

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ТВЕРДОФАЗНОЙ МИКРОЭКСТРАКЦИЕЙ

Мишарина Т.А.^{1,2}, Теренина М.Б.¹, Крикунова Н.И.¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН,

ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ

²Российский экономический университет им. Г.В.Плеханова,

Стремянный пер., 36, г. Москва, 117997; e-mail: tmish@rambler.ru

Поступила в редакцию: 08.06.2018

Аннотация. Метод твердофазной микроэкстракции в сочетании с капиллярной газожидкостной хроматографией использован для изучения состава биологически активных компонентов смесей эфирных масел, присутствующих в газовой фазе над образцом. Найдено, что эффективность извлечения летучих веществ зависела от состава образца, концентрации эфирных масел, от свойств и структуры летучих соединений, от природы полимерного сорбента, от времени извлечения. При увеличении концентрации исследуемых образцов эфирных масел увеличивалась сорбция более летучих неполярных монотерпенов и уменьшалась сорбция высококипящих ацетатов и сесквитерпенов. Максимальной сорбционной активностью и емкостью обладал полидиметилсилоксан, минимальной – смешанный полимер полидиметилсилоксана с карбоксеном. Найдено, что добавление воды к смеси эфирных масел приводило к увеличению экстракции неполярных соединений и уменьшению сорбции полярных веществ.

Ключевые слова: твердофазная микроэкстракция, капиллярная газожидкостная хроматография, летучие органические соединения, эфирные масла.

Известно, что эфирные масла обладают высокой биологической активностью, которая в значительной степени зависит от их состава [1-3]. Эфирные масла представляют собой сложные смеси, содержащие несколько десятков органических соединений. Для решения ряда экологических проблем таких, как определение состава летучих органических соединений (ЛОС), присутствующих в воздухе и выделяемых различными биологическими объектами, в том числе пищевыми продуктами, микроорганизмами, растениями, весьма актуальной является разработка метода их анализа. Высокочувствительная капиллярная газовая хроматография (ГХ) является одним из основных методов анализа сложных смесей. Наиболее широко используемый способ подготовки пробы для ГХ анализа включал в себя гидродистилляцию, при которой летучие вещества отгоняли с водяным паром в присутствии органического растворителя [4-6]. Затем органический экстракт сушили, концентрировали и анализировали газохроматографически. В последние годы большое распространение получил метод твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) в комбинации с ГХ при определении летучих соединений природных или биологических образцов [7-12]. В этом методе летучие соединения сорбируют и концентрируют с помощью специальных устройств на слое жидкого или твердого полимера (или смеси полимеров), затем их термически десорбируют в инжекторе хроматографа и анализируют. Основные преимущества ТФМЭ по сравнению с традиционными методами – короткое время анализа, отсутствие растворителя, высокая чувствительность и селективность.

Результаты анализа методом ТФМЭ зависят от типа используемого сорбента, температуры и времени экстракции, состава и концентрации исследуемых веществ [8, 13-16]. Биологические объекты содержат большое количество летучих компонентов, принадлежащих к разным классам органических соединений, поэтому особенно важен выбор селективных сорбентов. В качестве сорбентов наиболее часто используют полимерные покрытия: полидиметилсилоксан (ПДМС), полиакрилат (ПА) или комбинированные сорбенты, состоящие из нескольких компонентов. К ПДМС добавляют дивинил- или дифенилбензолы, карбоксен, что приводит к увеличению полярности сорбента, и, следовательно, к увеличению экстракции полярных соединений [13-16].

В работе [17], используя различные количества смеси эфирных масел, было показано, что метод ТФМЭ позволяет с хорошей воспроизводимостью определять состав компонентов в газовой фазе на основе абсолютных значений площадей хроматографических пиков, получаемых капиллярной газовой хроматографией. В случае образцов неизвестного состава или содержащих большое число соединений различной структуры необходимо проводить предварительную оптимизацию условий проведения анализа, включая выбор наиболее эффективного и селективного полимерного сорбента по отношению к компонентам исследуемой смеси.

Цель работы – изучить влияние состава полимерных сорбентов и состава образца на эффективность определения летучих соединений в газовой фазе методами ТФМЭ и капиллярной газо-жидкостной хроматографии.

