

А.С. Крвавич, М.С. Курка, В.П. Новіков

## ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ТА ТЕХНОЛОГІЯ ЕКСТРАКТІВ *GLADIOLUS IMBRICATUS*

Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів

В даній роботі вперше досліджений хімічний склад *G. imbricatus*. Опрацьована технологія одержання екстракту з різних частин рослини. Одержані в апараті Сокслета хлороформні екстракти досліджували, використовуючи метод газорідної хроматографії/мас-спектрометрії. Аналіз екстрактів показав присутність 21 сполуки, серед яких пальмітинова, лауринова, олеїнова кислоти, мірістин, ейкозан, піперазин, нонакозан, фарнезол, спермідин містяться в більшій кількості серед усіх ідентифікованих. Ці сполуки мають широке застосування у косметичній галузі – використовуються у якості пластифікаторів, стабілізаторів емульсій, у парфумерних композиціях. Нами була розроблена промислова технологія одержання комплексу БАР, враховуючи основні фактори впливу на повноту та швидкість екстрагування. Для вилучення максимальної кількості БАР обраний метод перколяції. Отриманий екстракт може слугувати цінною сировиною для виготовлення препаратів косметичної та фармацевтичної промисловості.

**Ключові слова:** хромато-мас-спектрометрія, хімічний склад, *G. imbricatus*, технологія екстрактів, косметичні препарати.

### Вступ

Цілеспрямований пошук біологічно активних сполук (БАР), вивчення їх фізико-хімічних характеристик та механізму їх дії є головним напрямком фітохімії, оскільки попит на БАР природного походження кожного року зростає. Це пояснюється тим, що такі сполуки мають низьку токсичність, максимальний терапевтичний ефект, можливість тривалого застосування, відсутність деяких побічних ефектів (звикання до лікування, токсичне навантаження на орган-мішень, алергія) притаманного багатьом речовинам синтетичного походження [1].

Хімічний склад *G. imbricatus* є малодослідженим. Відомо, що вони містять крохмаль, цукри, вітаміни, естерні олії та у меншій кількості флаваноїди. Листя містить велику кількість вітаміну С і мінерали. Рослина володіє бактерицидною, в'язучою, тонізуючою, заспокійливою діями [2].

Метою роботи було дослідити компонентний склад екстрактів *G. imbricatus* хромато-мас спектрометричним методом та розробити принципіву технологічну схему процесу екстракції. Хроматографічні методи є високочутливими, їх широко використовують в аналізі лікарської рослинної сировини завдяки універсальності, високій вибірковості й чутливості аналітичних визначень, що дає змогу визначати мікро- та

макрокількість різних БАР [3].

### Експериментальна частина

Для здійснення фітоскринінгу БАР *G. imbricatus* готували водні та спиртово-водні екстракти з сировини. Для цього попередньо подрібнену повітряно-суху сировину екстрагували в апараті Сокслета з різними екстрагентами. В якості екстрагенту використовували воду очищену та водно-спиртові суміші різної концентрації спирту етилового. Екстракцію проводили протягом бгод (кожна екстракція) при співвідношенні сировина екстрагент 1:10. При вивченні технології отримання екстрактів *G. imbricatus* експериментальним шляхом було досліджено залежність виходу екстрактивних речовин та суми флавоноїдів від екстрагенту. Вихід екстрактивних речовин визначали за методикою ДФ СРСР XI видання [4]. Для порівняльного аналізу суми флавоноїдів в одержаних екстрактах застосовували метод фотоколориметрії за ступенем комплексоутворення з хлоридом алюмінію [5].

Компонентний склад БАР хлороформних екстрактів визначали хромато-мас спектрометричним методом на хроматографі Agilent Technology HP6890 GC з мас-спектрометричним детектором 5973N. Компоненти розділяли на кварцовій капілярній колонці фірми HP довжиною 30 м та внутрішнім діаметром 0,32 мм, товщина

шару 0,25 мкм. Газ-носії – гелій. Швидкість руху газу-носія 2,0 мл/хв. Температура детектора та випаровувача 280°C. БАР ідентифікували, порівнюючи отримані мас-спектри з даними бібліотеки NIST 11.L. Схеми хроматограм екстрактів наведені на рис. 1–3.

