

## Identifikácia zložiek éterických olejov relatívnymi adsorpčnými indexmi

VACLAV KOMAN – SID' AHMED TALEB-BENDIAB – FAWZIE BEN MENNI

**S ú h r n.** V práci sa uvádza spôsob, ako využiť Martinove  $R_M$  hodnoty formou ich relatívnych diferencií oproti trvalému štandardu  $n$ -alkánov, tvoriacich na tenkej vrstve adsorbentu vždy prvú zónu, a potom aj formou relatívnych adsorpčných indexov (RAI) ako pomerých hodnôt jednotlivých zložiek skúmanej zmesi oproti  $n$ -alkánu a druhej, na chromatograme zvolenej retardovanejšej zložky.

Pre výpočty Deckerových  $R_C$  hodnôt sa pôvodný výraz upravil tak, že skupinová konštanta  $R_{M(-CH_2-)}$  sa v ňom nahrádza strednou hodnotou druhých diferencií  $R_M$  hodnôt rozdelených látok.

Na výpočet týchto údajov sa vypracoval samostatný program v jazyku BASIC. Získané údaje poskytujú pre skúmanú zmes látok určitý numerický obraz, ktorý môže byť pomocou na kvalitatívno-štruktúrny opis jednotlivých látok v zmesiach na vzájomné porovnávanie zmesí ako celkov po rozdelení na tenkých vrstvách silikagelového adsorbentu. Celú skupinu látok možno tak porovnať vcelku i jednotlivú pomocou „standardizovaného intervalu“ zmesi látok *Artemisia absinthium* (modelová) a *Artemisia arborescens* (skúmaná) zvolenej za základ.

### Teoretická časť

V oblasti prírodných zmesí látok, akými sú éterické oleje, značným problémom zostáva možnosť rýchlej identifikácie a štruktúrneho opisu jednotlivých zložiek zmesi. To aj preto, lebo potrebné porovnávacie štandardy sú prakticky stále ťažko dostupné.

V zameraní sa na identifikačné i štruktúrne možnosti analýzy látok sa dote-

---

Doc. Ing. Václav Koman, DrSc., Študijný odbor technológie tukov a mlieka, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemicko-technická fakulta SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Prof. Dr. Sid' Ahmed Taleb-Bendiab, Magst. Fawzie Ben Menni, INES de Biologie, B. P. 358, 130 00 Tlemcen, Algérie.

raz úspešne uplatňujú spôsoby uvedené napr. Martinom a Syngom [1], resp. Wehrlim a Kovatsom [2].

V prvom prípade ide o uplatnenie lineárno-aditívneho funkčného vzťahu  $R_M$  hodnôt, v druhom ide o vyjadrenia pomocou diferencií elučných dát skúmanej látky v relácii k homologickému radu parafinických  $n$ -alkánov.

$$R_{M(A)} = oR_{M(X)} + nR_{M(Y)} + mR_{M(Z)} + \dots K, \quad (1)$$

kde  $R_M = \log 1/R_F - 1$ ,  $A$  – látka,  $X, Y, Z, \dots$  – určité funkčné skupiny,  $o, m, n$  – počet týchto funkčných skupín,  $K$  – základná konštanta chromatografického systému.

Modifikáciou podľa Deckera [3] sa získa vzťah

$$R_C = R_{M(\text{látka})} - R_{M(\text{základ})} / R_{M(-CH_2-)}, \quad (2)$$

kde  $R_{M(-CH_2-)} =$  skupinová konštanta skupiny  $-CH_2-$ .

V interpretácii podľa Kovatsa

$$R_I = \frac{\log V_{N(A)} - \log V_{N(z)}}{\log V_{N(z+n)} - \log V_{N(z)}} 100z + 100n, \quad (3)$$

kde  $V_N$  je normálny elučný objem,  $z, n$  – počty C atómov použitých parafinických  $n$ -alkánov, a keď platí, že  $V_{N(A)} > V_{N(z)} < V_{N(n+z)}$ .

Naznačené spôsoby (formulácie) sa najviac uplatňujú v oblasti rozdeľovacích chromatografických metód (GLC, PC).

Pri našom štúdiu zloženia a štruktúr éterických olejov paliny drevitej (*Artemisia arborescens*), ktorá rastie zatiaľ neplantážovane v oblasti severozápadnej Afriky, konkrétne v oblasti krajského mesta Tlemcen [4], sme použili chromatografiu na tenkých vrstvách adsorbentov, silikágelu a oxidu hliníka.

Pri nedostatku porovnávacích látok a štandardov i nemožnosti využiť identifikačno-štruktúrne vzťahy (1)–(3) modifikovali a overovali sme možnosť nepriameho numerického kódovania oproti „bezfunkčnému“ uhľovodíku, resp. v intervale <uhľovodík, (naj)polárnejšia zvolená zložka>. Opis a zdôvodnenie toho je predmetom tejto práce, na čo sme zostavili a použili aj samostatný program v jazyku BASIC.

Na izoláciu éterických olejov z kvetov paliny drevitej (*Artemisia arborescens*) z oblasti Tlemcen (Alžírsko), sme aplikovali destilačnú metódu vodnou parou podľa Moritzu [5]. Z kondenzátu sa éterické oleje vyextrahovali v rozdeľovacom lieviku do chloroformu. Zvyšok rozpúšťadla sa odstránil prúdom oxidu uhličitého pri teplote miestnosti.

Chromatografická analýza sa robila na tenkých vrstvách silikagélového adsorbentu Merck, aktivizovaného 30-minútovým zázehvom pri 110 °C.

Chromatogramy sme vyvíjali v týchto rozpúšťadlových sústavách:

- benzén + etylacetát = 95 + 5 (v/v),
- benzén + metanol = 95 + 5 (v/v),
- chloroform + benzén = 75 + 25 (v/v),
- benzén spôsobom opakovaného vyvíjania.

Chromatogramy sme detegovali:

- parami jódu (dôkaz prítomnosti násobných väzieb),
- postrekom 1 % roztokom vanilínu v kyseline sírovej a 5-minútovým zázehvom pri 110 °C,
- pod UV lampou s filtrom 360 nm.