Таблица 1. Содержание компонентов исходной смеси эфирных масел

№ пика	Соединение	%	№ пика	Соединение	%
1	α -Гуйен	0,29	15	4-Терпинеол	0,47
2	α -Пинен	3,52	16	α -Терпинеол	0,60
3	Камфен	0,84	17	Карвон	9,07
4	Сабинен	2,6	18	Линалилацетат	0,36
5	β -Пинен	3,25	19	Терпенилацетат	7,08
6	β -Мирцен	1,09	20	Нерилацетат	0,60
7	α -Фелландрен	0,37	21	Геранилацетат	0,75
8	3-Карен	3,06	22	β -Элемен	0,33
9	p-Цимен	1,59	23	β -Кариофиллен	6,87
10	Лимонен, цинеол	30,84	24	Куркумен	2,44
11	γ -Терпинен	2,56	25	Зингибирен	5,65
12	α -Терпинолен	0,33	26	β -Бисаболен	0,72
13	Линалоол	8,39	27	β -Селинен	2,00
14	Камфора	0,16	28	Сесквифелландрен	3,02

Модельная смесь летучих соединений приготовлена из эфирных масел (ЭМ) и имела следующий состав: 15,5 % лимона 5-кратного, 20,6 % имбиря, 19,6 % черного перца, 18,5 % кардамона, 10,3 % кориандра и 15,5 % тмина, компоненты смеси и их содержание приведены в таблице 1. Для извлечения и концентрирования летучих веществ из газовой фазы использовали специальное оборудование ("Supelco", США). В держателе шприца установлена подвижная стальная игла, на конце которой прикреплено термостойкое силиконовое микроволокно (фибра), имеющее развитую поверхность. Это волокно покрыто слоем полимерного сорбента (ПС), который по составу близок к неподвижным фазам, применяемым в капиллярных газохроматографических колонках. Использовали 3 вида ПС: полидиметилсилоксан (ПДМС), дивинилбензол (ДВБ) и карбоксен (КАР). Перед каждым анализом ПС выдерживали в инжекторе хроматографа в токе гелия при 250 °С в течение 30 мин.

В колбу на 100 мл наливали 30 мл дистиллированной воды и добавляли 1, 2, 3, 4 или 5 мкл смеси ЭМ, встряхивали, плотно закрывали и выдерживали 40 минут при комнатной температуре для установления равновесия. Для сравнения извлечения ЛС из газовой фазы над безводной смесью эфирных масел и над водным раствором в колбу на 100 мл добавляли 3 мкл смеси ЭМ без растворителя. Затем через специальный затвор из фольги в колбу вводили шприц с ПС, проводили экстракцию при комнатной температуре в течение 20 мин, затем выделенные соединения термически десорбировали в инжекторе газового хроматографа.

Газохроматографический анализ проводили на хроматографе «Кристалл 2000 М» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором и кварцевой капиллярной колонкой DB-1 (60 м x 0.32 мм, толщина слоя фазы $d_f = 0,25$ мкм, фирма "Supelco", США) при программировании температуры колонки от 60 до 250 °С со скоростью 4 °С/мин при температуре детектора и инжектора 250 °С.

Идентификацию соединений в смеси эфирных масел проводили на основе индексов удерживания путем их сопоставления с литературными или экспериментальными данными, полученными нами. Для количественного определения содержания каждого компонента использовали абсолютную величину площади его пика в условных единицах (уе), эквивалентных величинам, рассчитанным интегратором как мВ·с. Стандартное отклонение средних величин из 3-х измерений не превышало 5 % (относительных). Математическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Sigma Plot 10.

ГХ анализ эфирного раствора смеси ЭМ показал, что в ней присутствовали компоненты, принадлежащие к различным классам органических соединений (табл. 1), включая моно- и сесквитерпеновые углеводороды, спирты и карбонильные соединения. Как видно из таблицы 1, основными компонентами смеси были лимонен и цинеол (около 30 %). Содержание веществ с функциональными группами (линалоол, карвон, терпенилацетат) и сесквитерпеновых углеводородов кариофиллена и зингиберена было меньше и составляло от 6 до 10%.

