

ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ ҐРУНТУ З-ПІД БУКА ЛІСОВОГО (*FAGUS SILVATICA* L.)

Недостатнє вивчення хімічної природи рослинних виділень – один із факторів, що гальмують розвиток уявлень про роль найрізноманітніших за хімічним складом та біологічною активністю сполук, які поступають в навколишнє середовище у процесі життєдіяльності деревних порід.

Вивчення цього питання і стало метою наших досліджень. При визначенні хімічної природи екзометаболітів бука лісового застосовано модифікований нами метод газорідинної хроматографії.

Ключові слова: газорідинна хроматографія, екзометаболіти, бук лісовий, ґрунт.

Senior techer R.M. Grechanik – NUFWT of Ukraine

Chemical nature of exometabolites soil from under the beech of forest (*Fagus silvatica* L.)

Insufficient study of chemical nature of vegetable isolation is one of the factors that impede development of ideas about the meaning of the most different by chemical constructure and biological activity compounds which go into surroundings during the process of vital functions of arboreal rocks.

Study of this question had become the aim of our investigations. During the definition of chemical nature of exometabolites of the beech of forest we applied modificational method of gas-liquid chromatography.

Keywords: gas-liquid chromatography, exometabolites, beech of forest, soil.

Щодо вивчення хімічної взаємодії рослин ми знаходимося на самому початку шляху. Основною причиною цього є здебільшого повна відсутність даних про хімічну природу алелопатично активних речовин, що пояснюється, насамперед, методичними труднощами, пов'язаними з поділом, очисткою і визначенням речовин у складних природних сумішах [9].

Відсутність відомостей про хімічну природу алелопатично активних речовин робить практично неможливим визначення їхніх абсолютних кількостей, стійкості, шляхів перетворення, механізмів дії і багатьох інших властивостей, необхідних для повної оцінки можливостей здійснення і розмірів алелопатії. Варто відзначити, що роботи, присвячені вивченню хімічної природи алелопатично активних речовин бука лісового, вже внесли свій вклад у вирішення проблем алелопатичної взаємодії деревних рослин, але вони ще не достатньо чисельні [1-3, 5-8].

Постановка задачі. З огляду на недостатню вивченість цієї проблеми і її надзвичайну важливість, ми поставили перед собою, як основну мету, розробку деяких методичних прийомів виявлення, екстракції, поділу і часткової хімічної ідентифікації алелопатично активних речовин, що утримуються в ґрунті з-під бука лісового.

Методи і матеріали. Для вивчення хімічної природи рослинних виділень ми взяли дуже багате джерело фізіологічно активних речовин у лісових фітоценозах – ґрунт. З надходженням найрізноманітніших за хімічним скла-

дом і біологічною активністю сполук, що надходять у ґрунт, не можна не рахуватись як з фактором екологічної стабільності навколишнього середовища, при вивченні фізіолого-біохімічних особливостей деревних рослин і в алелопатії [1,2]. Зразки проб сірого лісового опідзоленого ґрунту брали на пробних площах в умовах Прикарпаття (Д₃).

При визначенні хімічної природи екзометаболітів бука лісового було проведено екстрагування дослідного матеріалу за модифікованими нами методиками [4, 9]: 5 г проби ґрунту заливали дистильованою водою з температурою 80 °С у кількості 10 г (тобто у пропорції 1:2). Колби струшували на апараті для струшування 1 годину. Охолоджений до кімнатної температури екстракт фільтрували через паперовий фільтр "біла стрічка".

Один мкл отриманого розчину хроматографували при заданих хроматографічних умовах: хроматограф Varian Star 3400 з детектором іонізації полум'ям на кварцовій капілярній колонці RTX-5 довжиною 30 мм, діаметром 0,53 мм і з товщиною стаціонарної фази (5 % дифеніл 95 % диметилсилексин) – 3 мм. Режим програмування температури колонки: початкова температура становить 35 °С, витримується 5 хв., далі підвищується на 10 °С за 1 хв. до 80 °С, витримується 1 хв. і піднімається до 256 °С з швидкістю 10 °С за 1 хвилину.

Екстракція нагрітою до температури 80 °С дистильованою водою обумовлена кращою розчинністю при даній температурі очікуваних у пробах кислот. Крім цього, для виявлення речовин, що екстрагуються етанолом, ми проводили екстрагування дослідного матеріалу етиловим спиртом. До 5 г досліджуваного зразка проби додавали 20 мл 70 % C₂H₅ОН і кип'ятили на водяній бані із зворотнім холодильником 1 годину. Після охолодження розчин фільтрували і вимірювали його об'єм. Хроматографічні умови визначення екстрагованих етанолом речовин були аналогічними до умов екстрагування водних екстрактів.

