

УДК 547.913:543.51:543.54

## ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ КОМПОНЕНТОВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ (НА ПРИМЕРЕ PELARGONIUM ROSEUM)

В. А. ЗАМУРЕЕНКО, Н. А. КЛЮЕВ, Л. Б. ДМИТРИЕВ, И. И. ГРАНДБЕРГ

(Кафедра органической химии)

Определение состава и строения сложных многокомпонентных смесей, таких как эфирные масла, представляет собой трудную аналитическую задачу. Использование для этой цели хромато-масс-спектрометрии значительно упрощает и ускоряет ее решение. До недавнего времени применение данного метода сдерживалось из-за отсутствия библиотек масс-спектров индивидуальных соединений терпенового и сесквитерпенового ряда, являющихся основной составной частью большинства эфирных масел [1, 2]. К настоящему моменту в доступных масс-спектрометрических каталогах [6, 7, 10] и литературных источниках можно найти более 250 соединений, относящихся к классу терпенов, и около 200 соединений сесквитерпенового ряда. Эти данные дают возможность интерпретировать большинство компонентов эфирных масел. Ранее [4, 5] нами уже была проведена идентификация компонентов эфирных масел *Heracleum Calchareum* и *Pogostemon Plectrantoides* с привлечением литературных данных. Однако методический вопрос о правомерности их использования не был решен. В этой связи целью данной работы является корректное обоснование возможности использования литературных источников для идентификации указанных классов соединений в составе эфирных масел при хромато-масс-спектрометрическом исследовании.

Прежде всего необходимо было решить следующие аналитические задачи: во-первых, оценить воспроизводимость масс-спектров индивидуальных соединений, полученных на обычном приборе в различное время, и, во-вторых, провести аналогичную оценку на различных приборах с одинаковым способом ионизации (электронный удар).

В табл. 1 на примере  $\alpha$ -пинена и цитронеллола показана воспроизводимость результатов, полученных на приборе IMS-01-SG-2 в течение одного месяца. Во втором столбце табл. 1 даны средние арифметические значения интенсивности пиков ионов соответствующего массового числа, полученные из 6 независимых измерений. Интенсивности пиков ионов нормированы относительно максимального пика в спектре. Средняя относительная ошибка измерения по всем пикам ионов, имеющих в спектрах, для  $\alpha$ -пинена и для цитронеллола составляет около 5%, что находится в пределах ошибок, обычных для масс-спектрометрических исследований в аналитических целях. Аналогичная ошибка была получена при сопоставлении интенсивностей пиков ионов, нормированных к полному ионному току.

Дополнительным критерием оценки результатов, приведенных в табл. 1, может служить коэффициент корреляции  $R$ , полученный при сравнении регистрируемого масс-спектра, снятого в различное время,

Воспроизводимость масс-спектров

Таблица 1

α-пинен				Цитронеллол			
массовое число (m/e)	J/J <sub>max</sub>	абсолютная ошибка J	относительная ошибка, %	массовое число (m/e)	J/J <sub>max</sub>	абсолютная ошибка J	относительная ошибка, %
40	3,8	0,3	8,8	40	34	4,3	12,5
41	27,4	1,4	5,1	41	1000		
42	1,3	0,2	16	42	88	1,7	1,9
43	9,9	0,8	8,6	43	195	6,8	3,5
50	2,3	0,2	9,4	45	24	2,2	9,3
51	8,4	0,2	2,5	53	100	6,3	6,3
52	3,1	0,2	6,8	55	511	27,7	5,4
53	11,9	0,8	7,1	56	244	14,8	6,1
55	8,2	0,2	2,6	57	112	8,6	7,7
63	2,5	0,3	13,3	67	451	16,2	3,6
65	8,2	0,2	2,6	68	223	12	5,4
66	1,8	0,2	11,6	69	863	49,9	5,8
67	10,6	0,6	5,6	70	138	9,9	7,3
68	7,2	0,2	2,9	71	210	12,8	6,1
77	34,9	0,8	2,4	81	400	19,1	4,8
78	5,9	0,3	5,7	82	379	23,3	6,1
79	30,5	0,4	1,4	83	98	8,6	8,7
80	10,3	0,5	5,3	95	288	13,8	4,8
81	4,3	0,2	5,0	96	55	2,0	3,7
91	44,3	2,6	5,9	109	103	7,2	7,0
92	38,3	1,8	4,9	110	28	3,7	13,2
93	100,0	3,4	3,4	123	133	12,2	9,2
94	9,6	0,2	2,2	138	50	3,4	6,7
103	1,7	0,3	20,0	156	32	2,4	7,4
105	10,4	0,5	5,4				
106	2,8	0,2	7,5				
107	5,5	0,3	6,1				
119	1,7	0,3	20,0				
121	12,7	1,3	10,0				
136	5,4	0,5	9,5				

со средним. Коэффициент корреляции для α-пинена составляет 0,98—0,99, для цитронеллола — 0,97—0,99.

