

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

В.Н. Леонтьев¹, А.Г. Шутова², Н.А. Коваленко¹, Г.Н. Супиченко¹, Е.В. Спиридович²

УО «Белорусский государственный технологический университет»,

Центральный Ботанический сад НАН Беларуси,

г. Минск, Республика Беларусь

Ухудшение состояния окружающей среды приводит к возникновению заболеваний, связанных с экологическими нарушениями, появлению новых болезней и штаммов возбудителей различных инфекционных заболеваний. Поэтому в последние годы разрабатываются эффективные и экологически безопасные средства растительного происхождения, обладающие лечебным и лечебно-профилактическим действием. Для создания лекарственных препаратов на основе растительного сырья со стандартным содержанием действующих веществ и предсказуемым лечебным эффектом необходимо изучить связь между химическим составом и биологической активностью. Широким спектром биологической активности—антимикробной, антивирусной, антифунгальной—обладают эфирные масла лекарственных растений [1]. Качественный и количественный состав эфирных масел зависит от многих факторов, таких как различие в хемотипах и условиях произрастания лекарственных растений, технологии производства и хранения и т.п. В этой связи необходимость разработки быстрых и эффективных методик определения качественного и количественного состава эфирных масел как в растительном сырье, так и в фитопрепаратах на его основе является актуальной задачей.

Целью настоящей работы явилась разработка методики идентификации эфирного масла мяты *Mentha piperita L.*, выращенной в условиях Республики Беларусь, с помощью метода ГЖХ. В рамках поставленной цели предполагалось решить следующие задачи:

- оптимизировать условия проведения хроматографического определения;
- выбрать реперные компоненты эфирного масла для их идентификации;
- определить аналитические параметры реперных компонентов.

Растения *Mentha piperita L.* были выращены на интродукционном участке Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Все растения находились в средневозрастном генеративном состоянии онтогенеза (3–5 годы жизни). Образцы надземной части в фазе цветения были собраны в 2005 г. Эфирные масла получали методом перегонки с водяным паром.

ГЖХ–анализ образцов эфирных масел выполнен на хроматографе «Цвет–800» с пламенно-ионизационным детектором с использованием стеклянной капиллярной колонки длиной 80 м (SSE-67) при линейном градиенте температуры от 50 до 220°C со

скоростью 3°/мин в токе газа-носителя азота. Временем удерживания несорбирующегося газа считали время выхода пика метана. В качестве реперных компонентов для расчета обобщенных индексов удерживания (GI) использовали n-алканы C₇–C₁₆, индексы удерживания которых принимали равными 100·n (индексы Ковача).

На основании экспериментальных данных хроматографирования n-алканов получена линейная зависимость времен удерживания от индексов Ковача, представленная на рис. 1.

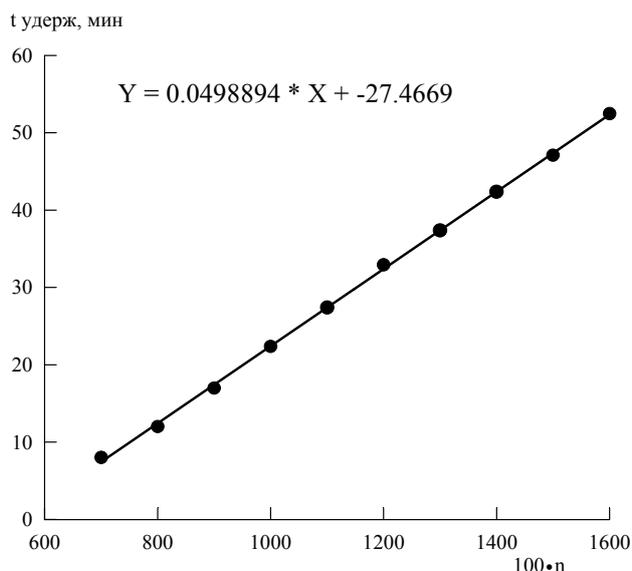


Рисунок 1 - Зависимость времен удерживания n-алканов от индексов Ковача

В условиях линейного градиента температуры расчет GI основных компонентов эфирных масел проводили по формуле [5]:

$$GI=100 \left\{ \frac{[t'_{R(x)} + q \lg t'_{R(x)}] - [t'_{R(n)} + q \lg t'_{R(n)}]}{[t'_{R(n+1)} + q \lg t'_{R(n+1)}] - [t'_{R(n)} + q \lg t'_{R(n)}]} + n \right\},$$

где $t'_{R(x)}$, $t'_{R(n)}$, $t'_{R(n+1)}$ – приведенные времена удерживания анализируемого компонента, n-алкана (C_nH_{2n+2}) и следующего n-алкана (C_{n+1}H_{2n+4}) соответственно, причем $t'_{R(n)} < t'_{R(x)} < t'_{R(n+1)}$.

Значение q определяли с использованием приведенных времен удерживания трех последовательно выходящих n-алканов по формуле:

$$q = \frac{t'_{R(n)} + t'_{R(n+2)} - 2t'_{R(n+1)}}{\lg(t'^2_{R(n+1)} / t'_{R(n)} \cdot t'_{R(n+2)})}$$

Идентификацию основных компонентов эфирного масла проводили сравнением рассчитанных значений GI с литературными данными [2, 3, 6].

На рис. 2 приведена типичная хроматограмма эфирного масла *Mentha piperita L.*

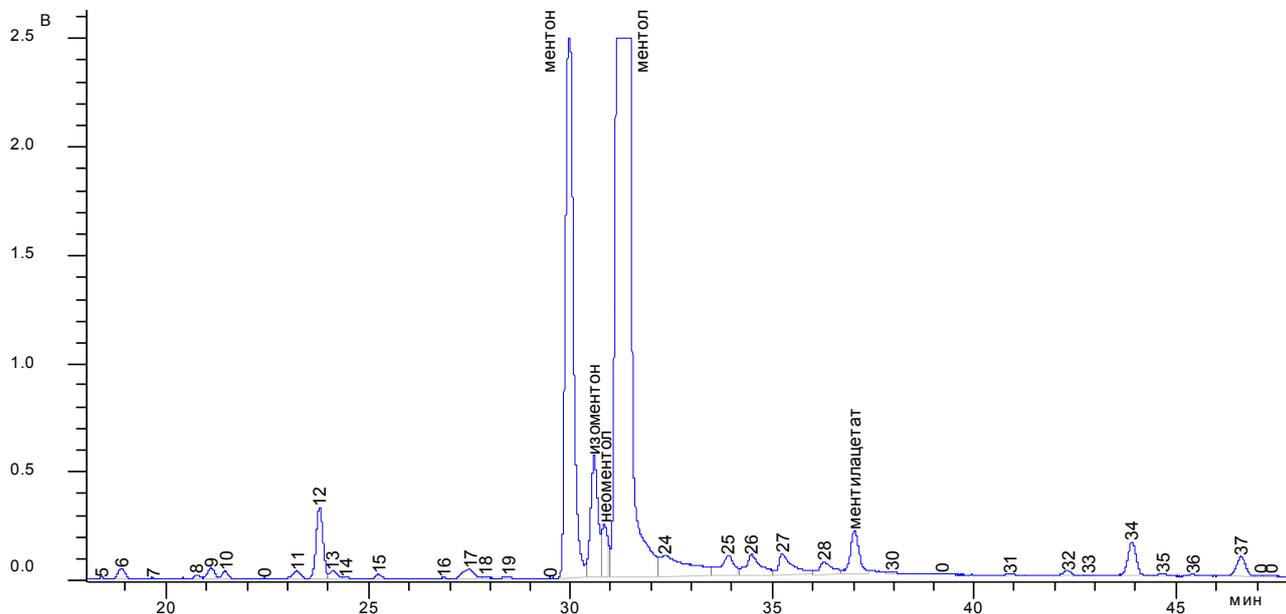


Рисунок 2 - Хроматограмма эфирного масла *Mentha piperita L.*

Для идентификации основных компонентов эфирного масла *Mentha piperita L.* использовали обобщенные индексы удерживания, применение которых позволило идентифицировать более 30 основных компонентов эфирного масла. Результаты экспериментальных определений GI основных компонентов, а также литературные данные представлены в табл.1.

