

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Красноярский государственный
медицинский университет имени профессора В.Ф.ВойноЯсенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Медико-психолого-фармацевтический факультет

Кафедра фармацевтической технологии и
фармакогнозии с курсом ПО

Курсовая работа по фармакогнозии

«Методы получения и анализа компонентного состава эфирных масел»

Выполнила:

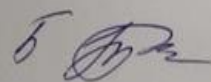
Студентка 451 группы

Кузьмина Анетта

Проверил: КФармН,

зав.кафедрой

Савельева Елена Евгеньевна



СОДЕРЖАНИЕ

Введение	2
1. Характеристика и классификация лекарственного растительного сырья содержащего эфирные масла	4
2. Способы получения эфирных масел из лекарственного растительного сырья	8
3. Методы анализа компонентов эфирных масел	14
Заключение.....	23
Список использованной литературы	25

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные растения являются источником ценных биологически активных веществ, среди них по широте, массовости использования и оздоравливающему действию, лидирующее место занимают растения, содержащие эфирные масла.

Эфирномасличная флора насчитывает около 3000 видов растений, большая часть которых приходится на сухие субтропики. Промышленное значение имеют 150-200 эфирных масел, используемых в косметике, парфюмерии, пищевой и фармацевтической промышленности. Эфирные масла содержатся в растениях, как правило, в небольших количествах 0,01-1,0%, хотя встречаются виды, содержащие до 10,0% и даже 20-22% (бутоны гвоздики). Эфирные масла могут быть получены из разных частей растений, в том числе из корней, стеблей, соцветий, семян, коры, древесины и листьев.

Эфирное масло распределяется по органам растения неравномерно. Чаще всего оно сосредотачивается в каком-нибудь одном органе (листьях, цветках, корнях, плодах). Компоненты эфирных масел в растениях находятся в свободном и связанном состояниях. Такие формы содержания позволяют растениям сохранять значительное количество летучих веществ на протяжении всего цикла их развития. При этом связанные компоненты не имеют строго ограниченной локализации и обычно равномерно распределяются по тканям промышленной части растений. Теоретически это можно представить как своеобразный запас таких веществ для стабильного протекания биологических процессов в растении. Свободные компоненты это вещества, содержащиеся в растениях в том виде, в которых они присутствуют в эфирном масле после его извлечения из сырья.

Эфирные масла обладают широким спектром физиологического действия на организм человека. Из фармакологических свойств наиболее характерно для эфирных масел наличие противовоспалительной, антимикробной, противовирусной и противоглистной активности. Кроме

того, эфирные масла оказывают выраженное влияние на деятельность сердечно - сосудистой системы и ЦНС, обладают стимулирующими, болеутоляющими, отхаркивающими свойствами, улучшают функцию желудочно-кишечного тракта.

Эфирные масла способны воздействовать на все системы и органы, влиять на различные процессы в организме, но механизм их действия до сих пор слабо изучен. Накоплен огромный опыт применения отдельных эфирных масел в качестве противогрибковых средств, многие масла способны снижать артериальное давление, эффективны они при лечении отеков, ревматизмов, кожных заболеваний и др.

В связи с ростом применения эфиромасличных трав в медицине возникает необходимость присутствия в них определенного количества и стабильности компонентов эфирного масла в растении, обеспечивающих ожидаемый фармакологический эффект. Эффективность и безопасность использования ароматических растений в фитотерапии строго определяется их химической характеристикой, в первую очередь компонентным составом эфирного масла.

Цель данной работы - изучить методы получения и анализа компонентного состава эфирных масел.

Для выполнения поставленной цели необходимо решить ряд задач:

- Дать подробную характеристику и классификацию лекарственного растительного сырья содержащего эфирные масла.
- Рассмотреть способы получения эфирных масел из лекарственного растительного сырья.
- Познакомиться с методами анализа компонентов эфирных масел.

1. Характеристика и классификация лекарственного растительного сырья содержащего эфирные масла

Эфирные масла - продукты растительного происхождения, являющиеся многокомпонентными смесями летучих душистых веществ и относящиеся к различным классам органических соединений.

Бесцветные или окрашенные прозрачные подвижные жидкости, чаще желтоватого цвета, с характерным запахом. Например, эфирное масло аира болотного - желтоватое, ромашки и тысячелистника - синее, тимьяна - красноватое, можжевельника светло - желтого цвета, корицы - коричневое.

Эфирные масла в растениях локализуются, как правило, в специальных образованиях. Различают экзогенные (наружные) и эндогенные (внутренние) образования. Экзогенные выделительные структуры развиваются из эпидермальной ткани и представляют собой железистые «пятна», железистые волоски и железки.

Эндогенные выделительные структуры развиваются внутри тела растения и представляют собой секреторные клетки, секреторные вместилища и ходы (канальцы). Локализацию эфирного масла при микроскопическом анализе сырья можно выявить с помощью реактива судан III, который окрашивает его в оранжево-красный цвет.

Большинство эфирных масел легче воды и лишь некоторые из них имеют плотность больше единицы (масло гвоздики и корицы). Эфирные масла мало или практически нерастворимы в воде. При взбалтывании с водой образуют эмульсии, придают воде запах и вкус [10]. Эфирные масла растворимы в жирных (подсолнечное и др.) и минеральных (вазелиновое) маслах, спирте, эфире и других органических растворителях. Температура кипения эфирных масел обычно колеблется от 40 °С до 260 °С, причем фракция монотерпеноидов кипит при 150-190°С, фракция сесквитерпеноидов - при 230-300 °С.