Как следует из данных табл. 1, основную погрешность в значение средней ошибки вносят малоинтенсивные пики, которые, как правило, не используются в аналитических целях. В этой связи казалась оправданной применяемая нами ранее [4, 5] методика использования только наиболее интенсивных пиков при идентификации соединений.

В табл. 2 представлены данные по 10 наиболее интенсивным пикам α-пинена, полученные на различных масс-спектрометрах при одинако-

Таблица 2

Сравнение масс-спектров\* α-пинена (интенсивность иона, % от J<sub>max</sub>)

№	Массовое число иона (m/e)										Коеффициент корреляции R	Прибор или лит. источник
	93	92	41	77	91	79	121	53	80	136		
1	100,0	36,0	25,6	32,8	41,6	26,8	12,0	12,0	10,0	5,2	1,0	JMS-01-SG-2
2	100,0	34,7	35,5	29,8	35,5	20,3	11,2	11,8	9,7	5,7	0,98	Finnigan
3	100,0	34,5	27,7	30,8	37,4	33,0	10,2	12,1	10,6	7,5	0,96	LKB-900
4	100,0	35,6	24,5	34,0	39,7	25,8	9,2	11,1	10,7	3,7	0,99	Varian MAT-112
5	100,0	30,0	14,0	22,0	24,0	17,0	14,0	7,0	8,5	8,0	0,97	[6]
6	100,0	29,7	23,2	22,1	21,2	17,7	13,2	10,5	9,8	8,1	0,96	[7]

\* 10 интенсивных пиков.

вых энергиях ионизирующих электронов (70 эВ) и взятые из каталога. Коэффициент корреляции, рассчитанный относительно полученного нами масс-спектра, находится в пределах 0,96—0,99. Средняя ошибка составляет 15% отн. Данные табл. 2 дают основание считать, что использование литературного материала при идентификации соединений типа терпенов и сесквитерпенов оправданно и корректно.

Таблица 3

Сравнение интенсивности ионов в % от  $J_{\max}$  по масс-спектрам  $\alpha$ -пинена и изомерных монотерпенов (данные из каталога [6], масс-спектр пинена взят из табл. 1)

Соединение	Массовое число иона (m/e)										R
	93	92	41	77	91	79	121	53	80	136	
$\alpha$ -пинен	100	38	27	35	44	30	13	12	10	5	1
$\beta$ -пинен	100	—	40	17	15	18	10	—	10	9	0,866
Камфен	100	11	33	21	24	38	71	14	12	17	0,676
Сабинен	100	13	19	28	25	19	—	—	8	12	0,954
$\alpha$ -туйен	100	28	10	31	32	9	—	—	—	8	0,976
$\Delta^3$ -карен	100	20	16	23	26	22	19	—	17	18	0,928
Лимонен	47	13	29	14	12	22	17	25	—	20	0,662
Фелландрен	100	22	—	22	31	5	5	—	—	18	0,933
Терпинолен	100	—	43	37	41	42	98	22	—	74	0,359
Мирцен	100	—	98	12	11	14	—	11	7	—	0,653

