



УДК 543.544

## Идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ

Чечета О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

### Аннотация

В результате данной работы предложена методика идентификации растительных масел и масляных экстрактов с помощью тонкослойной хроматографии по количеству хроматографических зон с определенными значениями величин подвижности. Кроме того, по виду хроматографического профиля, установлено, что для производства изучаемых масляных экстрактов использовано рафинированное подсолнечное масло. Данный подход к стандартизации качества масел может быть использован при разработке нормативной документации на растительные масла и масляные экстракты

### Введение

Жиры и жирные растительные масла имеют широкое распространение, как в растительных, так и в животных организмах. Они представляют собой смеси, состоящие из различных сложных эфиров глицерина с кислотами жирного ряда и содержат различные сопутствующие вещества [1].

В настоящее время анализ растительных масел (РМ) и масляных экстрактов (МЭ) осуществляется в соответствии с существующей нормативной документацией (НД): фармакопейными статьями, ГОСТами и Государственными фармакопеями (ГФ). Контролируются такие показатели качества как вкус, цвет, запах, прозрачность, наличие осадка, значения кислотного, перекисного, йодного и эфирного чисел, числа омыления и показатель преломления. Чистоту масел устанавливают по наличию мыла, воска, парафина и смоляных кислот, а также содержанию влаги и летучих веществ [2]. В литературе [3,4] рекомендуется оценивать качество РМ с применением спектрофотометрии (СФ) в УФ- и видимой областях спектра. В последнее время для стандартизации РМ и МЭ рекомендовано проводить определение биологически активных веществ (БАВ), которые обеспечивают их фармакологическую активность [5]. Идентификацию масел длительное время осуществляют по жирно-кислотному составу методом ГЖХ [6,7]. Кроме того, все чаще появляются публикации, по анализу РМ с применением ВЭЖХ для изучения качественного и количественного триглицеридного состава [8-12]. Европейская Фармакопея [13] предлагает простой, доступный и экспрессный способ идентификации РМ методом ТСХ, который позволяет однозначно определить вид масла. В предлагаемой методике используют последовательное элюирование в двух подвижных фазах:

диэтиловый эфир и метиленхлорид: уксусная кислота: ацетон (20:40:50). На рисунке 1 представлен типичный вид хроматограммы наиболее распространенных РМ, применяемых в пищевой и фармацевтической промышленности. При анализе отечественной литературы подобных работ обнаружено не было.

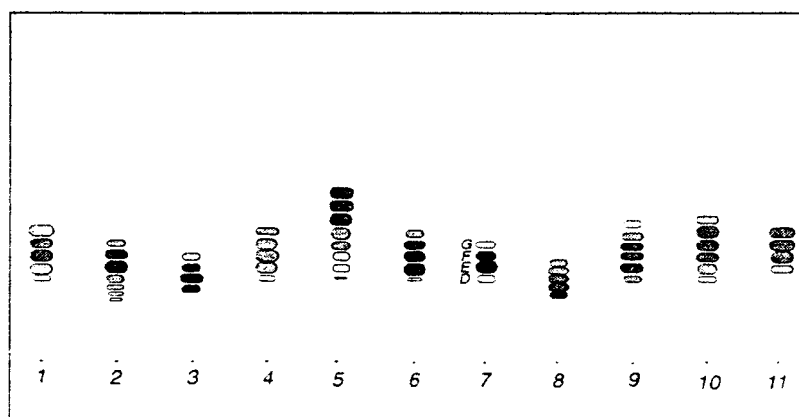


Рис. 1. Типичный вид хроматограммы для идентификации жирных растительных масел [13].

- |                     |                     |  |                        |
|---------------------|---------------------|--|------------------------|
| 1. Кукурузное масло | 4. Сезамовое масло  | 7. Оливковое масло                       | 10. Соевое масло       |
| 2. Арахисовое масло | 5. Льняное масло    | 8. Рапсовое масло                        | 11. Подсолнечное масло |
| 3. Масло какао      | 6. Миндальное масло | 9. Рапсовое масло (без эруковой кислоты) |                        |

Целью данной работы явилась идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ.

