

# ЭКОЛОГИЯ

## **ЗАВИСИМОСТЬ СОСТАВА БАЛЬЗАМОВ ЖИВИЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SILVESTRIS L.*) ОТ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ**

**Е.Д. Скаковский, Л.Ю. Тычинская, О.А. Гайдукевич,  
Н.Г. Козлов, А.Ю. Ключев, С.А. Ламоткин, С.И. Шпак,  
С.В. Рыков, Н.Д. Хоменко**

Экологический Центр, Общество восстановления  
и охраны природы г. Москвы  
*Новинский бульвар, 28/35, Москва, Россия, 121069*

Методом  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии изучен состав бальзамов живицы сосны обыкновенной, произрастающей в различных районах республики Беларусь. Установлено, что их химический состав мало зависит от района произрастания и уровня загрязнения лесов радиоактивными и промышленными выбросами. Длительное хранение бальзамов приводит к существенному изменению их составов из-за изомеризации смоляных кислот.

Живица сосны является важным сырьем для предприятий лесопромышленной отрасли. После выделения из нее скипидара остаются бальзамы, которые, главным образом, состоят из смоляных кислот (СК), находящих широкое применение в целлюлозно-бумажной, химической, нефтеперерабатывающей, нефтехимической и других отраслях промышленности. Качество продукции из бальзамов зависит от их составов, поэтому требуются надежные и экспрессные методы их контроля. В настоящее время для анализа СК используются различные методы хроматографии [1—3]. Однако эти методы имеют ряд недостатков. Во-первых, в большинстве случаев СК необходимо перевести в метиловые эфиры, что удлиняет время анализа и может привести к потере части соединений. Во-вторых, даже использование современных капиллярных колонок не позволяет разделить некоторые компоненты смеси. В-третьих, из-за высокой температуры, при которой происходит анализ, возможны термические реакции и, соответственно, искажение результатов.

Метод ЯМР лишен этих недостатков. Однако свидетельств о его применении для анализа СК немного. В ряде случаев приводятся  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектры отдельных СК [2; 4—7] или рассматриваются спектры  $^1\text{H}$  ЯМР живиц сосны пундской (*Pinus pityusa Stev.*) и эльдарской (*Pinus eldarika Medw.*) [8] или спек-

ры  $^{13}\text{C}$  ЯМР живицы сосны черной (*Pinus nigra* ssp. *laeicio*) [9]. До недавнего времени считалось, что для анализа подобных объектов более перспективна спектроскопия  $^{13}\text{C}$  ЯМР из-за большого диапазона химических сдвигов по сравнению со спектроскопией  $^1\text{H}$  ЯМР. Однако использование современных ЯМР-спектрометров с большими рабочими частотами позволяет проводить анализ СК на ядрах  $^1\text{H}$ , при этом время анализа резко сокращается.