После решения поставленных аналитических задач оставался открытым вопрос, связанный с выяснением надежности, с которой хромато-масс-спектрометрический метод позволяет производить идентификацию изомерных соединений при выборе ограниченного числа (5—10) пиков ионов в масс-спектре (например, различать линейные, моноциклические и бициклические монотерпены). Как видно из табл. 3, на основании 10 пиков характеристических ионов можно легко идентифицировать каждое из указанных соединений, весьма близких по структуре. Из табл. 3 также следует, что число характеристических пиков может быть сокращено в ряде случаев даже до 2. Например, при сравнении  $\alpha$ - и  $\beta$ -пиненов могут быть использованы пики ионов с молекулярной массой 93 и 92. При отсутствии больших различий в интенсивности выбранных пиков ионов можно использовать другой набор характеристических пиков. Коэффициенты корреляции  $R$ , приведенные в табл. 3, рассчитаны относительно  $\alpha$ -пинена. Необходимо отметить, что величина  $R$  не всегда является достаточно надежным критерием идентификации соединений. Так, коэффициенты корреляции для сабинена и  $\alpha$ -туйена более 0,95 (т. е. взятый набор характеристических пиков ионов не позволяет сделать выбор между этими терпенами и  $\alpha$ -пиненом). Однако функция  $R$  в данном случае дает возможность значительно сузить круг вероятных поисковых моделей при идентификации (до трех вероятных структур), и дальнейшее более детальное рассмотрение масс-спектров отобранных соединений приводит к однозначному ответу.

Найденные нами аналитические критерии дают основание считать правомочным использование литературных данных по масс-спектрам рассматриваемых классов соединений для их структурной идентификации.

Апробацию предлагаемых способов идентификации компонентов в составе эфирных масел мы провели на примере герани розовой (*Pelargonium roseum*). Образец эфирного масла герани был нам любезно предоставлен сотрудниками Сухумской опытной станции эфиромасличных культур, где он исследовался классическими методами [3]. Выбор данного образца объясняется тем, что эфирное масло герани розовой является одним из основных ингредиентов при составлении искусственной

компоненты заменителей розового масла. Кроме того, этот вид герани менее изучен по сравнению с другими видами [3, 8, 9]. Несмотря на значительную разноречивость имеющихся сведений о герани розовой, нам в какой-то степени удалось сопоставить полученные нами экспериментальные данные с имеющимися в литературе.

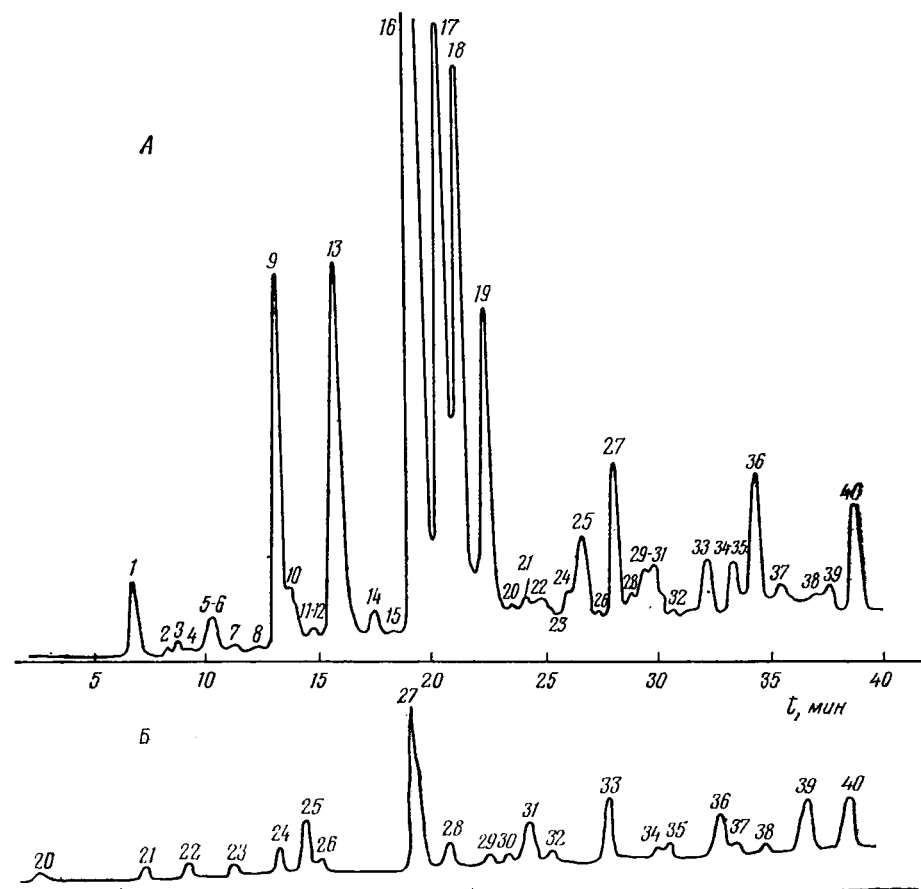
Первоначально были получены общие физико-химические характеристики масла герани розовой, которые использовались для предварительной групповой оценки его состава. По данным элементного анализа, содержание С в масле составляет 76,5%, Н — 11,9, N — 0,8, O — 10,8%. В УФ-спектре отмечены максимумы полос поглощения в области 210 и 245 нм, что характерно для алканов, алкенов и спиртов. В ИК-спектре смеси имеются следующие полосы поглощения ( $\text{см}^{-1}$ ): 3380 (широкая, сильная) — отнесенная к колебаниям ассоциированной гидроксильной группы; полосы 2970, 2935, 2880 — характеризующие валентные колебания  $\text{СН}_3$  и  $\text{СН}_2$  групп; 1710 — определяющая наличие  $\text{С=O}$  групп; 1660 — характеризующая валентные колебания  $\text{С=C}$  двойных связей. Поглощение в области 1440 и 1380  $\text{см}^{-1}$  обусловлено валентными и деформационными колебаниями  $\text{С—Н}$  связи метильных и метиленовых групп. Полосы 1170, 1110, 1060  $\text{см}^{-1}$  характеризуют наличие простой эфирной группировки. Эти данные дают возможность предположить, что в смеси содержатся углеводороды, спирты, эфиры и карбонильные соединения терпенового и сесквитерпенового рядов. Однако совокупность приведенных данных не позволяет даже приблизительно охарактеризовать состав масла.