Základnou experimentálnou podmienkou pri príprave chromatogramov na tenkých vrstvách adsorbentov v uvádzanej koncepcii relatívnych adsorpčných indexov bol prídavok *n*-alkánového štandardu k zmesi skúmaných éterických olejov (povinný štandard).

Ako modelovú vzorku éterických olejov sme použili éterický olej z paliny pravej (*Artemisia absinthium*) a ako základné  $R_F$  hodnoty tie, ktoré sú uvedené v práci Darwisha a kol. [6] a reprodukované v tab. 1.

Relatívny adsorpčný index (RAI) sa vypočíta podľa výrazu, ktorý sme modifikovali do formy

$$RAI_i = (k_1 - a_i)/(k_2 - a_i) 100, \quad (4)$$

kde  $k_1$  je pomer  $R_M$  hodnôt štandardnej uhľovodíkovej zóny, t. j. 1,  $a_i$  – pomerne  $R_M$  hodnoty jednotlivých  $i = 1, 2, 3, \dots, n$  zón oproti  $R_M$  hodnote štandardnej uhľovodíkovej zóny,  $k_2 - R_M$  (naj)polárnejšej zvolenej zóny na danom chromatograme.

V prípade poslednej (*n*-tej) zóny sa na výpočet zodpovedajúcej hodnoty relatívneho adsorpčného indexu použije výraz

$$RAI_n = (k_1 - a_n)/k_2, \quad (5)$$

T a b u l k a 1.  $R_F$  hodnoty éterických olejov paliny pravej (*Artemisia absinthium*) po rozdelení na tenkej vrstve silikagélu sústavou benzén-etylacetát (95 : 5, v/v)

T a b l e 1.  $R_F$  values of etheric oils from *Artemisia absinthium* after separation on a silica gel thin layer in the mobile phase benzene-ethyl acetate (95 : 5, v/v)

Zóna <sup>1</sup>	$R_F$	Látka <sup>2</sup>
1	0.97	<i>n</i> -alkán <sup>3</sup>
2	0.92	azulén <sup>4</sup>
3	0.86	nerylacetát <sup>5</sup>
4	0.73	?
5	0.66	cineol <sup>6</sup>
6	0.59	<i>p</i> -cymén <sup>7</sup>
7	0.51	nerol <sup>8</sup>
8	0.44	tujón <sup>9</sup>
9	0.38	?
10	0.31	?
11	0.27	?
12	0.21	?
13	0.12	?
14	0.07	?

<sup>1</sup> – Zone, <sup>2</sup> – Compound, <sup>3</sup> – *n*-Alkane, <sup>4</sup> – Azulene, <sup>5</sup> – Nerylacetate, <sup>6</sup> – Cineol, <sup>7</sup> – *p*-Cymene, <sup>8</sup> – Neroli, <sup>9</sup> – Thujone.

ktorý je dopĺňajúcim výpočtom, indikuje posledný výpočet a jeho úprava zabráňuje ilegálnemu deleniu nulou.

Na vlastný výpočet  $R_M$  hodnôt, ich diferencií (skupinových konštánt, ktoré vzhľadom na odlišnosť adsorpčných afinitných princípov od rozdeľovacích uvažujeme ako „štruktúrne konštanty“), ich všetkých pomerných hodnôt atď. sa po nameraní  $R_F$  hodnôt na príslušných chromatogramoch použil výpočtový program, ktorý bol zostavený a opísaný už skôr [7].

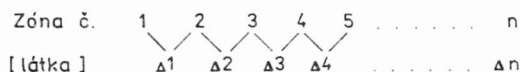
Na výpočet vlastných RAI sme pripravili separátny program v jazyku BASIC na PC IBM XT, ktorý pri hľadanej hodnote RAI umožňuje ešte dodatkový výpočet Deckerovej  $R_C$  hodnoty. Úplný výpis algoritmu uvedeného programu je v prílohe 1.

## Výsledky a diskusia

Pretože výrazy (1) a (2) v ich pôvodných formách nemožno v oblasti adsorpčno-chromatografických metód plne aplikovať a preto pôvodná formulácia (3) nachádza optimálne identifikačno-štruktúrne uplatnenie v oblasti rozdeľovacích chromatografických metód (najmä GLC), modifikovali a overovali sme možnosť numerického kódovania jednotlivých zložiek éterických

olejov vo vzťahu k trvalému štandardu *n*-alkánov, ktorý je povinný, resp. v druhom spôsobe vyjadrenia formou RAI, t. j. v intervale celého chromatogramu <pôv. *n*-alkán. (naj)retardovanejšia zložka>. Na výpočty hodnôt RAI sme formulovali a použili výrazy (4) a (5) a zostavili vlastný výpočtový program.

V bežných podmienkach identita nejakej látky alebo jej štruktúrny opis vyžadujú disponovať s väčším počtom porovnávacích štandardov. Ich pomocou sa stanoví  $\Delta R_M$  hodnota ako tzv. skupinová konštanta, ktorá je v podstate priemernou  $\Delta R_M$  hodnotou totožných funkčných skupín v nejakom homologickom rade látok. Zjednodušene to znázorňuje schéma 1.



To je však možné iba v prípade, keď jednotlivé zóny na chromatograme sú látky líšiace sa iba definovaným prírastkom – inkrementom. V takom prípade stredná hodnota diferencií  $R_M$  hodnôt susediacich zón (látok) vyjadruje hľadanú  $R_M$  hodnotu príslušnej skupinovej konštanty. Tá sa dá potom použiť v zmysle Martinových úvah, resp. výrazu (1). Konkrétnejšie to možno doložiť príkladom určenia skupinovej konštanty  $R_{M(-CH_2-)}$  podľa Šandu a kol. [8], čoho podklady zhŕňa tab. 2.

Pretože jednotlivé éterické oleje sa na tenkej vrstve adsorbentu nerozdeľujú podľa pravidelného skupinového inkrementu, určenie skupinovej konštanty v zmysle schémy 1, resp. tab. 2, nie je logicky možné. Taká hodnota by sa nemohla vzťahovať iba na určitú – definovanú funkčnú skupinu.