Эфирные масла оптически активны. Реакция масел нейтральная или

кислая. Эфирные масла перегоняются с водяным паром, причем монотерпеноиды перегоняются хорошо, сесквитерпеноиды - труднее. При охлаждении эфирных масел некоторые компоненты выкристаллизовываются (анетол, ментол, тимол, камфора). Твердую часть эфирного масла называют стеароптен, жидкую часть - олеоптен.

Компоненты эфирных масел легко вступают в реакции окисления, изомеризации, полимеризации; по двойным связям легко гидрогенизируются, гидратируются, присоединяют галогены, кислород, серу; дают реакции, характерные для их функциональных групп. На свету в присутствии кислорода воздуха эфирные масла окисляются, меняют цвет (темнеют) и запах. Некоторые эфирные масла загустевают после отгонки или при хранении.

Большинство компонентов эфирного масла являются ненасыщенными соединениями, они нестойки во внешней среде и подвержены разнообразным химическим реакциям, инициированным кислородом воздуха и светом. Наиболее подвержены окислению кислородом воздуха соединения, молекулы которых содержат сопряженные двойные углеродные связи. Кроме того, компоненты эфирного масла растений имеют разные скорости диффузии и испарения, что также может сказываться на изменении состава масла при хранении [21].

Эфирные масла классифицируют по преобладающим или наиболее ценным, главным компонентам. Эти компоненты определяют фармакологический эффект и часто являются носителями запаха масла.

Природные монотерпеноиды относятся к нескольким подгруппам. Ациклические монотерпеноиды содержатся в зрелых плодах кориандра посевного, линалоол – главный компонент эфирного масла. Трава мелиссы лекарственной содержит эфирное масло, основной компонент – цитраль [13].

Моноциклические монотерпеноиды используются как ценные лекарственные средства в индивидуальном виде (ментол) или являются основными компонентами ряда эфирных масел. Ментол и его кетон ментон

содержатся в эфирном масле мяты перечной. Цинеол содержится в эфирном масле листьев эвкалипта прутовидного, листьях шалфея лекарственного [11]. Цинеол встречается в виде двух изомеров. Карвон - главный компонент эфирного масла плодов тмина обыкновенного. Лимонен содержится в эфирном масле лимона, сосны и др. [13].

Бициклические монотерпеноиды. Из них наибольшую ценность представляют следующие соединения: камфора, борнеол, пинен. Камфора – главный компонент эфирного масла камфорного лавра, камфорного базилика и др. Корневища с корнями валерианы лекарственной содержат эфирное масло, главной частью которого является борнилизовалерианат, бициклические монотерпеноиды (камфен, пинен, терпинеол).

Преобладающими компонентами эфирного масла плодов можжевельника обыкновенного являются низкокипящие фракции терпеновых углеводородов, состоящие из α - и β -пиненов, а также терпинеол, борнеол. Цветки пижмы обыкновенной содержат эфирное масло, в состав которого входят в основном бициклические монотерпеноиды: бета-туйон, альфа-туйон, камфора, борнеол, туйол, пинен.

Ароматические соединения, как правило, обладают сильным бактерицидным свойством, что находит использование в медицинской практике. Тимол содержится в эфирном масле тимьяна обыкновенного, чабреца, душицы и других растений. Анетол - главный компонент эфирного масла плодов аниса обыкновенного, плодов фенхеля [6].

Сесквитерпеноиды содержатся в цветках ромашки аптечной, главным компонентом эфирного масла является хамазулен. В цветках арники содержится эфирное масло с сесквитерпеновым лактоном арнифолином. Побеги багульника содержат эфирное масло, главные компоненты которого ледол, палюстрол [3]. В корневищах и корнях девясила содержится эфирное (алантовое) масло, основными компонентами которого являются бициклические сесквитерпеновые лактоны с преобладанием алантолактона и изоалантолактона. Почки, листья березы содержат эфирное масло, в состав

которого входят бициклические сесквитерпеноиды - бетулен, бетуленол.

Иридоиды и горькие гликозиды содержатся в корневищах аира обыкновенного содержатся моно- и сесквитерпеноиды: камфора, борнеол, бета-элемен, альфа-каламен, акорон, изоакорон и др. Трава золототысячника содержит монотерпеноидные горечи (генциопикрин, амарогентин, сверциамарин и др.). Корни одуванчика содержат сесквитерпеноидные горькие гликозиды (тараксацин и тараксацерин). Трава полыни горькой содержит бициклические монотерпеноиды - туйол, туйон, пинен и др., а также азуленогенные сесквитерпеновые лактоны, которые придают траве полыни своеобразный горький вкус - артабсин, абсинтин (димер артабсина) [1].

В траве тысячелистника обыкновенного содержится эфирное масло, в состав которого входят сесквитерпеноиды - ахиллин. Основными действующими веществами листьев вахты трехлистной являются монотерпеноидные горечи - логанин, сверозид, ментиафолин.

Основными компонентами эфирного масла являются низшие терпеноиды, которые при сушке и последующем хранении сырья подвержены сильным качественным и количественным изменениям по сравнению с другими вторичными метаболитами (алкалоидами, флавоноидами и т. п.). Монотерпены, наиболее летучая часть эфирных масел, при хранении теряется быстрее других, их содержание в масле уменьшается, а доля менее летучих соединений (кислородсодержащих монотерпеноидов и сесквитерпеновых соединений) увеличивается [21].