#### Результати та їх обговорення

Отже, з отриманих даних бачимо, що найвищий вміст екстрактивних речовин та суми флавоноїдів вилучався 70%-вим етиловим спиртом (табл. 1).

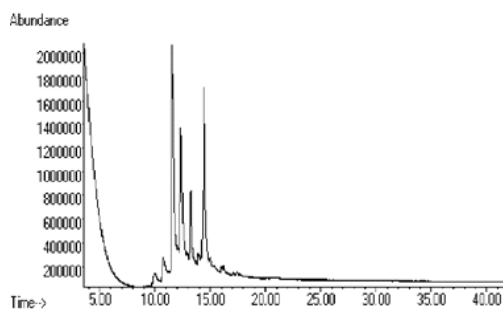
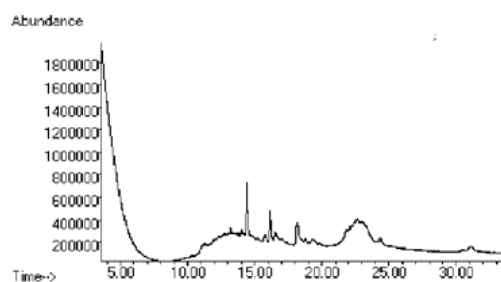
Таблиця 1

**Вихід екстрактивних речовин і суми флавоноїдів (в перерахунку на кверцетин) в залежності від виду екстрагенту**

Екстрагент	Вміст сполук у перерахунку на повітряно-суху сировину, %	
	Екстрактивні речовини	Сума флавоноїдів (в перерахунку на кверцетин)
Вода очищена	31,92±2,05	1,17±0,12
40%-спирт	33,43±2,12	3,34±0,11
50%-спирт	29,21±1,77	3,75±0,14
60%-спирт	29,86±1,75	5,31±0,18
70%-спирт	34,93±3,02	8,73±0,17
80%-спирт	32,96±1,30	4,61±0,20
96%-спирт	19,47±1,57	2,86±0,19

Серед БАР, що містяться в екстракті квітів *G. imbricatus* методом газорідинної хроматографії ідентифіковано 9 сполук, в основному надані вуглеводами та жирними кислотами (табл. 2). На хроматограмі хлороформного екстракту трави *G. imbricatus*, знайдено 14 та ідентифіковано 12 сполук, які надані вуглеводами, жирними кислотами та похідними терпеноїдів (табл. 3). Серед БАР, що містяться в екстракті бульбоцибулин *G. imbricatus* ідентифіковано 5 сполук – вуг-

леводні, аміни та жирні кислоти (табл. 4).

Рис. 1. Хроматограма екстракту квітів *G. imbricatus*Рис. 2. Хроматограма екстракту трави *G. imbricatus*

Доцільно пов'язати фармакологічну властивість рослини з її хімічним складом. Так, в'язучу, тонізуючу та заспокійливу дії екстракту *G. imbricatus* можна пояснити присутністю в ньому жирних кислот, таких, як олеїнова, лауринова, лінолеаїдинова, пальмітинова та міристину [6]. Ейкозан застосовується в косметичній промисловості як пластифікатор, диспергує пігменти і утримує вологу в шкірі [7]. Отже, можна констатувати біологічну цінність екстрактів *G. imbricatus* та прогнозувати їх використання в якості косметичних препаратів. Для цього нами було розроблено принципову технологічну схему одержання екстракту *G. imbricatus* (рис. 4).

Таблиця 2

#### Компонентний склад екстракту квітів *G. imbricatus*

№ з/п	Назва сполуки	Формула	Характеристика		Кількість, % від суми всіх речовин
			MW	t <sub>R</sub> , хв	
Жирні кислоти					
1	Пальмітинова кислота	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	414	13,209	10,8%
2	Лауринова кислота	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	274	11,522	29,0%
3	Міристин	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>6</sub>	386		19,8%
Терпени					
4	(2S,3R)-2-децил-3-(5-метилгексил)оксиран	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O	282	17,399	3,3%
Вуглеводні					
5	Ейкозан	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	16,193	3,4%
6	1-[п-Бромобеніл]-4-нітро-1,3-бугадієн	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> BrNO <sub>2</sub>	253	13,910	2,6%
7	1,2-біс(гексилокси)-4-нітро бензин	C <sub>18</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>4</sub>	323	10,760	5,1%
8	Піперазин	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>	282	9,947	3,0%
9	Нонакозан	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	14,415	22,5%