Таблица 1. Компонентный состав эфирного масла *Mentha piperita L.*

Соединение	Экспериментальное значение GI	Литературное значение GI
α -туйен	927,7	924 \pm 7
α -пинен	936,6	930 \pm 5
камфен	950,6	946 \pm 5
сабинен	971	975
β -пинен	977,6	969 \pm 4
мирцен	984,2	983 \pm 3
фелландрен	1003	996 \pm 4
1,8-цинеол	1018,4	1017
лимонен	1029,3	1030
цис- β -оцимен	1036,7	1036

транс- β -оцимен	1041,8	1042
транс-сабиненгидрат	1058,2	1060
цис-сабиненгидрат	1091,6	1095
не идент.	1099,5	
не идент.	1111,6	
не идент.	1118,9	
β -терпинеол	1137,3	1131 \pm 13
ментон	1145,9	1143
изоментон	1157,7	1156
неоментол	1162,2	1159
ментол	1167,9	1165 \pm 7
изоментол	1190,6	1184
карвон	1221,8	1223
пулегон	1233,7	1219 \pm 7
пиперитон	1252,4	1252
изоментилацетат	1275,2	1275
ментилацетат	1292	1281 \pm 8
δ -элемен	1334,5	1335 \pm 4
α -кубебен	1370,1	1365 \pm 13
β -элемен	1397,9	1394 \pm 12
β -кариофиллен	1410,4	1417 \pm 6
кариофиллен в	1431,6	1436
аромадендрен	1446,9	1447 \pm 6
гермакрен D	1465	1468
α -элемен	1488,7	1486 \pm 3
γ -кадинен	1499,5	1510 \pm 13
δ -кадинен	1524,6	1515 \pm 7
не идент.	1604,1	

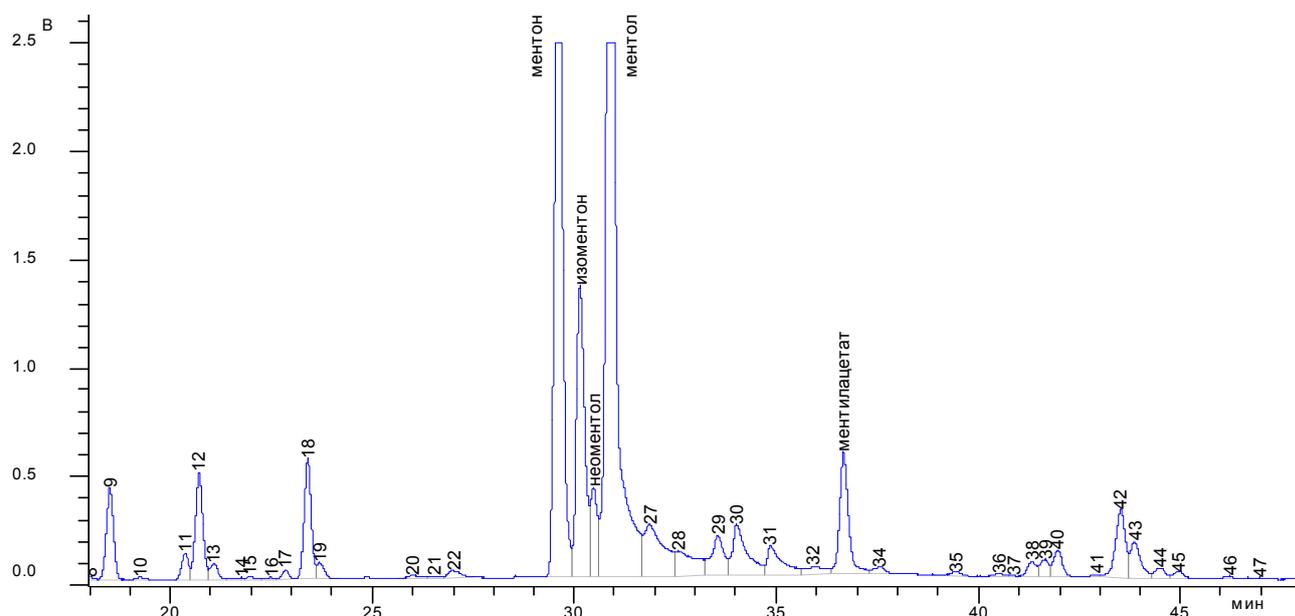
Из представленных данных видно, что главным компонентом эфирного масла *Mentha piperita*.L. является ментол. Для повышения надежности идентификации ментола использовали стандартный образец этого соединения. Исследования провели в 2-х вариантах. В первом случае к проанализированному образцу эфирного масла добавили стандартный образец ментола. Увеличение площади пика, отнесенного к ментолу, подтвердило наше предположение. В другом варианте была снята хроматограмма раствора ментола, приготовленного из стандартного образца, в тех же условиях, что и