2. Способы получения эфирных масел из лекарственного растительного сырья

Эфирные масла получают обычно из высушенного или свежесобранного лекарственного растительного сырья. Метод получения эфирного масла зависит от количества, состава, свойств эфирного масла и от морфолого-анатомических особенностей сырья. В настоящее время в промышленном масштабе применяется несколько способов получения эфирных масел:

1. Дистилляция с водой или водяным паром. Метод перегонки с водяным паром, основан на физическом законе парциального давления - две несмешивающиеся жидкости, нагреваемые вместе, закипают при температуре ниже точки кипения каждой жидкости в отдельности, и на свойствах эфирного масла - летучести и практической нерастворимости в воде. Пары воды из парообразователя, проходят через растительный материал, увлекают эфирное масло, которое конденсируется в холодильнике и собирается в приемник [16].

Пародистилляция - наиболее экономичный и технологически удобный способ отгонки заключается в использовании перегретого пара (пара высокого давления). При этом удается избежать местных перегревов растительного материала, наступающих при гидродистилляции и отогнать труднолетучие, часто весьма ценные компоненты эфирного масла. Таким методом получают преобладающее количество коммерческого эфирного масла [2]. Паровая перегонка по сравнению с гидродистилляцией характеризуется повышенным насыщением паровой фазы эфирным маслом, большей скоростью и степенью извлечения масла, меньшим расходом пара и количеством дистилляционных вод, улучшенным качеством эфирного масла, отсутствием пригорания сырья и экстрагируемых водой веществ, простотой регулировки скорости гонки, повышенной удельной производительностью перегонных аппаратов.

В дистилляционных водах, образующиеся при использовании паровых методов выделения в больших количествах, остается некоторое количество эфирного масла в растворенном и взвешенном состояниях, которое извлекают, как правило, повторной перегонкой (когобацией). К недостаткам следует отнести ухудшение качества эфирных масел за счет термической деструкции некоторых компонентов, особенно таких, как терпеновые спирты и их сложные эфиры. Известная технология переработки плодов кориандра на крупнотоннажных предприятиях является комплексной. По данной технологии плоды кориандра измельчают, извлекают эфирное масло методом перегонки с водяным паром, а из измельчённых обезэфиренных плодов (обезэфиренного кориандра) после необходимой подготовки, включающей сушку, дополнительное измельчение, влаготепловую обработку, лепесткование или гранулирование, извлекают жирное масло экстракцией бензином или гексаном. Полученный при этом шрот используют в кормовых целях [4].

В некоторых случаях для получения эфирного масла применяют перегонку с водой. Гидродистилляция – простейший метод заключается в отгонке воды в присутствии растительного материала. В промышленности применяется достаточно редко, например, при получении розового масла.

Однако часто используется при лабораторной практике, что связано с доступностью и простотой эксперимента. В зависимости от давления гидродистилляцию проводят при нормальном давлении (наиболее часто) или в вакууме (вакуумная гидродистилляция - отгонка с паром при пониженном давлении) [9]. Уменьшение давления позволяет снизить температуру перегонки и тем самым сохранить составные части эфирных масел в неизменном виде.

Перегонка с перегретым паром при повышенном давлении до нескольких атмосфер существенно улучшает соотношение в дистилляте воды и отгоняющегося с ней вещества. Выделенное таким образом масло несколько отличается от показателей масла, выделенного традиционным

путем. В промышленных масштабах с целью повышения экономичности процесса используют паровую схему нагрева воды. Перегретый пар быстро нагревает воду в гидродистилляторе и обеспечивает равномерный тепловой фронт проходящий через сырье.

Метод гидродистилляции обладает целым рядом недостатков. Главный из них – низкая степень насыщения паровой фазы эфирным маслом, что обуславливает малую скорость извлечения масла, высокий расход пара и большое количество дистилляционных вод. Также характерны относительно большие потери масла с кубовым остатком (отработанное растительное сырье) и отработанными дистилляционными водами, химическое изменение компонентов масла, особенно сложных эфиров, благодаря длительному контакту при высокой температуре с кислотами, содержащимися в сырье, возможность подгорания сырья, низкая удельная производительность аппаратов [9].

Другим недостатком методов, основанных на предварительной отгонке, является довольно большой объем растительного сырья, необходимого для выделения представляющей пробы эфирного масла с минимальными потерями. Это затрудняет проведение локального анализа летучих фракций, содержащихся в разных частях растения.

Гидропародистилляция – метод, основанный на ранее описанных дистилляционных методах и в силу своей конструктивной особенности очень похож на гидродистилляционный метод. Здесь вода и сырье помещены также в один перегонный куб, как и в случае гидродистилляции, но они между собой разделены сетчатой перегородкой, что переводит стадию парообразования в отдельную фазу перегонки, как и методе пародистилляции. Физические условия перегонки методом гидропародистилляции являются более щадящими по отношению к сырью и лабильным компонентам масел, поскольку нет постоянного контакта с водой, а сам процесс перегонки идет с несколько меньшими температурами [15].

Если в сочетании с такими перегонными установкам, в качестве

приемника использовать сосуды типа насадки Клевинджера, можно снять вопрос о технологических потерях масла с отгонными водами, так как метод гидропародистилляции позволяет возвращать конденсированную воду обратно в перегонный куб.