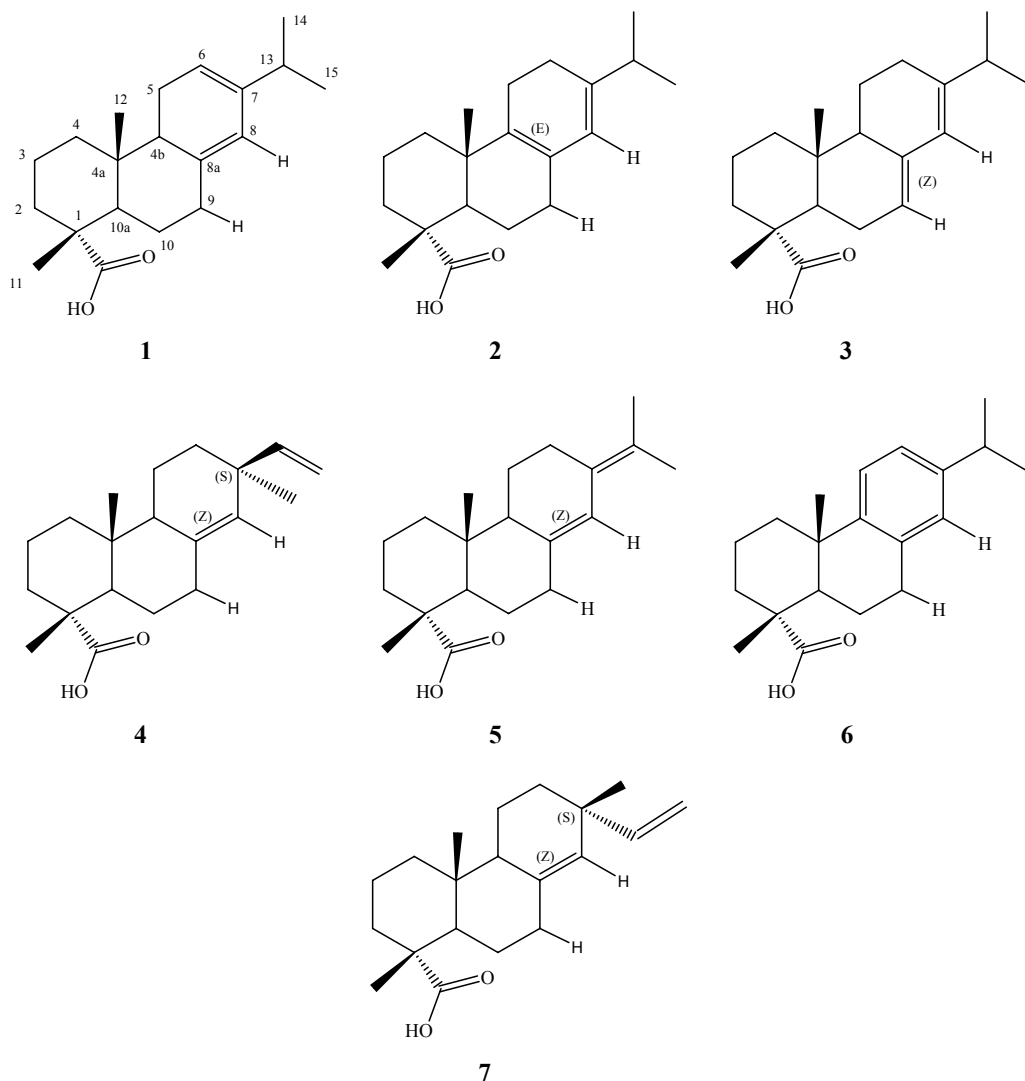
Цель настоящей работы — определение возможностей применения  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии для анализа состава бальзамов живицы сосны обыкновенной, установление влияния на состав бальзамов района произрастания с различным уровнем загрязнения лесов как радиоактивными выбросами, так и промышленными поллютантами, а также определение изменений, происходящих в процессе их хранения.

**Методика эксперимента.** Образцы живицы сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) отбирали в сосняках естественного происхождения с деревьев 60—80-летнего возраста в летние месяцы в период проведения подсочных работ. Подсочка проводилась без использования химических стимуляторов. Каждую пробу герметично закрывали. Из отобранных образцов живицы составляли сборную пробу от 10—15 деревьев. Разделение живицы на бальзам и скипидар проводили методом гидродистилляции, а количественный выход скипидара определяли волюметрически. Содержание скипидара в живице изменялось от 27 до 32%. Отбор проб проводился в окрестностях следующих городов Беларуси: Гомель (I), Калинковичи (II), Комарин (III), Пинск (IV), Хойники (V), Минск (ТЭЦ Тракторного завода) (VI), Минск (Чижовка) (VII), Минск (Щемыслица) (VIII), Минск (Минское море) (IX). Все указанные города, кроме Минска, расположены в южных районах Беларуси. Кроме того, были проанализированы СК, выделенные в 1978 году из живицы сосны обыкновенной по стандартной методике сотрудницей ИФОХ НАН Б Крюк С.И. и находившиеся до настоящего времени в запаянной ампуле (X).

Запись спектров  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР проводилась на спектрометре AVANCE-500 (Германия) (500 МГц для ядер  $^1\text{H}$  и 126 МГц — для  $^{13}\text{C}$ ) в 5 мм стандартных ампулах. Для этого 50 мг бальзамов растворяли в 0,5 мл  $\text{CDCl}_3$ . Растворы всех образцов были гомогенными. Химические сдвиги сигналов протонов соединений определяли по сигналу хлороформа ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\delta = 7,27$  м.д.), который присутствует в качестве примеси в дейтерированном растворителе. Химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  углеродных атомов соединений измеряли относительно сигнала растворителя ( $\delta = 77,7$  м.д.). Отнесение сигналов проводилось с использованием методики DEPT. Спектры записывали в «количественном» режиме. Для идентификации сигналов в спектрах бальзамов были записаны спектры ЯМР ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и DEPT) растворов в  $\text{CDCl}_3$  следующих СК: (1R,4aR)-7-изопропил-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,4в,5,9,10,10а-декагидрофенантрен-1-карбоновая кислота (левопимаровая) (1), (1R,4aS)-7-изопропил-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,5,6,9,10,10а-декагидрофенанатрен-1-карбоновая кислота (палюстровая) (2), (1R,4aR)-7-изопропил-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,10,10а-декагидрофенантрен-1-карбоновая кислота (абиетиновая) (3), (1R, 4aR,7S)-1,4а,7-триметил-7-винил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,7,9,10,10а-додекагид-