Принципы идентификации обсуждались ранее [4, 5] и оставлены нами в основном без изменений. Усовершенствованием, внесенным в данную методику, было получение масс-спектров как при 70 эВ, так и при низкой энергии ионизирующих электронов — 15 эВ.

Низковольтная масс-спектрометрия применялась нами прежде всего для фиксирования молекулярной массы ( $\text{M}^+$ ) соединений, предполагаемых в смеси спиртов и эфиров, имеющих  $\text{M}^+$  весьма низкой интенсивности. В настоящей работе мы не оценивали изотопное распределение для пиков ионов  $\text{M}^+$ ,  $(\text{M}+1)^+$  и  $(\text{M}+2)^+$ . Был использован более мощный метод — масс-спектрометрия высокого разрешения с прямым вводом смеси в источник ионов. При этом получены синглетные пики ионов для следующих соединений ( $m/e$ ): 136, 1255, что соответствует брутто-формуле  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$  (136, 1252); 152, 1179 —  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ ; 154, 1368 —  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ ; 156, 1493 —  $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$ ; 182, 1303 —  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}$ ; 184, 1463 —  $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}$ ; 204, 1873 —  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ . Это позволило нам получить в одном эксперименте брутто-формулы для  $\text{M}^+$  всех идентифицируемых компонентов масла. Детальная информация о составе смеси и строении ее компонентов получена на основании результатов хромато-масс-спектрометрии.

На рисунке (А) приведена хроматограмма герани розовой, полученная на набивной колонке (жидкая фаза OV-1, 3%, носитель Gas-Chrom Q). Детектирование выходящих из хроматографической колонки соединений осуществлялось либо с помощью пламенно-ионизационного детектора для количественных характеристик, либо по изменению полного ионного тока при съемке масс-спектров. Цифры на хроматограмме указывают порядковый номер компонента смеси. Интерпретация масс-спектров для соединений 1—40 (см. рисунок) проводилась путем сопоставления данных с известными спектрами, приведенными в каталогах [6, 7, 10] и в ряде работ [8, 9], а также в отдельных случаях с масс-спектрами модельных соединений<sup>1</sup>. Методика обработки масс-спектров изложена выше и в сообщении [3].

<sup>1</sup> Нами также учитывались особенности фрагментации рассматриваемых соединений в зависимости от их принадлежности к определенному классу соединений — спирты, кетоны, эфиры и т. д.



Хроматограмма эфирного масла герани розовой.

А — на набивной колонке; Б — участок хроматограммы, полученный на капиллярной колонке.