В табл.2 приведены площади пиков веществ, выделенных из газовой фазы над водным раствором смеси ЭМ четырьмя полимерными сорбентами. Сравнение этих данных с процентным содержанием компонентов в исходной смеси показало, что важным фактором, влияющим на эффективность определения веществ в газовой фазе методом ТФМЭ, является растворимость компонентов смеси ЭМ в воде. Так, содержание линалоола и карвона в смеси ЭМ было 8-9 %, однако их содержание в экстрагированных с сорбентов смесях не превышало 0,7 %, то есть степень их перехода из водного раствора в газовую фазу была меньше 10 %. Эффективность извлечения органических веществ из газовой фазы в значительной степени зависела от состава и способа обработки ПС. Найдено, что одинаковые по составу и толщине полимерные пленки из ПДМС/ДВБ (табл. 2), но отличающиеся по способу обработки, обладали различной сорбционной активностью. Полимерная пленка № 2 стабилизирована специальной обработкой (фирма "Supelco") и может быть использована для экстракции органических соединений из газовой фазы и из водного раствора. Этот сорбент извлекал монотерпены в 2-3 раза, а сесквитерпены в 1,1-1,3 раза больше, чем ПС № 1. В результате, суммарная площадь пиков компонентов смеси, выделенных сорбентом № 2, была в 1.6 раза больше, чем сорбентом № 1. Возможно, сорбент № 2 имел

большее количество сорбирующего полимера, поэтому его сорбционная эффективность была выше, чем полимера № 1, имевшего тот же состав и ту же толщину слоя полимера. Однако сравнение процентного состава двух экстрактов, полученных этими сорбентами, показало, что ПС № 2 изменял соотношение компонентов смеси по сравнению с исходным в большей степени, чем ПС № 1 (табл. 2).

Мы сравнили эффективность сорбции на сорбентах, отличающихся составом и толщиной пленки. Известно, что ПДМС обладает высокой чувствительностью к неполярным соединениям [8-13]. Этот сорбент значительно больше удерживал терпеновые и сесквитерпеновые углеводороды, а полярные соединения лучше сорбировались на смешанных полимерах, содержащих ПДМС с добавками ДВБ или карбоксена (табл. 2). В работе [8] показано, что для анализа летучих соединений кофе, в состав которых входили в основном полярные соединения, наиболее эффективными были сорбенты с ПДМС/ДВБ, а наименее эффективными - с индивидуальным ПДМС [8]. При исследовании продуктов окисления креветок (альдегидов, кетонов, спиртов и пиразинов) найдено, что наибольшая сорбция этих соединений наблюдалась на смешанных полимерах ПДМС/КАР и ПДМС/ДВБ [14]. Изучение состава метоксифенольных компонентов чая методом ТФМЭ показало, что наибольшей эффективностью связывания по отношению к этому классу соединений обладал сорбент ПДМС/КАР, а наименьшей – ПДМС [18]. Вероятно, комбинированный сорбент ПДМС/КАР обладает высокой селективностью к полярным соединениям. Таким образом, при выборе ПС необходимо учитывать состав исследуемой смеси.

Результаты нашей работы показали, что количество сорбированных терпеновых углеводородов на ПДМС было в 23 раза больше чем на ПДМС/ДВБ и ПДМС/КАР. По отношению к сесквитерпеновым углеводородам сорбенты ПДМС и ПДМС/ДВБ проявляли равную сорбционную активность, а активность ПДМС/КАР была в 1,5-2 раза меньше. Добавление карбоксена увеличивало полярность фазы, что приводило к увеличению эффективности сорбции полярных соединений. Функциональные соединения одинаково удерживались ПДМС и ПДМС/ДВБ и меньше ПДМС/КАР. Показано, что наиболее высокой сорбционной эффективностью обладал сорбент № 3, содержащий неполярный полимер ПДМС. В сумме он извлекал в 1.5 раза больше веществ по сравнению с сорбентом № 2 и в 2.3 раза больше, чем ПС № 1. Такая эффективность могла быть обусловлена тем, что ПС №3 имел самую большую толщину пленки (100 мкм). Сравнение суммарных площадей пиков показало, что по сорбционной активности к компонентам эфирных масел, содержащих в основном неполярные соединения, ПС располагаются в следующий ряд: ПДМС > ПДМС/ДВБ > ПДМС /КАР > ПДМС.

