

УДК: 543.544; 543.51; 633.854.78

Е.К. Барнашова<sup>1</sup>, К.А. Тараскин<sup>2</sup>, Ю.В. Лобачев<sup>1</sup>, М.П. Ступникова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, кафедра биотехнологии, селекции и генетики; 410600, г. Саратов, Театральная площадь; [bio@sgau.ru](mailto:bio@sgau.ru)

<sup>2</sup>ФГУП "Научно-исследовательский институт прикладной акустики"; г. Дубна, Московская область, ул. 9 Мая, д. 7А; [kant1958@yandex.ru](mailto:kant1958@yandex.ru)

## РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОНТРОЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА С ЦЕЛЬЮ ТЕСТИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА АГРАРНОЙ ПРОДУКЦИИ

Получена 10 апреля 2008 года

Опубликована 2 июля 2008 года

03.00.23 – Биотехнологии

Разработана методика тестирования генетической чистоты изогенных линий подсолнечника, обеспечивающая определение различий в химическом составе экстрактов из язычковых лепестков, различающихся по окраске цветков. Методика установления состава растительного материала основана на использовании газовой-хроматографического анализа экстрактов, получаемых по специальной процедуре пробоподготовки, с последующей расшифровкой химической структуры индивидуальных соединений путем масс-спектрометрического детектирования. В результате расшифровки химического состава экстрактов из язычковых лепестков пяти различных изогенных линий подсолнечника установлено, что ряд соединений обнаружен в пробах экстрактов всех видов растений, независимо от цвета, принадлежности и генетических характеристик растительного материала. Кроме того, для каждой из исследованных изогенных линий подсолнечника, выявлены характеристичные признаки в виде индивидуальных химических веществ установленной структуры.

Ключевые слова: газовая хроматография, масс-спектрометрия, химический состав, изогенные линии, экстракт, растительный материал.

### ВВЕДЕНИЕ

Продукция агропромышленного комплекса является одной из важнейших статей в перечне товаров, экспортируемых из Российской Федерации. Уровень цен на продукты экспорта в значительной степени определяется качеством товаров. В связи с этим, установление качественных характеристик сельскохозяйственной продукции является важной и актуальной задачей.

Подсолнечник широко культивируется в средней полосе и южных регионах Российской Федерации и является важнейшей масличной

культурой, обеспечивающей потребности внутреннего рынка в растительном масле. Масличная продукция, полученная на основе семян подсолнечника, – одна из самых стабильных статей ежегодного экспорта продукции аграрного комплекса. По данным Росстата [1], экспорт масличных за 9 месяцев 2006 года составил 193,8 тысяч тонн, при этом доля подсолнечника в общем объеме экспорта составила 81,7%.

В последнее время обозначилась тенденция снижения урожайности подсолнечника. Это связано с нарушением научно–обоснованных севооборотов и рядом других причин. Возможность повышения урожайности этой культуры связана с возделыванием вместо сортов–популяций более технологичных гетерозисных гибридов, устойчивых к экстремальным условиям среды и обладающих высоким качеством семян.

К числу новых приемов, обеспечивающих выращивание гибридных семян с высокой генетической чистотой, относится генетическое маркирование родительских линий и гибридов [2]. В качестве маркерных могут быть использованы гены, контролирующие морфологические признаки, в частности, различную окраску язычковых цветков [3, 4].

При проведении экспортных операций, на страну – экспортера возлагается обязанность обеспечения установленных качественных характеристик и требований безопасности к вывозимой продукции [5]. Качество продуктов питания, производимых на основе продукции растениеводства, в значительной степени определяется сортовой принадлежностью сельскохозяйственных культур. Оценка чистоты сортовых признаков может быть осуществлена при разработке методологических подходов, обеспечивающих возможность эффективного аналитического контроля генетических признаков растительных культур.

Анализ природных материалов является сложной задачей, так как связан с расшифровкой состава многокомпонентных сред. Для решения подобных задач широкое распространение получили инструментальные методы анализа органических соединений, в частности хромато–масс–спектрометрия с ионизацией электронным ударом [6]. Индивидуальность спектральных характеристик анализируемых веществ в сочетании с высокой чувствительностью метода делают его одним из наиболее перспективных при идентификации сложных соединений и установлении состава многокомпонентных образцов [7], в том числе, составов растительного происхождения.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование содержит материалы по разработке методики аналитического контроля, обеспечивающей определение различий в химическом составе изогенных моногенных линий подсолнечника, различающихся по окраске язычковых цветков. Использовались образцы язычковых лепестков цветков подсолнечника, собранных в период сезонных работ 2006 – 2007 годов на опытных участках Саратовского ГНУ «Научно–исследовательский институт сельского хозяйства «Юго–Восток» и ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

Объектом исследований являлись почти изогенные моногенные линии подсолнечника, различающиеся по генам, контролирующим различную окраску язычковых цветков: желтые (st), лимонные (l), бело–желтые (La), желто–зеленые (Pa), оранжевые (O). Семена каждого варианта изучаемых линий высевали вручную квадратно–гнездовым способом по типу конкурсного сортоиспытания в трехкратной повторности в шестирядных делянках площадью  $70 \times 80 \text{ м}^2$ . Сбор язычковых лепестков подсолнечника

производился в период наиболее интенсивного цветения. Навески лепестков измельчались и подвергались экстракционной обработке. В качестве экстрагентов использовались: диэтиловый эфир, метанол, бензол. Все экстрагенты соответствовали категории качества – чда (чистый для анализа).

Состав экстрактов из лепестков подсолнечника устанавливался методом хромато–масс–спектрометрии на комплексе «MS–25RF» фирмы «Kratos» (Англия). Разделение компонентов исследуемых образцов проводилось на газовом хроматографе в кварцевой капиллярной колонке DB–5 длиной 60 м, с неподвижной жидкой фазой SE–54, производства J&W фирмы «Scientific» (США). Хроматограф настраивался для анализа проб в следующем режиме: начальная температура колонки – 40 °С; скорость подъема температуры колонки – 10 °С/мин; конечная температура колонки – 300 °С; температура инжектора – 280 °С; температура интерфейса – 280 °С; поток газа–носителя (гелия) на колонке – 1 мл/мин; объем вводимой пробы – 1 мкл. Стандартный режим работы масс–спектрометра имел следующие параметры: температура источника ионов – 200 °С; энергия ионизации – 70 Эв; номинальное значение вакуума в зоне источника ионов –  $1 \times 10^{-5}$  мм ртутного столба; температура квадруполя – 200 °С; ток эмиссии электронов – 300 мкА; диапазон полного сканирования массовых чисел 35 ... 600 атомных единиц массы.

