

---

**СТРАНИЧКА МОЛОДОГО УЧЕНОГО**

---

УДК 581.135.51; 615.322; 665.526.22

DOI: 10.15372/KhUR20150504

**Идентификация компонентов эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) методом тонкослойной хроматографии**Е. И. ПОНОМАРЕВА<sup>1</sup>, Е. И. МОЛОХОВА<sup>1</sup>, А. К. ХОЛОВ<sup>2</sup><sup>1</sup>Пермская государственная фармацевтическая академия,  
ул. Крупской, 46, Пермь 617070 (Россия)

E-mail: romanova\_e\_@mail.ru

<sup>2</sup>Институт питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан,  
ул. Турсун-заде, 25, Душанбе 734025 (Таджикистан)

(Поступила 09.06.15; после доработки 27.07.15)

**Аннотация**

Предложена методика определения компонентов эфирного масла *Pelargonium graveolens* L'Her производства Таджикистана методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). В качестве стандартных образцов веществ свидетелей (СОВС) выбраны цитронеллол, гераниол, линалоол, фенилэтиловый спирт. В результате работы определены следующие условия хроматографирования: элюирующая система – бензол/хлороформ (1 : 1), детектирующий реагент – 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты, объем наносимой пробы 5 мкл, концентрация 0.005 г/мл. Установлено, что на разделение компонентов эфирных масел герани душистой влияет полярность элюента. Оптимальное значение полярности системы составляет 3.19. На хроматограммах эфирного масла герани душистой производства Таджикистана наблюдается семь пятен, четыре из которых идентифицированы по величине  $R_f$  и положению пятен СОВС. Результаты показали, что хроматографический профиль эфирного масла исследуемого растения отличается от эфирного масла другого производителя, эфирных масел со схожим составом (цитронелловое и лемонграссовое) и распространенных легкодоступных масел (лаванды и шалфея). Хроматографические профили различаются по наличию дополнительных пятен с разным количеством, размером и расположением. Полученные данные свидетельствуют о возможности применения метода ТСХ в качестве экспресс-метода идентификации эфирного масла герани производства Таджикистана.

**Ключевые слова:** эфирное масло герани душистой, эфирное масло, ТСХ**ВВЕДЕНИЕ**

Гераниевое масло широко применяется в парфюмерии, для ароматизации продуктов питания и напитков [1, 2]. Источником получения эфирного масла герани служат различные сорта *Pelargonium*, известные как

*Pelargonium graveolens* L'Her (сем. Geraniaceae). В последние годы возрос интерес к изучению специфической фармакологической активности эфирного масла герани душистой [2–4]. Экспериментальные исследования показали, что масло герани душистой нетоксично, не раздражает, обладает тони-

зирующими и успокаивающими свойствами [1–3]. В Институте гастроэнтерологии Республики Таджикистан установлено, что гераниевое эфирное масло обладает желчегонным, противовоспалительным, гепатопротективным и спазмолитическим свойствами [4].

Основные экспортеры эфирного масла герани – страны Северной Африки, Китай, Мадагаскар, Алжир, о. Реюньон и Таджикистан [4, 5]. Содержание компонентов варьирует в образцах масла герани, произрастающей в разных странах [4]. Качество масла герани также различается по составу основных компонентов в зависимости от хемотипа. Так, эфирное масло герани из Северной Африки содержит до 6,2 % 10-эпи- $\gamma$ -эудесмола, тогда как в других типах он не фиксируется даже в следовых количествах [6]. Специфическое фармакологическое действие, обнаруженное у эфирного масла герани душистой производства Таджикистана, определяет актуальность разработки экспресс-метода идентификации этого масла [1].

В состав эфирных масел входят следующие компоненты: цитронеллол, гераниол, линалоол, реперный компонент – фенилэтиловый спирт [5–7]. Сегодня для анализа компонентов эфирных масел применяется метод ГХ-МС, который включает качественный и количественный анализ отдельных составляющих [8]. Однако он требует дорогостоящего оборудования и высококвалифицированных кадров. Для предварительной идентификации эфирного масла герани рационально использовать метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), который имеет ряд преимуществ: быстрота метода, низкая стоимость, минимальная подготовка образца для анализа.