анализируемое эфирное масло. Расчет обобщенного индекса удерживания ментола в стандартном образце подтвердил отнесение пика с $GI=1167,9$ в эфирном масле к ментолу.

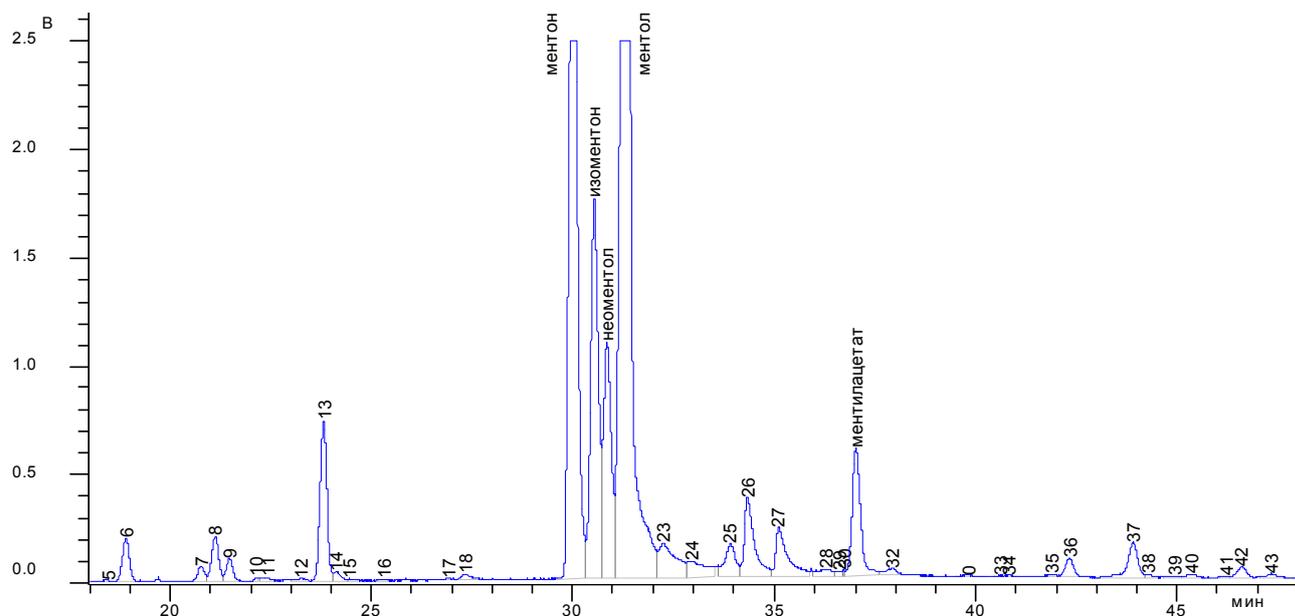
По литературным данным [4], эффективным способом идентификации эфирных масел, установления их подлинности и контроля качества является прием сравнения их хроматографических профилей (метод «fingerprints»). Сравнение хроматографических профилей представляет собой метод идентификации не индивидуальных веществ, входящих в состав эфирного масла и зачастую оказывающих взаимное мешающее влияние, а образцов эфирных масел в целом. Кроме того, при совпадении аналитических параметров отдельных компонентов подтверждение их присутствия в пробе с использованием стандартных образцов не является обязательной процедурой. Использование приема сравнения хроматографических профилей предполагает выявление характеристического сочетания нескольких пиков, одновременное присутствие и соотношение интенсивностей которых свидетельствует о наличии в исследуемом образце того или иного эфирного масла.