Компоненты природного материала, образующиеся при разделении на хроматографической колонке, направлялись в камеру детектора–катарометра. Регистрация хроматографических пиков осуществлялась с использованием автоматизированного программно–аппаратного комплекса хроматографического анализа «Мультихром». Затем отдельные фракции анализируемого образца, соответствующие индивидуальным химическим соединениям, направлялись в камеру ионизации масс–спектрометра. Идентификация компонентов природного материала веществ проводилась

методом сравнения, по наличию и соотношению характеристичных ион-фрагментов с использованием баз данных стандартных образцов из масс-спектральных библиотек: «Willey 275», «NIST 98» и «NBS-75».

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведения хроматографического анализа экстрактов язычковых лепестков цветков подсолнечника было установлено, что хроматограммы всех образцов содержат значительное количество пиков (порядка 60 ... 100), соответствующих индивидуальным химическим соединениям. Примеры хроматограмм, полученных при использовании различных экстрагентов, представлены на рисунках 1 – 3.

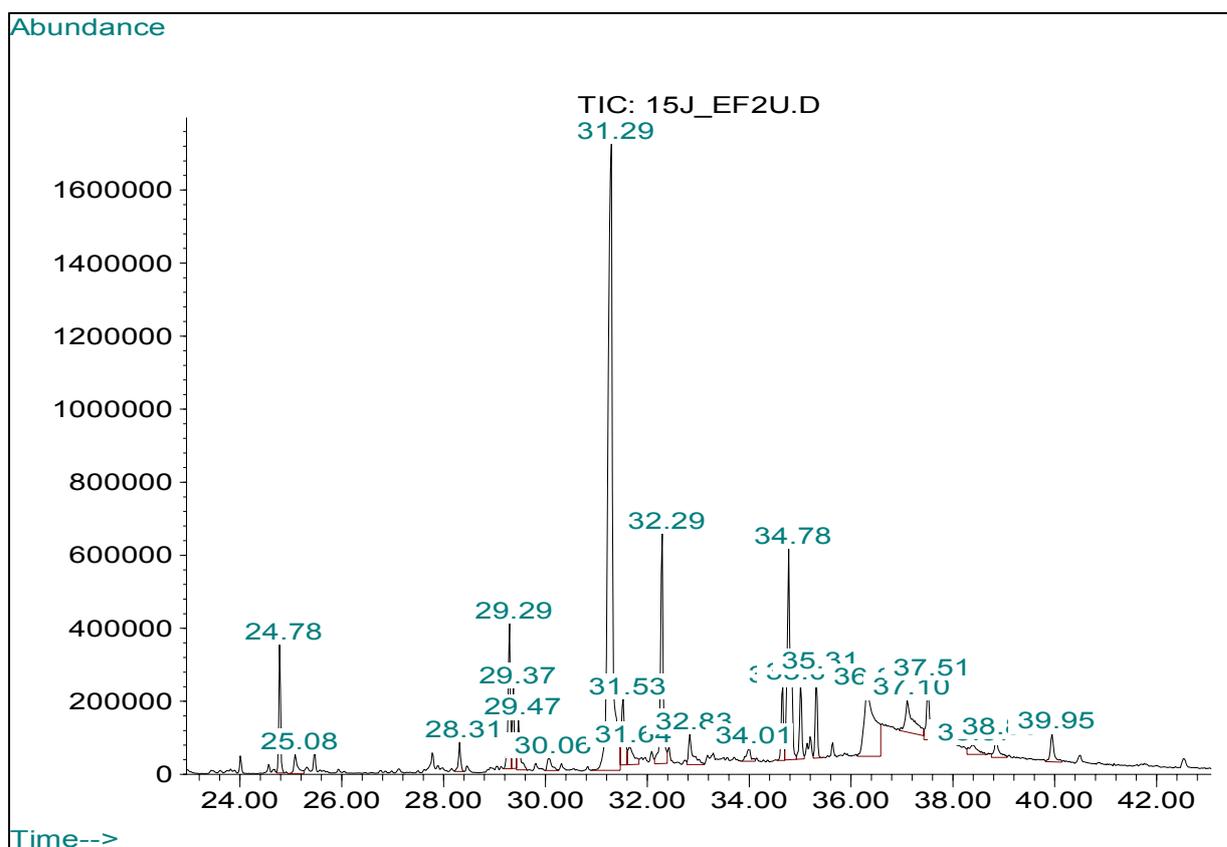


Рисунок 1. Хроматограмма эфирного экстракта желтых (st) лепестков подсолнечника

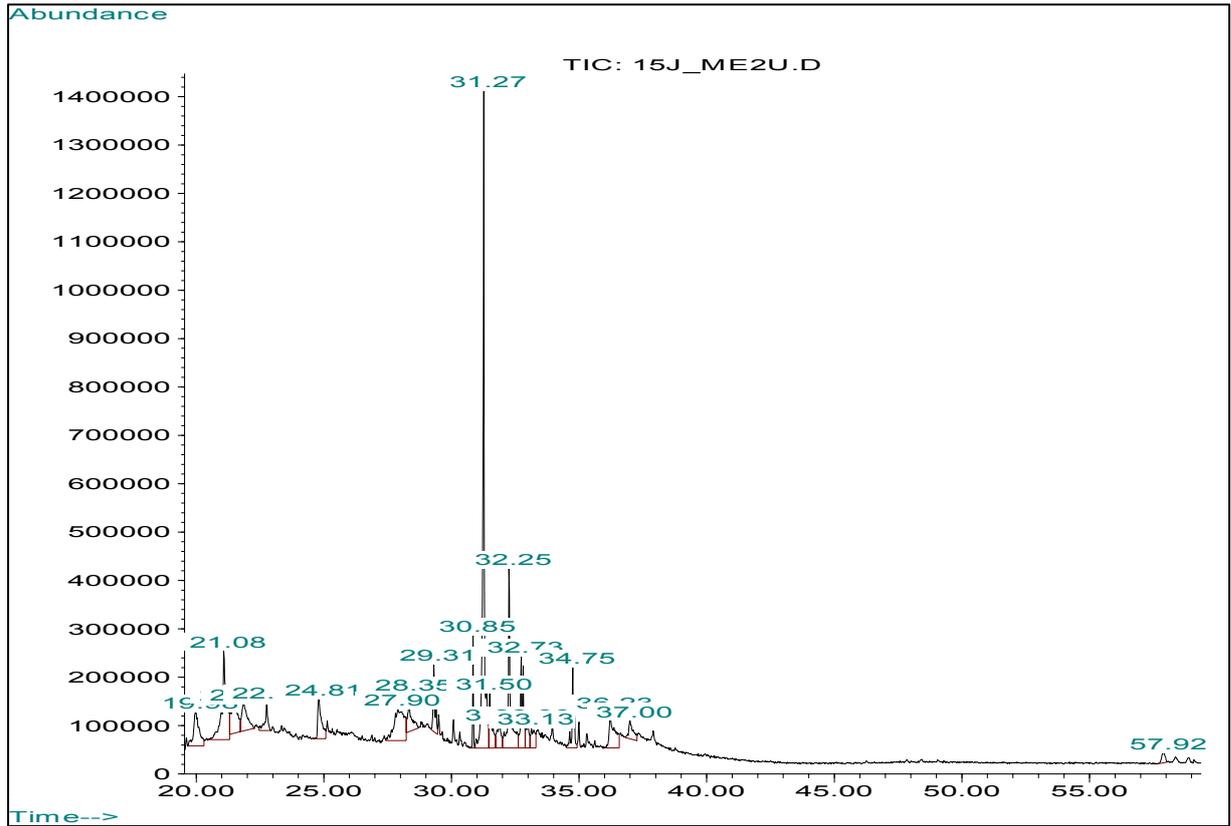


Рисунок 2. Хроматограмма метанольного экстракта желтых (st) лепестков подсолнечника

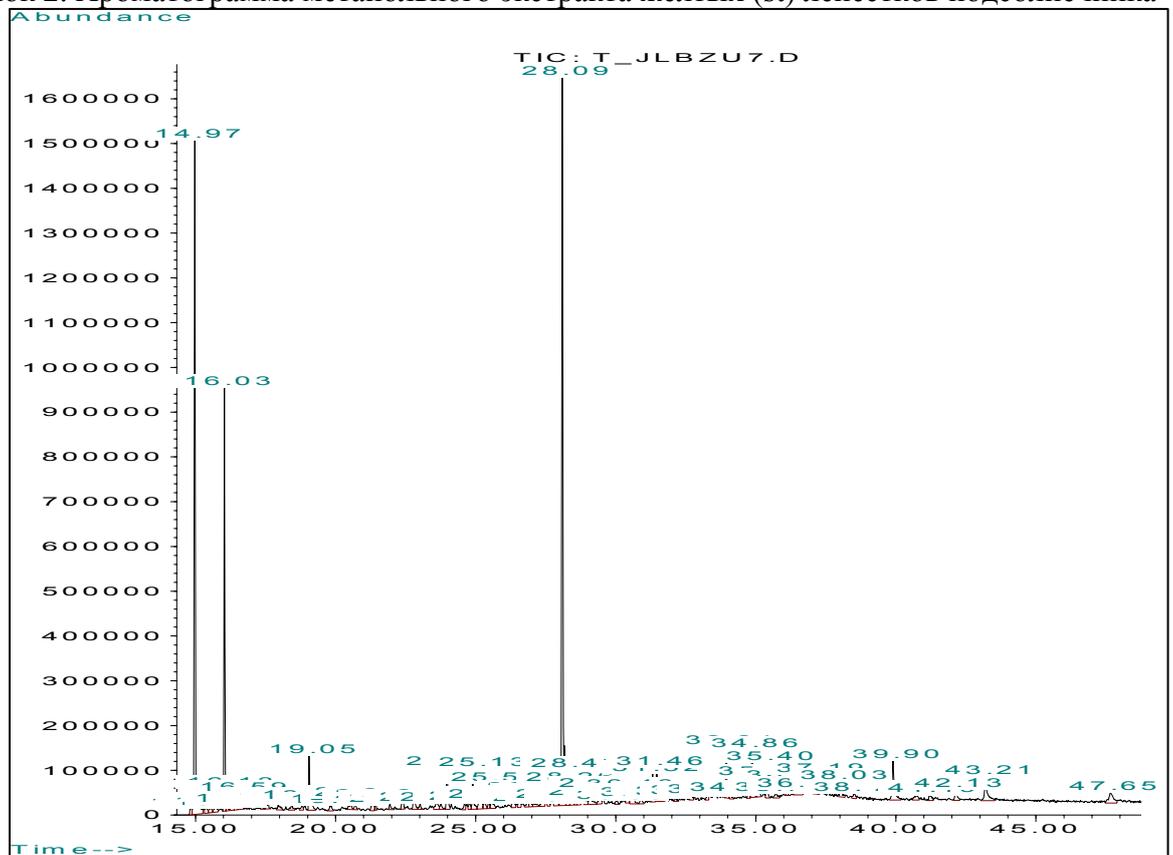


Рисунок 3. Хроматограмма бензольного экстракта желтых (st) лепестков подсолнечника

