

Експрес-метод якісної оцінки деяких рослин на наявність у них проазуленів

ЧОРНОГОРОД ЛЮДМИЛА БОРИСІВНА
ВИНОГРАДОВ БОРИС ОЛЕКСІЙОВИЧ
РАБОТЯГОВ ВАЛЕРІЙ ДМИТРОВИЧ

CHERNOGOROD L.B., VINOGRADOV B.A., RABOTYAGOV V.D. 2005: **The express-method of a qualitative estimation of some plants on presence in them proazulenes.** *Chorn. Botan. Journ.*, vol. 1, № 1: 86-89.

The express-method of qualitative estimation of proazulenes in plants in the basis of microchemical reaction proazulenes with potassium metylate in a phosphoric acid (85 %) is offered. The results of study the proazulenes localization, and also changes of the contents chamazulene in essential oil of *Achillea collina* from a collection of Nikita botanical garden are given.

Keywords: essential oil, azulene, glandular hairs, Achillea collina.

Ключові слова: Ефірна олія, азулен, ефіроолійні залозки, Achillea collina.

Вступ

У складі ефірної олії деяких видів *Achillea* L. виявлені азулени, що додають ефірним оліям характерне забарвлення (темно-синє, фіолетове, червоно-фіолетове чи зелене, у залежності від концентрації). З літератури широко відомо, що азулени мають протизапальні, бактерицидні, антигістамінні властивості, завдяки чому вони використовуються в медицині, у харчовій і парфюмерно-косметичній промисловості [КОНОВАЛОВ, 1995].

Власне азулени не містяться в природних джерелах. Вони утворюються при паровому відгоні ефірних олій, а також деякими іншими методами [КОНОВАЛОВ, 1995]. Попередниками азуленів у рослинах є сесквітерпеноїди (сесквітерпенові спирти, лактони й ін.), що одержали назву проазуленів [РЫБАЛКО, 1978]. У багатьох літературних оглядах, присвячених вивченню азуленів, слабо висвітлені питання біогенезу, локалізації, динаміки нагромадження попередників азуленів у природних джерелах.

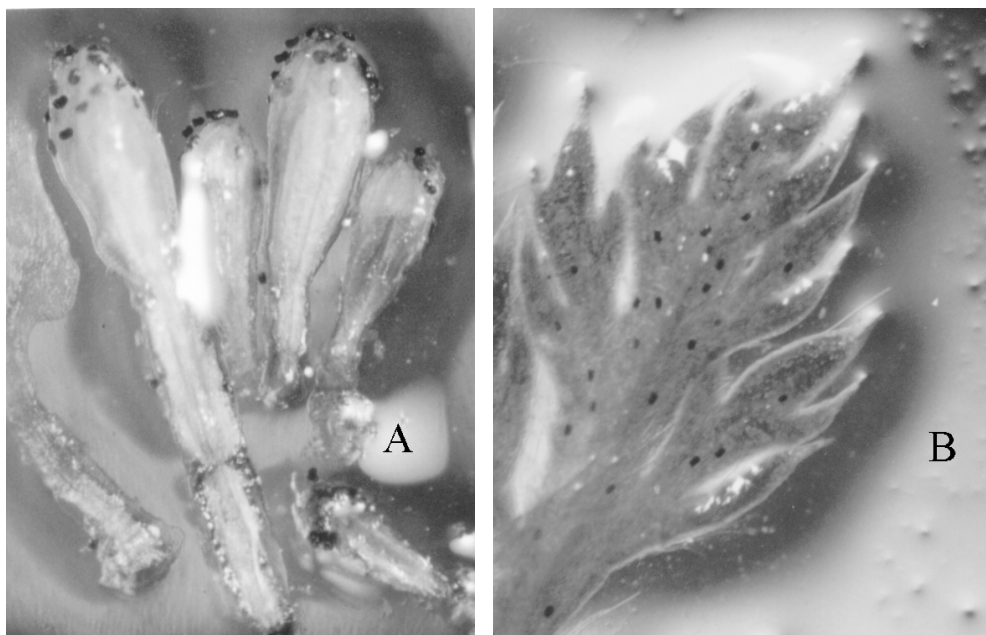
Для ідентифікації азуленів та їх попередників у рослинах існують сучасні фізичні і фізико-хімічні методи аналізу (хроматографічні, фотометричні, ЯМР і ін.). Усі вони потребують відповідної апаратури, ефірної олії досліджуваної рослини і виконуються протягом тривалого часу. Пропонований нами метод первинної оцінки рослинної сировини на наявність проазуленів досить простий, не вимагає складного обладнання і наявності ефірної олії. Метод базується на колірній реакції попередників азуленів з хімічним реагентом, у результаті якої відбувається перетворення проазуленів і утворення пофарбованих у фіолетовий колір азуленів. В основі даного мікрохімічного методу – запропонована в 1953 р. Шталем [СЫТНИК, АНДРОЩУК, КЛОКОВ и др., 1984] колірна реакція проазуленів з розчином метилата натрію в 85%-ній фосфорній кислоті (реактив Шталя).