Оскільки метод газової хроматографії є відносним, були проаналізовані індивідуальні стандарти речовин у тих самих умовах. Підтвердженням ідентифікації кожної речовини було повторне хроматографування зразка проби з додаванням індивідуального стандарту – доказом є зростання піку (і його площі) ідентифікованої речовини. Результати аналізу всіх зразків проб виявились ідентичними.

Результати досліджень. На першому етапі вивчення хімічної природи екзометаболітів ґрунту з-під бука лісового ми провели хроматографічний аналіз водних розчинів доступних нам індивідуальних стандартів очікуваних речовин: β-пінену, кавової, бузкової, аскорбінової, галової, цитринової та яблучної кислот.

Порівнявши хроматограми розчинів цих стандартів із хроматограмами водних екстрактів з джерела екзометаболітів бука лісового, було зроблено висновок, що в ґрунті з-під досліджуваної рослини присутні аскорбінова та кавова кислоти. Це припущення обґрунтовується збігом часів утримування на хроматограмах розчинів індивідуальних стандартів з часами утримування на хроматограмах розчинів джерел екзометаболітів (табл. 1).

Далі було проведено хроматографічний аналіз етанольних розчинів доступних нам індивідуальних стандартів очікуваних речовин: ментолу, борнеолу, β -пінену, борнілацетату, ліналоолу, гераніолу, карвакролу; кавової, винної, галової, абітинової, янтарної та щавлевої кислот.

Порівнявши хроматограми етанольних розчинів цих стандартів із хроматограмами етанольних екстрактів з джерела екзометаболітів бука лісового ми дійшли висновку, що у джерелах екзометаболітів досліджуваної рослини присутній борнілацетат (табл. 1). Це припущення обґрунтовується збігом часів утримування на хроматограмах індивідуальних стандартів цих речовин з часами утримування на хроматограмах екстрактів з джерел екзометаболітів.