Tabuľka 2. Príklad určenia skupiny  $-CH_2-$  pomocou výpočtu jej skupinovej konštanty

$$\bar{R}_{m(-CH_2-)}$$

T a b l e 2. An example of the determination of the  $-CH_2-$  group on the basis of the calculation of its group constant  $R_{M(-CH_2-)}$

Kyselina dikarboxylová	Počet skupín $-CH_2-$ <sup>2</sup>	$R_F$	$R_M$	$\frac{R_{Mn} - R_{Mn-1}}{R_{M(-CH_2-)}}$
Jantárová <sup>3</sup>	2	0,31	0,347	
Glutárová <sup>4</sup>	3	0,48	0,035	-0,312
Adipová <sup>5</sup>	4	0,64	-0,234	-0,269
Pimelová <sup>6</sup>	5	0,77	-0,524	-0,290

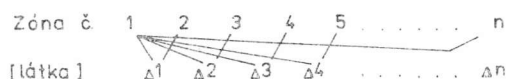
Priemerná hodnota:

$$\bar{R}_{M(-CH_2-)} = -0,290.$$

Average value:

<sup>1</sup> – Dicarboxylic acid, <sup>2</sup> – Number of  $-CH_2-$  groups, <sup>3</sup> – Succinic, <sup>4</sup> – Glutaric, <sup>5</sup> – Adipic, <sup>6</sup> – Pimelic.

V tom zameraní, obchádzajúc súčasne nedostačujúci počet porovnávacích štandardných látok, sú diferencie jednotlivých zón (látok) na tenkej vrstve adsorbentu modifikované v zmysle schémy 2. V nej prvú zónu predstavuje trvalý uhľovodíkový štandard.



V tomto prípade sa hodnoty  $R_M$  diferencujú vzhľadom na  $R_M$  hodnotu štandardného „bezfunkčného“ uhľovodíka utvárajúceho prvú zónu na tenkej vrstve adsorbentu.

Výpočty hodnôt tohto druhu diferencií „nesusediacich“ zón (látok) umožňuje už uvedený výpočtový program [7]. Do programu uvedeného v tejto práci sa priamo vstupuje s diferenciami schémy 2 uvažovanými v tej forme ako diferencie prvého poriadku.

Ďalšia forma indentifikačno-štruktúrneho kódovania éterických olejov rozdeľovaných na tenkých vrstvách adsorbentov sa realizuje za súčasného použitia druhého štandardu, ktorý sa volí v skúmanej zmesi ako zložka (naj)retardovanejšia. Substitúciami do výrazov (4) a (5) dochádzame k numerickej hodnote RAI, číselne kódujúceho všetky zložky a v určitom zmysle aj ich štruktúry v celom zvolenom intervale schémy 2. Hodnotu RAI možno potom definovať ako pomer diferencií pomerov  $R_M$  hodnôt všetkých zložiek na TV adsorbente v reláciách oproti štandardnému uhľovodíku v druhej  $n$ -tej zvolenej zóne. Pritom druhý zvolený štandard môže byť kvalitatívne i štruktúrne definovanou zložkou na chromatograme, nemusí to však byť podmienkou.

Rozdelenie modelovej zmesi éterických olejov z *Artemisia absinthium* na tenkej vrstve adsorbentu so zodpovedajúcimi kvalitatívnymi i štruktúrnymi údajmi ukazuje tab. 3. Dokazuje, že jednotlivé éterické oleje nie sú rozdeľené podľa svojich mólových hmotností, ako by to nevyhnutne bolo v prípade rozdeľovacích metód (porovnaj tab. 2), ale podľa určujúcich rozdielov adsorpčných koeficientov, to znamená celým súborom štruktúrnych determinantov, ktorými príslušné zložky éterického oleja disponujú.

Paralelne s hodnotami RAI sme ešte verifikovali spoluuplatnenie Deckeroých  $R_C$  hodnôt, ktoré môžu byť potenciálnym spoluidentifikačtorom kvalitatívnych i štruktúrnych parametrov skúmaných zmesí éterických olejov. Pôvodná formulácia výrazu (2) uvažuje s diferenciami  $R_M$  hodnôt jednotlivých zložiek oproti skupinovej konštante  $R_{M(-CH_2-)}$ .

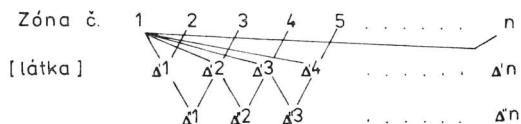
T a b u l k a 3. Štruktúry niektorých éterických olejov v reláciách k vypočítaným vzájomným diferenciam  $R_M$  a diferenciam  $R_M$  hodnôt vzhľadom na zónu uhlivodíkov po rozdelení na tenkej vrstve silikagelu

T a b l e 3. Structures of some etheric oils in relations to the calculated mutual  $R_M$  differences and  $R_M$  differences relatively to the hydrocarbon zone after separation on a silica gel thin layer

Zóna <sup>1</sup>	Skupinová konštanta <sup>2</sup>	Diferenčná konštanta oproti uhlivodíkom <sup>3</sup>	Sumárny vzorec <sup>4</sup>	Mólová hmotnosť <sup>5</sup>	Štruktúrny vzorec <sup>6</sup>	Látka <sup>7</sup>
1	0,449	0,449	$C_n H_{2n}$		$CH_3(CH_2)_nCH_3$	uhľovodík <sup>8</sup>
2	0,272	0,721	$C_{10}H_{12}$	133,06		azulén <sup>9</sup>
3	0,356	1,077	$C_{12}H_{20}O_2$	195,03	$CH_3-C(CH_3)=CH(CH_2)_2-C(CH_3)=CH-CH_2-OCO-CH_3$	nerylacetát <sup>10</sup>
4	0,129	1,352	$C_{10}H_{18}O$	154,25		cineol <sup>11</sup>
5	0,141	1,492	$C_{10}H_{16}$	134,20		<i>p</i> -cymén <sup>12</sup>
6	0,122	1,614	$C_{10}H_{18}O$	154,25	$CH_3-C(CH_3)=CH(CH_2)_2-C(CH_3)=CH-CH_2OH$	nerol <sup>13</sup>
7	0,107	1,722	$C_{10}H_{16}O$	154,24		tujón <sup>14</sup>