Объектами исследования были выбраны жирные РМ и МЭ, наиболее широко представленные на фармацевтическом рынке нашей страны: масло плодов облепихи, масло плодов шиповника, масло виноградной косточки и масляные экстракты: цветков ромашки, цветков календулы, листьев крапивы, травы череды и травы тысячелистника.

## Эксперимент

На первом этапе работы осуществляли подбор детектирующего реагента. Фосфорномолибденовая кислота (ФМК) является неспецифическим проявителем, позволяющим обнаружить все разделяемые компоненты. Зоны веществ имеют высокую контрастность по сравнению с общим фоном пластинки, и длительное время сохраняют свою интенсивность. При использовании в качестве проявителя 5 % спиртового раствора ФМК (№ 1), который рекомендуется в литературе в качестве проявителя веществ различной природы [14], хроматографические зоны имели нечеткую форму. При увеличении концентрации до 10 % (№ 2), качество хроматографической картины было лучше, так как зоны получались более яркие и четкие. Этот же проявитель предлагает использовать Европейская Фармакопея [13]. Дальнейшее увеличение содержания ФМК в спиртовом растворе нецелесообразно, ввиду ее малой растворимости. Поэтому реагент № 2 был выбран для обработки пластин после хроматографического разделения.

Наибольшее влияние на поведение веществ в тонком слое сорбента оказывает растворитель, поэтому на следующем этапе была проведена работа по подбору элюентов. Элюенты готовили смешением компонентов в указанных соотношениях

(табл. 1) непосредственно перед использованием. В таблице 1 приведены элюенты, которые были подобраны нами для разделения РМ.

Установлено, что на разделение хроматографических зон влияет не только величина полярности элюента [15.16] (табл. 1), но и качественный и количественный состав подвижной фазы, так как в системах с одинаковыми значениями полярности (№ 3 и № 8) (табл. 1) наблюдаются разные хроматографические картины. В системах № 1, 6-8 разделения хроматографических зон масел не происходит, а наблюдается только одно вытянутое по оси ординат пятно. В системах № 2-5 хроматографические зоны масел разделяются. Выявлено, что наилучшее разделение и качество зон получается в элюирующей системе № 4, значение полярности которой составляет 0,13 (табл. 1).

Таблица 1. Значение полярности изученных элюирующих систем

№ системы п/п	Состав системы	Соотношение компонентов	Значение полярности
1	н-Гексан	-	0
2	Гексан: этанол	10:0,1	0,05
3	Гексан: этанол	10:0,2	0,1
4	Гексан: этанол	10:0,25	0,13
5	Гексан: этанол	10:0,3	0,15
6	Гексан: хлороформ	10:0,2	0,08
7	Гексан: ацетон	10:0,2	0,11
8	Гексан: бензол	29:1	0,1

Таким образом, при приготовлении элюента следует учитывать, что на качество разделения хроматографических зон оказывает влияние не только соотношение растворителей, но и качественный состав подвижной фазы. Немаловажным фактом является то, что использованные в работе растворители (хлороформ, гексан и этанол) относятся ко II и III классам токсичности соответственно в отличие от метилхлорида, предлагаемого Европейской ГФ [13], который принадлежит к особо опасному I классу токсичности.

Навеску масла 0,3 г (т.н.) растворяли в 3 мл хлороформа марки х.ч. Получали раствор с содержанием масла 0,1 г/мл, который наносили на линию старта хроматографической пластинки марки «Sorbfil» или «Плазмохром» размером 10×15 см с полимерной подложкой. Растворы должны быть свежеприготовленные. Установлено, что оптимальный объем наносимой пробы для растворов масел с такой концентрацией составляет 3 мкл.

Пластинку сушили на воздухе, а затем помещали в хроматографическую камеру, насыщенную парами элюента. Хроматографирование осуществляли восходящим способом. После достижения растворителем линии фронта, пластинку вынимали и высушивали на воздухе, а затем детектировали 10 % спиртовым раствором ФМК. Хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на желто-зеленом фоне после термостатирования при  $t^{\circ} = 100 - 120^{\circ} \text{C}$ .