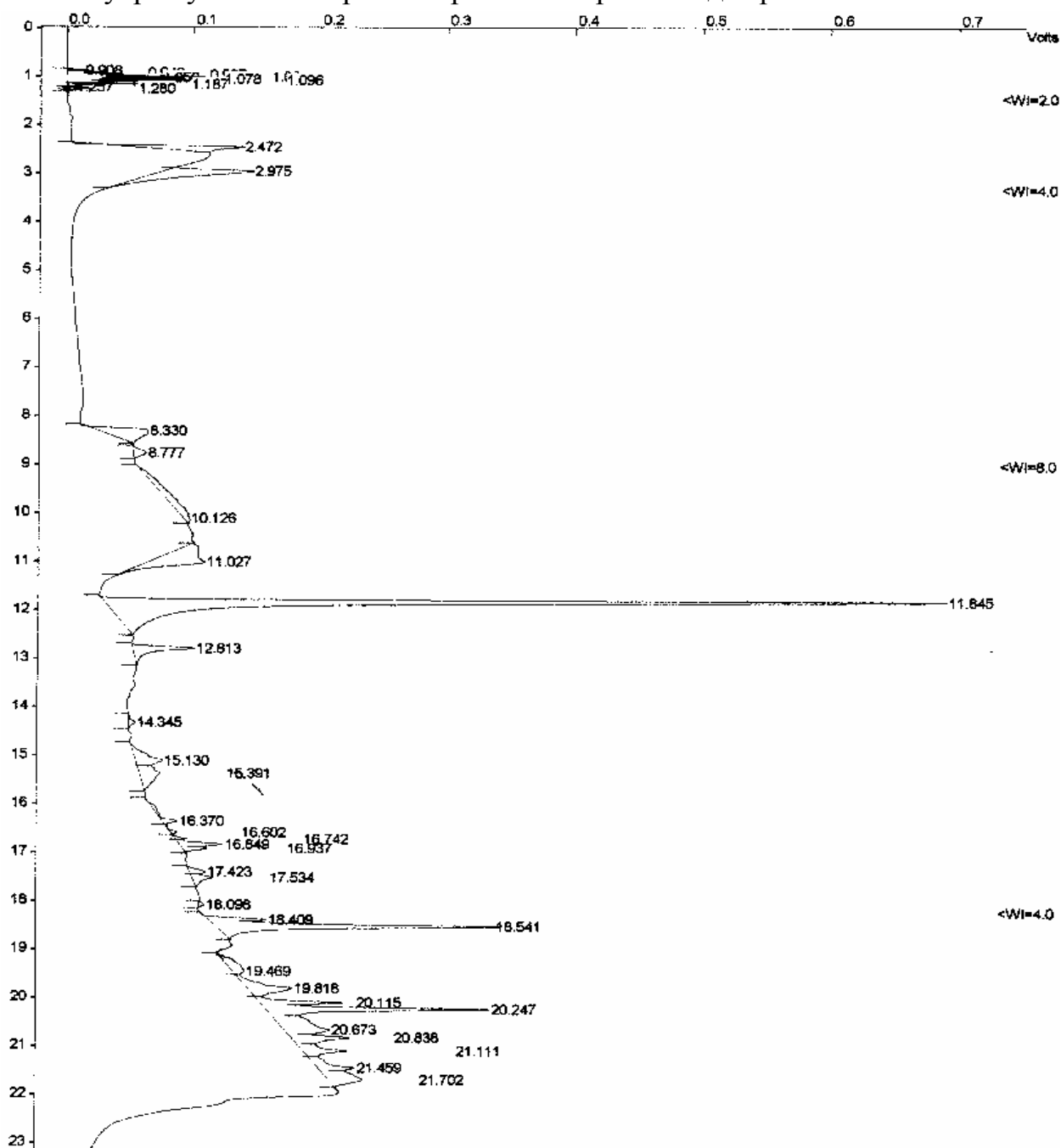


Рис. 1. Хроматограма водного екстракту ґрунту з-під бука лісового

Для прикладу наведемо хроматограми водного екстракту ґрунту з-під бука лісового (рис. 1) та водного розчину індивідуального стандарту кавової

кислоти – представника фенолкарбонових кислот, що є складовою частиною хлорогенової кислоти (рис. 2).

На хроматограмах водних екстрактів ґрунту з-під бука лісового найхарактернішими є піки з часами утримування 11,845 хв. (№18), 18,541 хв. (№32), 20,247 хв. (№36) площі піків відповідно 435943, 134181, 92347.

