

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ ФИТОНЦИДОВ ЛЕСНОГО ВОЗДУХА ХВОЙНЫХ В ЖИДКИЕ СРЕДЫ

Е. А. Ефремов, Р. А. Назиров, А. А. Ефремов

Сибирский федеральный университет

Поступила в редакцию 25.09.2013 г.

Аннотация. Исследован процесс концентрирования летучих фитонцидов древесной зелени хвойных из потока газа-носителя в жидкие среды: этанол, гексан, толуол, ацетон. Определена сорбционная способность исследуемых сред по отношению к пинену, камфену, сантену, 3-карену и лимонену. С использованием метода концентрирования лесного воздуха в этанол и метода хромато-масс-спектрометрии в SIM-режиме определена реальная концентрация летучих фитонцидов в лесном воздухе сосны сибирской и сосны обыкновенной.

Ключевые слова: летучие фитонциды, процесс концентрирования, анализ, хромато-масс-спектрометрия в SIM-режиме.

Abstract. The process of concentration of volatile phytoncids of woody vegetation from coniferous flow of carrier gas in a liquid environment: ethanol, hexane, toluene, acetone. Determined sorption capacity studied media with respect to pinene, camphene, santene, 3-karen and limonene. Using the method of concentration forest air in ethanol and the method of gas chromatography-mass spectrometry in the SIM-mode to determine the real concentration of volatile phytoncids in the forest air of Siberian pine and scotch pine.

Keywords: volatile phytoncids of woody, process of concentration, GC/MS-analysis in SIM-mode.

Ароматические растения и эфирные масла использовались на протяжении тысячелетий в медицине, косметике и парфюмерии. Практически во всех ранних культурах ароматические масла составляли неотъемлемую часть традиционных ритуалов, в которых религиозная и терапевтическая цели часто были нераздельны. В настоящее время в тибетских монастырях подбрасывают в ритуальный огонь веточки можжевельника, а в европейских храмах продолжают курить ладан [1,2].

Если говорить об эфирных маслах как о лечебно-профилактических средствах, то в настоящее время принято считать, что их терапевтические свойства еще не до конца изучены. Однако в литературе и практической медицине накоплен огромный опыт применения отдельных эфирных масел в качестве ингалирующих средств, противогрибковых средств, многие масла способны снижать артериальное давление, эффективны они при лечении отеков, ревматизмов, при воспалениях, кожных заболеваниях и других [1-4].

Летучие компоненты эфирных масел, так называемые летучие фитонциды, вырабатываемые растениями в процессе своей жизнедеятельности,

обладают бактерицидными и антиоксидантными свойствами [5-8], в силу чего используются для создания комфортной среды обитания человека. Особенно это актуально, по всей вероятности, в период эпидемий и массовых заболеваний, которые обусловлены присутствием болезнетворных микробов и бактерий.

Анализ имеющихся литературных данных показывает, что содержание летучих фитонцидов в лесу может значительно колебаться в зависимости от видов древесных растений, продуцирующих эфирные масла, и может достигать несколько мг/м³ [4, 9]. Очевидно, что в лесу преобладают наиболее летучие компоненты эфирных масел, однако концентрации каждого неизвестны. Определенный интерес представляют данные по содержанию отдельных компонентов летучих фитонцидов в лесах Сибири и возможность создания аналогичной среды обитания для людей в городских условиях. В этой связи встает закономерный вопрос о том, каким образом можно сконцентрировать все летучие фитонциды лесного воздуха для количественного определения отдельных компонентов каким-то современным физико-химическим способом.