#### Обсуждение результатов

При исследовании растворов РМ и МЭ в хлороформе методом ТСХ было замечено, что хроматографический профиль различных масел отличается друг от друга. Хроматограммы РМ и МЭ представлены на рис. 2.

Как видно из рис. 2, на хроматограммах МЭ обнаруживается семь хроматографических зон, которые являются общими для всех МЭ, со значениями

величин  $R_f = 0,1 \pm 0,005; 0,16 \pm 0,003; 0,22 \pm 0,02; 0,27 \pm 0,03; 0,44 \pm 0,02; 0,51 \pm 0,01; 0,98 \pm 0,01$ . На хроматограмме проявляется пятно на линии старта в месте нанесения пробы. Для масла шиповника наблюдалось шесть хроматографических зон со значениями  $R_f = 0,05 \pm 0,007; 0,14 \pm 0,02; 0,23 \pm 0,02; 0,31 \pm 0,01; 0,38 \pm 0,02; 0,98 \pm 0,01$ . При анализе облепихового масла проявлялось семь зон с величинами  $R_f = 0,08 \pm 0,006; 0,16 \pm 0,02; 0,21 \pm 0,02; 0,25 \pm 0,02; 0,37 \pm 0,02; 0,42 \pm 0,01; 0,98 \pm 0,01$ , которые являются характерными в данной элюирующей системе для данного вида масла. В связи с этим мы предполагаем, что хроматографический профиль растворов РМ и МЭ можно использовать для идентификации масел по количеству зон с определенными значениями величин относительной подвижности компонентов ( $R_f$ ).

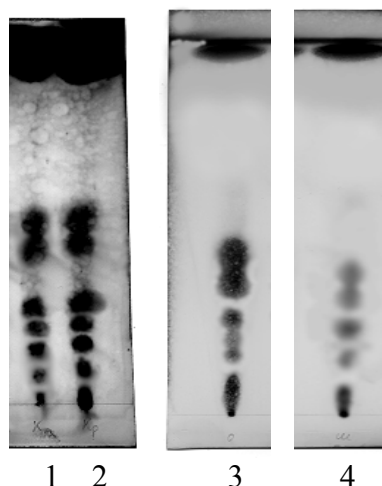


Рис. 2. Хроматографический профиль изучаемых РМ и МЭ (1 – МЭ цветков календулы; 2 – МЭ цветков ромашки; 3 – РМ облепихи; 4 – РМ шиповника)

В использованной элюирующей системе наблюдается удовлетворительное разделение хроматографических зон, так как значение селективности сорбции ( $L = K_n/K_{n+1}$ ), т.е. отношение коэффициентов распределения ( $K$ ) двух веществ больше единицы (табл. 2). Чем больше величина  $L$ , тем лучше будет разделение [17,18].

Таблица 2. Величины  $R_f$ ,  $K$ , и  $L$  по данным ТСХ для элюирующей системы № 4 на примере МЭ цветков календулы

№*	$R_f$	$K$	$L$
1	$0,1 \pm 0,005$	9	1,71
2	$0,16 \pm 0,003$	5,25	
3	$0,22 \pm 0,02$	3,55	1,48
4	$0,27 \pm 0,03$	2,7	1,32
5	$0,44 \pm 0,02$	1,27	2,13
6	$0,51 \pm 0,01$	0,96	1,32
7	$0,98 \pm 0,01$	0,02	48

\*- № зоны на хроматограмме (рис. 2).

Установлено, что все изучаемые МЭ (рис. 3) имели одинаковый хроматографический профиль, что может быть связано с применением одного вида масла – экстрагента при их получении.