Аппаратурное оформление лабораторного метода гидропародистилляции достаточно простое. Преимущества такой установки заключается в том, что она может работать в автоматическом режиме при непрерывной подачи воды только в холодильник. Потери масла с перегоняющейся водой в данном случае исключены, так как вода из насадки Клевенджера возвращается в перегонный куб. Кроме того данная установка может быть практически любого размера, что позволяет доводить навеску исходного сухого сырья до 1,0–1,5 кг, обеспечивая достаточное количество эфирного масла с одной. Во всех случаях перегонки эфирных масел с водяным паром получается дистиллят, который собирается в приемник и отстаивается. Эфирные масла с плотность меньше единицы собираются в верхней части приемника над водой. В случае перегонки эфирных масел с плотность больше единицы они собирается под водой. Все дистилляционные методы выделения эфирных масел растянуты во времени [9].

Очевидно, что длительность процесса гидропародистилляции будет также определять выход масла и содержание отдельных компонентов в нем. Так было установлено, что процесс исчерпывающей гидропародистилляции древесной зелени пихты сибирской заканчивается за 16–18 часов, а содержание эфирного масла при этом по результатам 6 гонок составляет 3,21 % в пересчете на свежее сырье со средней влажностью 40,74 % или 5,40 % в пересчете на абсолютно сухое сырье.

2. Экстрагирование. Применяется, как правило, в парфюмерии для получения эфирных масел, ценные компоненты которых разлагаются при перегонке. Различают:

а) экстракция низкокипящими растворителями (этиловый эфир, хлористый метил, петролейный эфир, ацетон и др.);

б) суперкритическая экстракция (экстракция сжиженными газами – углекислота, пропан, бутан, находящимися в сверхкритическом состоянии). Растворитель легко удаляется, остаток подвергается очистке.

Состав эфирных масел, получаемых углекислотной экстракцией, отличается от эфирных масел полученных классическим способом перегонки с водяным паром. Маленький размер молекулы оксида углерода, позволяет вести процесс на клеточном и молекулярном уровне, извлекая биологически активные вещества в том составе и соотношении, в котором природа заложила их в растительном сырье [8]. Конечным продуктом данного способа является сверхконцентрированная субстанция, включающая водную, эфирномасличную и жировую фракцию растительного сырья. Особенно эффективна сверхкритическая CO_2 – экстракция для выделения эфирных масел. Так например в эфирных маслах полыни горькой выделенных гидродистилляцией, содержатся в основном монотерпеноиды и сесквитерпеноиды, а в углекислотном – экстракте кроме этих классов соединений содержится большое число длинноцепочных углеводов [1].

в) экстракция жирами:

- Мацерация – экстракция пахучих веществ растительными маслами или расплавленными жирами при обычной или повышенной (50– 70⁰ температуре).

- Анфлераж – сорбция летучих компонентов слоем твердого жира. Выделяющееся эфирное масло из свежесобранного сырья (преимущественно из цветков розы, ландыша и др.) поглощается сорбентами (твердые высококачественные жиры либо активированный уголь). Из 1 тонны лепестков розы получают методом анфлеража 700 г эфирного масла.

3. Холодное прессование (выжимание) с последующим центрифугированием. Используется для получения эфирных масел и сырья, где оно содержится в крупныхместилищах в больших количествах. Этот метод разработан для добывания масла из кожуры плодов цитрусовых – лимонов, апельсинов, померанцев, бергамотов; полученные эфирные масла

имеют более высокое качество, чем добытые перегонкой [12].

Таким образом, широко применяемые методы отгонки с водяным паром и гидродистилляции позволяют выделять нерастворимые в воде компоненты в достаточно мягких условиях, тем не менее и в этом случае возможно протекание побочных процессов окисления и гидролиза некоторых соединений, в результате чего полученные препараты могут заметно отличаться по составу от исходных эфирных масел, содержащихся в растительных тканях.

3. Методы анализа компонентов эфирных масел

В настоящее время проводится не только скрининг эфирномасличных растений, но разрабатываются разные методы извлечения и анализа эфирных масел. Способы лабораторного и промышленного получения масел многократно претерпевали изменения. Стремительное развитие приборной и аналитической базы анализа органических соединений способствовало более детальному и тонкому анализу эфирных масел [19].

Совершенствование и разработка новых методов оценки качества сырья дает возможность: селекционерам избегать ошибок при введении в культуру новых сортов и перспективных видов эфиромасличных растений; технологам и конструкторам эфиромасличного производства повышать уровень технологического процесса и совершенствовать оборудование с целью количественного извлечения эфирного масла, близкого к его содержанию в сырье [2].

Главной особенностью анализа большинства эфирных масел и терпеновых соединений как их составных частей является то, что в растениях они чаще всего встречаются в составе сложных смесей, насчитывающих до нескольких десятков индивидуальных веществ, находящихся в широком диапазоне концентраций. Подлинность эфирных масел устанавливают по их физико-химическим свойствам. Определяют цвет, запах, вкус, плотность, удельное вращение, показатель преломления, растворимость в спирте, кислотное и эфирное число, состав действующих веществ [9]. Плотность эфирных масел колеблется в пределах 0,69 -1,188. Угол вращения плоскости поляризации отражает состав оптически активных веществ, а так как эфирные масла представляют собой смесь оптически активных веществ, то угол вращения плоскости поляризации – это сумма углов вращения, входящих в смесь ингредиентов, свидетельствует о качестве эфирного масла.