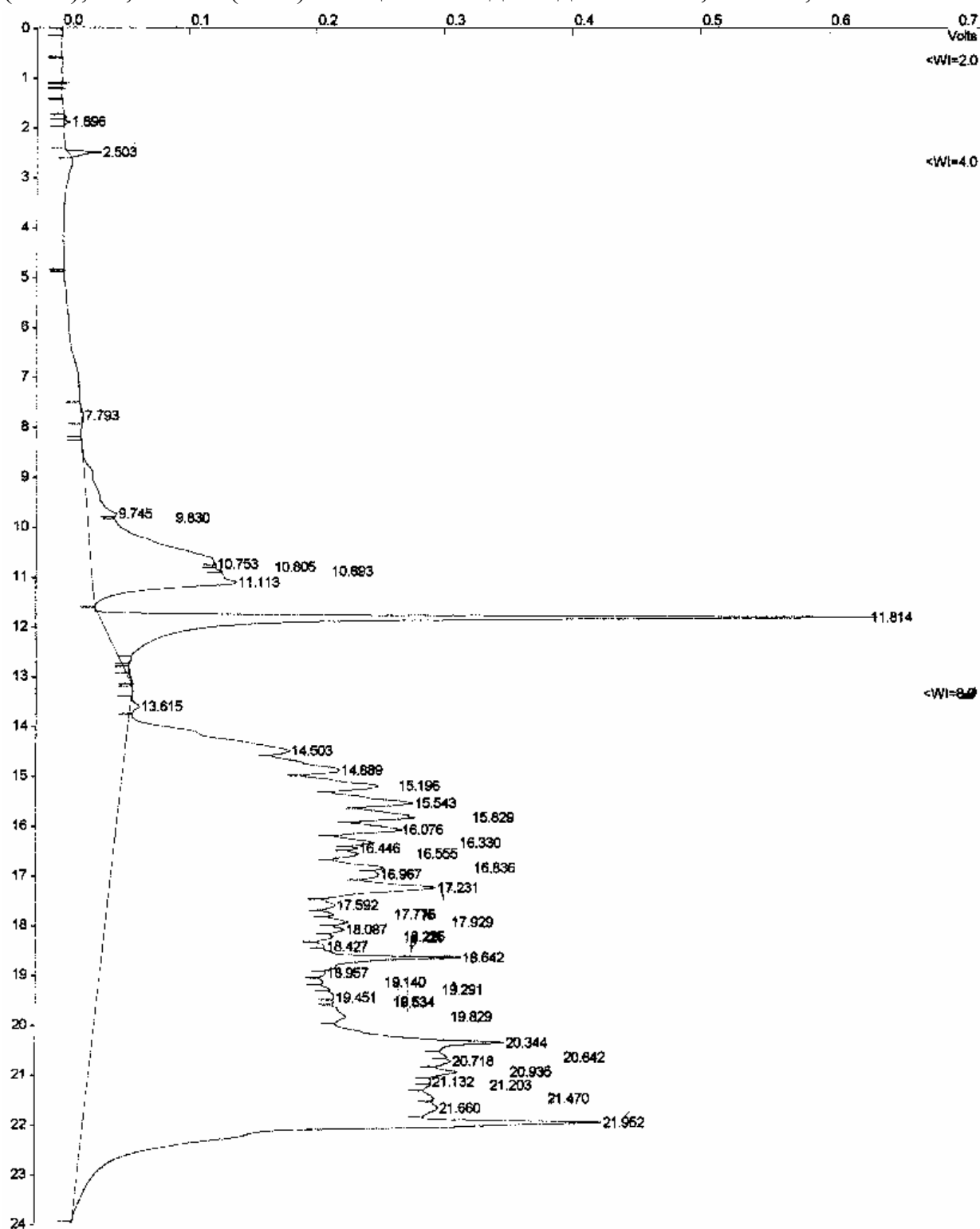


Рис. 2. Хроматограма водного розчину індивідуального стандарту кавової кислоти (3,4-диоксикоричної кислоти).

На хроматограмах водного розчину індивідуального стандарту кофейної кислоти характерним є пік з часом утримування 11,814, площа піку 543556.

Наступним етапом дослідження хімічної природи екзометаболітів бука лісового було вивчення кількісних характеристик, ідентифікованих при хроматографічному аналізі речовин.

Кількість ідентифікованої речовини у 1 мл екстракту з джерел екзометаболітів досліджуваної деревної породи визначено за розробленою нами формулою:

$$a_1 = \frac{a_2 \cdot S_1}{S_2},$$

де: a_1 – кількість ідентифікованої речовини у 1 мл екстракту з джерел екзометаболітів досліджуваних порід, г/мл; a_2 – кількість індивідуального стандарту речовини у 1 мл розчину, г/мл; S_1 – площа піку ідентифікованої речовини на хроматограмі екстракту з джерела екзометаболітів (відповідає щільності функції); S_2 – площа піку на хроматограмі індивідуального стандарту ідентифікованої речовини (відповідає щільності функції).

Результати кількісного аналізу представлені в табл. 1.

Табл. 1. Результати хроматографічного аналізу екстрактів з джерела екзометаболітів бука лісового

Ідентифікована речовина (стандарт)	a_2 – кількісний показник ідентифікованої речовини (стандарту) у розчині, г/мл	Номер піку на хроматограмі розчину стандарту	Час утримування стандарту, хв.	S_2 – площа піку стандарту	Джерело екзометаболітів	Номер піку на хроматограмі екстракту з джерела екзометаболітів	Час утримування, хв.	S_1 – площа піку на хроматограмі екстракту з джерела екзометаболітів	a_1 – кількісний показник ідентифікованої речовини у 1 мл екстракту з джерела екзометаболітів, г/мл
Екстрагування водою									
Аскорбінова кислота	0,094	35	18,573	14241832	грунт з-під бука лісового	32	18,541	134181	0,0008856
Кавова кислота	0,0265	12	11,814	543556	грунт з-під бука лісового	18	11,845	435943	0,0212535
Екстрагування етанолом									
Борнілацетат	0,0032	17	16,843	12529132	грунт з-під бука лісового	16	16,458	314209	0,0000802

Висновки. Хімічна природа екзометаболітів має видову специфічність, оскільки кожний вид рослин відрізняється від іншого насамперед своїм хімічним складом, що сформувався у процесі біохімічної еволюції рослинного світу.

Серед комплексу сполук, що зумовлюють алелопатичну активність екзометаболітів сірого лісового опідзоленого ґрунту з-під бука лісового з допомогою методу хроматографічного аналізу ми ідентифікували борнілацетат, аскорбінову і кавову кислоти. Вивчено кількісні характеристики визначених сполук (в г на 1 мл екстракту). Ідентифіковані речовини екзометаболітів бука лісового можливо використовувати у фармакологічному виробництві.