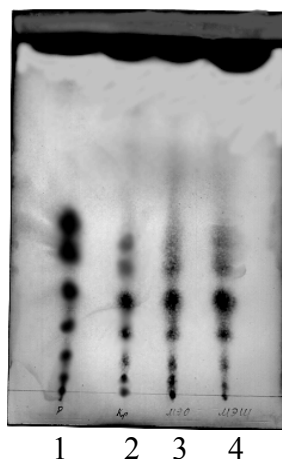


Рис. 3. Хроматографический профиль изучаемых МЭ (1 – МЭ цветков ромашки; 2 – МЭ листьев крапивы; 3 – МЭ цветков календулы; 4 – МЭ травы тысячелистника)

Учитывая, что для производства МЭ в промышленных условиях чаще всего в качестве экстрагентов используются рафинированные подсолнечное, соевое и оливковое масла [19-21], возникает необходимость провести анализ данных масел с целью установления вида масла, использованного для получения изучаемых МЭ. В описанных выше условиях получены хроматограммы масел – экстрагентов (рис. 4). Результаты определения величины  $R_f$  представлены в таблице 3.

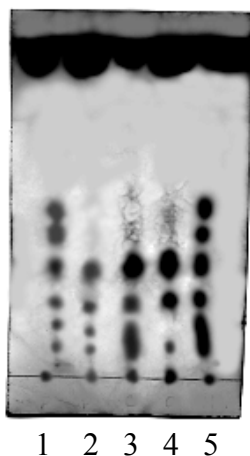


Рис. 4. Хроматографический профиль РМ, наиболее часто используемых при производстве МЭ (1 – МЭ цветков ромашки; 2 – рафинированное подсолнечное масло; 3 – рафинированное соевое масло; 4 – рафинированное оливковое масло; 5 - нерафинированное подсолнечное масло)

Для треков рафинированного соевого и нерафинированного подсолнечного масел (рис. 4, точки 3 и 4) характерны хроматографические зоны, имеющие вытянутую по оси ординат форму. При уменьшении объема наносимой пробы до 2 мкл, снижалась интенсивность окраски пятна, однако вид данной зоны не изменялся.

Установлено, что при производстве изучаемых МЭ было использовано рафинированное подсолнечное масло. Однако, зон со значениями  $R_f = 0,44 \pm 0,02$  и  $0,51 \pm 0,01$  (табл. 3) не обнаружено ни в одном из рафинированных масел (в соевом и оливковом маслах обнаруживаются лишь слабые следы), что может быть связано с разрушением

некоторых липофильных веществ в процессе рафинации [22,23], которые появляются вновь в МЭ, по-видимому, из растительного сырья, использованного при их производстве.

Таблица 3. Значение величин  $R_f$  для масел-экстрагентов, используемых в процессе производства МЭ в элюирующей системе № 4

Значение величины $R_f$	Нерафинированное подсолнечное масло					
	1	2	3	4	5	6
	0,14± 0,03	0,24± 0,02	0,36± 0,02	0,42± 0,02	0,52±0,02	0,98± 0,01
	Рафинированное подсолнечное масло					
	0,1± 0,005	0,16± 0,003	0,22± 0,02	0,27± 0,03	-	0,98± 0,01
	Рафинированное соевое масло					
	0,12± 0,03	0,22± 0,02	0,35± 0,02	-	-	0,98± 0,01
	Рафинированное оливковое масло					
	0,1± 0,005	0,22± 0,02	0,33± 0,02	-	-	0,98±0,01

### Заключение

Таким образом, разработана методика идентификации растительных масел и масляных экстрактов с помощью ТСХ по количеству хроматографических зон с определенными значениями величин подвижности. Кроме того, по виду хроматографического профиля, установлено, что для производства изучаемых МЭ использовано рафинированное подсолнечное масло. Данный подход к стандартизации качества масел может быть использован при разработке НД на РМ и МЭ. Предложенный метод не требует длительной пробоподготовки и дорогостоящего оборудования.