Методика досліджень

Для приготування реактиву Шталя 0.2 г NaOH змішують з 10 мл метанолу і нагрівають до повного розчинення. Отриманий розчин випаровують майже насухо, осаджений при цьому метилат натрію розчиняють у 10 мл H_3PO_4 (конц.). На предметне скло поміщують 1-2 листки, чи бутон квітки досліджуваної рослини у свіжому або висушеному стані, взяті на будь-якій стадії розвитку рослини, й обробляють 1-2 краплями реактиву Шталя. Препарат витримують 2-3 хвилини над киплячою водяною банею, охолоджують і досліджують під мікроскопом.

Результати досліджень

За літературними даними ефірна олія, до складу якої входять проазулені, накопичується в ефіроолійних залозках. Вони складаються з 6-8 великих клітин, які розташовані у два ряди й утворюють голівку залозки, а також з 1-2 дрібних клітин, що складають ніжку залозки. Зверху всі клітини покриті суцільним шаром кутикули, яка у дорослих рослин має розірваний вигляд [ЧЕРНОГОРОД, РАБОТЯГОВ, ВІНОГРАДОВ, 2003]. При обробці реактивом Шталя відбувається мікрохімічна реакція фарбування ефіроолійних залозок у буро-фіолетовий колір, що свідчить про наявність проазуленів (Мал.1). За інтенсивністю фарбування можна судити про їхню концентрацію. Види деревію, які не містять проазуленів, показують негативну реакцію при обробці їхніх органів реактивом Шталя. Позитивним моментом даного методу є те, що реактив Шталя не руйнує рослинні тканини, і ефіроолійні залозки можна спостерігати в їхньому природному стані. Завдяки цьому, нам вдалося дослідити й описати порядок розташування ефіроолійних залозок, визначити їхні розміри і кількість у органах рослин *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. інтродукції Нікітського ботанічного саду.



Мал. 1 – Мікрофотографії локалізації ефіроолійних залозок із прохамазуленами в *Achillea collina*

А-трубчасті квітки (бутони); В-фрагмент листа (фаза вегетативного відростання).

Fig. 1. The microphotograf of chamazulenes glandular hairs localization in *Achillea collina*
А – fubular flowers (knops), В – piece of leaf (phase of vegetative regrowth)

Ми встановили залежність між кількістю ефіроолійних залозок і масовою часткою ефірної олії у сортозразків даного виду з високим вмістом хамазулена в ефірній олії (Табл.1).

Таблиця 1

Залежність між кількістю ефіролійних залозок і масовою часткою ефірної олії в сортозразках *Achillea collina* (n=15).

Dependence between quantity glandular hairs and mass share of essential oil at samples of *Achillea collina* (n=15)

Сорто зразок	Кількість залозок у суцвітті, шт.		Кількість залозок на 1мм листа, шт.		Масова частка ефірної олії, %	
	трубчасті квітки	язичкові квітки	верхня сторона	нижня сторона	від сирової маси	Від абс. сухої маси
12915	10.3 ± 1.6	5.5 ± 0.9	12.1 ± 2.1	5.3 ± 0.7	0.06 ± 0.01	0.20 ± 0.05
12915-47	23.1 ± 3.0	14.1 ± 1.8	20.2 ± 2.6	6.1 ± 1.2	0.16 ± 0.02	0.65 ± 0.31
12915-48	21.4 ± 2.7	12.3 ± 2.0	21.5 ± 2.6	10.2 ± 1.7	0.14 ± 0.02	0.43 ± 0.25
12915-50	20.9 ± 2.2	12.6 ± 1.9	23.0 ± 3.1	14.1 ± 1.9	0.15 ± 0.04	0.51 ± 0.23