Растворимость эфирного масла в спирте (96% или 70%) дает представление о его подлинности и качестве. Большинство углеводов

плохо растворимо в спирте, особенно в разведенном. Отклонение от норм растворимости служит критерием недоброкачества эфирного масла. Для установления качественных характеристик эфирных масел определяют кислотное, эфирное число (до и после ацетилирования). Количество свободных спиртов в эфирных маслах устанавливают путем ацетилирования и определения эфирного числа (до и после ацетилирования) [16].

На начальных этапах эфирные масла изучали так называемыми классическими методами: определялись физические свойства (плотность, угол вращения поляризованного света, показатель преломления, температуры замерзания, плавления, кипения) и химические показатели (эфирное и кислотное число, эфирное число после ацетилирования).

Количество главных компонентов эфирных масел определяли химическими методами (ацетилирование спиртов, омыление эфиров, экстракция фенолов водными растворами щелочей). Для изучения качественного состава эфирных масел их подвергали фракционированию с помощью групповых химических реакций или перегонки с целью выделения индивидуальных соединений, которые идентифицировали по температурам их кристаллических производных и характерным химическим реакциям [10].

Для достоверного определения свойств оптических изомеров используют современные физико-химические методы разделения и анализа эфирного масла как многокомпонентной смеси: хроматографии – тонкослойной, бумажной, колоночной и газожидкостной для разделения смесей терпеновых соединений с использованием спектроскопических методов (УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопии, рентгеноструктурного метода) [17].

Тонкослойная и бумажная хроматография сыграли большую роль в исследовании смесей терпеноидов. Эти методы позволяют проводить качественное и полуколичественное определение основных компонентов. Для разделения эфирных масел методом тонкослойной хроматографии в качестве сорбента чаще используют силикагель и алюминия оксид.

Подвижной фазой при разделении служат н-гексан, бензол, хлороформ, их смеси с этилацетатом, эфиром петролейным [10]. Недостатками метода являются большая длительность анализа, малая эффективность разделения, невозможность точного количественного определения компонентов смеси.

Газожидкостная хроматография (ГЖХ) очень широко используется для изучения сложных смесей терпеновых соединений. Это обусловлено следующим: терпеноиды имеют температуры кипения от 150 до 350°C и достаточное парциальное давление для проведения анализа этим методом. ГЖХ в настоящее время является наиболее эффективным методом разделения сложных смесей, она может использоваться в сочетании со спектроскопическими методами идентификации. Для анализа смесей терпенов используют различные неподвижные жидкие фазы широкого диапазона полярности – от неполярных (SE-30, OV-101) до полярных (карбовакс 20 М). На колонках с неполярными неподвижными фазами соединения элюируются в соответствии с их температурами кипения: сначала монотерпены, далее сескви-, ди- и тритерпены. Кислородсодержащие соединения удерживаются дольше, чем соответствующие углеводороды. Анализ смесей терпеновых соединений осуществляется как на набивных, так и на капиллярных колонках. Так как капиллярные колонки более эффективно разделяют смеси, то тенденция к их применению постепенно возрастает [17].

Метод газовой хроматографии применяется для анализа летучих веществ, в том числе компонентов эфирных масел, например ледола и палюстрола в эфирном масле побегов багульника болотного (*Cormus Ledī palustris*; Багульник болотный – *Ledum palustre*; Сем. Вересковые – *Ericaceae*) [20]. Также возможно проведение химической модификации (derivatизации) компонентов анализируемой смеси с целью получения летучих производных и их последующий анализ методом газовой хроматографии.

Исследование компонентного состава эфирного масла тимьян блошиного возможно проводить методом газожидкостной хроматографии с

масс-спектрометрическим детектором. Компоненты эфирных масел идентифицируют в результате сравнения масс-спектров веществ, входящих в исследуемое эфирное масло, полученных в процессе хроматографирования с данными библиотеки масс-спектров. Содержание типичного для растений рода тимьян соединения тимола в исследуемом эфирном масле составляет (2,03%) [1].

Например, для идентификации ментола и тимола в листьях мяты перечной проводят хроматографию в тонком слое сорбента (ТСХ). В качестве стандартного образца используют стандартный образец ментола и тимола. Разделение осуществляют в смеси растворителей толуол – этилацетат (95:5), и хроматографируют восходящим способом. Хроматограмму сушат до удаления следов растворителей после чего просматривают при дневном свете. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции синего цвета на уровне зоны на хроматограмме раствора стандартного образца ментола, зона адсорбции фиолетового цвета выше зоны на хроматограмме раствора стандартного образца тимола [15].

Подлинность цинеола в водном извлечении из листьев шалфея лекарственного проводят также хроматографией в тонком слое сорбента. Недостатками метода тонкослойной хроматографии являются большая длительность анализа, малая эффективность разделения, невозможность точного количественного определения компонентов смеси [11].

Применение спектроскопических методов возможно только после выделения терпеноидов в индивидуальном виде из эфирных масел. Их использование в настоящее время оправдано чаще всего для установления структуры впервые выделенных веществ. Ультрафиолетовая спектроскопия иногда используется для определения наличия и характера сопряжения химической связи в структурах терпеноидов.

Количественное определение окрашенных компонентов эфирного масла - азуленов - проводят методом фотоэлектроколориметрии.