Таблица 2. Площади пиков летучих соединений, экстрагированных из газовой фазы над водным раствором смеси эфирных масел различными полимерными сорбентами

№ пика	Соединение	Площади пиков летучих соединений, экстрагированных полимерными сорбентами, условные единицы			
		ПДМС/ДВБ № 1	ПДМС/ДВБ № 2	ПДМС, №3	КАР/ ПДМС, №4
1	α-Туйен	26	37	84	44
2	α-Пинен	271	445	930	420
3	Камфен	70	117	239	106
4	Сабинен	243	473	835	367
5	β-Пинен	339	602	1139	502
6	β-Мирцен	150	320	471	755
7	α-Фелландрен	51	89	166	105
8	3-Карен	436	845	1460	746
9	п-Цимен	226	515	692	518
10	Лимонен + цинеол	4161	8198	13133	8083
11	γ-Терпинен	520	1123	1638	909
12	α-Терпинолен	85	175	245	160
13	Линалоол	79	104	105	54
14	Камфора	2	следы	6	6
15	4-Терпинеол	3	следы	2	3
16	α-Терпинеол	3	следы	1	4
17	Карвон	87	106	110	91
18	Линалилацетат	37	48	56	30
19	Терпенилацетат	998	1371	1363	750
20	Нерилацетат	195	279	304	217
21	Геранилацетат	256	376	396	279
22	β-Элемен	92	134	136	85
23	β-Кариофиллен	1996	2727	2826	1892
24	α-Куркумен	383	499	462	308
25	Зингибирен	800	915	918	446
26	β-Бисаболен	112	122	124	98
27	β-Селинен	267	304	299	152
28	Сесквифелландрен	383	426	421	206
Суммарная площадь пиков		12276	20429	28567	17336

Для определения механизма сорбции летучих веществ на полимерных сорбентах и оценки влияния физико-химического состояния и состава образца на степень извлечения летучих веществ был выбран комбинированный сорбент ПДМС/ДВБ № 2. Исследование концентрационной зависимости показало, что с увеличением концентрации смеси ЭМ в растворе содержание спирта линалоола и кетона карвона увеличивалось практически линейно (рис. 1а). Площади пиков монотерпеновых углеводородов, сорбированных из газовой фазы, имели одинаковые зависимости от концентрации этих веществ в исходном растворе (рис. 1б). Кривые сорбции имели S-образный вид: с увеличением концентрации смеси ЭМ в растворе сорбция монотерпеновых углеводородов увеличивалась не монотонно, кривая имела перегиб при содержании смеси 3 мкл, свидетельствующий о кооперативности этого процесса [19]. При высоком содержании смеси ЭМ кривая сорбции выходила на плато, для некоторых веществ обнаружено снижение сорбции, это свидетельствует об ограниченной ёмкости сорбента и о конкуренции между компонентами ЭМ за места связывания. О наличии таких процессов свидетельствуют зависимости, полученные для сесквитерпеновых углеводородов (рис. 1в). Площади пиков этих веществ незначительно увеличивались при увеличении содержания смеси ЭМ от 1 до 2 мкл, затем они монотонно снижались, при этом площадь пика кариофиллена из раствора с содержанием смеси ЭМ 5 мкл была меньше в 1,4 раза, чем площадь пика из раствора с 1 мкл смеси ЭМ. Для всех других сесквитерпеновых углеводородов эта разница составляла около 60 %. Найдено, что структура ацетатов влияла на характер их сорбции из водных растворов с различным содержанием смеси ЭМ. Снижение сорбции в 1,4 раза из газовой фазы над более концентрированными растворами по сравнению с самым разбавленным найдено для геранилацетата, для нерилацетата обнаружено слабое, в 1,16 раза, снижение площади пика при увеличении его концентрации (рис. 1г). Извлечение терпинилацетата увеличивалось в 2,4 раза при увеличении содержания смеси ЭМ в водном растворе от 1 до 3 мкл, при дальнейшем увеличении оно не изменялось (рис. 1г). Ранее при изучении сорбционных характеристик неполярных полисахаридов также было найдено значительное влияние структуры алифатических, насыщенных, ненасыщенных и циклических одорантов и углеводов на их связывание этими полисахаридами [15-17]. В любом случае, при определении летучих веществ необходимо иметь в виду, что полимерные сорбенты имеют ограниченную ёмкость и для получения результатов методом ТФМЭ не требуются образцы большого размера.