В данной работе приводятся экспериментальные данные по концентрированию летучих фитонцидов лесного воздуха хвойных в жидкие среды: этанол, гексан, толуол, ацетон, и результаты по количественному определению индивидуальных летучих фитонцидов в лесном воздухе сосны обыкновенной и сосны сибирской.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для проведения экспериментальной работы была сконструирована микроклиматическая камера объемом 1.0 литр, в которую помещалась определенная навеска древесной зелени согласно [10-11] пихты сибирской, сосны сибирской или сосны обыкновенной, летучие фитонциды выдували потоком азота и концентрировали в склянке Дрекслея с жидкой средой. Предварительными экспериментами было установлено, что летучие фитонциды количественно концентрируются в 50 мл жидкой среды, а оптимальная скорость продувки азота составляет 40-60 мл/мин. Полученный концентрат фитонцидов в жидкости анализировали на содержание индивидуальных компонентов с использованием хромато-масс-спектрометрии.

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили на хроматографе Agilent Technologies 7890 А с квадрупольным масс-спектрометром MSD 5975 С в качестве детектора с использованием 30 метровой кварцевой колонки HP-5 (сополимер 5%-дифенил – 95%-диметилсилоксан) с внутренним диаметром 0.25 мм. Температура испарителя 280 °С, температура источника ионов 173 °С, газ-носитель – гелий – 1 мл/мин. Температура колонки: 50°С (2 мин), программируемый нагрев от 50 до 270°С (со скоростью 4°С в мин), изотермический режим при 270°С в течение 10 мин. В испаритель хроматографа вводили 1 мкл концентрата фитонцидов в соответствующих жидких средах. Анализ проводили в SIM-режиме [12].

Содержание компонентов оценивали по площадям пиков, а идентификацию отдельных компонентов производили на основе сравнения времен удерживания определяемых компонентов и отдельных компонентов эфирных масел сосны сибирской и сосны обыкновенной, определенные в аналогичных условиях.

Для количественного определения индивидуальных фитонцидов необходима калибровка детектора масс-спектрометра. В качестве стандарта был использован химически чистый альфа-пинен производства фирмы Sigma. Стандартные смеси, применяемые для калибровки, готовили растворе-

нием определенной навески альфа-пинена в определенном объеме этанола. Таким образом, были приготовлены смеси с содержанием альфа-пинена: 10 мкг/мл; 5 мкг/мл; 1 мкг/мл; 0,5 мкг/мл; 0,05 мкг/мл; 0,005 мкг/мл; 0,001 мкг/мл. Калибровочный график по всем ионам альфа-пинена приведен на рис. 1.

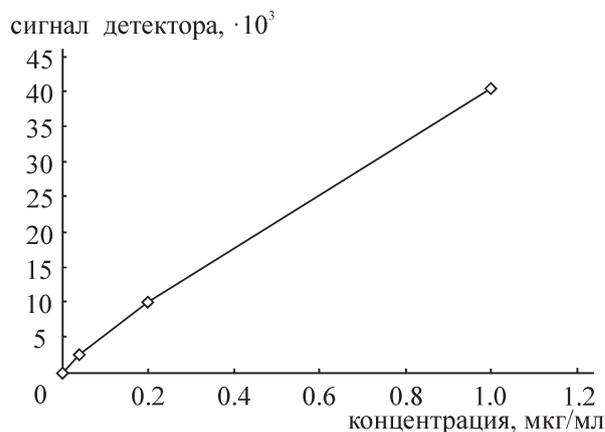


Рис. 1. Зависимость сигнала детектора масс-спектрометра (площади пика) от концентрации альфа-пинена (мкг/мл этанола)

Из приведенной зависимости видно, что минимальная концентрация индивидуального терпеноида, которую можно определять с использованием данного метода составляет 0,002 мкг/мл.