Описанный подход был применен к образцам эфирного масла *Mentha piperita.L.* На основании анализа полученных экспериментальных данных, а также изучения эволюционно-филогенетических отношений монотерпеноидов рода мята в эфирном масле *Mentha piperita.L.* к таким характеристическим сочетаниям были отнесены хроматографические пики ментона, ментола, изоментона, неоментола, ментилацетата. Одновременное присутствие на хроматограмме пиков этих веществ, а также определенное соотношение интенсивностей пиков позволяет провести идентификацию эфирного масла *Mentha piperita.L.*

По предлагаемой методике была проведена идентификация двух образцов эфирного масла *Mentha piperita L.*, поступивших в аптечную сеть г. Минска. Хроматограммы исследованных образцов приведены на рис. 3. Сравнение хроматографических профилей коммерческих образцов и образца из Центрального ботанического сада НАН Б свидетельствует об идентичности их компонентного состава. На всех хроматограммах присутствуют интенсивные пики ментола и ментона, а также пики изоментона, неоментола и ментилацетата. Сочетание перечисленных пиков, а также соотношение их интенсивностей позволяют отнести исследуемые коммерческие образцы к эфирному маслу *Mentha piperita L.*



Образец 1



Образец 2

Рисунок 3 - Хроматограммы коммерческих образцов эфирного масла *Mentha piperita.L.*

Полученные результаты могут быть использованы для создания хроматографической базы данных с целью идентификации, стандартизации и установления подлинности эфирных масел и фитопрепаратов на их основе.

Литература

1. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применение. – М.: Школа Косметических Химиков, 2005. С.–85 – 112.

2. Зенкевич И.Г. Аналитические параметры компонентов эфирных масел для хроматографической и хромато-масс-спектрометрической идентификации. Моно- и сесквитерпеновые углеводороды // Растит. ресурсы – 1996. – Т.32, вып.1 – 2. – С.48 – 58.
3. Зенкевич И.Г. Аналитические параметры компонентов эфирных масел для газохроматографической и хромато-масс-спектрометрической идентификации. Ацетаты терпеновых спиртов // Растит. ресурсы – 1999. – Т.35, вып.1. – С.30 – 36.
4. Зенкевич И.Г., Пименов А.И., Пожарицкая О.Н. и др. Сравнение хроматографических профилей как метод идентификации компонентов лекарственного растительного сырья в комплексных препаратах // Растит. ресурсы – 2003. – Т.39, вып.3. – С.143 – 152.
5. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг Ф.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии: Учебное пособие для вузов. – Л.:Химия, 1988. – С.163 – 172.
6. Davies N.V. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases // Journal of Chromatography – 1990. – V.503. – P.1 – 24.