В табл. 4 представлены данные по идентификации компонентов герани розовой. Как видно из таблицы, большинство пиков строго идентифицировано. Ряд пиков идентифицирован нами предположительно, поскольку их масс-спектры не описываются в литературе, хотя гарантирован их брутто-состав, а характер фрагментации позволяет отнести их к классу сесквитерпенов. Сопоставление результатов проведенного анализа герани розовой с результатами исследований других видов герани [8, 9] показало наличие большого количества компонентов из числа сесквитерпенов (17,3%). Японские авторы [9] также отмечают присутствие сесквитерпенов в эфирном масле *geranium oil Seto bourbon*, установленных с помощью метода масс-хроматографии (детектированием выбранных пиков ионов с  $m/e$  154, 156, 184, 202, 204). Однако эти соединения не были ими идентифицированы. Следует отметить, что колонка с жидкой фазой ПЭГ-20М, широко используемая при анализе эфирных масел и действительно эффективная для разделения монотерпеноидов, практически не пригодна для анализа сесквитерпеновых углеводородов, выходящих при этом совместно с монотерпеноидами. Мы старались контролировать индивидуальность хроматографических пиков. В некоторых случаях (отмеченных на хроматограмме 1, А сдвоенными цифрами) детальный анализ масс-спектров показал неполное разделение хроматографического пика. Более полное разделение анализируемого масла было получено при использовании капиллярной колонки (жид-

Качественный и количественный состав  
эфирного масла герани розовой

Порядковый номер соединения на хроматограмме	Соединение	Молекулярная масса	Время удерживания, мин	Содержание, %
1	$\alpha$ -пинен	136	6,8	0,9
2	Мирцен	136	8,4	0,1
3	$\beta$ -пинен	136	8,8	0,2
4	$\alpha$ -фелландрен	136	9,8	0,1
5	Монотерпен	136	10,4	0,1
6	Лимонен	136	10,4	0,5
7	$\gamma$ -терпинен	136	11,4	0,2
8	$\alpha$ -терпиноден	136	12,7	0,2
9	Линалоол	154	13,2	7,3
10	Rosa oxid	154	13,7	0,4
11	Гераниол	152	14,6	0,2
12	Цитронеллаль	154	14,6	0,2
13	Ментон	154	15,9	10,8
14	$\alpha$ -терпинеол	154	16,6	0,2
15	Изоментон	154	16,6	0,2
16	Цитронеллол	156	19,5	24,4
17	Гераниол	154	20,6	15,2
18	Цитронеол формиат	184	21,4	12,3
19	Геранил формиат	182	22,5	7,0
20	Сложный эфир	182	23,5	0,4
21	Сесквитерпен	204	24,2	0,9
22	»	204	24,9	0,3
23	Лонгифолен	204	24,9	0,3
24	Сесквитерпен	204	26,7	0,8
25	Гургунен	204	26,8	1,6
26	Сесквитерпен	204	26,8	0,1
27	$\beta$ -кариофилен	204	28,2	3,1
28	Кариофилен (изомер)	204	28,8	0,4
29,30	Сесквитерпены	204	29,6	0,9
31	$\beta$ -фарнезен	204	29,9	0,7
32	Сесквитерпен	204	30,3	0,1
33	$\beta$ -бизаболен	204	32,3	1,4
34,35	Сесквитерпены	204	33,5	1,0
36	Сесквитерпен	204	34,5	4,3
37	»	204	35,5	0,7
38	»	204	36,6	0,3
39	Сесквитерпеновый кетон	220	37,8	0,4
40	Строение не установлено	292	38,9	1,8

кая фаза SE-30). Отдельный участок этой хроматограммы приведен на рис. 1, Б. Нумерация пиков соответствует нумерации на хроматограмме рис. 1, А. Использование капиллярной колонки позволило нам идентифицировать пики 6, 10, 11, 12 и получить масс-спектры индивидуальных соединений для хроматографических пиков 20—40.

При определении количественного состава эфирного масла герани розовой, по данным ГЖХ, мы не имели возможности установить коэффициенты чувствительности для каждого индивидуального соединения. Так же, как и в работе [5], мы приняли коэффициенты внутри каждой группы соединений равными, общий групповой коэффициент определяли по одному-двум представителям каждой группы<sup>2</sup>.

В состав изучавшегося нами образца эфирного масла в основном входят терпены — 2,3% (из них идентифицировано 96%), их производные — кетоны, спирты, альдегиды — 58,9 (идентифицировано 100%),

<sup>2</sup> Расчет элементного состава смеси по результатам табл. 4 показывает, что содержание С составляет 78%, Н — 12 и О — 10%, что совпадает с данными элементного анализа.