рофенантрен-1-карбоновая кислота (пимаровая) (4), (1R,4aR)-1,4a-диметил-7-(пропан-2-илиден)-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-додекагидрофенант-рен-1-карбоновая кислота (неоабиетиновая) (5), (1R,4aS)-7-изопропил-1,4a-диметил-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагидрофенантрен-1-карбоновая кислота (дегидроабиетиновая) (6) и (7R)-1,4a,7-триметил-7-винил-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-додекагидрофенант-рен-1-карбоновая кислота (изопимаровая) (7). Известны и другие СК [10], однако их содержание в бальзаме живицы сосны обыкновенной незначительно, и мы их здесь не анализируем.

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 1 показаны структурные формулы исследованных СК и на примере (1) приведена нумерация углеродных атомов в молекуле.



**Рис. 1.** Структурные формулы смоляных кислот  
(Пронумерованы углеродные атомы левопимаровой кислоты)

Хотя спектры  $^1\text{H}$  ЯМР СК достаточно сложны, для анализа бальзамов можно выделить перекрывающиеся линии, принадлежащие ароматическим, олефиновым и метильным протонам. Химические сдвиги этих протонов приведены в табл. 1.

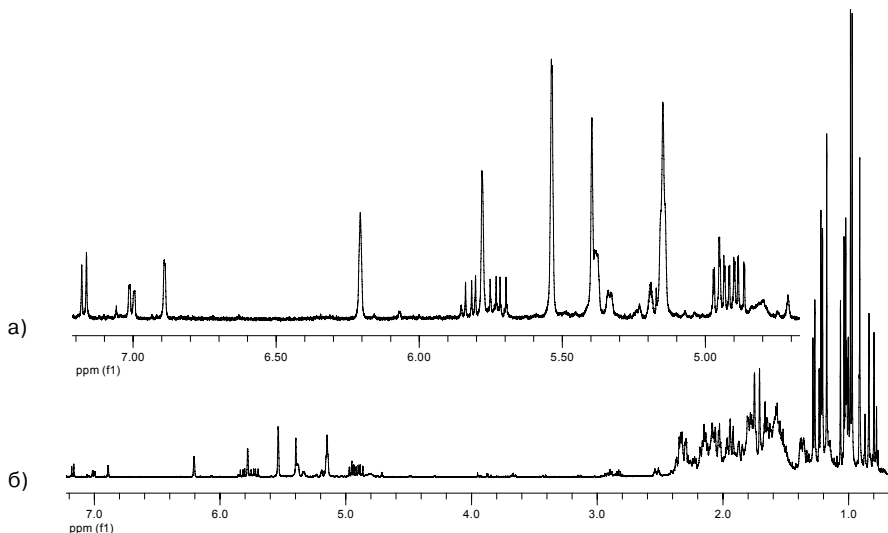
Таблица 1

**Химические сдвиги ( $\delta$ , м.д.) сигналов, используемых для количественного анализа, в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР смоляных кислот (растворы в  $\text{CDCl}_3$ )**

№	Название кислоты	Номер углеродного атома									
		5	6	8	9	11	12	13	14	15	
1	Левопимаровая		5,11	5,49		1,13	0,87		0,94	0,93	
2	Палюстровая			5,40		1,21	1,03		1,07	1,04	
3	Абиетиновая			5,78	5,38	1,26	0,84		1,03	1,01	
4	Пимаровая			5,15		1,24	0,78	5,72	4,95 4,91	1,00	
5	Неоабиетиновая			6,21		1,22	0,80		1,75	1,71	
6	Дегидроабиетиновая	7,20	7,04	6,92		1,32	1,25		1,26	1,26	
7	Изопимаровая				5,33	1,27	0,87	0,91	5,81	4,93 4,87	

Другие сигналы представляют собой мультиплеты, имеющие незначительную интенсивность, и поэтому в смеси СК их сложно идентифицировать. Полный анализ спектров  $^1\text{H}$  ЯМР СК требует применения двумерной спектроскопии и в данном случае не проводился.