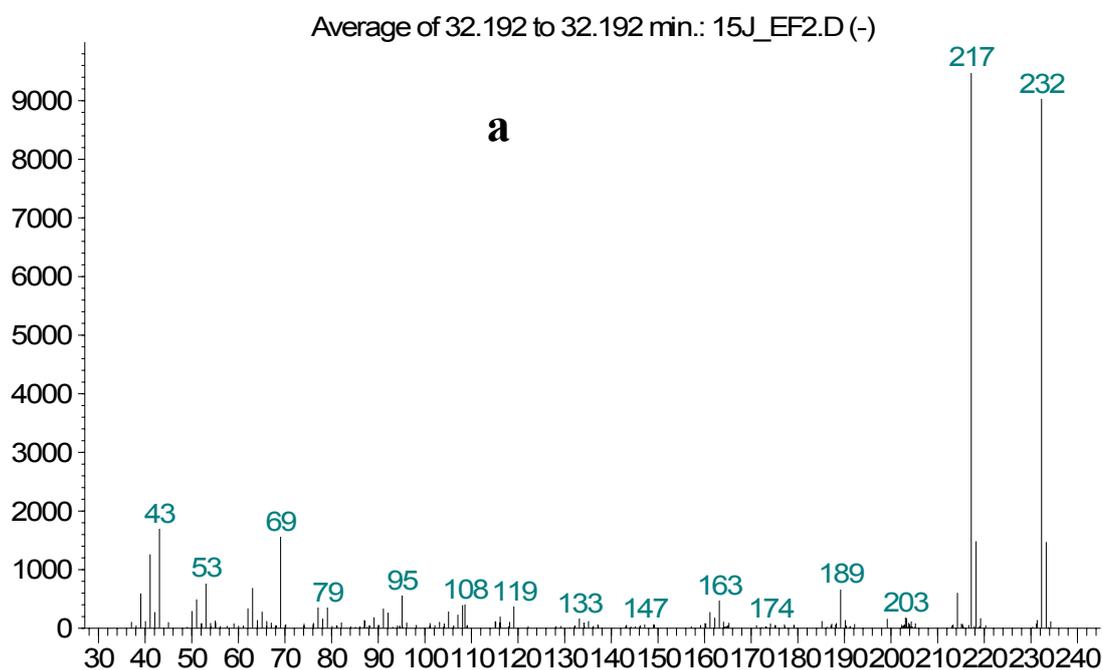
Идентификация индивидуальных соединений производилась методом сравнения характеристик полученного масс-спектра индивидуального соединения с материалами баз данных библиотечных каталогов масс-спектров.

В качестве примера на рисунке 4-а представлен масс-спектр индивидуального соединения, зарегистрированного в эфирном экстракте желтых (st) лепестков подсолнечника. Масс-спектр, выявленный в результате компьютерного поиска по библиотечным данным каталога масс-спектров «NIST 98», приводится на рисунке 4-в. Статистическая оценка характеристичных масс-пиков показала высокую вероятность (96,3 %) соответствия конкретного масс-спектра каталожной выборке. На основании данных сравнения, соединение было идентифицировано как 6-ацетил-2,5-дигидрокси-1,4-нафтохинон.

В различных пробах экстрагентов были идентифицированы предложенным методом порядка 85...95 % индивидуальных соединений от их общего числа, зарегистрированного в результате хроматографического разделения образца. В таблице 1 представлены характеристики индивидуальных соединений, полученные результате идентификации и последующей расшифровки компонентов состава эфирного экстракта язычковых лепестков желтых (st) цветков подсолнечника.

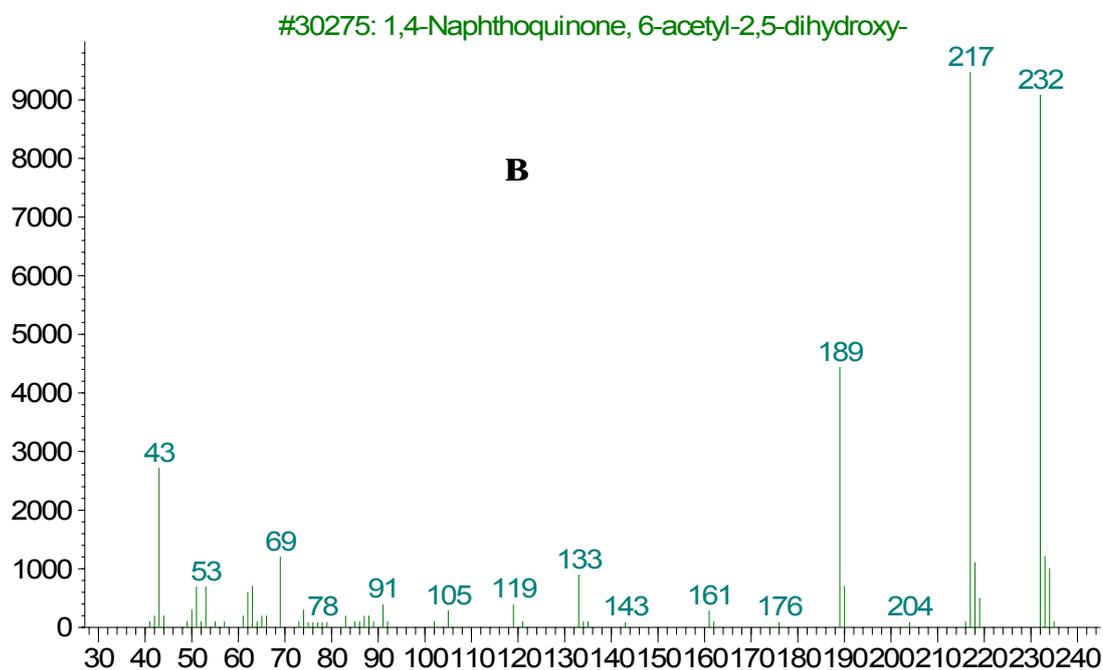
Анализ идентифицированных соединений показал, что в пробах растительного материала, независимо от исследуемого сорта подсолнечника, присутствуют вещества различных химических классов, основными из которых являются: углеводороды (алканы, алкены, циклические и полициклические соединения), органические кислоты и их эфиры, сложные спирты, производные фенола, фенантрена, фурана, нафталина, хинолина.

Abundance



m/z→

Abundance



m/z→

Рисунок 4. Масс-спектры индивидуального соединения: **a** – из реальной пробы эфирного экстракта желтых (st) язычковых лепестков подсолнечника; **b** – из базы данных библиотечного каталога «NIST 98».