эфирь терпениолов — 19,7% (идентифицировано 98%) и сесквитерпеноиды — 17,3% (идентифицировано 43%). В итоге нами структурно отнесены в исследованном эфирном масле соединения, составляющие 87,9% общего их количества. Таким образом, показано, что хромато-масс-спектрометрия является наиболее экспрессивным методом при анализе эфирных масел, гарантирующим надежность определения структуры входящих в них компонентов.

### Экспериментальная часть

Эфирное масло было выделено из целых растений *Pelargonium roseum* методом перегонки с паром, выход масла 0,3%.

УФ-спектр снимали на приборе EPS-3T фирмы Hitachi. ИК-спектр снят на приборе UR-20 в виде жидкой пленки ( $d=0,025$  см). Хроматографическое разделение проводили на хроматографе IGC-20K на стеклянной колонке длиной 2 м с внутренним диаметром 2 мм, жидкая фаза OV-1, нанесенная в количестве 3% на Gas Chrom Q (100—120 меш). Скорость газа-носителя (He) 30 мл/мин. Температура испарителя и детектора 200°. Температура колонки поддерживалась на уровне 60° в течение 5 мин после ввода пробы и далее линейно повышалась со скоростью 3° в 1 мин. Ввод пробы в количестве 0,1 мкл осуществлялся непосредственно на набивку колонки.

Масс-спектры снимали на приборе IMS-01-SG-2 (фирма Jeol). Ввод образцов газохроматографических фракций осуществляли через двойной гелиевый сепаратор. Условия съемки: ионизирующее напряжение 75 эВ, ток ионизации 250 мкА, температура источника 200°, температура гелиевого сепаратора 230°. Запись хроматограмм проводилась прибором полного ионного тока. Условия съемки масс-спектров высокого разрешения с использованием ввода смеси в источник ионов те же, что и в режиме хромато-масс-спектрометрии, за исключением температуры источника ионов, равной 50—150°. Масс-спектры с применением капиллярной колонки снимались на приборе Finnigan (30 м, жидкая фаза SE-30, начальная температура колонки 60°, программирование 4° в 1 мин).

Площадь хроматографических пиков определяли по пламенно-ионизационному детектору с использованием электронного интегратора TP-2215A (Takeda Riken) при компенсации нулевой линии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Горяев М., Плива И. Методы исследования эфирных масел. М., «Пищевая промышленность», 1962. — 2. Демьянов Н. Я., Нилов В. И., Вильямс В. В. Эфирные масла. М.—Л., Госиздат, 1930. — 3. Иванова Л. Н., Гогия В. Т. Состав эфирного масла *Pelargonium capitatum*. Тр. Сухумской оп. ст. эфиромасл. культур, 1971, № 10, с. 151—163. — 4. Ключев Н. А., Дмитриев Л. Б., Эсванджия Г. А., Грандберг И. И. Исследование строения и состава эфирных компонентов в *Hebeclaeum calchareum*. «Докл. ТСХА», 1977, вып. 228, с. 138. — 5. Эсванджия Г. А., Дмитриев Л. Б., Ключев Н. А., Грандберг

И. И. Изучение состава эфирного масла *Pogostemon plectranoides* с использованием метода хромато-масс-спектрометрии. «Иzv. ТСХА», 1977, вып. 5, с. 204—208. — 6. Atlas of Mass spectral Data, edit. Steuhagej E., Abrahamsson S., McLafferty F. W., N.-Y., L., Sydney, Toronto, 1969. — 7. Catalog of Mass spectral Data, American Petroleum Inst. Research Project, N 44. — 8. Masada Y. Analysis of essential oils by gas chromatography-mass-spectrometry. L., 1976. — 9. Ono Y., Tanaka S. «Bunseki Kagaku», 1975, vol. 24 (12), p. 776—780. — 10. Registry of Mass spectral Data, Edit. Steuhagen E. Abrahamsson S., McLafferty F. W., N.-Y., L., Sydney, Toronto, 1974.

*Статья поступила 4 сентября 1978 г.*

### SUMMARY

On the base of the analysis of the published data, the technique of chromat-mass-spectral identification of ether oils components has been developed. The composition of the ether oil from rose pelargonium has been established.