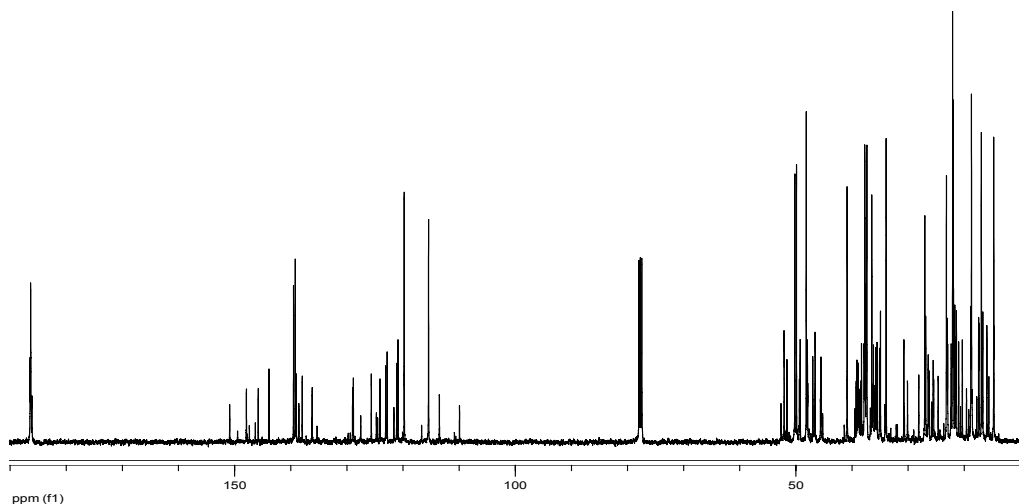
На рис. 2а показан полный спектр  $^1\text{H}$  ЯМР бальзама I (кроме области гидроксильных протонов), а на рис. 2б — область ароматических и олефиновых протонов. Цифрами указаны сигналы, принадлежащие соответствующим СК. Как видно из рисунка, все анализируемые СК легко идентифицируются и удобны для количественного анализа.



**Рис. 2.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ЯМР раствора в  $\text{CDCl}_3$  бальзама живицы сосны, собранной в окрестностях Гомеля:

а — полный спектр, б — область ароматических и олефиновых протонов. Цифрами обозначены линии соответствующих СК

Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР бальзама III приведен на рис. 3. Поскольку спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР с подавлением взаимодействия с протонами представляет собой набор синглетных линий, то в качестве «аналитических» могут быть использованы любые из них.



**Рис. 3.** Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ЯМР раствора бальзама живицы сосны в  $\text{CDCl}_3$ , собранной в окрестностях Комарина

Однако, так же как и в протонных спектрах, удобно использовать линии, принадлежащие олефиновым и метильным атомам углерода. Химические сдвиги этих углеродных атомов приведены в табл. 2. Отнесение других линий СК требует дополнительных исследований и в данном случае не делалось.

Таблица 2

**Химические сдвиги ( $\delta$ , м.д.) сигналов, используемых для количественного анализа, в спектрах  $^{13}\text{C}$  ЯМР смоляных кислот (растворы в  $\text{CDCl}_3$ )**

№	Название кислоты	Номер углеродного атома											
		4	5	6	7	8	8a	9	11	12	13	14	15
1	Левопимаровая			115,5	139,5	119,8	139,2		17,0	14,8		22,1	22,0
2	Палюстровая												
3	Абиетиновая				136,2	121,2	145,9	123,1	17,4	14,7		22,1	21,5
4	Пимаровая					129,5	138,3		17,5	15,9	147,9	113,3	30,2
5	Неоабиетиновая				124,2	122,8	139,1		17,5	16,0	128,9	21,0	20,4
6	Дегидроабиетиновая	147,4	124,6	124,8	146,4	127,6	135,4		25,8	16,9		24,7	24,7
7	Изопимаровая						136,3	121,6	17,8	16,0	22,2	151,0	110,0

На основании спектров  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР бальзамов I—X мы определили содержание СК 1—7 в них (см. табл. 3).