Мікрохімічний метод використовувався нами також при вивченні біогенезу прохамазуленів протягом вегетаційного періоду *A. collina*. Сортозразки цього виду з високим вмістом хамазулену в ефірній олії (50-75% у перерахуванні на суху вагу) були виділені в процесі інтродукції в Никітському ботанічному саду методом індивідуального спрямованого добору [JENNINGS, SHIVAMOTO, 1980]. Застосування в дослідженнях експрес-методу на самих ранніх етапах розвитку рослин у нащадків доборів дозволило встановити, що прохамазулені з'являються вже на стадії перших справжніх листків. Для кількісного визначення хамазулена на стадії початку вегетації була отримана ефірна олія. Методом газорідної хроматографії [Stahl, 1953] досліджено її склад і вміст у ній хамазулену. Надалі аналіз ефірної олії на вміст хамазулену проводився протягом вегетаційного періоду *A. collina*, що дозволило простежити динаміку накопичення хамазулену (Табл.2).

Таблиця 2

Масова частка ефірної олії і динаміка вмісту в ньому хамазулену в *Achillea collina* протягом вегетаційного періоду (2003 р.).

Mass share of essential oil and changes of the content of chamazulene at *Achillea collina* during the vegetative period (in 2003)

Фаза розвитку	Дата аналізу	Масова частка ефірної олії, %		Вміст хамазулена, %
		від сирової маси	від сухої маси	
Вегетація	27.05.03	0.10	0.39	45.57
Початок бутонізації	9.06.03	0.15	0.43	40.83
Початок цвітіння	19.06.03	0.17	0.51	57.72
Масове цвітіння	5.07.03	0.15	0.36	51.53
Кінець цвітіння	18.07.03	0.14	0.29	42.00
Плодоношення	28.07.03	0.05	0.10	45.64

Експрес-метод визначення проазуленів був також випробуваний на інших видах рослин, що є природними джерелами азуленів. Позитивні результати були отримані при дослідженні рослинних органів *Matricaria chamomilla* L. та *Artemisia absinthium* L.

Висновки

Експрес-метод може бути рекомендований при первинній діагностиці рослин на вміст у них проазуленів. Він дозволяє виявити місця локалізації проазуленів безпосередньо в органах рослин, не порушуючи цілісності рослинної тканини і витрачаючи мінімальну кількість рослинного матеріалу. Отримання фарбованих препаратів при обробці рослин реактивом Шталя значно спростило процес опису ефіроолійних залозок, дозволило визначити їх кількість і розміри в різних органах *Achillea collina*, встановити залежність між кількістю ефіроолійних залозок і масовою часткою ефірної олії.

Список літератури

- КОНОВАЛОВ Д.А. Природные азулены // Раст. ресурсы. – 1995. – № 31, вып. 1. – С. 101-132.
РЫБАЛКО К.С. Природные сесквитерпеновые лактоны. – М.: Наука, 1978. – 286 с.
СЫТНИК К.А., АНДРОЩУК А.Ф., КЛОКОВ М.В. и др. Тысячелистники. – Киев: Наук. думка, 1984. – 272 с.
ЧЕРНОГОРОД Л.Б., РАБОТЯГОВ В.Д., ВИНОГРАДОВ Б.А. Динамика состава эфирного масла *Achillea collina* Beck. ex Reich. в процессе онтогенеза // Интродукция растений. – 2003. – № 3-4. – С. 127-132.
JENNINGS W., SHIBAMOTO T. Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. – N. Y.: Academic Press. 1980. – 380 с.
СТАНЛ Е. Contribution nouvelle al' *Achillea millefolium* L. // Inds. parfum. – 1953. – Vol. 8(12). – P. 450-451.

Рекомендує до друку
А. П. Орлюк

Отримано 20.04.2005.

Адреса авторів:

Л.Б.Черногород, Б.А.Виноградов,
В.Д.Работягов
Нікітський ботанічний сад – Національний
науковий центр УААН
98648, Ялта, АР Крим,
Україна
e-mail: nbs1812@ukr.net

Author's address:

L.B. Chernogorod, B.A. Vinogradov, V.D.
Rabotyagov
The Nikita Botanical Garden –
National Scientific Centre,
98648, Yalta, Crimea,
Ukraine
e-mail: nbs1812@ukr.net