<sup>1</sup> – Zone, <sup>2</sup> – Group constant, <sup>3</sup> – Differential constant against hydrocarbons, <sup>4</sup> – Summary formula, <sup>5</sup> – Molecular weight, <sup>6</sup> – Structural formula, <sup>7</sup> – Compound, <sup>8</sup> – Hydrocarbon, <sup>9</sup> – Azulene, <sup>10</sup> – Nerylacetate, <sup>11</sup> – Cineol, <sup>12</sup> – *p*-Cymene, <sup>13</sup> – Neroli, <sup>14</sup> – Thujone.

Takáto hodnota je v prípade adsorpčných chromatografických metód nereálna, modifikuje sa v našom poňatí do pojmu „štruktúrna konštanta“ [15], resp. priemerná hodnota diferencií druhého poriadku v zmysle schémy 3:



Priemernú hodnotu druhej diferencie, naznačujúcu konvergenciu k nule, berieme za racionálnu a substituujeme ju do výrazu (2) namiesto pôvodnej hodnoty  $R_{M(-CH_2-)}$ .

V tom zmysle sme doplnili a upravili celý uvádzaný výpočtový program doložený prílohou 1. Pomocou neho vypočítané hodnoty relatívnych adsorpčných indexov, ako aj modifikovaných  $R_C$  hodnôt uvádza tab. 4. Sú priamou kópiou hodnôt i formátu vypisovaných počítačom. Druhým – zvoleným – štandardom v modelovej zmesi éterických olejov z *Artemisia absinthium* bol tujón. Výsledky tab. 4 sa teda vzťahujú na interval, ktorého limitujúcimi zónami sú (*n*-alkán, tujón), t. j. oba štandardy, daný i zvolený, sú kvalitatívne i štruktúrne už známe.

Tabuľka 5 je priamou kópiou hodnôt i formátu vypísaných počítačom v podmienkach vypracovaného algoritmu a zhŕňa všetky zložky éterických olejov z *Artemisia absinthium*, t. j. v celom intervale na chromatograme detegovaných zložiek: (*n*-alkán, posledná zóna). Druhý štandard intervalu je v tomto prípade a v tomto čase ešte kvalitatívne i štruktúrne neidentifikovaná látka, resp. charakterizovaná na TV adsorbente iba svojou základnou  $R_F$  hodnotou.

Možno doplniť, že za rovnakých pracovných podmienok budú všetky tieto hodnoty pre danú zmes éterických olejov konštantné a danú zmes numericky reprodukovateľne charakterizujúce ako jej určitý matematický obraz. Vlastné experimentálne údaje  $R_F$  hodnôt a sfarbenia jednotlivých zložiek zmesi éterického oleja z *Artemisia arborescens* po rozdelení na tenkej vrstve silikagelového adsorbentu, vyvinutí v rozpúšťadlovej sústave benzén–etylacetát = 95:5 (v/v) a detegovaní rozličnými činidlami uvádza tab. 6. Tabuľka 7 zhŕňa rovnaké experimentálne údaje; vyvíjacou sústavou je čistý benzén a použila sa technika viacstupňového vyvíjania. Z týchto výsledkov TLC analýzy sa mohli kvalitatívne identifikovať iba zložky s charakteristickým zafarbením, azulén ( $R_F$  0,64, resp. 0,95 – modré zafarbenie) a gáfor ( $R_F$  0,18, resp. 0,19 – ružové zafarbenie).

## Príloha 1

```

NOM: INDREL1
10 REM VYPOCET RELATIVNEHO ADSORPCNEHO INDEXU
20 OPTION BASE 1
30 PRINT „PRVA N-ALKANOVA ZONAJ = KONSTANTA C1 = ?“: INPUT C1
40 PRINT „POSLEDNA POMERNA ZONA K N-ALKANU = KONSTANTA C2 = ?“:
INPUT C2
50 PRINT „POCET VSETKYCH ZON = ?“: INPUT N
60 DIM A/N/, RA /N/, DF /N + 1/, R/N/, A$/100/, A1/N/, B$/35/, C$/35/, X$/23/
70 A$ = „-----“
80 B$ = „PRIEMERNA HODNOTA PRVEJ DIFERENCIE: “ : C$ = „PRIEMERNA
HODNOTA DRUHEJ DIFERENCIE:“
90 FOR J = 1 TO N
100 PRINT“RELATIVNA RM HODNOTA ZONY K N-ALKANU = ?“
110 PRINT J; :INPUT A/J/: NEXT J
120 FOR J = 1 TO /N-1/
130 PRINT „UDAT DIFERENCIU RM alkanu – RM latky
140 PRINT J; :INPUT DF /J/:DX = DX + DF/J/:NEXT J:DD = DX/ N-1
150 FOR J = 1 TO N
160 IF J = N THEN GOTO 190
170 RA/J/ = C1-A J / C2-A J 100
180 GOTO 200
190 RA/J/ = C1-A J / C2 100
200 NEXT J
210 FOR J = 1 TO /N-2/
220 A1/J/ = DF/J/ - DF/J + 1/
230 A2 = A2 + A1/J/:NEXT J
240 A3 = A2/ N-2
250 FOR J = 2 TO /N/
260 R/J/ = DF J-1 /A3:NEXT J
270 PRINT „N“ TAB/10/“RMrel“ TAB/26/„RAI“ TAB/40/“Pdif“ TAB/50/“RC“ TAB/60/COM-
POSE“:LPRINT „N“ TAB/10/“RMrel“ TAB/26/„RAI“ TAB/40/“Pdif“ TAB/50/„RC“ TAB/60/
„COMPOSE“
280 PRINT A$:LPRINT A$
290 FOR J = 1 TO N
300 PRINT J TAB/9/A/J/ TAB/23/USING „#####. #“:RA/J/:LPRINT J TAB/9/ A/J/
TAB/23/USING „#####. #“:RA/J/,
310 PRINT TAB/37/DF/J/ TAB/47/USING „#####. #“:R/J/:LPRINT TAB/37/ DF/J/
TAB/47/USING „#####. #“:R/J/
320 PRINT „VYPISAT MENO ZLOZKY, POKRACOVAT STLACENIM F5“: INPUT X$
330 PRINT TAB/58/X$:LPRINT TAB/58/X$
340 STOP
350 NEXT J
360 PRINT A$:LPRINT A$
370 PRINT B$,DD:LPRINT B$,DD
380 PRINT C$,A3:LPRINT C$,A3
390 PRINT A$:LPRINT A$
400 LPRINT Pozn. RMrel = relatívna RM hodnota n-alkánu, RAI = relatívny adsorpčný index,
Pdif = prvá diferencia, RC = upravená Deckerova hodnota.
410 PRINT:LPRINT
420 BEEP:END