Компонентний склад екстрактів надземної частини *G. Imbricatus*

№ з/п	Назва сполуки	Формула	Характеристика		Кількість, % від суми всіх речовин
			MW	t <sub>R</sub> , хв	
Спирти					
1	2-гексидеканол-1-ол	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	18,763	2,7%
Жирні кислоти					
2	Лауринова кислота	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	274	11,52	4,1%
3	Лінолеаїдінова кислота	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	354	22,636	44,8%
4	Трибутил ацетил цитрат	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>8</sub>	402	11,333	5,4%
5	Олеїнова кислота	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	31,058	4,1%
Терпени					
6	Фарнезол (3,7,11-триметилдодека-2,6,10-триен-1-ол)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	13,986	4,6%
Вуглеводні					
7	Нонакозан	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	14,408	3,8%
8	1,9-ейкозадієн	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>	278	18,168	9,0%
9	1,13-тетра декадієн	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub>	194	15,726	3,1%
10	1-нонадецен	C <sub>14</sub> H <sub>38</sub>	266	16,570	4,4%
11	Ейкозан	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	16,148	5,9%
12	Інден	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub>	264	24,301	4,0%
13	Нонадекан	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	282	13,187	4,1%

Компонентний склад екстрактів бульбоцибулин *G. Imbricatus*

№ з/п	Назва сполуки	Формула	Характеристика		Кількість, % від суми всіх речовин
			MW	t <sub>R</sub> , хв	
Аміни					
1	N-(3-амінопропіл)-1,4-бутандіамін (спермідин)	C <sub>7</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub>	145	11,356	8,1%
Вуглеводні					
2	Ейкозан	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	13,240	25,8%
3	Октадецен-1-сульфоніл хлорид	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> ClO <sub>2</sub> S	352	16,194	18,4%
Жирні кислоти					
4	Транс-9-тетрадеканова кислота	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	18,236	10,2%
5	Z-7-тетрадеканова кислота	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	226	23,329	15,8%

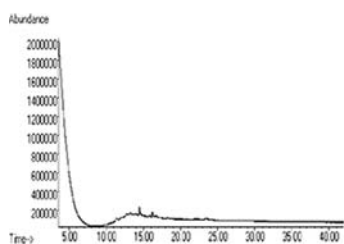
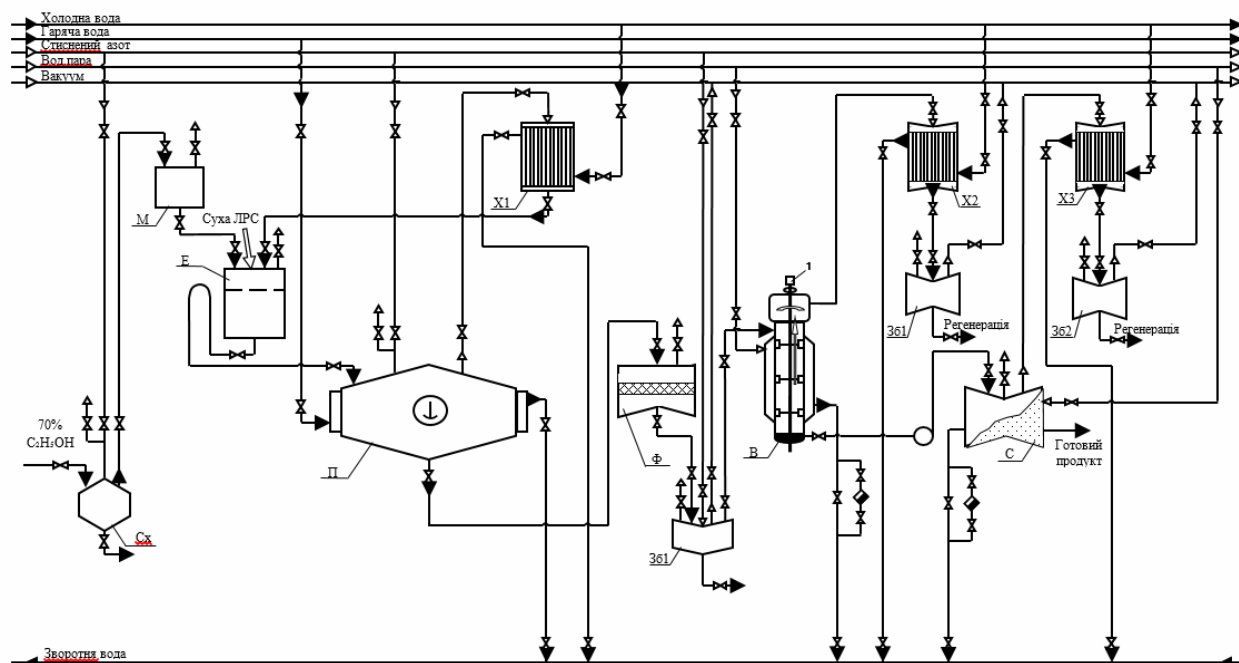