Содержание азуленовых производных устанавливают по калибровочному графику, построенному с помощью раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола. Количество цинеола в эфирном масле устанавливают после предварительного извлечения сырья гексаном с последующим определением оптической плотности на приборе ИКСФ - м. Аналитическая полоса поглощения при 990 см^{-1} . Количество цинеола определяют по калибровочной кривой. Для количественного определения компонентов эфирного масла, имеющих кетогруппу (тип камфоры), используют кислотно-щелочное титрование продуктов оксимирования, либо определяют оптическую плотность продуктов взаимодействия полученным оксимом с солями трехвалентного железа на ФЭК [14].

Инфракрасная спектроскопия существенно дополняет ультрофиолетовую спектрофотометрию (УФ-спектрофотометрию). Для химии терпенов наиболее важны два участка спектра. Полосы поглощения в области приблизительно $3650\text{--}2650\text{ см}^{-1}$ (не считая колебаний C-H) в случае терпеноидов почти всегда характерны для колебаний связей OH. При правильной интерпретации полосы поглощения в этой области могут служить доказательством наличия гидроксид- или родственной ей групп. Поглощение во втором и более важном участке спектра (приблизительно $1820\text{--}1640\text{ см}^{-1}$), если оно достаточно интенсивное, обычно отвечает колебаниям C=O. По положению максимума поглощения в этой области можно определить, является ли соединение насыщенным или сопряженным эфиром, альдегидом, кетоном, кислотой, лактоном или ангидридом. Важными, но менее общими являются данные по поглощению в других участках спектра. Так, слабая полоса поглощения в области 3050 см^{-1} свидетельствует о наличии метиленовой группы в циклопропановом кольце. Ранее использование метода ядерно-магнитного резонанса в химии терпенов ограничивалось применением протонного резонанса (ПМР), который применялся для установления структур некоторых соединений, например, ф-

сантонины. В настоящее время ПМР широко применяется для установления структур терпеноидов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) ограниченно применяется при анализе эфирных масел, что связано, во-первых, с невысокой эффективностью хроматографических колонок, не применимых для разделения многокомпонентных смесей близких по свойствам веществ, и, во вторых, с большой селективностью чаще всего применяемых УФ - спектрометрических детекторов. ВЭЖХ иногда применяют для предварительного фракционирования образцов. Однако важным преимуществом ВЭЖХ является возможность анализа малолетучих и термолабильных соединений [16].

В настоящее время основным методом изучения химического состава эфирных масел растений является газовая хроматография с масс – селективным детектированием, дающая возможность эффективного разделения сложных смесей летучих соединений на капиллярных колонках и идентификации компонентов по их масс – спектрам с использованием обширных коммерчески доступных баз данных [20].

Газожидкостная хроматография (ГЖХ) очень широко используется для изучения сложных смесей терпеновых соединений. Это обусловлено следующим: терпеноиды имеют температуры кипения от 150 до 350 °С и достаточное парциальное давление для проведения анализа этим методом. ГЖХ в настоящее время является наиболее эффективным методом разделения сложных смесей, она может использоваться в сочетании со спектроскопическими методами идентификации. Для анализа смесей терпенов используют различные неподвижные жидкие фазы широкого диапазона полярности - от неполярных (SE-30, OV-101) до полярных (карбовакс 20 М). На колонках с неполярными неподвижными фазами соединения элюируются в соответствии с их температурами кипения: сначала монотерпены, далее сескви-, ди- и тритерпены. Кислородсодержащие соединения удерживаются дольше, чем

соответствующие углеводороды. Анализ смесей терпеновых соединений осуществляется как на набивных, так и на капиллярных колонках [16].

Известна методика количественного определения цинеола в эвкалиптовом масле, ментола в мятном масле методом газожидкостной хроматографии. В результате анализа на хроматограмме обнаруживается 2 пина, соответствующих разным компонентам мятного масла. Качество масла оценивается по времени удерживания отдельных компонентов. Для идентификации компонентов к пробе масла добавляют чистый ментол и проба вновь вводится в колонку. На хроматограмме высота пика увеличивается пропорционально введенному ментолу, следовательно, пик соответствует ментолу.

Компоненты эфирного масла имеют различное адсорбционное сродство к жидкой фазе, из-за чего скорость продвижения вдоль колонки веществ, составляющих эфирное масло, различна. В результате компоненты выходят из колонки в виде отдельных веществ. Обычное время анализа эфирного масла - не более 30-40 мин. В современных методиках отдельное вещество может выходить в течение 3-7 секунд. Таким образом, за время анализа можно обнаружить сотни веществ. Эти вещества различными методами детектируются [2].

Основным методом обнаружения веществ, выходящих из колонки, является ионизационно-пламенное детектирование. С этой целью выходной конец колонки вставляется в детектор, представляющий собой тонкое сопло с непрерывно горящим пламенем водорода. Поступающие в пламя вещества ионизируются под действием высокой температуры и обнаруживаются по появлению этих ионов. Количество ионов пропорционально количеству вещества в пламени. В результате проведения хроматографического анализа получают хроматограмму в виде пиков. Размеры пика указывают на количество вещества в пробе. Количественные соотношения (обычно в виде процентного соотношения) рассчитываются автоматически с помощью компьютера.