```

Tabuľka 4. Výsledné údaje relatívnych absorpčných indexov (RAI) a  $R_C$  hodnôt vypočítaných v intervale «*n*-alkán, tujón» modelovej zmesi éterických olejov *Artemisia absinthium*  
 Table 4. Final data on the relative adsorption indices (RAI) and the  $R_C$  values computed in the interval «*n*-alkane, thujone» of the model mixture of etheric oils from *Artemisia absinthium*

Č. <sup>1</sup>	$R_{Mrel.}$	RAI	$P_{dif.}$	$R_C$	Látka <sup>2</sup>
1	1	0,00	0	0,000	<i>n</i> -alkán <sup>3</sup>
2	0,702	38,63	-0,449	-2,312	azulén <sup>4</sup>
3	0,5222	80,73	-0,721	-3,712	nerylacetát <sup>5</sup>
4	0,286	200,84	-1,0777	-5,548	?
5	0,191	310,56	-1,2216	-6,289	cineol <sup>6</sup>
6	0,1047	513,95	-1,3815	-7,113	<i>p</i> -cymén <sup>7</sup>
7	0,01151	1220,21	-1,4923	-7,683	nerol <sup>8</sup>
8	-0,0695	1538,85	-1,6144	-8,312	tujón <sup>9</sup>

a – priemer prvých diferencií; average of the first differences: -1,136786.

b – priemer druhých diferencií, average of the second differences: 0,1942333.

$R_{Mrel.}$  – pomerná hodnota k *n*-alkánu; relative value to *n*-alkane;

$P_{dif.}$  – prvá diferenciá; first difference;  $R_C$  – upravená Deckerova  $R_C$  hodnota; modified Decke's  $R_C$  value.

<sup>1</sup> – No., <sup>2</sup> – Compound, <sup>3</sup> – *n*-Alkane, <sup>4</sup> – Azulene, <sup>5</sup> – Nerylacetate, <sup>6</sup> – Cineol, <sup>7</sup> – *p*-Cimene, <sup>8</sup> – Neroli, <sup>9</sup> – Thujone.

Tabuľka 5. Výsledné údaje relatívnych absorpčných indexov (RAI) a modifikovaných  $R_C$  hodnôt vypočítaných v celom intervale «*n*-alkán, tujón» modelovej zmesi éterických olejov *Artemisia absinthium*

Table 5. Final data on the relative adsorption indices (RAI) and the modified  $R_C$  values computed in the interval «*n*-alkane, thujone» of the model mixture of etheric oils from *Artemisia absinthium*

Č. <sup>1</sup>	$R_{Mrel.}$	RAI	$P_{dif.}$	$R_C$	Látka <sup>2</sup>
1	1	0,00	0	0,000	<i>n</i> -alkán <sup>3</sup>
2	0,702	20,61	-0,449	-2,467	azulén <sup>4</sup>
3	0,5222	37,73	-0,721	-3,962	nerylacetát <sup>5</sup>
4	0,286	69,31	-1,0777	-5,921	?
5	0,191	86,51	-1,2216	-6,712	cineol <sup>6</sup>
6	0,1047	105,48	-1,3815	-7,591	<i>p</i> -cymén <sup>7</sup>
7	0,01151	130,82	-1,4923	-8,199	nerol <sup>8</sup>
8	-0,0695	158,54	-1,6144	-8,870	tujón <sup>9</sup>
9	-0,141	189,19	-1,7222	-9,463	?
10	-0,23	239,25	-1,8571	-10,204	?
11	-0,286	280,72	-1,9416	-10,668	?
12	-0,381	380,34	-2,0851	-11,457	?
13	-0,5732	920,54	-2,2749	-12,499	?
14	-0,7441	234,39	-2,633	-14,467	?

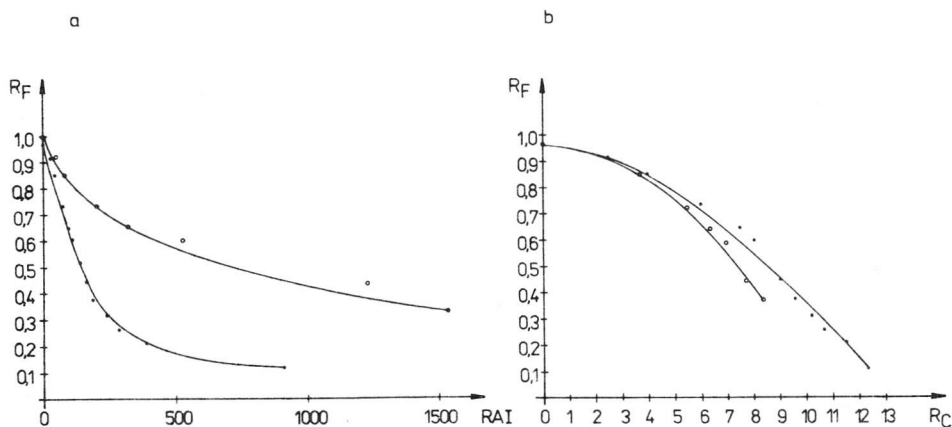
For explanations see Table 4.

