Application of partition coefficients in the system hexane – 2,2,2-trifluoroethanol in chromatographic identification // Main tendency of developing of chemistry in the beginning of XXI<sup>th</sup> century: abstr. international conf. SPb., 2009. 123 p.
14. Ahmed H., Poole C.F. Model for the distribution of neutral organic compounds between *n*-hexane and acetonitrile // J. Chromatogr. A. 2006. V. 1104. Pp. 82–90.
15. NIST Chemistry WebBook [Электронный ресурс] // URL: <http://webbook.nist.gov> (октябрь 2009 г.).

Поступило в редакцию 4 декабря 2009 г.

После переработки 28 ноября 2010 г.