Література

1. Баранецький Г.Г. Химическое взаимодействие древесных растений. – Л.: Світ, 1990. – 160 с.

2. Баранецький Г.Г., Гречаник Р.М. Биологическая активность экзометаболитов бука лесного и пихты белой// В материалах научно-технической конференции "Леса Беларуси и их рациональное использование", Минск, 29-30 ноября 2000 г. – С 188-190.

3. Баранецький Г.Г., Гречаник Р.М. Хімічний склад екзометаболітів бука лісового та ялиці білої// Наук. вісник УкрДЛТУ: Зб. наук.-техн. праць. – Львів: УкрДЛТУ. – 1999, вип. 9.8. – С. 9-11.

4. Большакова В.И. Газохроматографическое определение летучих компонентов живицы некоторых видов хвойных// Химия природных соединений. – 1987, № 2. – С. 212-214.

5. Гречаник Р.М. Ідентифікація флавоноїдів бука лісового та ялиці білої// Наукове видання: Наукові основи збереження біотичної різноманітності/ Тематичний збірник Інституту екології Карпат НАН України. – Львів: "Ліга-Прес". – 2003, вип. 4, 2002. – С. 202-205.

6. Гречаник Р.М., Баранецький Г.Г., Вронська Л.В. Флавоноїди у джерелах екзометаболітів деревних рослин// Наук. вісник УкрДЛТУ: Зб. наук.-техн. праць. – Львів: УкрДЛТУ. – 2001, вип. 11.1. – С. 23-25.

7. Гречаник Р.М., Вронська Л.В. Визначення флавоноїдів з джерел екзометаболітів бука лісового та ялиці білої// Матеріали V Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених (Тернопіль, 10-13 травня 2001 р.). – Тернопіль: Укрмедкнига. – 2001. – С. 199.

8. Гречаник Р.М., Лебединець Л.О. Хімічний склад екзометаболітів деревних рослин// Львівські хімічні читання-2001: Матеріали VIII наукової конференції, присвяченої 340-ій річниці заснування Львівського НУ ім. Івана Франка (Львів, 24-25 травня 2001 р.). – 2001. – С. А9.

9. Гродзінський А.М. Основы химической взаимодействия растений. – К., 1973. – 180 с.

УДК 630*892

Ст. наук. співроб. Ю.Г. Гринюк, канд. с.-г. наук¹;
наук. співроб. Я.Я. Білик – Страдчівська ЛДС, НЛТУ України

ДЕРЕВНІ ІНТРОДУЦЕНТИ В НАСАДЖЕННЯХ ЯНІВСЬКОГО РОЗТОЧЧЯ: ДОСВІД І ПЕРСПЕКТИВИ

Ще з позаминулого століття у лісах Янівського Розточчя розпочалися акліматизаційні пошуки. Найбільш перспективними для впровадження деревними інтродуцентами тут можна вважати дугласію, дуба червоного, деякі види горіхів, сосон та модрин, тую гігантську, американські клени, багато декоративних дерев та кущів.

Yu.G. Grynyuk; Ya.Ya. Bilyk – Stradch Forest research station of UkrSUFWT

Condition of exotic dendrospecies in Yaniv Rostochya forest plantings: experience and prospects

Starting the century before last in Yaniv Rostochya forest plantings have begun of acclimation research of the delivered trees. As most perspective for introduction there are: *Pseudotsuga menziesii*, *Quercus rubra*, some kinds of *Juglans*, *Pinus* and *Larix* family, *Thuja gigantea*, some american maples and many decorative trees and bushes.

Янівське лісництво, де у 1940 р. видатним українським вченим-лісівником А.П'ясецьким була заснована лісодослідна станція та започатковано довготривалі типологічні дослідження [4], було у 1945 р. перетворено на навчально-дослідний лісокомбінат – базове лісогосподарське підприємство для проведення практик Львівського лісотехнічного інституту. Важко знайти в Україні місце, де б ліси настільки були насичені науковими об'єктами, експериментальними культурами, пробними площами [2, 5]. Одним з пріоритетних напрямів дослідницьких робіт було впровадження та випробовування в умовах Українського Розточчя різноманітних деревних та чагарникових екзотів, що могли би поліпшити продуктивність наших лісів або використовуватись як декора-

¹ завідувач Страдчівської лісодослідної станції (chief of Stradch Forest research station of NUFWT of Ukraine)