Обычным методом анализа легколетучих и ограниченно летучих терпеноидов (моно-, сескви-, дитерпенов) является газожидкостная хроматография. Хотя газожидкостной хроматографией возможно с очень высокой эффективностью разделять сложные смеси летучих органических соединений, однако, к сожалению, она дает недостаточно информации о строении веществ. К тому же идентификация терпеноидов, основанная только на данных ГЖХ - удерживания, является весьма ненадежной. Поэтому необходимым оказался детектор, который может с большей степенью вероятности идентифицировать вещества на выходе из газохроматографической колонки [15].

Наиболее приемлемым детектором для этого является масс-спектрометр, так как он удовлетворяет важнейшим характеристикам метода газожидкостной хроматографии - скорости и чувствительности метода. К тому же масс-спектрометрия дает уникальную информацию об исследуемом веществе и может быть использована для идентификации веществ и изучения их строения. В настоящее время основными методами изучения эфирных масел является сочетание газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии, которые не требуют предварительного выделения индивидуальных веществ и наличия их характеристики, полученной другими спектральными методами [10].

Интересной альтернативой исследованию предварительно выделенного эфирного масла является применение метода термодесорбционной хромато-масс - спектрометрии, в котором анализу подвергаются фракции, переходящие в газовую фазу непосредственно из растительного материала при нагревании до различных температур. Поскольку процесс проходит в атмосфере высокочистого гелия без использования органических растворителей пробы или воды как среды для отгонки эфирного масла, процессы гидролиза и окисления компонентов сводятся к минимуму, а состав летучих фракций должен быть максимально приближен к естественному.

При идентификации компонентов методом хромато - масс -

спектрометрии выходящие из колонки вещества не попадают в горящее пламя водорода, а направляются в поток электронов, имеющих стандартную энергию (70 эВ). Но перед вводом газовой смеси в масс-детектор из нее удаляется как можно больше газа-носителя, т.к. масс-спектрометр работает при низком давлении. Для его удаления смесь газа-носителя и образца поступает в молекулярный сепаратор, состоящий из соединенных между собой двух ступеней [15].

Используя базы данных (NIST, WILEY-275), содержащие масс-спектры электронной ионизации, можно с высокой точностью идентифицировать анализируемые компоненты. Качество получаемого масс-спектра зависит от продолжительности времени сканирования интервала масс. Для хромато-масс-анализа наиболее предпочтительны приборы, обладающие возможностью быстрого сканирования, что позволяет получать достоверные масс-спектры соединений. Этому требованию отвечают квадрупольные масс-спектрометры, которые наиболее широко используются для анализа эфирных масел [16].

Например, данным методом исследован химический состав эфирного масла надземной части и корней одуванчика лекарственного. Согласно данным хромато-масс-спектрометрического анализа летучие с паром вещества представляют собой многокомпонентную смесь соединений различных классов. [18].

Термостабильность терпеноидов предъявляет особые требования к масс-спектрометрической части хромато-масс-спектрометра. В частности, требуется инертность переходных линий между хроматографом и ионным источником масс-спектрометра.

Таким образом, выявление и комплексное изучение эфирномасличных растений, эфирных масел и поиск новых путей анализа компонентного состава эфирных масел не только актуально, но и приобретает особую важность, научное и практическое значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, закономерный процесс ужесточения фармакопейных требований к растительному сырью, и особенно к сырью ароматических растений, с учетом фармакологических свойств эфирных масел, требует комплексного изучения их биологических и биохимических особенностей.

В работе были изучены методы получения и анализа компонентного состава эфирных масел. При исследовании эфирномасличных растений важна точная идентификация компонентного состава эфирного масла, в первую очередь для стандартизации химического сырья, используемого в качестве фармакопейного. Стремительное развитие приборной и аналитической базы анализа органических соединений способствовало более детальному и тонкому анализу эфирных масел.

Дали подробную характеристику и классификацию лекарственного растительного сырья содержащего эфирные масла. Эфирные масла - смесь душистых летучих веществ, образующихся в растениях и относящихся к различным классам органических соединений, преимущественно терпеноидам (кислородные соединения терпенов), реже к ароматическим и али алифатическим соединениям. Сред них встречаются углеводороды, спирты, кетоны, альдегиды, фенолы, лактоны, кислоты, простые и сложные эфир и др. Свое название эфирные масла получили благодаря наличию характерного ароматного запаха и маслообразной консистенции.

Рассмотрели способы получения эфирных масел из лекарственного растительного сырья. Первым шагом, предшествующим анализу эфирных масел, является их выделение. Если в сырье содержится сравнительно много эфирного масла и масло термостабильное, то используют метод гидродистилляции. Для выделения эфирных масел из растительного материала наиболее широко используют перегонку с водяным паром. Преимущество метода гидродистилляции – возможность получения

эфирного масла в чистом виде, недостаток – разложение термолабильных компонентов эфирного масла и различные химические превращения под воздействием высоких температур. Если компоненты эфирного масла термолабильны и подвергаются деструкции при гидродистилляции, то используют метод экстрагирования. Если эфирное масло находится в больших количествах в крупных емкостях (например, в околоплоднике цитрусовых), то используют метод прессования или выжимания, т.е. механический способ.

Познакомились с методами анализа компонентов эфирных масел.

Развитие хроматографических методов разделения и спектральных характеристик органических веществ, в том числе масс-спектрометрии, обеспечило возможность выделения и определения структуры природных соединений эфирных масел. Это дает возможность для более точной стандартизации эфирных масел, содержащих в своем составе большое разнообразие соединений, обладающих биологической активностью.