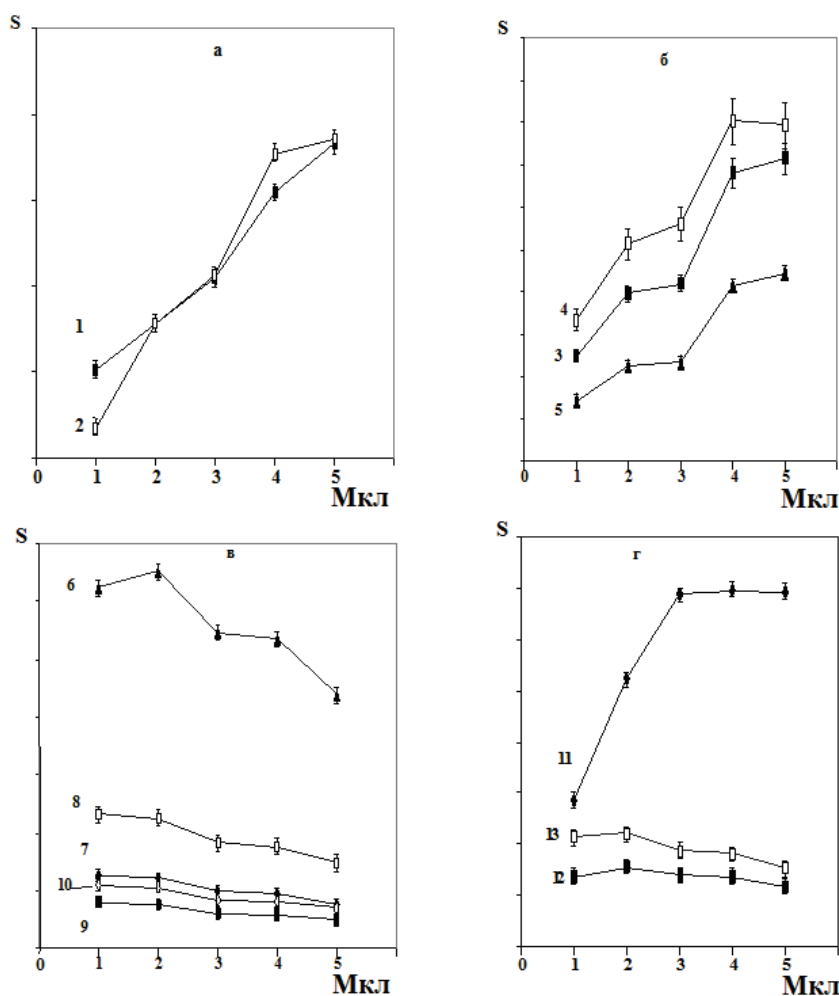


Рисунок 1. Площади пиков (а) линалоола (1), карвона (2) и 3-карена (3), (б) γ -терпинен (4), сабинен (5), β -кариофиллен (6), α -куркумен (7) и зингибирен (8), (в) β -селинен (9) и – сесквифелландрен (10) и (г) терпинилацетат (11), нерилацетат (12) и геранилацетат (13), полученных при газохроматографическом анализе 1, 2, 3, 4 и 5 мкл смеси эфирных масел с применением сорбента ПДМС/ДВБ № 2