Цель данной работы – разработка метода ТСХ в качестве экспресс-метода идентификации эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) производства Таджикистана.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования выбраны образцы эфирного масла герани душистой, полученные гидродистилляцией из травы *Pelargonium graveolens* L'Her, выращенной в Республике Таджикистан. Эталонном (контролем) служил образец эфирного масла герани фирмы “Аспера” (ТУ 9151-001-99535663–07, номер партии М4-26/0514). В качестве сравнения использовали образцы эфирных масел фирмы “Аспера” со схожим составом: цитронеллы (ТУ 9151-005-23199493–14, номер партии 3480615); лемонграсса (ТУ 9151-005-23199493–14, номер партии М1-41/0115), лаванды (ТУ 9158-011-91753194–2012, номер партии 01052015); шалфей (ТУ 9151-001-99535663–07, номер партии М9-25/1114).

В работе использовались хроматографические пластинки марки Silufol. Стандарты фирмы Alfa Aesar: гераниол (A13736. Lot 10180072), линалоол (A14424. Lot 1017400), цитронеллол (A19016. Lot 10180517) и 2-фенилэтанол (A15241. Lot 10179159).

На первом этапе работы осуществляли подбор детектирующего реагента. С этой целью исследованы различные проявители, как рекомендуемые в работах [9–11], так и подобранные в ходе эксперимента. Критерием отбора проявителей служило образование устойчивого интенсивного окрашивания хроматографических зон, а также их контраст-

ТАБЛИЦА 1

Детектирующие реагенты для определения гераниевого масла методом ТСХ

Детектирующие реагенты	Эффект
Без проявителя	Нет
В УФ-свете	Светло-зеленые нечеткие пятна
Насыщенный раствор хлорида сурьмы (III) в хлороформе	Светло-розовые нечеткие пятна
1 % р-р ванилина в серной кислоте	Желтые и розовые четкие пятна
5 % спиртовой р-р фосфорномолибденовой кислоты	Темно-синие четкие пятна на светло-желтом фоне
Йод кристаллический	Светло-желтые нечеткие пятна
Концентрированная серная кислота	Обугливание пластинки

ТАБЛИЦА 2

Полярность изученных элюирующих систем

Состав системы	Соотношение компонентов	Полярность	Количество пятен на хроматограмме
<i>n</i> -Гексан/хлороформ/уксусная кислота	6 : 2:2	2.02	3
<i>n</i> -Гексан/этилацетат/хлороформ	6 : 2:2	1.70	2
Бензол/ <i>n</i> -гексан/этилацетат	50 : 10 : 1	1.94	2
<i>n</i> -Гексан/этилацетат	96 : 4	0.18	1
<i>n</i> -Гексан/бензол	9 : 1	0.30	1
<i>n</i> -Гексан/хлороформ	2 : 1	1.47	4
Бензол/хлороформ	1 : 1	3.19	7
Бензол/метанол	1 : 1	3.69	4
Бензол/этилацетат	5 : 1	2.63	3
Хлороформ/бензол	3 : 17	2.55	3
Метанол/вода	7 : 3	6.63	1

ность по сравнению с фоном. Результаты представлены в табл. 1.

Для дальнейшей работы выбран 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК), поскольку он отвечает всем заданным требованиям к детектирующему реагенту.

Установлено, что максимальное влияние на разделение веществ в тонком слое сорбента оказывает растворитель, а именно его полярность [9–12]. На следующем этапе работы проведен подбор элюентов в зависимости от величины полярности. Экспериментально исследованы системы, предложенные в [8–10], а также изучены новые хроматографические системы (табл. 2). Элюенты готовили смешением компонентов в указанных соотношениях (см. табл. 2) непосредственно перед использованием. Значение полярности смеси растворителей  $P_{см}$  рассчитывали по формуле [12], используя значения полярностей отдельных растворителей [13]:

$$P_{см} = \sum_{i=1}^n P_i V_i$$

где  $P_i$  – полярность  $i$ -го компонента смеси;  $V_i$  – объемная доля  $i$ -го компонента смеси.

Хроматографический анализ осуществляли по следующей методике. К 0.05 г эфирного масла герани добавляли 10 мл этанола, затем раствор гераниевого масла наносили на линию старта хроматографической пластинки марки Silufol размером 10 × 12 см. Объем наносимой пробы для растворов масел составлял 5 мкл. Пластинку сушили на воздухе, за-

тем помещали в хроматографическую камеру, насыщенную парами элюента. Хроматографирование осуществляли восходящим способом в изучаемых системах. После достижения растворителем линии фронта пластинку вынимали и высушивали на воздухе, затем детектировали 5 % спиртовым раствором ФМК. Хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на светло-желтом фоне после термостатирования при температурах 100–110 °С.