Представленные данные позволяют утверждать, что до сих пор основным методом анализа терпеноидов остается использование гибридного метода - хромато - масс-спектрометрии, а именно газожидкостной хроматографии с масс- спектрометрической детекцией. Внедрение наиболее информативных методов анализа сложных смесей органических веществ позволило полно исследовать состав эфирных масел лекарственных растений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алякин А.А., Ефремов А.А., Ангаскиева А.С., Гребенникова В.В. Химический состав эфирных масел *Artemisia absintium* и *Artemisia vulgaris*, произрастающих на территории Красноярского края / Химия растительного сырья 2011. - № 3. С. 123-127.
2. Богатюк Н.П., Данилова И.Л., Пехова О.А. Новый способ подготовки растительного сырья для производства эфирных масел / *Univsum: химия и биология* 2014. - №9 (9). С.1- 7.
3. Боголицын К.Г., Ульяновский Н.В., Косяков Д.С., Покрышкин С.А., Ульяновская О.С. Изучение компонентного состава летучих веществ багульника болотного методом термодесорбционной газовой хромато-масс-спектрометрии / Химия растительного сырья 2014. - № 4. С. 153- 161.
4. Бондаренко Е. Ю., Тарасов В. Е. Влияние обработки плодов кориандра электроактивированными жидкостями на выход и качественный состав эфирного масла / Известия высших учебных заведений. Пищевая технология 2011. - № 1 (319). С. 61-64.
5. Бубенчикова В. Н., Старчак Ю. А. Исследование эфирного масла тимьяна блошиного / Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований 2014. - № 8-2. С. 116-118.
6. Горбунова Е.В. Технологические особенности комплексной переработки целых растений фенхеля обыкновенного / Техника и технология пищевых производств 2013. - № 3 (30). С. 1-7.
7. Данилейко И.Р., Апыхтин Н.Н., Племенков В.В. Содержание хамазулена в эфирном масле тысячелистника обыкновенного, произрастающего на различных почвах / Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта 2012. - № 7. С.33-37.
8. Дычко К.А., Рандалова Т.Э., Рыжова Г.Л., Хасанов В.В., Жигжитжапова С.В. Сравнительный анализ состава эфирных масел,

полученных гидродистилляцией, и эфирномасличной фракции со 2-экстракта *Artemisia sieversiana* и *Artemisia annua* / Химия растительного сырья 2013. - № 4. С.61-64.

9. Ефремов А. А. Метод исчерпывающей гидропародистилляции при получении эфирных масел дикорастущих растений / Успехи современного естествознания 2013. - № 7. С.88-94.

10. Кондратюк Т. А., Зыкова И. Д. Эфирные масла пряно-вкусовых растений / Успехи современного естествознания 2013. - № 9. С. 135-139.

11. Коваленко Н.А., Супиченко Г.Н., Леонтьев В.Н., Шутова А.Г., Кулинчик А. И. Компонентный состав эфирного масла *Salvia officinalis* из растительного сырья Республики Беларусь / Труды БГТУ. 2010. - № 4. Т 1. С. 34-38.

12. Мустафаев С.К., Смячагина С.Е., Пелипенко Т.В., Усов А.П., Калиенко Е.А. Изучение особенностей обезэфиренных плодов кориандра как сырья для отжима жирного масла путём прессования / Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского ГАУ 2015. - № 113 (09). С. 1-10.

13. Марко Н.В., Хлыпенко Л.А., Логвиненко Л.А. Ароматические растения семейства *Lamiaceae* для фитотерапии / Фармация и фармакология 2016.- № 4. С. 34-47.

14. Невзоров В. Н., Степень Р. А., Невзорова Т. В. Совершенствование производства получения пихтового масла / Вестник КрасГАУ 2014. - № 2. С. 192-197.

15. Нарчуганов А.Н., Ефремов А.А. . Количественное определение двух групп терпеновых соединений методом хромато-масс-спектрометрии / Химия растительного сырья 2013. - № 1. С. 125-128.

16. Писарев Д. И., Новиков О. О. Методы выделения и анализа эфирных масел / Научные ведомости Белгородского ГУ 2012. - № 10 (129). Т 18-2. С. 1-6.

17. Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Гайдукевич О.А., Ламоткин С.А. и др. ЯМР -анализ состава эфирных масел хвои ели обыкновенной в зависимости от атмосферного загрязнения районов Минска 2013. - № 3. С. 121-128.

18. Тигунцева Н.П., Евстафьев С.Н. Сравнительное исследование состава летучих с паром соединений одуванчика лекарственного (*Taraxacum Officinale*) /Вестник ИргТУ 2011. - №10 (57). С. 176-178.

19. Ткаченко К.Г. Эфирномасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы, современные тенденции изучения и применения / Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле» 2011. - №1. С. 88 -94 .

20. Ульяновский Н.В., Косяков Д.С., Покрышкин С.А., Боголицын К.Г., Ульяновская О.С. Изучение компонентного состава летучих веществ багульника болотного методом термодесорбционной газовой хромато-масс-спектрометрии / 2014. - № 4. С. 153- 161.

21. Шелепова О.В., Воронкова Т.В., Кондратьева В.В., Олехнович Л.С., Бидюкова Г.Ф. Влияние хранения сырья на качественный состав эфирного масла некоторых лекарственных растений /Научные ведомости Белгородского ГУ 2014. - № 23 (194). Выпуск 29. С. 129 -132 .