Рис. 3. Хроматограма екстракту бульбоцибулин *G. Imbricatus*

Сировину завантажують в екстрактор Е і заливають екстрагентом із сховища Сх через мірник М.

Після закінчення настоювання сировини, із сховища Сх в екстрактор Е подають екстрагент, звідки рідина переливається в перегонний куб П. Після цього перегонний куб П починають нагрівати. Циркуляція екстрагента проводиться багатократно до повного виснаження сировини.

Одержаний екстракт подають за допомогою стисненого азоту у нутч-фільтр Ф. Профільтрований екстракт поступає у збірник ЗБ1, який працює під вакуумом і під тиском. Після закінчення фільтрування фільтрат із збірника ЗБ1 стисненим азотом подають у вакуум-ротаторний випарник В.

Рис. 4. Технологічна схема одержання екстракту *G. imbricatus*

Екстракт надходить у верхню частину випарної труби, утворюючи рівномірну плівку. Це відбувається за допомогою електричної мішалки, яка обертається за допомогою електродвигуна 1. Екстра-пара надходить в сепаратор, в якому за рахунок зменшення швидкості руху пари і за допомогою відбивача, відбувається відділення захоплених краплин рідини від пари.

Пара екстрагенту конденсується в холодильнику X2, конденсат збирається в збірнику 362. Згущений екстракт подають на сушіння у вакуумну сушарку С. Готовий продукт поступає на подальше перероблення [8].

#### Висновки

Вперше досліджено хімічний склад *G. imbricatus*. Хромато-мас-спектрометричним методом визначено компонентний склад екстрактів *G. imbricatus*. Ідентифіковані сполуки належать до таких класів БАР: вуглеводні, жирні кислоти, спирти, терпени та аміни.

Оптимізовано умови екстрагування (метод безперервної екстракції в апараті Сокслета, екстрагент 70%-вий спирт етиловий, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, час одного екстрагування - бгод, вихід екстракту надземної частини *G. imbricatus* становив 19–35%).

Розроблено технологічну схему одержання екстракту *G. imbricatus*. Дана технологічна схема виробництва – контрольована і автоматизована, що забезпечує вихід якісного продукту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Chemometric Profile of Root Extracts of Rhodiola*

*imbricata* Edgew. with Hyphenated Gas Chromatography Mass Spectrometric Technique / Amol B. Tayade, Priyanka Dhar, Jatinder Kumar [et al.] // PLOS ONE. – 2013. – Vol.8. – № 1. – P.52797.

2. Кравич А.С., Конечна Р.Т., Новіков В.П. Вивчення біологічно активних речовин косариків черепитчастих (*Gladiolus imbricatus*) // Вісник НУ «Львівська політехніка». Сер. Хімія, технологія речовин та їх застосування. – Львів: Вид-во Львівської політехніки. – 2014. – № 787. – С.217-220.

3. Direct resistively heated column gas chromatography (Ultrafast module-GC) for high-speed analysis of essential oils of differing complexities / C. Bicchi, C. Brunelli, C. Cordero [et al.] // J. Chromatogr. A. – 2004. – Vol.1024. – № 1-2. – P.195-207.

4. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 2. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – 400с.

5. Державна Фармакопея України. Доповнення 2. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

6. Литвиненко Т.М. Сучасний стан асортименту супозиторних основ і фактори їх вибору // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2014. – № 1(14). – С.35-38.

7. Ryth Winter. A consumer's dictionary of cosmetic ingredients. – New York, 2009. – 565 p.

8. Сидоров Ю.І., Вязло Р.Й., Новіков В.П. Процеси і апарати мікробіологічної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування вир-в. Навч. посібник. – Львів: Вид-во НУ «ЛП», 2004. – 296 с.

Надійшла до редакції 06.05.2015

CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY STUDIES  
AND TECHNOLOGY OF EXTRACTS OF *GLADIOLUS*  
*IMBRICATUS*

A.S. Kravych, M.S. Kyrka, V.P. Novikov

Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

In this work, we investigated the chemical composition of *Gladiolus imbricatus*. The procedures of extracts preparation from different parts of the plant were developed. Chloroform extracts obtained in Soxhlet's apparatus were investigated using the method of gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The analysis of extracts revealed the presence of 21 compounds; among them palmitic acid, lauric acid, oleic acid, myristin, eicosane, piperazine, nonacosane, farnesol, and spermidine were found to be present in the largest amounts. The identified compounds have a wide application in the cosmetic industry. They are used as plasticizers, emulsion stabilizers, and constituents in perfumery compositions. We have developed an industrial technology for producing the complex of biologically active substances (BAS) considering the main factors affecting the completeness and rate of the extraction. The percolation method was chosen to achieve the extraction of the maximum amount of BAS. The obtained extract may be used as a valuable raw material for the manufacturing of cosmetics and drugs.

**Keywords:** chromatography-mass spectrometry; chemical composition; *Gladiolus imbricatus*; technology; extracts; cosmetics.

REFERENCES

1. Tayade A.B., Dhar P., Kumar J., Sharma M., Chauhan R.S., Chaurasia O.P., Srivastava R.B. Chemometric profile of root extracts of *Rhodiola imbricata* Edgew. with hyphenated gas chromatography mass spectrometric technique. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. e52797. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3542346/>.
2. Kravych A.S., Konechna R.T., Novikov V.P. Vyvchenia biologichno actyvnyh rehovyn kosarykiv cherepytchastyh (*Gladiolus imbricatus*) [Study on biologically active substances of *Gladiolus imbricatus*]. *Visnyk «Lviv Polytechnic»*, 2014, no. 787, pp. 217-220 (in Ukrainian).
3. Bicchi C., Brunelli C., Cordero C., Rubiolo P., Galli M., Sironi A. Direct resistively heated column gas chromatography (Ultrafast module-GC) for high-speed analysis of essential oils of differing complexities. *Journal of Chromatography A*, 2004, vol. 1024, no. 1-2, pp. 195-207.
4. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR* [State-owned Pharmacopoeia of USSR]. Medicinal herbs, MZ USSR Publishers, Moscow, 1989. 400 p. (in Russian).
5. *Derzhavna farmakopeya Ukrainy* [State-owned Pharmacopoeia of Ukraine]. Derzhavne pidpriemstvo «NPC» Publishers, Kharkiv, 2008. 620 p. (in Ukrainian).
6. Litvinenko T.M. Suchasnyi stan asortymentu supozytornuch osnov i factory ikh vyboru [Current status range of suppository bases and factors of their choice]. *Actual Questions of Pharmaceutical and Medical Science and Practice*, 2014, no. 1(14), pp. 35-38. (in Ukrainian).
7. Winter R., *A consumer's dictionary of cosmetic ingredients*. Random House, Inc., New York, 2009. 565 p.
8. Sidorov Y.I., Vlyazlo R.Y., Novikov V.P., *Protsessy i aparaty mikrobiologichnoi promyslovosti. Technologichni rozrachunky. Pryklady i zadachi* [Processes and apparatus of microbiological industries: Technological calculations, examples and tasks]. Intellect-Zachid Publishers, Lviv, 2008. 736 p. (in Ukrainian).