Как видно из данных табл. 2, лучшие результаты разделения компонентов получены

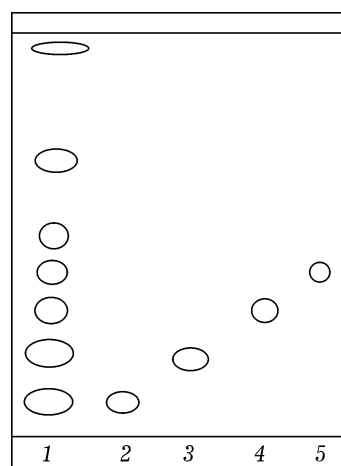


Рис. 1. Хроматографический профиль гераниевого масла и стандартных образцов веществ-свидетелей: 1 – гераниевое масло, 2 – гераниол, 3 – цитронеллол, 4 – линалоол, 5 – фенилэтиловый спирт.

ТАБЛИЦА 3

Хроматографические параметры гераниевого масла в элюирующей системе бензол/хлороформ

Номер зоны на хроматограмме	$R_f$	$K$	$L$
1	$0.13 \pm 0.02$	6.69	
2	$0.19 \pm 0.01$	4.26	1.56
3	$0.25 \pm 0.02$	3.0	1.42
4	$0.35 \pm 0.02$	1.85	1.61
5	$0.42 \pm 0.03$	1.38	1.34
6	$0.46 \pm 0.005$	1.17	1.17
7	$0.71 \pm 0.003$	0.40	2.87

Примечание.  $R_f$  – фактор задержки,  $K$  – коэффициент распределения,  $L$  – селективность сорбции.

при применении системы состава бензол/хлороформ (1 : 1) с полярностью 3.19.

Далее определяли оптимальную концентрацию эфирного масла герани в пробе для идентификации основных компонентов. Объем наносимой пробы для растворов масел с изучаемой концентрацией составляет 5 мкл. Точную навеску масла растворяли в соответствующем объеме этанола для получения необходимой концентрации и хроматографировали по методике, описанной выше. При концентрации раствора масла 0.001 г/мл на хроматограмме на-

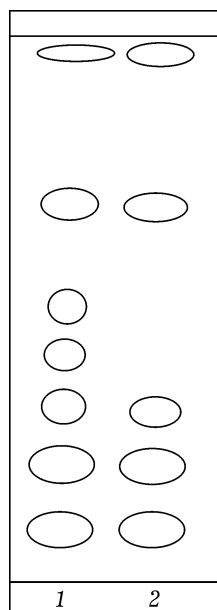


Рис. 2. Хроматографические профили эфирных масел герани душистой различных производителей: 1 – Таджикистан, 2 – фирма “Аспера” (Россия).

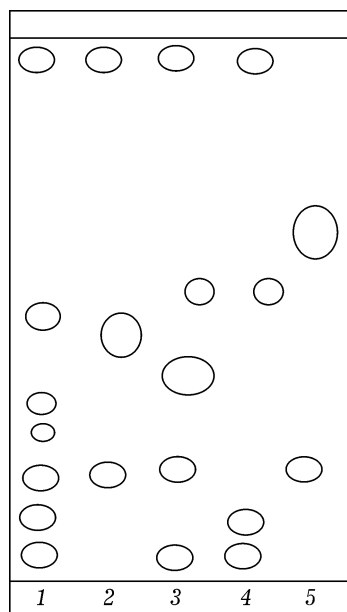


Рис. 3. Хроматографические профили различных эфирных масел: 1 – герань, 2 – шалфей, 3 – лемонграссовое, 4 – цитронелловое, 5 – лаванда.

блюдается пять пятен, при 0.003 г/мл – шесть, при 0.005 г/мл – семь.

Для идентификации полученных пятен готовили растворы стандартных образцов веществ-свидетелей (СОВС): цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта. Навеску 0.01 г СОВС помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Затем по 5 мкл растворов СОВС и раствора гераниевого масла (0.005 г/мл) наносили на линию старта хроматографической пластинки. Далее хроматографировали по методике, указанной выше. Типичный вид хроматограммы представлен на рис. 1.

Для всех обнаруженных зон рассчитаны хроматографические параметры (табл. 3) [12]. Для СОВС рассчитали величину  $R_f$ : для гераниола  $0.13 \pm 0.04$ , цитронеллола  $0.19 \pm 0.005$ , линалоола –  $0.25 \pm 0.02$ , для фенилэтилового спирта  $0.35 \pm 0.01$ .

Проведен сравнительный анализ эфирного масла герани душистой производства Таджикистана и фирмы “Аспера” (Россия). Полученные хроматографические профили приведены на рис. 2.