Таблица 1. Результаты идентификации состава эфирного экстракта язычковых лепестков желтых (st) цветков подсолнечника

№ п/п	Время удерживания	Название идентифицированного химического соединения	Количество в пробе, %	Брутто формула	Мол. масса	Класс соединения
1.	13,39	2,3,4,5–тетраметил–1,4–гексадиен	0,20	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	Алкен
2.	13,58	4–этил–1,3–дигидроксибензол	0,92	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	138	Фенольное производное
3.	13,81	1,1–диметоксибутан	1,02	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	118	Диэфир
4.	13,99	1–метил–3–(1–метилэтил) циклогексен	0,17	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	Циклоалкен
5.	14,06	3,5,5–триметил–2–циклогексен 1 ол	0,11	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	140	Циклоалкен
6.	14,14	1,2,3,3,4–пентаметилциклопентен	0,78	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	Циклоалкен
7.	14,27	1,2,4,5–тетраметилциклогексен	0,34		140	Циклоалкен
8.	14,39	3–этил–2,5–диметил–1,3–гексадиен	1,34	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	Циклоалкен
9.	14,76	α–пинен	10,69	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	Циклоалкен
10.	14,85	1–(1,3–диметил–3–циклогексен–1) этанол	0,86	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	Оксид циклоалкена
11.	14,93	4–метоксифенол	0,61	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	124	Фенольное производное
12.	15,08	1,2,3,5–тетраметилциклогексан	1,12	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	Циклоалкан
13.	15,39	(2–метилбутилен) циклопентан	0,30	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	Циклоалкен
14.	15,50	Диэтилциклогексан	0,87	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	Циклоалкан
15.	15,74	2,6–диметилоктан	0,16	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	142	Алкан
16.	15,83	Трициклен	6,62	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	Алкен
	16,05	1–метил–2–пропил–циклогексан	0,27	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	Алкан
17.	16,20	1–этил–2,3–диметил–циклогексан	0,19	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	Алкан
18.	18,08	Цис–сабиненгидрат (тетраметилен–1,2–пропилбицикло[3.1.0] гексан)	0,11	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	Циклоалкен
19.	19,72	Цис–вербенол (триметилбицикло[3.1.1]гепт–3–ен–2–ол)	0,20	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	Бициклический спирт
20.	20,89	Миртенол	0,13	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	Бициклический спирт
21.	21,14	2,3–дигидро бензофуран	0,15	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	120	Фуран производное
22.	22,97	2–метокси–4–(2–пропенил) фенол	0,13	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164	Фенольное производное
23.	24,01	β–элемен	0,18	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	Бициклическое соединение

24.	24,56	Транс-кариофилин	0,12	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	Бициклическое соединение
25.	24,78	Каларен (1H-циклопропа[α]нафталин)	1,32	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	Производное нафталине
26.	25,08	4-пентилциклогексен	0,41	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub>	152	Циклоалкен
27.	25,48	Аристолен (1а,2,4,5,6,7,7а-октагидро-1,1,7,7а-тетраметил-1H-циклопропа-[α]нафталин)	0,33	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	Производное нафталина
28.	25,57	Гермакрен	0,25	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	Полициклическое соединение
29.	27,77	3,3,5,6,7-пентаметил-1-инданон	0,44	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O	202	Окси производное индана
30.	28,31	9-аристолен-1α-ол	0,42	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	Гидрокси производное полициклического соединения
31.	29,29	1,1'-(6-гидрокси-2,5-бензофуран)этанон	2,07	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	218	Оксисоединение
32.	29,34	Цис[α]копаен (7,8-диметил-5(1-метилэтил)-трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол)	0,93	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	Кетон
33.	29,47	1-(4-бутокси-2,6-диметилфенил)этанон	0,79	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	220	Оксифенильное производное
34.	31,27	5,8-диметокси-2,4-диметилхинолин	16,26	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	244	Производное хинолина
35.	31,42	8-амино-5,6-диметокси-4-метилхинолин	0,61	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	218	Производное хинолина
36.	31,65	6-трет-бутил-4-метилкумарин	0,91	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O	216	Производное кумарина
37.	32,01	1,4-нафталендион	0,40	C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	158	Производное нафталина
38.	32,17	6-ацетил-2,5-дигидрокси-1,4-нафтохинон	3,40	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>	232	Производное нафтохинона
39.	32,29	[3aR(3a α, 5a α., 9a β, 9в α)] дека-гидро 5a-т этил-5,9-бис(метилен) нафто [1,2-β] фуран-2(3H)он	1,97	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	232	Производное нафтофурана
40.	32,43	3b-этенил-1,3a,3b,7,7-пентаметил-додекагидро-1H-нафто [2,1-b]пиран	0,38	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	Производное нафтопирана
41.	32,75	6-ацетил-2,5,8-тригидрокси-1,4-нафтохинон	0,74	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	248	Производное нафтохинона
42.	34,57	1-гидрокси-3,6-диметокси-8-метил-9H-ксантон	0,48	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	274	Производное нафталина
43.	34,69	7-этенил-1,2,3,4,4a,4в,5,6,7,8,8a,9-додекагидро-1,1,4в,7-тетраметил-[4aS-(4aa,4вв,7a,8aa)]фенантрен	0,95	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O	286	Производное фенантрена
44.	34,75	Биформен (1,1,4a-триметил-6-метилен 5-(3-метил-2,4-пентадиенил)декагидронафталин)	4,20	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	272	Производное нафталина
45.	35,07	Кауран-16-ол	1,01	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	Производное нафталина

46.	35,14	Метилловый эфир эрикосановой кислоты	0,23	$C_{21}H_{42}O_2$	326	Сложный эфир органической кислоты
47.	35,20	7-этенил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,7,9,10,10а-додекагидро-1,4а,7-триметил-1-фенантренкарбоксальдегид	0,33	$C_{21}H_{34}$	286	Производное нафталина
48.	35,31	13β-метил-13-винилподокарп-7-ен-3-он	1,24	$C_{20}H_{30}O$	286	Производное нафталина
49.	35,64	Моногинол	0,99	$C_{20}H_{32}O$	288	Сложный спирт
50.	36,41	Кауран-16-ен-18-оевая кислота	8,75	$C_{20}H_{30}O_3$	302	Производное нафталина
51.	37,10	2,6,10,14,19-пентаметил эйкосан	4,28	$C_{25}H_{52}$	352	Алкан
52.	37,51	Метилловый эфир докосановой кислоты	7,32	$C_{23}H_{46}O_2$	354	Сложный эфир органической кислоты
53.	38,85	Цихалотрин ( <i>карате</i> )	2,21	$C_{23}H_{19}ClF_3NC$	449	Пестицид
54.	39,95	Гептакосан	1,07	$C_{27}H_{56}$	380	Алкан
55.	40,51	Метилловый эфир тетракосановой кислоты	0,46	$C_{25}H_{50}O_2$	382	Сложный эфир органической кислоты
56.	42,53	Скуален (2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракосангексаен)	0,45	$C_{30}H_{50}$	410	Алкен
57.	43,79	пентакосан	0,34	$C_{25}H_{52}$	352	Алкан
58.	48,45	Тетракосан (2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракосан)	0,30	$C_{30}H_{62}$	422	Алкан
59.	57,92	Метил коммат – Е	0,45	$C_{31}H_{50}O_5$	502	Полициклическое соединение
<b>ИТОГО:</b>		<b>идентифицированных соединений – 94,28 %</b>	<b>неидентифицированных соединений – 5,72 %</b>			