Содержание смоляных кислот в бальзамах (%)

№	Название кислоты	Источник бальзама									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	Левопимаровая	30	30	36	34	35	30	30	30	34	—
2	Палюстровая	17	17	14	15	12	15	14	12	17	3
3	Абиетиновая	13	12	12	13	13	13	13	11	11	83
4	Пимаровая	8	12	10	9	12	13	12	16	11	1
5	Неоабиетиновая	12	10	12	12	13	10	14	10	14	2
6	Дегидроабиетино- вая	6	6	4	4	3	6	4	10	3	3
7	Изопимаровая	8	6	6	6	6	6	6	5	3	5

Анализ табл. 3 показывает, что полученные методом ЯМР результаты для бальзамов I—IX хорошо коррелируют с данными химической энциклопедии [10], которые основываются на результатах газо-жидкостной хроматографии. Содержание СК в указанных бальзамах отличается незначительно и практически не зависит от района произрастания и от уровня загрязнения лесов радиоактивными выбросами и промышленными поллютантами. Главным компонентом является левопимаровая кислота (1), которая термически неустойчива [10]. Действительно, повторная запись спектров бальзамов I—IX через 6 месяцев после выделения их из живицы показала уменьшение ее содержания на ~2%. В последнем образце, находившемся в запаянной ампуле 28 лет, эта кислота вообще отсутствовала. Однако содержание кислоты (3) в этом образце составило 83%. Кроме того, уменьшилось содержание кислот (2), (4) и (5). Меньшее количество (2) и (5) можно объяснить их изомеризацией, которая протекает с меньшей скоростью, чем изомеризация (1). Низкое содержание (4) (~1%) в X требует дополнительных исследований ее термической устойчивости, так как (4) не может быть продуктом изомеризации (1), (2) и (5).

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что метод  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии может быть успешно применен для анализа бальзамов сосны обыкновенной вместо ГЖХ. Содержание СК в бальзамах живиц, полученных в различных районах произрастания, отличается незначительно. Длительное хранение бальзамов приводит к обогащению их абиетиновой кислотой, что ухудшает потребительские свойства из-за повышенной склонности к кристаллизации.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Semiz G., Heijari J., Isik K., Holopainen J.K. // Biochem. Syst. Ecol. — 2007. — 35, № 10. — P. 652—661.
- [2] Sathra S., Gray S.N., Foulds I.S. // J. Chromatogr. B: Biomed. Scienc. Applicat. — 1997. — 700, № 1—2. — P. 101—110.
- [3] Медянцев В.Е., Шиянова Г.А., Шушунова А.Ф. // Химия древесины. — 1982. — № 3. — P. 103—105.
- [4] Yadav J.S., Baishya G., Dash U. // Tetrahedron. — 2007. — 63, № 39. — P. 9896—9902.
- [5] Castro J.M., Salido S., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A. // Tetrahedron. — 2002. — 58, № 29. — P. 5941—5949.
- [6] Lange W., Janezic T.S., Spanoudaki M. // Phytochemistry. — 1994. — 36, № 5. P. 1277—1279.

- [7] Бардышев И.И., Дегтяренко А.С., Пехк Т.И., Янковская Г.С. // Ж. органической химии. — 1981. — 17, № 12. — Р. 2568—2573.
- [8] Дребуцак Т.Д., Шмидт Э.Н., Хан В.А., Дубовенко Ж.В., Кемертелидзе Э.П., Пентегова В.А. // Химия природных соединений. — 1982. — № 3. — Р. 316—320.
- [9] Rezzi S., Bighelli A., Castola V. // J. Casanova. Ind. Crops Prod. — 2005. — 21, № 1. — Р. 71—79.
- [10] Химическая энциклопедия. — М.: Научное издательство «Большая Российская энциклопедия», 1995. — Т. 4. — Р. 739—742.

## **THE DEPENDENCY OF THE COMPOSITION OF THE OLEORESIN BALMS OF PINUS SILVESTRIS L. FROM ECOLOGICAL CONDITIONS**

**E.D. Skakovskii, L.Yu. Tychinskaya, O.A. Haidukevich,  
N.G. Kozlov, A.Yu. Kluev, S.A. Lamotkin,  
S.I. Shpak, S.V. Rykov, N.D. Khomenko**

Ecological center, Society of rehabilitation and nature protection of Moscow  
*Novinsky Boulevard, 28/35, Moscow, Russia, 121069*

Using the method of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy, composition of balms of oleoresin of *Pinus silvestris* L, growing in different regions of the republic of Belarus, was studied. Established, that their chemical composition depends slightly on the growth region and pollution level of the woods by radioactive and industrial emissions. Long term of storage of balms leads to the essential change of their structures due to resin acids isomerization.