100 грамм древесной зелени хвойных помещали в герметичную климатическую камеру, соединяли ее с двумя склянками Дрекслея, которые содержали 50.0 мл жидкой фазы (гексан, толуол, этанол, ацетон) и продували климатическую камеру потоком газа-носителя азота со скоростью 50 мл/мин. Терпеновые углеводороды концентрировались в первой склянке Дрекслея, а количество терпеноидов, проскочивших через первую склянку Дрекслея, задерживалось во второй склянке Дрекслея. Таким образом определялась эффективность концентрирования терпеноидов различными жидкими средами.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Летучие примеси из воздуха можно концентрировать с использованием твердых сорбентов и жидких сред. В качестве твердых сорбентов обычно используют диоксид кремния (силикагель SiO₂), оксид алюминия (Al₂O₃), активированный уголь и некоторые другие. В качестве жидких сред можно использовать любые жидкости, однако к ним предъявляются следующие требования:

- жидкие среды не должны химически взаимо-

действовать с фитонцидами;

- жидкие среды должны хорошо растворять фитонциды;

- жидкие среды не должны испаряться в процессе продувания через них необходимого объема воздуха;

- жидкие среды должны быть сами легколетучими соединениями.

Таким условиям вполне удовлетворяют следующие вещества: гексан, этанол, толуол, ацетон, которые были использованы в данной работе. Все они хорошо растворяют терпеноиды – летучие фитонциды, а также являются сами легколетучими в условиях хромато-масс-спектрометрии.

При исследовании процесса концентрирования летучих фитонцидов древесной зелени пихты сибирской, сосны сибирской и сосны обыкновенной с использованием климатической камеры и перечисленных выше жидких сред, установлено, что наилучшими сорбирующими свойствами обладают гексан и этанол (табл.1), которые практически нацело сорбируют все легколетучие фитонциды древесной зелени: пинены, камфен, сабинен, 3-карен и лимонен. Тoluол заметно хуже сорбирует ука-

занные фитонциды, а ацетон в этом уступает толуолу.

Таким образом, при определении реальных концентраций отдельных фитонцидов лесного воздуха хвойных необходимо использовать наиболее эффективные сорбирующие жидкие среды, такие как гексан или этанол. Причем наиболее качественные хроматограммы получаются уже при концентрировании 3-5 литров газовой среды с фитонцидами.

Хроматографическое разделение летучих фитонцидов пихты сибирской (а) и сосны сибирской (б), полученное в SIM-режиме, представлено на рис. 2.

Для определения реальных концентраций индивидуальных летучих фитонцидов, находящихся в лесном воздухе сосны сибирской и сосны обыкновенной, сконцентрированы отдельные пробы 5 и 9 литров воздуха, взятого в кронах соответствующих деревьев и на расстоянии 1 метра от отдельно стоящего дерева. С использованием SIM-режима и предварительной калибровке масс-спектрометра по α -пинену установлено, что в лесном воздухе указанных сосен присутствуют альфа-пинен и лимонен в концентрациях, указанных в таблице 2.