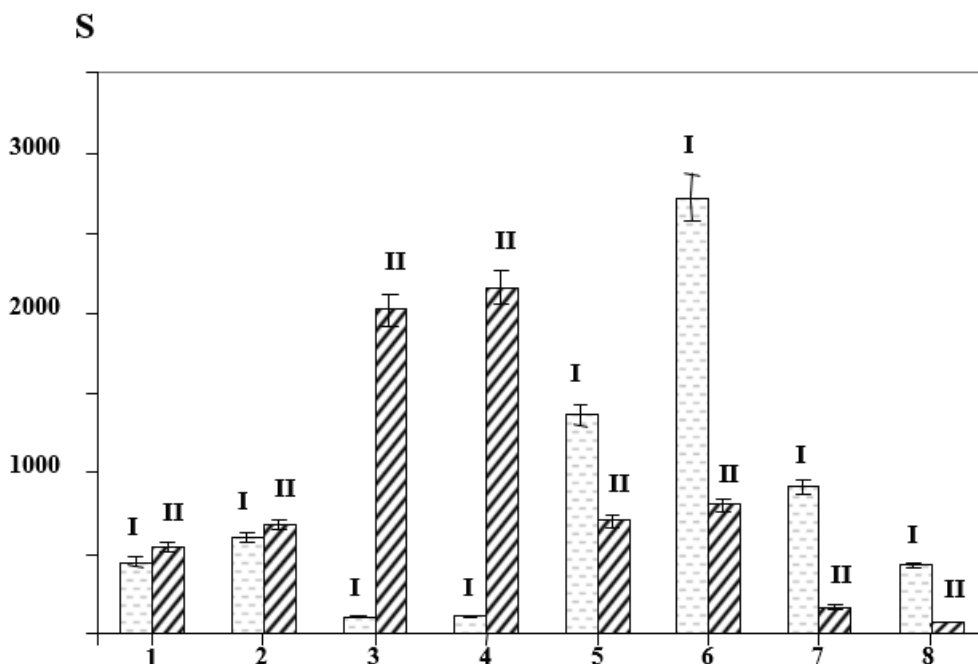


Рисунок 2. Площади пиков α -пинена (1), β -пинена (2), линалоола (3), карвона (4), терпинилацетата (5), β -кариофиллена (6), зингибирена (7) и сесквифелландрена (8), входящих в состав компонентов 3 мкл смеси эфирных масел и полученных сорбцией из газовой фазы над водным раствором (I) или над чистой смесью (II) сорбентом ПДМС/ДВБ № 2

Известно, что летучесть низкомолекулярных органических веществ существенно зависит от состава образца, макрокомпоненты которого влияют на растворимость веществ, особенно в водной или липидной фазе, на их удерживание за счет образования супрамолекулярных структур, комплексов включения с полисахаридными цепями и т.д. [1, 15-17]. Мы сравнили извлечение сорбентом ПДМС/ДВБ № 2 компонентов из 3 мкл чистой смеси ЭМ и из водного раствора (3 мкл смеси масел в 30 мл воды). Полученные различия в величинах площадей пиков обусловлены растворимостью и взаимодействием между собой органических веществ в чистой смеси ЭМ или влиянием воды на летучесть компонентов смеси ЭМ. На рисунке 2 приведены средние величины площадей пиков веществ, принадлежащих к разным классам органических соединений. Найдено, что эффективность извлечения монотерпеновых углеводородов из водного раствора на 20 % меньше, чем из безводной смеси, то есть эти углеводороды незначительно связываются водой. Уменьшение эффективности извлечения α -пинена и лимонена при добавлении воды отмечали в работе [18]. Максимальные различия наблюдались в случае полярных соединений, способных образовывать водородные связи с молекулами воды, за счет этого их содержание в газовой фазе над раствором было намного меньше, чем над смесью масел. Площади пиков линалоола и карвона, полученные для чистого масла, были в 20 раз больше, чем для водного раствора. В работе [13] было найдено, что экстракция терпинеолов и эвгенола уменьшалась в 2-3 раза при добавлении воды. В нашем случае, содержание двух терпинеолов в смеси масел было низким (0,47 и 0,60 %, табл.1), летучесть из воды также низкая и они не были обнаружены в газовой фазе над водным раствором смеси ЭМ. Над чистой смесью масел площади их пиков были такими же, как и для нерилацетата, содержание этих трех веществ в смеси ЭМ было близким (табл. 1). Как видно из рисунка 2, добавление воды увеличивало летучесть ацетатов, площади их пиков были больше в 2-3 раза по сравнению со смесью ЭМ без растворителя. Еще большие различия обнаружены для неполярных сесквитерпеновых углеводородов, их летучесть из водного раствора была в 6 раз выше, чем из смеси масел, то есть сесквитерпены малорастворимы в воде и для их определения в изучаемые образцы можно добавлять воду. В результате исследования найдено, что добавление воды к смеси органических веществ незначительно увеличивало содержание в газовой фазе монотерпеновых углеводородов, существенно увеличивало содержание сложных эфиров и сесквитерпенов, но практически полностью «вычитало» полярные соединения, такие как спирты и кетоны.