Для выявления отличий эфирного масла герани душистой от других эфирных масел со схожим составом (цитронелловое и лемонграсс-

совое) и недорогих распространенных масел (лаванды и шалфея) проведен сравнительный анализ их хроматографических профилей (рис. 3).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве детектирующего реагента для определения компонентов гераниевого масла выбран 5 % спиртовой раствор ФМК. Этот детектирующий реагент отличается безопасностью и легкостью приготовления, а зоны веществ имеют высокую контрастность по сравнению с общим фоном пластинки и в течение длительного времени сохраняют свою интенсивность.

Установлено, что на разделение компонентов эфирных масел влияет полярность элюента. Так, при  $R < 1$  и  $R > 6$  разделения хроматографических зон эфирного масла не происходит. При  $R = 2-3$  хроматографические зоны разделяются, но не достаточно хорошо, наблюдается 2-3 пятна. Лучшее разделение компонентов гераниевого масла осуществляется в системе с полярностью  $R = 3.19$  (бензол/хлороформ = 1 : 1) (см. рис. 1). Значение селективности сорбции  $L$  в системе бензол/хлороформ (1 : 1), т. е. отношение коэффициентов распределения двух веществ  $K > 1$  (см. табл. 3). Чем больше величина  $L$ , тем лучше будет разделение, так как зоны компонентов располагаются друг от друга на большом расстоянии [10].

На хроматограммах при нанесении 5 мкл в концентрации 0.005 г/мл гераниевого масла наблюдали семь пятен, четыре из которых по величине  $R_f$  и положению пятен СОВС идентифицированы как гераниол, цитронеллол, линалоол и фенилэтиловый спирт (см. рис. 1). Полученный хроматографический профиль гераниевого масла можно использовать для идентификации эфирного масла герани душистой производства Таджикистана по количеству зон с определенными значениями относительной подвижности компонентов  $R_f$ .

Хроматографический профиль эфирного масла герани душистой производства Таджикистана отличается от такового для эфирного масла компании "Аспера" по количеству пятен (в первом – семь, во втором – пять), что обусловлено различным составом в зависимости от хемотипа (см. рис. 2).

При сравнении хроматографических профилей эфирного масла герани и эфирных масел со схожим составом и распространенных легкодоступных масел (см. рис. 3) установлено, что идентифицированные компоненты (гераниол, цитронеллол, линалоол) имеют одинаковое значение  $R_f$  для всех образцов. При этом хроматографические профили различаются по наличию дополнительных пятен, их количеству, размеру и расположению.

Полученные данные убедительно свидетельствуют о возможности применения ТСХ в качестве экспресс-метода идентификации эфирного масла герани производства Таджикистана.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для идентификации компонентов эфирного масла *Pelargonium graveolens* L'Her методом ТСХ обоснованы следующие условия хроматографирования: элюирующая система – бензол/хлороформ (1 : 1), детектирующий реагент – 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты, объем наносимой пробы 5 мкл в концентрации 0.005 г/мл.

Данный метод может использоваться в стандартизации эфирного масла герани душистой, при разработке проекта фармакопейной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Boukhris M., Simmonds M. S. J., Sayadil S. and Bouaziz M. // *Phytother. Res.* 2012. P. 145–150.
- 2 Boukhatem M. N., Kameli A., Saidi F. // *Food Control.* 2013. P. 341–348.
- 3 Cavar S., Maksimovi M. // *Food Control.* 2012. P. 263–267.
- 4 Азонов Д. А., Холов А. К., Разыкова Г. В. Лечебные свойства гераноретинола и эфирных масел. Ташкент: Изд-во "Матбуот". 2011. 156 с.
- 5 Abdolhossein R. N., Ahmad I. // *J. Sci. Food Agric.* 2014. P. 905–910.
- 6 Babu K. G., Kaul V. K. // *Flavour Fragr. J.* 2005. P. 222–231.
- 7 Нажбудинов С., Юсупова Н. А., Ибрагимов Д. Э. // Докл. Акад. наук Респ. Таджикистан. 2011. Т. 5, № 8. С. 673–677.
- 8 Писарев Д. И., Новиков О. О. // Науч. ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. 2012. № 10(129). С. 25–30.
- 9 Чечета О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т. 8, Вып. 4. С. 646–653.
- 10 Чечета О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т. 8, Вып. 2. С. 326.

- 11 Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии, М.: Мир, 1980. 296 с.
- 12 Сафонова Е. Ф., Назарова А.А., Селеменов В.Ф., Брежнева Т.А., Сливкин А. И. //Хим.-фарм. журн. 2002. Т. 36, № 4. С. 41–43.
- 13 Рудаков О. Б., Востров И. А., Федоров С. В., Филиппов А. А., Селеменов В. Ф., Приданцев А. А. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Водолей, 2004. 528 с.