

среду с добавлением дизельного топлива в конце логарифмической фазы роста показало, что удельные активности исследуемых ферментов невысоки, а добавление дизельного топлива привело к угнетению активности катехол-1,2-диоксигеназы.

Было показано, что в стационарной фазе роста не наблюдалось активности ключевых ферментов биodeградации нафталина, в то время как в логарифмической фазе роста активности ферментов сохранялись примерно на одном уровне, за исключением катехол-1,2-диоксигеназы. Стабильность признаков утилизации нафталина, салицилата и дизельного топлива после ферментации сохранялось, что свидетельствует о наличии плазмиды в клетках. Таким образом, дизельное топливо не является индуктором синтеза ферментов деградации нафталина, напротив, даже угнетает их активность.

Вывод. Оценка удельных активностей ключевых ферментов биodeградации нафталина штамма *P. sp. 124NF (pNF142)* показала, что их величины зависят от состава питательной среды, условий культивирования, фазы роста клеток, наличия в среде индуктора синтеза ферментов биodeградации нафталина.

Работа была выполнена при поддержке гос. контракта Тема РНП 2.1.1.7789 и РФФИ 08-04-99019-р_офи.

Список литературы

1. Dua R.D., Meera S. Purification and characterisation of naphthalene oxygenase from *Corynebacterium renale* // Eur. J. Biochem. 1981. V. 120. № 3. P. 461-465.
2. Kiyohara, H and Nagao, K. 1978. The Catabolism of Phenantrene and Naphthalene by Bacteria . J. Gen. Microbiol.. V.105. P.69-75
3. Murray K., Williams P.A. Role of Catechol and the Methylcatechols as Inducers of Aromatic Metabolism in *Pseudomonas putida* // J. Bacteriol. 1974 117(3): 1153–1157.
4. Ornston, L.N. 1966. The conversion of catechol and protocatechuate to beta-ketoadipate by *Pseudomonas putida*. Enzymes of catechol pathway. J. Biol. Chem. 166: 9-14.
5. Nakazawa T, Yokota T. Related Articles. Links Benzoate metabolism in *Pseudomonas putida*(arvilla) mt-2: demonstration of two benzoate pathways. J Bacteriol. 1973 Jul;115(1):262-7.
6. Bredford M. M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Ann. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
7. Evans, C.G.T., Herbert, D., Tempest, D.B. 1970. The continuous cultivation of microorganisms. 2. Construction of a Chemostat. Methods in Microbiology. 2: 277-327.

ОПТИЧЕСКИЕ ИЗОМЕРЫ ЛИМОНЕНА В ЭФИРНОМ МАСЛЕ *AGASTACHE RUGOSA L*

Коваленко Н.А., Супиченко Г.Н., Лайковская И.В., Леонтьев В.Н.

*Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь,
e-mail: chembstu@rambler.ru*

Многие терпеноиды, входящие в состав эфирных масел, являются оптически активными и присутствуют в маслах в виде оптических изомеров. Они обладают различными органолептическими свойствами и биологической активностью. В то же время соединения, полученные синтетическим путем, чаще всего являются смесью изомеров и не проявляют оптической активности. Биологическая активность таких соединений резко отличается, а использование последних может привести к непредсказуемым и опасным результатам воздействия на человека. Для каждого эфирного масла характерно определенное уникальное сочетание оптических изомеров, поэтому использование данных об энантиомерном составе может быть перспективным методом контроля качества эфирных масел и установления их фальсификации, путем добавления дешевых синтетических веществ [1].

Цель настоящего исследования – ГЖХ-идентификация и определение энантиомеров лимонена в эфирном масле многоколосника морщинистого *Agastache rugosa L.* из коллекции пряно-ароматических и лекарственных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

В рамках поставленной цели предполагалось решить следующие задачи:

- ✓ оптимизировать условия проведения ГЖХ-анализа оптических изомеров лимонена;

- ✓ провести идентификацию и определение оптических изомеров лимонена в эфирном масле *Agastache rugosa* L.;
- ✓ разработать способ препаративного выделения оптически активных лимоненов из эфирного масла многоколосника морщинистого.

Растения многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* 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.

Угол вращения плоскости поляризации измеряли на поляриметре Polamat A при 20 °C и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм).

Разделение энантиомеров эфирного масла выполняли на хроматографе «Hewlett Packard» 4890D, оснащённом пламенно-ионизационным детектором и оборудованном капиллярной колонкой Cyclosil B длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм и неподвижной фазой β-циклодекстрин (0,25 мкм), в термопрограммированном режиме. Идентификацию энантиомеров проводили сравнением времен удерживания компонентов с временами удерживания стандартных образцов. Содержание энантиомеров рассчитывали по площадям газохроматографических пиков без использования корректирующих коэффициентов.

Для фракционирования использовали колонку диаметром 1 см, высотой слоя силикагеля 25 см. В колонку вводили раствор эфирного масла в гексане. Затем элюировали гексаном фракции объёмом 5,0 мл каждая в градуированные пробирки. Элюирование вели со скоростью 0,8 мл/мин. Дальнейшее элюирование проводили изопропанольно-гексановыми растворами различной концентрации.

Путем сравнения времен удерживания стандартных веществ и компонентов эфирного масла *Agastache rugosa* L. в исследованном образце были идентифицированы энантиомеры R- и S-лимонена. Установлено, что интенсивность аналитического сигнала лимонена в R-форме существенно превышает интенсивность хроматографического пика S-изомера. На долю правовращающей формы приходится ~ 97 мас. % лимонена.

Полученные хроматографические данные находятся в согласии с данными по вращению угла плоскости поляризации эфирного масла многоколосника (значение угла вращения плоскости поляризации эфирного масла *Agastache rugosa* L. равно + 0,0608). Доминирующее содержание правовращающих изомеров обуславливает положительное результирующее вращение эфирного масла многоколосника морщинистого.

В связи с полученными результатами по доминированию правовращающих форм нами была предпринята попытка препаративного выделения R-лимонена из эфирного масла многоколосника. Для фракционирования эфирного масла, содержащего ~ 17 мас.% лимонена в обеих энантиомерных формах [2], использовали различную способность его компонентов адсорбироваться на силикагеле. Показано, что основная часть R-лимонена (67,6 мас.%) элюируется в 4 – 7 фракциях. Главные компоненты эфирного масла *Agastache rugosa* L. – ментон, изоментон и метилхавикол – элюируются позже. Концентрирование гексанового раствора, содержащего R-лимонен, позволило получить ~ 3 мас. %-й раствор с содержанием целевого продукта ~ 78 мас. % относительно остальных компонентов эфирного масла *Agastache rugosa* L.

Полученные экспериментальные данные о доминировании правовращающих изомеров лимонена являются характерной особенностью эфирного масла многоколосника морщинистого и могут служить критерием качества и натуральности как самих образцов эфирного масла *Agastache rugosa* L., так и фитопрепаратов на его основе.

Список литературы

1. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, анализ и применение. – М.: Школа косметических химиков, 2005. – 192 с.
2. Коваленко Н.А., Супиченко Г.Н., Шутова А.Г., Леонтьев В.Н. Компонентный состав эфирного масла *Agastache rugosa*, произрастающей в Республике Беларусь // Хроматографические методы анализа органических соединений: Тез.докл. Междунар. конф., Киев, 4-7 сентября 2007 г. – Киев, 2007. – С.33.