T a b u l k a 6. Experimentálne údaje éterických olejov *Artemisia arborescens*, namerané po rozdelení na tenkej vrstve silikagélu vyvíjacou sústavou benzén-etylacetát (95 : 5, v/v) po detegovaní rôznymi prostriedkami

T a b l e 6. Experimental data on etheric oils from *Artemisia arborescens* measured after separation on a silica gel thin layer in the mobile phase benzene-ethyl acetate (95 : 5, v/v) and after detection by different agents

Zóna <sup>1</sup>	$R_F$	Bez detekcie <sup>2</sup>	Zafarbenie <sup>3</sup>		
			UF <sup>4</sup>	pary I <sub>2</sub> <sup>5</sup>	vanilín/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> <sup>6</sup>
1	0,67	zelená <sup>7</sup> modrá <sup>8</sup>	fialové <sup>12</sup>		
2	0,65		tmavofialové <sup>13</sup>		
3	0,54				
4	0,46	oranžová <sup>9</sup>	fialové <sup>12</sup>		
5	0,42		fialové <sup>12</sup>		
6	0,31				
7	0,25	hnedá <sup>10</sup>	fialové <sup>12</sup>		ružové <sup>15</sup>
8	0,19				
9	0,17		fialové <sup>12</sup>		
10	0,14	jasnofialová <sup>11</sup>	jasnofialové <sup>11</sup>	tmavohnedé <sup>14</sup> tmavofialové <sup>13</sup>	tmavozelené <sup>16</sup> fialové <sup>12</sup>
11	0,12		fialové <sup>12</sup>		
12	0,05		fialové <sup>12</sup>		

<sup>1</sup> – Zone, <sup>2</sup> – Without detection, <sup>3</sup> – Colour, <sup>4</sup> – UV, <sup>5</sup> – I<sub>2</sub> vapour, <sup>6</sup> – Vaniline/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, <sup>7</sup> – Green, <sup>8</sup> – Blue, <sup>9</sup> – Orange, <sup>10</sup> – Brown, <sup>11</sup> – Light purple, <sup>12</sup> – Purple, <sup>13</sup> – Dark purple, <sup>14</sup> – Dark brown, <sup>15</sup> – Pink, <sup>16</sup> – Dark green.



Obr. 1. Priebeh závislosti vypočítaných relatívnych adsorpčných indexov (RAI) (a) a modifikovaných Deckerových  $R_C$  hodnôt na experimentálne nameraných  $R_F$  hodnotách (b).

Fig. 1. Course of independence of calculated relative adsorption indices (RAI) (a) and modified Decker's  $R_C$  values on experimentally measured  $R_F$  values (b).

Tabuľka 7. Experimentálne údaje éterických olejov *Artemisia arborescens*, namerané po rozdelení na tenkej vrstve silikagélú po trojnásobnom vyvinutí v čistom bazéne a po detegovaní rôznymi prostriedkami

Table 7. Experimental data on etheric oils from *Artemisia arborescens* measured after separation on a silica gel thin layer developed three times in benzene and after detection by different agents

Zóna <sup>1</sup>	$R_F$	Bez detekcie <sup>2</sup>	Zafarbenie <sup>3</sup>		
			UF <sup>4</sup>	pary I <sub>2</sub> <sup>5</sup>	vanilín/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> <sup>6</sup>
1	0,97	modrá <sup>7</sup>	zelenkasté <sup>12</sup>	tmavozelené <sup>16</sup>	tmavofialovoze- lené <sup>17</sup>
2	0,94		tmavofialové <sup>13</sup>		
3	0,84		tmavofialové <sup>13</sup>		
4	0,81				
5	0,66	zelenomodrá <sup>8</sup>	tmavofialové <sup>13</sup>		hnedomodré <sup>18</sup>
6	0,62		fialové <sup>11</sup>		
7	0,52				
8	0,40				jasnomodré <sup>19</sup>
9	0,35	zelenohnedá <sup>9</sup>	fialovorůžové <sup>14</sup>		
10	0,33		jasnofialové <sup>15</sup>		
11	0,24		tmavofialové <sup>13</sup>		ružové <sup>20</sup>
12	0,23		tmavofialové <sup>13</sup>		
13	0,21	jasnohnedá <sup>10</sup>	fialové <sup>11</sup>		
14	0,18		tmavofialové <sup>13</sup>		
15	0,13		jasnofialové <sup>15</sup>		
16	0,10		jasnofialové <sup>15</sup>		
17	0,09	modrá <sup>7</sup>	fialové <sup>11</sup>		
18	0,06	fialová <sup>11</sup>	tmavofialové <sup>13</sup>		
19	0,04				
20	0,02				

For explanations 1–6 see Table 6. <sup>7</sup> – Blue, <sup>8</sup> – Green-blue, <sup>9</sup> – Green-brown, <sup>10</sup> – Light brown, <sup>11</sup> – Purple, <sup>12</sup> – Greenish, <sup>13</sup> – Dark purple, <sup>14</sup> – Purple-pink, <sup>15</sup> – Light purple, <sup>16</sup> – Dark green, <sup>17</sup> – Dark purple-green, <sup>18</sup> – Brown-blue, <sup>19</sup> – Light blue, <sup>20</sup> – Pink.

Numerické obrazy éterických olejov v podobe RAI a  $R_C$  hodnôt vypočítaných z  $R_F$  hodnôt uvedených v tab. 6 a 7 pomocou uvádzaného výpočtového programu zhrňujú tab. 8 a 9. Všetky tieto hodnoty sú z intervalu (uhľovodíková, posledná (neznáma) zóna).

Priebehy závislostí vypočítaných RAI a modifikovaných Deckerových  $R_C$  hodnôt od experimentálne nameraných  $R_F$  hodnôt znázorňuje obr. 1. Z neho vidieť, že závislosti v oboch prípadoch predstavujú nelinearity, ktorých smery sú inverzné. Tým možno RAI i hodnoty  $R_C$  s určitou aproximáciou získať jednoduchým extrapolovaním.