Для решения задач настоящего исследования наиболее целесообразно провести оценку характеристик различных образцов по содержанию производных нафталина, фенантрена и хинолина, так как соединения этих классов находятся в пробах в достаточном количестве и могут являться компонентами структурных образований, ответственных за цветовую гамму природного материала.

Полученные результаты по расшифровке состава экстрактов природного материала представлены в таблицах 2 – 6.

Таблица 2. Соединения (производные классов нафталина, фенантрена, хинолина), идентифицированные в результате расшифровки состава экстракта желтых (st) лепестков подсолнечника

Наименование компонента	1Н-циклопропа- [α]нафталин	1а,2,4,5,6,7,7а-октагидро-1,1,7,7а-тетраметил-1Н-циклопропа- [α]нафталин	7,8-диметил-5(1-метилэтил)-трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол	5,8-диметокси-2,4-диметилхинолин	8-амино-5,6-ди-метокси-4-метил-хинолин	6-третбутил-4-метил-кумарин	1,4-нафтален-дион	6-ацетил-2,5-дигидрокси-1,4-нафто-хинон	[3aR(3a α, 5a α., 9a β, 9b α)] дека-гидро 5a-т этил-5,9-бис(метилен) нафто [1,2-β] фуран-2(3H)он
Содержание компонента в образце, (%)	1,55	0,61	0,97	15,23	0,54	0,88	0,37	4,08	0,33
Время выхода на хроматограмме (мин.)	24,78	25,48	29,34	31,27	31,42	31,65	32,01	32,17	32,29

продолжение таблицы

Наименование компонента	3b-этинил-1,3a,3b,7,7 пентаметил-додекагидро-1Н-нафто-[2,1-b]пиран	6-ацетил-2,5,8-тригидрокси-1,4-нафто-хинон	1-гидрокси-3,6-димерокси-8-метил-9Н-ксантон	7-этинил-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9-додекагидро-1,1,4b,7-тетраметил-[4aS-(4aa,4bb,7a,8aa)]-фенантрен	1,1,4a-триметил-6-метил-5-(3-метил-2,4-пентадиенил)-декагидро-нафталин	кауран-16-ол	7-этинил-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-додекагидро-1,4a,7-триметил-1-фенантрен-карбокс-альдегид	13β-метил 13-винил подокарп-7-ен-3-он	кауран-16-ен-18-оевая кислота
Содержание компонента в образце, (%)	0,24	0,48	0,44	0,91	3,2	0,89	0,48	0,82	4,08

Время выхода на хроматограмме (мин.)	32,43	32,75	34,57	34,69	34,75	35,07	35,20	35,31	36,41
--------------------------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Таблица 3. Соединения (производные классов нафталина, фенантрена, хинолина), идентифицированные в результате расшифровки состава экстракта лимонных (I) лепестков подсолнечника

Наименование компонента	1H-циклопропа-[ $\alpha$ ]нафталин	7,8-диметил-5(1-метилэтил)-трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол	4,4a,5,6,7,8-гексагидро-4,4a-диметил-(1-метил-этил)нафталин	5,8-диметокси-2,4-диметилхинолин	8-амино-5,6-диметокси-4-метилхинолин	6-третбутил-4-метилкумарин	1,4-нафтален-дион	6-ацетил-2,5-дигидрокси-1,4-нафтохинон	[3aR(3a $\alpha$ , 5a $\alpha$ , 9a $\beta$ , 9b $\alpha$ )] дека-гидро 5a- $\pi$ этил-5,9-бис(метилен) нафто [1,2- $\beta$ ] фуран-2(3H)он
Содержание компонента в образце, (%)	1,24	1,80	0,70	9,73	0,56	0,18	0,54	1,45	1,12
Время выхода на хроматограмме (мин.)	24,76	29,43	27,29	31,29	31,46	31,55	32,02	32,22	32,28

продолжение таблицы см. на следующей странице

Наименование компонента	3b-этил-1,3a,3b,7,7 пентаметил-додекагидро-1H-нафто-[2,1-b]пиран	6-ацетил-2,5,8-тригидрокси-1,4-нафто-хинон	7-этил-1,2,3,4,4a,4в,5,6,7,8,8a,9-додекагидро-1,1,4в,7-тетраметил-[4aS-(4aa,4вв,7a,8aa)]-фенантрен	1,1,4a-триметил-6-метил-5-(3-метил-2,4-пентадиенил)-декагидро-нафталин	кауран-16-ол	7-этил-1,2,3,4,4a,4в,5,6,7,9,10,10a-додекагидро-1,4a,7-триметил-1-фенантрен-карбоксальдегид	13β-метил 13-винил подокарп-7-ен-3-он	кауран-16-ен 18-олевая кислота
Содержание компонента в образце, (%)	0,85	5,41	0,84	8,55	0,28	0,36	0,58	2,51
Время выхода на хроматограмме (мин.)	32,40	32,82	34,65	34,74	35,01	35,24	35,46	36,46

Таблица 4. Соединения (производные классов нафталина, фенантрена, хинолина), идентифицированные в результате расшифровки состава экстракта оранжевых (о) лепестков подсолнечника