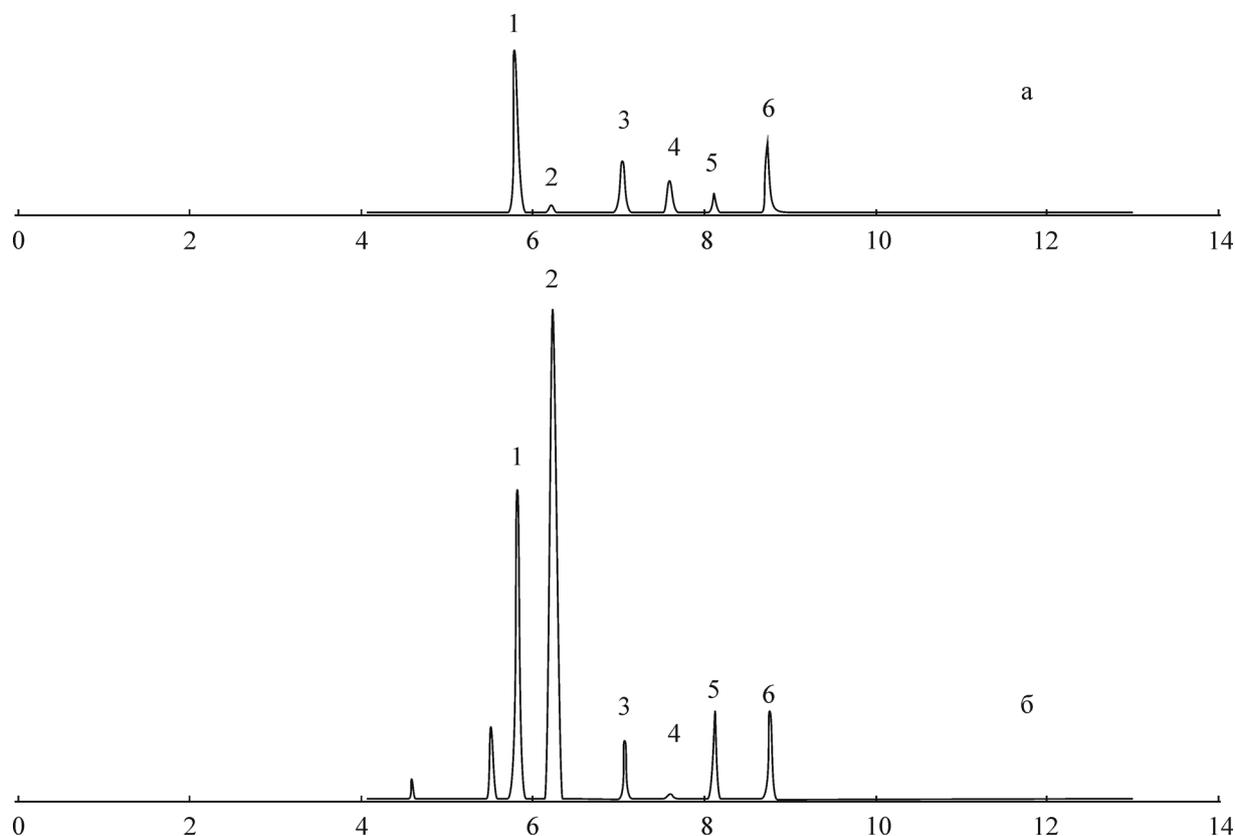


Рис. 2. Фрагмент хроматографического определения индивидуальных летучих фитонцидов пихты сибирской (а) и сосны сибирской (б), сконцентрированных в 50 мл этанола.

Таблица 1.

Адсорбционная способность некоторых растворителей в отношении концентрирования отдельных фитонцидов из потока газа-носителя

№ п/п	Терпеноид	Адсорбционная эффективность, % от количества терпеноида, пропущенного через 50 мл растворителя со скоростью 50 мл/мин.			
		Этанол	Гексан	Толуол	Ацетон
1	α-пинен	98.8*	99.5	60.6	15.6
2	камфен	100.0	100.0	84.0	52.7
3	сабинен	100.0	100.0	75.9	21.8
4	β-пинен	100.0	100.0	60.4	15.2
5	3-карен	99.0	100.0	89.1	60.2
6	лимонен	100.0	99.4	84.9	49.5

*- приведена средняя величина, полученная из пяти независимых экспериментов.

Таблица 2.

Содержание индивидуальных фитонцидов в лесном воздухе сосны сибирской и сосны обыкновенной в летний период

№ опыта	Терпеноид	Содержание, мг/м ³		Содержание, мг/м ³	
		крона сосны сибирской	в 1 метре от дерева	крона сосны обыкновенной	в 1 метре от дерева
1	α-пинен	2.76	3.34	2.93	3.63
1	Лимонен	2.36	0.08	1.58	1.69
2	α-пинен	2.55	3.54	2.88	3.52
2	Лимонен	2.43	0.12	1.44	1.54
3	α-пинен	2.67	3.42	2.86	3.56
3	Лимонен	2.28	0.09	1.48	1.63

Выявлено, что содержания альфа-пинена и лимонена в кроне сосны и в 1 метре от дерева заметно различаются. Для альфа-пинена отмечается закономерность: в обоих случаях концентрация альфа-пинена в кроне меньше, чем в 1 метре от дерева. Для лимонена аналогичная зависимость отмечается только для воздуха сосны обыкновенной. Причем суммарное содержание терпеноидов для воздуха сосны кедровой составляет 3.4 – 3.6 мг/м³, а для воздуха сосны обыкновенной – 5.1- 5.3 мг/м³.