Keď sme ako kritérium optimálnej regresie použili korelačný koeficient  $r_{x,y}$ , dôslednou regresnou analýzou k obr. 1 sa zistilo, že najpresnejšie aproximujúci bude výraz obecného tvaru

$$y = k \ln x + q,$$

kde  $y = \text{RAI}$ , resp.  $R_C$ ,  $x = R_F$ .

K nemu nájdené konkrétne regresné koeficienty a ďalšie štatistické informácie zhŕňa tab. 10.

**Tabuľka 8.** Výsledné údaje relatívnych adsorpčných indexov (RAI) a modifikovaných  $R_C$  hodnôt vypočítaných v intervale «*n*-alkán, posledná zóna» zmesi éterických olejov *Artemisia arborescens* z podkladov v tabuľke 6

**Table 8.** Final data on the relative adsorption indices (RAI) and the modified  $R_C$  values computed in the interval «*n*-alkane, last zone» of the mixture of etheric oils from *Artemisia arborescens* from the data in Table 6

Č. <sup>1</sup>	$R_{\text{Mrel.}}$	RAI	$P_{\text{dif.}}$	$R_C$	Látka <sup>2</sup>
1	1	0,00	0	0,000	<i>n</i> -alkán <sup>3</sup>
2	0,8741205	2,50	-3,871563	-0,250	azulén <sup>4</sup>
3	0,2264136	17,65	-0,237925	-1,537	?
4	-0,2264133	31,20	-0,3771968	-2,437	?
5	-0,5022749	41,10	-0,4620411	-2,986	?
6	-1,129816	70,34	-0,6550483	-4,233	?
7	-1,551307	97,89	-0,7846821	-5,070	?
8	-2,047501	144,42	-0,9372922	-6,056	?
9	-2,239001	168,81	-0,9961901	-6,437	?
10	-2,563299	223,48	-1,095931	-7,081	?
11	-2,813431	283,68	-1,178862	-7,617	?
12	-4,137725	123,57	-1,586315	-10,250	?

a – priemer prvých diferencií; average of the first differences: -0,7591091.

b – priemer druhých diferencií; average of the second differences: 0,1547599.

For explanations see Table 4.

Z uvedených interpretácií funkčných závislostí éterických olejov rôznych rastlinných druhov vyplýva, že sa dajú navzájom preukázateľne diferencovať rôznymi, ale individuálne totožnými matematicko-numerickými i grafickými opismi – obrazmi. To znamená, že určitú zmes éterických olejov (i iných prírodných látok) možno zvoliť za základnú – štandardnú (v našom prípade *Artemisia absinthium*). Potom pri skúmaní zmesí nových, neznámych látok možno pracovať už bez individuálnych porovnávacích čistých látok, alebo charakterizovať rozdelené látky – zóny na TLC – matematicko-numerickými a grafickými obrazmi pomocou celých „štandardizovaných intervalov“.

V závere možno uviesť, že hoci sú jednotlivé zložky éterických olejov z *Artemisia arborescens* z alžírskej oblasti Tlemcen, okrem majoritného azulénu a charakteristicky sfarbeného gáfru, menovite nedefinované, máme pomocou uvádzaného programu a postupu ich matematicko-numerické opisy, ktoré za rovnakých pracovných podmienok budú konštantné. Spresnením

T a b u l k a 9. Výsledné údaje relatívnych adsorpčných indexov (RAI) a modifikovaných  $R_C$  hodnôt vypočítaných v intervale <n-alkán, posledná zóna> zmesi éterických olejov *Artemisia arborescens* z podkladov v tabuľke 7

T a b l e 9. Final data on the relative adsorption indices (RAI) and the modified  $R_C$  values computed in the interval <n-alkane, last zone> of the mixture of etheric oils from *Artemisia arborescens* from the data in Table 7

Č. <sup>1</sup>	$R_{Mrel.}$	RAI	$P_{diff.}$	$R_C$	Látka <sup>2</sup>
1	1	0.0	0.00	0.000	n-alkán <sup>3</sup>
2	0.79156	10.91	-0.31467	-1.963	
3	0.477037	32.75	-0.789492	-4.925	
4	0.4360028	36.24	-0.85111	-5.310	
5	0.1408326	68.16	-1.297043	-8.092	
6	-1.150868E-02	91.28	-1.527025	-9.527	
7	-0.0230266	93.29	-1.544414	-9.635	
8	-0.2168441	134.79	-1.83701	-11.461	
9	-0.2575829	145.89	-1.898512	-11.844	
10	-0.3160474	163.78	-1.986773	-12.395	
11	-0.3988073	194.07	-2.111711	-13.175	
12	-0.4561512	219.48	-2.19828	-13.715	
13	-0.4770868	229.89	-2.229811	-13.911	
14	-0.4990077	241.55	-2.262979	-14.118	
15	-0.5731798	287.91	-2.374953	-14.817	
16	-0.6320946	334.79	-2.46339	-15.369	
17	-0.7441354	464.53	-2.633086	-16.427	
18	-0.8470522	677.71	-2.788405	-17.396	
19	-0.9142583	932.26	-2.889863	-18.029	
20	-1.119594	189.32	-3.199848	-19.963	

a – priemer prvých diferencií; aaverage of the first differences: -0.957809.

b – priemer druhých diferencií; average of the second differences: 0.1602874.

For explanations see Table 4.

kvalitatívnych či štruktúrnych charakteristík jednotlivých zložiek – zón éterických olejov z *Artemisia arborescens* na TLC inými analytickými metódami – zostanú tieto nami získané údaje pre každú zložku jej numerickým identifikačno-štruktúrnym vyjadrením.

V práci uvádzaná koncepcia môže nájsť aplikačné uplatnenie aj pri použití vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie (HPLC), keď vstupnými údajmi budú hodnoty elučných časov alebo objemov.