Наименование компонента	1H-циклопропа-[α]нафталин	1,2,3,4-тетрагидро-1,1,2,4,4,7-гексаметил-нафталин	7,8-диметил-5(1-метилэтил)-трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол	2-метилтио-1,4-нафто-хинон	5,8-диметокси-2,4-диметил-хинолин	8-амин-5,6-диметокси-4-метил-хинолин	1,4-нафтален-дион	6-ацетил-2,5-дигидрокси-1,4-нафто-хинон	[3aR(3aa,5aa,9aβ,9va)]декагидро-5am этил-5,9-бис(метил)нафто-[1,2-β]фуран-2(3H)он	3b-этил-1,3a,3b,7,7 пентаметил-додекагидро-1H-нафто-[2,1-b]пиран
Содержание компонента в образце, (%)	1,96	0,53	1,09	0,15	16,24	1,61	0,88	2,41	2,94	0,29
Время выхода на	24,75	29,10	29,35	30,14	31,24	31,45	32,06	32,24	32,33	32,42

хроматограмме (мин.)											
-------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

продолжение таблицы

Наименование компонента	6-ацетил-2,5,8-тригидрокси-1,4-нафтохинон	1,7-диметил-1,8-нафтазирин-4-он-3-карбоксазид	1-гидрокси-3,6-диметокси-8-метил-9Н-ксантон	7-этинил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,7,8,8а,9-додекагидро-1,1,4в,7-тетраметил-[4аS-(4аа,4вв,7а,8аа)]-фенантрен	1,1,4а-триметил-6-метил-5-(3-метил-2,4-пентадиенил)-декагидро-нафталин	кауран-16-ол	7-этинил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,7,9,10,10а-додекагидро-1,4а,7-триметил-1-фенантрен-карбоксальдегид	13β-метил-13-винил-подокарп-7-ен-3-он	кауран-16-ен-18-оевая кислота	3,5,9-триметил-3,5,5,6,7,9-гексагидро-нафто-2,8-диокси [1,2-β]-фуран	8-гидрокси-3,3,5-триметил-1,2,3,4,5,5,6,7,8,9,9,10,11,11-тетрадекагидроиндено [1,2-α]-нафталин
Содержание компонента в образце, (%)	0,27	0,31	0,33	0,98	5,41	0,83	0,25	0,87	1,85	0,46	0,13
Время выхода на хроматограмме (мин.)	32,77	33,75	34,58	34,64	34,75	34,93	35,18	35,30	36,37	36,81	36,89

Таблица 5. Соединения (производные классов нафталина, фенантрена, хинолина), идентифицированные в результате расшифровки состава экстракта бело-желтых (1a) лепестков подсолнечника

Наименование компонента	1H-циклопропа-[ $\alpha$ ]нафталин	7,8-диметил-5(1-метилэтил)-трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол	5,8-диметокси-2,4-диметилхинолин	1,4-нафтален-дион	3b-этинил-1,3a,3b,7,7-пентаметил-додекагидро-1H-нафто-[2,1-b]пиран	1,4,4,7-тетраметил-1,4,5,6,7,8-гексагидро-2(3H)нафталенон	1-гидрокси-3,6-диметокси-8-метил-9H-ксантон
Содержание компонента в образце, (%)	0,72	0,45	0,53	0,15	0,18	0,54	0,81
Время выхода на хроматограмме (мин.)	24,74	29,33	31,25	32,40	32,40	33,93	34,55

продолжение таблицы

Наименование компонента	7-этинил-1,2,3,4,4a,4в,5,6,7,8,8a,9-додекагидро-1,1,4в,7-тетраметил-[4aS-(4aa,4вв,7a,8aa)]-фенантрен	1,1,4a-триметил-6-метилен-5-(3-метил-2,4-пентаденил)-декагидро-нафталин	кауран-16-ол	7-этинил-1,2,3,4,4a,4в,5,6,7,9,10,10a-додекагидро-1,4a,7-триметил-1-фенантренкарбокс-альдегид	13 $\beta$ -метил-13-винил-подокарп-7-ен-3-он	кауран-16-ен-18-оевая кислота
Содержание компонента в образце, (%)	2,41	2,84	0,80	0,31	0,92	3,8
Время выхода на хроматограмме (мин.)	34,68	34,84	35,00	35,23	35,32	36,53

Таблица 6. Соединения (производные классов нафталина, фенантрена, хинолина), идентифицированные в результате расшифровки состава экстракта зелено-желтых (ра) лепестков подсолнечника

Наименование компонента	2-этинил нафталин	1Н-циклопропа- $[\alpha]$ нафталин	7,8-диметил-5(1-метилэтил)-трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол	1,8-ди-(пропинил) нафталин	5,8-диметокси-2,4-диметил хинолин	6-третбутил-4-метил-кумарин	1,4-нафтален-дион	6-ацетил-2,5-дигидрокси-1,4-нафтохинон	[3aR(3a $\alpha$ , 5a $\alpha$ ., 9a $\beta$ , 9b $\alpha$ )] декагидро 5a-m этил-5,9-бис (метилен) нафто [1,2- $\beta$ ] фуран-2(3H)он
Содержание компонента в образце, (%)	0,25	2,17	2,04	0,44	12,03	0,24	0,26	0,28	2,80
Время выхода на хроматограмме (мин.)	24,02	24,75	29,32	30,06	30,82	31,62	32,04	32,15	32,25

продолжение таблицы

Наименование компонента	1,8-дигидрокси-2-ацетил 3-метил-нафталин	3b-этинил-1,3a,3b,7,7 пентаметил-додекагидро-1Н-нафто-[2,1-b]пиран	6-ацетил-2,5,8-тригидрокси-1,4-нафтохинон	7-этинил-1,2,3,4,4a,4в, 5,6,7,8,8a,9-додекагидро-1,1,4в,7-тетраметил-[4aS-(4aa,4вв,7a,8aa)]-фенантрен	1,1,4a-триметил-6-метилен 5-(3-метил-2,4-пентадиенил)-декагидро-нафталин	кауран-16-ол	7-этинил-1,2,3,4,4a,4в, 5,6,7,9,10,10a-додекагидро-1,4a,7-триметил-1-фенантрен-карбоксальдегид	13 $\beta$ -метил 13-винил подокарп-7-ен-3-он	кауран-16-ен 18-оевая кислота
Содержание компонента в образце, (%)	0,98	0,11	0,45	1,23	4,86	1,04	0,48	1,14	3,81
Время выхода на хроматограмме (мин.)	32,31	32,40	32,85	34,65	34,76	35,05	35,20	35,32	36,35

В результате расшифровки массива полученных данных, было установлено, что ряд соединений обнаружен в пробах экстрактов всех видов лепестков подсолнечника, независимо от их цвета, принадлежности и генетических характеристик.