Очевидно, что аналогичную концентрацию летучих фитонцидов необходимо создавать в закрытых помещениях для работающих членов коллективов, учитывая тот факт, что в кедровом лесу содержание микробов и бактерий минимально [3, 4].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лоулес Д. Энциклопедия ароматических масел / Д. Лоулес. — М.: Крон-Пресс, 2000. — 284 с.
2. Войткевич С.А. От древних благовоний к современным парфюмерии и косметике / С.А. Войткевич, Л.А. Хейфиц. — М.: Пищевая пром., 1997. — 213 с.

3. Токин Б.П. Губители микробов фитонциды / Б.П. Токин. — М.: Госкультпросветиздат, 1954. — 175 с.

4. Токин Б.П. Целебные яды растений / Б.П. Токин. — Л.: Ленинградский университет, 1980. — 279 с.

5. Струкова Е.Г. Воздействие эфирных масел сибирского региона на условно-патогенные микроорганизмы / Е.Г. Струкова, А.А. Ефремов, А.А. Гонтова, Л.С. Соколова // Химия растительного сырья. — 2009. — № 4. — С. 57-62.

6. Efremov E.A. / Bactericidal properties of essential oil of Siberian fir and its fractions against *Staphylococcus aureus* 209, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* / E.A. Efremov, A.A. Efremov // Intern. Conference "Renewable Wood and Plant Resources: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine". Saint-Petersburg. June 21-24. — 2011. — P. 52-53.

7. Мишарина Т.А. Антиоксидантные свойства эфирных масел / Т.А. Мишарина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова // Прикладная биохимия и микробиология. — 2008. — Т.44, № 4. — С. 482-486.

8. Мишарина Т.А. Антиоксидантные свойства

эфирных масел лимона / Т.А. Мишарина, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, И.Б. Медведева // Прикладная биохимия и микробиология. — 2009. — Т.45, № 6. — С. 710-716.

9. Степень Р.А. Летучие фитоорганические продукты древесных пород. В сб. Экстрактивные вещества древесных пород средней Сибири / Р.А. Степень // Красноярск, Институт леса и древесины СО АН СССР. — 1977. — С. 91-118.

10. ГОСТ 21769-84. Зелень древесная. М.: Издательство стандартов, 1984. — 5 с.

11. Славянский А.К. Химическая технология древесины / А.К. Славянский, В.И. Шарков, А.А. Ливеровский и др. — М.: Гослесбумиздат, 1962. — 577 с.

12. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений / А.В. Ткачев // Новосибирск, 2008. — 969 с.

Ефремов Евгений Александрович — аспирант Сибирского федерального Университета, Инженерно-строительный институт, кафедра “строительные материалы”; e-mail: ujin.efremov@gmail.com

Назирова Рашид Анварович — д.т.н., зав. кафедрой строительных конструкций Сибирского федерального Университета; e-mail: nazirovra@gmail.com

Ефремов Александр Алексеевич — д.х.н., профессор, зав. лаб. хроматографических методов анализа центра коллективного пользования Сибирского федерального Университета; e-mail: aefremov@sfu-kras.ru.

Efremov Evgenii A. — graduate student of Siberian Federal University, Civil Engineering Institute, Department of Construction Materials, e-mail: ujin.efremov@gmail.com

Nazirov Raschid A. — Doc. Tech. Sci., Professor, Siberian Federal University, Head of the Department of designing buildings and real estate expertise; e-mail: nazirovra@gmail.com

Efremov Alexander A. — Doc. Chem. Sci., Professor, Siberian Federal University, Head of the Laboratory of chromatographic methods for the analysis of SibFU; e-mail: aefremov@sfu-kras.ru