Za pomoc pri vypracúvaní výpočtového programu ďakujeme doc. dr. Milošovi Vallovi, CSc. a Ing. Jurajovi Komanovi.

kov (RAI) a modifikovaných  $R_C$  éterických olejov *Artemisia absinthium* a *Artemisia arborescens* and the modified  $R_C$  values from *Artemisia absinthium* and *Artemisia arborescens*

$R_C$	Látka <sup>2</sup>
0,000	n-alkán <sup>3</sup>
-1,963	
-4,925	
-5,310	
-8,092	
-9,527	
-9,635	
-11,461	
-11,844	
-12,395	
-13,175	
-13,715	
-13,911	
-14,118	
-14,817	
-15,369	
-16,427	
-17,396	
-18,029	
-19,963	

-0,957809,  
res: 0,1602874.

livých zložiek – zón éteric-analytickými metódami – jej numerickým identifi-  
e uplatnenie aj pri použití  
C), keď vstupnými údajmi

ďakujeme doc. dr. Milo-

T a b u l k a 10. Výsledky regresnej analýzy funkčných závislostí  $R_C$  a RAI hodnôt od nameraných  $R_F$  hodnôt éterických olejov *Artemisia absinthium* (modelovej) a *Artemisia arborescens* (skúmanej)

T a b l e 10. Results of the regression analysis of the function dependences of  $R_C$  and RAI values from the  $R_F$  values of etheric oils from *Artemisia absinthium* (modelled) and *Artemisia arborescens* (investigated)

Regresný – aproximujúci výraz <sup>1</sup>	Korelačný koeficient <sup>2</sup> ( $h_{x,y}$ )	Rozptyl <sup>3</sup>		Smerodajná odchýlka <sup>4</sup>		Počet meraní <sup>5</sup>
		y	x	y	x	
RAI = 379,55 $\ln x$ + 115,67 (a)	0,883	105 807,1	3314,3	325,28	57,57	14
RAI = 142,51 $\ln x$ + 73,53	0,980	12 056,0	0,570	109,77	0,755	12
$R_C$ = 4,316 $\ln x$ + 3,399 (a)	0,794	17,279	0,573	4,159	0,757	14
$R_C$ = 3,963 $\ln x$ + 0,843	0,990	9,139	0,570	3,023	0,755	12

a – pre éterické oleje modelovej *Artemisia absinthium*; For etheric oils from the model *Artemisia absinthium*.

x –  $R_F$  hodnoty;  $R_F$  values.

## Literatúra

1. MARTIN, A. J. P. – SYNGE, R. L. M., Biochem. J., 35, 1941, s. 1358.
2. WEHRLI, A. – KOVATS, E., Helv. Chim. Acta, 42, 1959, s. 270.
3. DECKER, P., Naturwissenschaften, 45, 1958, s. 464.
4. TALEB-BENDIAB, S. A. – KOMAN, V. – BEN MENNI, F.: Príspevok k izolácii, analýze a štruktúrnej determinácii zložiek *Artemisia arborescens* v oblasti Tlemcen (ADLR). Výsledky výskumu éterických olejov na INES de Biologie, Tlemcen, Algérie 1989 (doteraz nepublikované).
5. MORITZ, O.: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. III. Berlin Springer-Verlag, 1955.
6. DARWISH, M. S. – EL SHAAMY, A. M. – SOULIMAN, F. M. – EL SHABRAWY, A. O., Bull. Fac Pharm. (Cairo), 16, 1979, s. 85.
7. KOMAN, V. – KOMAN, J., Bull. potrav. Výsk. (v tlači).
8. ŠANDA, V. – PROCHÁZKA, Ž. – LE MOHL, H., Chem. Listy, 52, 1956, s. 1546.

Do redakcie došlo 10. 8. 1989

### Identification of the components of etheric oils using the relative adsorption indices

#### Summary

The paper presents a way of utilization of the Martin's  $R_M$  values in the form of their relative differences against a permanent standard of *n*-alkanes which always form the first zone on thin layer of an adsorbent; additionally, the relative adsorption indices (RAI) as comparative values of the individual components of the mixture under study against the *n*-alkane and another, more retarded component chosen on the chromatogram, were also used.

For the calculation of the Decker's  $R_C$  values, the original expression had been modified so that the group constant  $R_{M(-CH_2-)}$  in it was substituted by the average value of the second differences of the  $R_M$  values of the separated compounds.

An independent program in BASIC had been worked out for the computation of these data. The data obtained give a numeric pattern for the mixture under study which can contribute to the qualitative-structural description of the particular compounds in the mixtures as well as to the mutual comparison of the mixtures as a whole, following their separation on thin layers of a silica gel adsorbent. Thus, the group of compounds can be compared as a whole or in particularities using the „standardized interval“ on the basis of the chosen mixture (*Artemisia absinthium* (model) and *Artemisia arborescens* (investigated)).

### Идентификация компонентов эфирных масел относительными адсорбционными индексами

#### Резюме

Работа приводит способ использования  $R_M$  величин Мартина формой их относительных разниц по отношению к постоянному стандарту *n*-алканов, образующих на тонком слое адсорбента всегда первую зону и потом тоже формой „относительных адсорбционных показателей“ в числе сравнительных величин отдельных компонен-

тов определенной смеси по отношению к *n*-алкану и второй, на хроматограмме избранного более замедлительного компонента.

Для вычисления  $R_c$  величин Декера нужно заменить групповую константу  $R_{M(-CH_2-)}$  средней величиной вторых разниц  $R_M$  величин отделенных веществ.

К вычислению вышеприведенных данных авторы составили самостоятельную программу на языке BASIC. Полученные данные показывают для определенной смеси веществ численное изображение и таким образом она является средством для качественно-структурного описания отдельных веществ в смесях, и так же для взаимного сравнения смесей в общем после отделения на тонких слоях силикагелевого адсорбента. Таким образом можно сравнить всю группу веществ в общем и отдельно при помощи „стандардизационного интервала“ в числе основы избранной смеси веществ *Artemisia absinthium* (модельная) и *Artemisia arborescens* (исследованная).