К этим соединениям относятся следующие:

1Н-циклопропа[α]нафталин;

7,8-диметил-5(1-метилэтил)трицикло-[4.4.0.0.(2,7)]-дек-8-ен-4-ол;

5,8-диметокси-2,4-диметилхинолин;

1,4-нафталендион;

3β-этенил-1,3а,3b,7,7-пентаметилдодекагидро-1Н-нафто-[2,1-б]пиран;

7-этенил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,7,8,8а,9-додекагидро-1,1,4в,7-тетраметил-[4аS-(4аа,4вв,7а,8аа)]фенантрен;

1,1,4а-триметил-6-метилен 5-(3-метил-2,4-пентаденил)декагидронафталин;

кауран-16-ол;

7-этенил-1,2,3,4,4а,4в,5,6,7,9,10,10а-додекагидро-1,4а,7-триметил-1-фенан-тренкарбоксальдегид;

13β-метил 13-винил подокарп-7-ен-3-он;

кауран-16-ен-18-оевая кислота.

Перечисленные вещества могут считаться характеристичными для всех исследованных типов язычковых лепестков подсолнечника, имеющих рецессивные аллели генов: желтых (st), лимонных (l), бело-желтых (la), оранжевых (o), зелено-желтых (pa).

Дальнейшая расшифровка химического состава экстрактов из язычковых лепестков пяти различных гибридов подсолнечника показала, что каждый из образцов имеет характеристичные признаки в виде

индивидуальных веществ установленной структуры. Полученные данные представлены в таблице 7.

Таблица 7. Индивидуальные химические вещества, характеризующие гибриды подсолнечника

<i>№ п/п</i>	<i>Обозначение гибрида</i>	<i>Цвет лепестков</i>	<i>Наименование химических соединений, являющихся отличительными признаками гибридов</i>
1	st	желтые	1а,2,4,5,6,7,7а–октагидро–1,1,7,7а–тетраметил–1Н–циклопропа[α]нафталин
2	l	лимонные	4,4а,5,6,7,8–гексагидро–4,4а–диметил–(1–метилэтенил)нафталин
3	o	оранжевые	1,2,3,4–тетрагидро–1,1,2,4,4,7–гексаметилнафталин; 2–метилтио–1,4–нафтохинон; 3,5,9–триметил–3,5,5,6,7,9–гексагидро–нафто–2,8–диокси [1,2–β]–фуран 1,7–диметил–1,8–нафтазиридин–4–он–3–карбоксамид; 8–гидрокси–3,3,5–триметил–1,2,3,4,5,5,6,7,8,9,9,10,11,11–тетрадекагидроиндено[1,2–α]нафталин.
4	la	бело–желтые	1,4,4,7–тетраметил–1,4,5,6,7,8–гексагидро–2(3Н)нафталенон
5	pa	зелено–желтые	2–этенилнафталин; 1,8–ди–(пропинил)нафталин; 1,8–дигидрокси–2–ацетил–3–метилнафталин.

На основании полученных данных была установлена возможность определения отличительных признаков индивидуальных гибридов подсолнечника методом хромато–масс–спектрометрии.

Разработанная методика установления индивидуальных химических соединений, характеризующих конкретную моногенную линию подсолнечника, показала, что каждый цвет лепестков: желтый (st), лимонный

(l), бело–желтый (la), оранжевый (o), зелено–желтый (pa) – имеют от одного до пяти идентифицируемых методом хромато–масс–спектрометрии индивидуальных веществ, которые являются характеристичными для данного цвета лепестков.

Настоящая методика отличается простотой пробоподготовки и высокой производительностью, поэтому может быть использована в качестве способа идентификации генетической принадлежности методом оценки химического состава экстрактов язычковых лепестков подсолнечника.

Полученные результаты могут быть использованы государственными службами технического контроля при проведении мероприятий по контролю качества аграрной продукции методом установления генетической принадлежности сельскохозяйственных культур.

### ВЫВОДЫ

1. Разработана методика контроля генетической чистоты изогенных линий подсолнечника, обеспечивающая возможность тестирования качества аграрной продукции.

2. Показано, что экстракты растительного сырья из язычковых лепестков цветков подсолнечника содержат индивидуальные химические соединения, характеризующие конкретную генетическую линию подсолнечника.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Основные показатели сельского хозяйства в России. Информационно издательский центр «Статистика России». 2007.

2. Барнашова Е.К., Константинова Е.А. и др. Использование маркерных генов в селекции сортов и гибридов подсолнечника / В сб. «Вопросы

биологии, экологии, химии и методики обучения». Выпуск 8. СГУ им. Н.Г. Чернышевского. г. Саратов. 2005. – С. 36 – 39.

3. Барнашова Е.К. Эффекты генов, контролирующих окраску язычковых цветков у подсолнечника / Материалы международной научно-практической конференции «Роль молодых ученых в реализации национального проекта «Развитие АПК» // Сборник материалов. Часть 1. – М. 2008. С. 16 – 18.

4. Барнашова Е.К., Лобачев Ю.В. и др. Влияние окраски язычковых цветков на хозяйственно-биологические признаки подсолнечника / Материалы конференции, посвященной 119-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. 4 – 8 декабря 2006 г. Саратов. 2006. С. 3 – 5.

5. Корнеева Е.П. Экспертиза масел, жиров и продуктов их переработки. Качество и безопасность. Сибирское университетское издательство. 2007. – 272 с.

6. Полякова А.А. Тенденции развития приборных масс-спектрометрических комплексов и их применение в органическом анализе // Журнал аналитической химии. – 1991. – Т. 46, № 9. – С. 1675 – 1686.

7. Архипов Д.Б., Галль Л.Н. Современное состояние методологии молекулярной масс-спектрометрии // Журнал аналитической химии. – 1999. – Т. 54, № 6. – С. 585 – 592.