Таким образом, проведенное исследование показало, что самая высокая степень извлечения неполярных монотерпенов достигается на неполярном сорбенте полидиметилсилоксане (ПДМС), близкие результаты получены на смешанных сорбентах - стабилизированном полидиметилсилоксане и дивинилбензоле (ПДМС/ДВБ) и полидиметилсилоксане и карбоксене (ПДМС/КАР). Ацетаты и сесквитерпены эффективнее извлекались ПДМС и ПДМС/ДВБ № 2 и менее всего на сорбенте ПДМС/КАР. Степень сорбции ПДМС/ДВБ № 2 сложным образом зависела от увеличения содержания веществ в газовой фазе. Монотерпеновые углеводороды связывались кооперативно, связывание ацетатов и сесквитерпенов снижалось с увеличением их концентрации в газовой фазе. Этот метод очень удобен и информативен для изучения состава композиций летучих веществ, определяющих аромат различных образцов, в первую очередь пищевых продуктов. При этом следует иметь в виду, что реальный состав этих же веществ в самом продукте будет значительно отличаться от

состава в газовой фазе. Так, спирты и кетоны, а также другие полярные соединения, хорошо растворимые в воде, не переходили в газовую фазу и поэтому не обнаруживались всеми полимерными сорбентами. Более того, они не извлекались и из водного раствора, для таких образцов необходимо использовать другие методы. Также метод ТФМЭ можно использовать для оценки влияния состава и свойств систем, содержащих различные полимеры, липиды, воду и другие ингредиенты, на связывание и удерживание неполярных летучих веществ. Результаты работы показали, что методом ТФМЭ можно успешно решать различные аналитические задачи, но необходимо иметь предварительные сведения о составе образца. В этом случае можно наилучшим образом выбрать тип микроволокна, размеры образца, способ его предварительной подготовки, время и условия извлечения летучих веществ.

Список литературы / References:

1. *Chemistry of spices*. Oxfordshire: CAB Int., ed. V.A. Parthasarathy, B. Chempakam, T.J. Zachariaah, 2008, pp. 260-268
2. Charles D.J. Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. *New York: Springer*, 2013, 610 p.
3. *Flavours and fragrances. Chemistry, bioprocessing and sustainability*. New York: Springer Velgar, ed. R.G. Berger, 2007, pp. 43-116.
4. Etre L.S. *Headspace Analysis of Food and Flavours: Theory and Practice*. New York: Academic Plenum Publishers, 2001, pp. 347.
5. Мишарина Т. А. Определение летучих органических веществ в газовой фазе с применением пористых адсорбентов. *Ж. Аналит. Химии*, 2010, т. 26, № 2, с.132-139. [Misharina T.A. Determination of volatile organics in gaseous phase using porous adsorbents. *J. Analyt. Chem*, 2010, vol. 65, no. 2, pp.127-139. (In Russ.)]
6. Ayayi E.O., Sadimenko A.P., Afolayan A.J. GC-MS evaluation of Cymbopogon citrates (DC) Stapf oil obtained using modified hydrodistillation and microwave extraction methods. *Food Chem.*, 2016, vol. 209, no. 1, pp. 262-266.
7. Arthur C.L., Pawliszyn J. Solid-phase microextraction method with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 1990, vol. 62, no. 7, pp. 1843-1852.
8. Roberts D.D., Polien P., Milo C. Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavour compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, vol. 48, no. 6, pp. 2430-2437.
9. Wardenky W., Michulec M., Curylo J. A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analyses. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, vol. 39, pp. 703-717.
10. Ouyang G., Vuckovic D., Pawliszyn. Nondestructive sampling of living systems using *in vivo* solid-phase microextraction. *J. Chem. Rev.*, 2011, vol. 111, no. 4, pp. 2784-2815.
11. Зайцев В.Н., Зуй М.Ф. Твердофазное микроэкстракционное концентрирование. *Ж. Аналит. Химии*, 2014, т. 69, № 8, с. 787-801. [Zaitsev V.N., Zui M.F. Preconcentration by solid-phase microextraction. *J. of Analyt. Chem.*, 2014, vol. 68, no. 8, pp. 715-727. (In Russ.)]
12. Савельева Е.И., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю. Применение твердофазной микроэкстракции в сочетании с газовой хромато-масс-спектрометрией для исследования летучих продуктов биосинтеза, выделяемых растениями и микроорганизмами. *Ж. Аналит. Химии*, 2014, т. 69, № 7, с. 675-682. [Savelieva E.I., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu. Using solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for the study of the volatile products of biosynthesis released by plants and microorganisms. *J. Analyt. Chem.*, 2014, vol. 69, no. 7, pp.609-615. (In Russ.)]
13. Bajer T., Ligor M., Ligor T., Buszewski D. Design of the extraction process for terpenes and other volatiles from allspice by solid-phase microextraction and hydrodistillation. *J. Separation Sci.*, 2016. vol. 39, no. 4, pp. 769-774.
14. Souza H. A.L., Bragagnolo N. New method for the extraction of volatile lipid oxidation products from shrimp by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and evaluation of the effect of salting and drying. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, vol. 62, no. 3, pp. 590-599.
15. Du L., Wang Ch., Li J., Xiao D., Li Ch., Xu Y. Optimization of headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for detecting methoxyphenolic compounds in pu-erh tea. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, vol. 61, no. 2, pp. 561-568.
16. Moradi M., Kaykhali M., Ghiasvand A.R., Shadabi S., Salehinia A. Comparison of headspace solid-phase microextraction, headspace single-drop microextraction and hydrodistillation for chemical screening of volatiles in *Myrtus Communis L.* *Phytochem. Anal.*, 2012, vol. 23, pp. 379-386.
17. Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. Определение летучих органических веществ методом твердофазной микроэкстракции. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2017, т. 53, № 5, с.534-543. [Misharina T.A., Terenina M.B., Krikunova N.I. Determination of volatile organic compounds by solid-phase microextraction. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2017, vol. 53, no. 5, pp. 534-543. (In Russ.)]
18. Bajer T., Ligor M., Ligor T., Buszewski D. Design of the extraction process for terpenes and other volatiles from allspice by solid-phase microextraction and hydrodistillation. *J. Separation Sci.*, 2015, vol. 39, no. 4, pp. 769-774.
19. Misharina T.A., Terenina M.B., Krikunova N.I., Kalinchenko M.A. Sorption of components from of odorants by polysaccharides of starch, chitosan and carrageenan. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2006, vol. 42, no. 1, pp. 111-115.

**DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS
BY SOLID-PHASE MICROEXTRACTION****Misharina T.A.^{1,2}, Terenina M.B.¹, Krikunova N.I.¹**¹Emmanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
*Kosygin str., 4, Moscow, 119334, Russia*²Plekhanov Russian Economic University,
Stremyanin str., 36, Moscow, 117997, Russia; e-mail: tmish@rambler.ru

Abstract. The solid-phase microextraction method in combination with capillary gas-liquid chromatography was used to study the composition of the biologically active components of a mixture of essential oils present in the gas phase above the sample. It was found that the extraction efficiency of volatile substances depended on the composition of the sample, the concentration of essential oils, the properties and structure of volatile compounds, the nature of the polymer sorbent, and the extraction time. The increase in concentration of essential oils in test samples resulted in the increase of sorption of more volatile nonpolar monoterpenes and decrease of sorption of high-boiling acetates and sesquiterpenes. It was found that polydimethylsiloxane had the highest sorption activity and capacity, a mixed polymer of polydimethylsiloxane with carboxene showed the minimal values. The addition of water to a mixture of essential oils led to an increase in the extraction of nonpolar compounds and a decrease in the sorption of polar substances.

Key words: *solid-phase microextraction, capillary gas-liquid chromatography, volatile organic compounds, essential oils.*