### Список литературы

1. Котова Э. Э. К вопросу о стандартизации некоторых жирных растительных масел и препаратов на их основе. // Научно – практический журнал «Фармакон», 2004г, №2, с. 3-9.
2. Государственная фармакопея СССР, 10-е изд., М.: Медицина, 1968 г.
3. ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей.
4. Глуценко Н.Н, Т.А. Лобаева, Т.А. Байтукалов и др. Анализ показателей качества фитопрепаратов на основе жирных растительных масел // «Фармация», 2005г., №3, с. 7 – 9.
5. Рудаков О. Б. , Пономарев А. Н., Полянский К. К., Любарь А. В. Жиры. Химический состав и экспертиза качества // М.: ДелиПринт, 2005 г., 351 с.
6. Рудаков О.Б., Полянский К.К. Хроматографическая идентификация растительных масел. // Хранение и переработка сельхозсырья, № 10, 2001 г., с. 37 – 40.

7. Карпенко В.А., Саушкина А.С., Гаврилин М.В. Разработка норм качества масла касторового. // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции», Пятигорск, 2006 г., с. 214 - 216.
8. Рудаков О.Б., Полянский К.К. Развитие метода интерпретации хроматограмм животных жиров. // «Хранение и переработка сельхозсырья», № 10, 2001 г., с. 40 – 42.
9. Дейнека В. И., Дейнека Л. А., Габрук Н. Г. и др., Анализ растительных масел с использованием ВЭЖХ. // Журн. Аналитической химии, М.: Наука, 2003г., Том 58, № 12, с. 1294 – 1299.
10. Беляев Д.С., Фан Винь Тхинь, Хорохордина Е.А. и др., Экспресс-анализ триглицеридов и биологически активных компонентов растительных масел методом микроколоночной ВЭЖХ с УФ-детектором. // Тез.докл. 3-ей Всеросс. Научно-методической конф. «Фармообразование – 2007», Воронеж, 2007г., с. 66 – 68.
11. Дейнека В.И., Рудаков О.Б. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации и обнаружения фальсификации масел. // Масла и жиры, № 9, 2005г.
12. Денисов В.И., Дейнека Л.А., Анализ растительных масел методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналит. Химии, 2004г., Т.59, №9, с. 993-997.
13. European Pharmacopoeia, 2<sup>th</sup> ed., - Strasbourg: Council of Europe, 1997, p. 49.
14. Кирхнер Ю., Тонкослойная хроматография // М.: Мир, 1981г., с. 402 – 407.
15. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др., Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. // Воронеж: Изд-во «Водолей», 2004 г., 528 с.
16. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В., Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. // Саратов: Изд-во Сарат. Ун-та, 2002 г., 102 с.
17. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. // Том 1, М. : Мир, 1999г., 405 с.
18. Демченко Ю.Т., Белякова А.В., Вайнштейн В.А. и др. Двухфазная экстракция БАВ из лекарственного растительного сырья с использованием масел, твердых жиров и синтетических эмульгентов. // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции», Пятигорск, 2006 г., с. 83 - 87.
19. Шиков А. Н., Макаров В. Г., Рыженков В. Е., Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства // М.: Издат. дом «Русский врач», 2004г., с. 100 – 112.
20. Погорелов В. И., Верещагина В. В., Гранкина И. В. Способы получения масляных и спиртовых извлечений из цветков бархатцев. // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции», Вып. 62 , Пятигорск, 2007 г., с. 206-207.
21. Луговой А. В., Чертков Н. И., Сергеев А. Г., Миронова А. Н., Хранение растительных масел и жиров // М.: Агропромиздат, 1989г., с. 19 – 23.
22. Сизова Н. В., Андреева Н. Ю. Определение витамина Е в растительных маслах методом микрокалориметрии // Хим.-фарм. журн., Том 41, №6, 2007, с. 49 - 52.

**Identification of vegetable oils and oil extracts a method of a thin layer chromatography**

Checheta O.V., Safonova E. F., Slivkin A. I.

*The Voronezh state university.*

As a result of the given work the technique of identification of vegetable oils and oil extracts by means of a thin layer chromatography is offered by quantity chromatography zones with the certain values of sizes of mobility. Besides by the form of chromatography a structure, it is established, that for manufacture of studied oil extracts the refined sunflower oil is used. The given approach to standardization of quality of oils can be used by development of the normative documentation on vegetable oils and oil extracts.

*Ключевые слова: тонкослойная хроматография, растительные масла, хроматографический профиль*