

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО

Кафедра аналитической химии и химической экологии

**Разделение и определение глицирризиновой и олеаноловой кислот  
методом тонкослойной хроматографии в мицеллярных подвижных  
фазах**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента IV курса 411 группы

Направления 04.03.01 Химия

Института химии

Белых Елены Александровны

Научный руководитель

Профессор, д.х.н., профессор

\_\_\_\_\_

Е.Г. Сумина

дата, подпись

Заведующий кафедрой

д.х.н., доцент

\_\_\_\_\_

Т.Ю. Русанова

дата, подпись

Саратов 2017 год

## Введение

### Актуальность работы.

Сапонины - природные вещества, широко распространённые в различных видах растений. Водные растворы сапонинов (или извлечения из растительного сырья) образуют при встряхивании обильную стойкую пену, подобно мыльной, в результате чего эти вещества получили название сапонинов от латинского слова «sapo» -мыло. За всё время исследования сапонинов была установлена их разнообразная биологическая активность, а также возможность применения их с лечебной и профилактической целью. Следовательно, разработка способов разделения, идентификации и определения данных веществ в растительных объектах и лекарственных препаратах на их основе является актуальной задачей. С этой целью в настоящей работе использовалась планарная хроматография, осуществлённая в варианте нормально-фазовой тонкослойной хроматографии (ТСХ). В качестве объектов исследования служили глицирризиновая и олеаноловая кислоты, сравнение которых проводилось в водно-органических и мицеллярных подвижных фазах (ПФ).

Целью данной работы явилось сопоставление аналитических возможностей перечисленных ПФ для идентификации и количественного определения исследуемых сапонинов.

### Объекты и методы исследования.

Объектом исследования явился водный раствор олеаноловой и глицирризиновой кислот. Для его исследования готовили и использовали различные органические растворители, а также поверхностно- активные вещества.

В ТСХ в качестве неподвижной фазы (НФ) были использованы коммерческие пластины с закрепленным слоем сорбента: полярные – Сорбфил на алюминиевой подложке, АО «сорбполимер» Россия, Сорбфил на полимерной подложке, АО «сорбполимер» Россия; неполярные – RP 18 на

алюминиевой подложке, «Merck», Германия. Объем наносимой пробы составил 10мкл. Измерения параметров хроматограмм проводили с помощью денситометра «Сорбфил» , АО Сорбполимер , Россия.

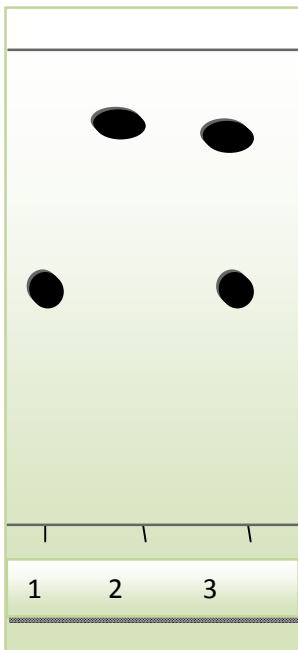
**Структура работы** включает Введение, главу 1 (Обзор литературы), главу 2 «Экспериментальная часть», в которой описаны объекты и методы исследования, приведена методика проведения эксперимента, а также выводы и список использованной литературы.

**Научная новизна** работы обусловлена разработкой методики определения олеаноловой и глицирризиновой кислот методом тонкослойной хроматографии.

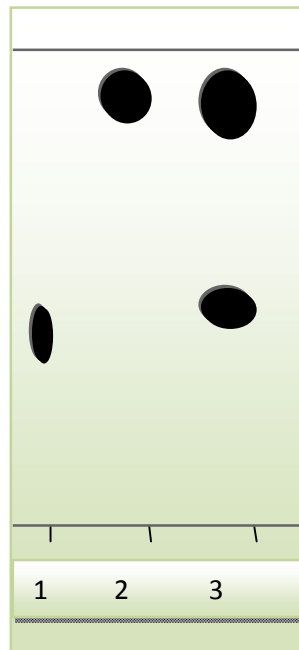
## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Выбор оптимальной неподвижной фазы**

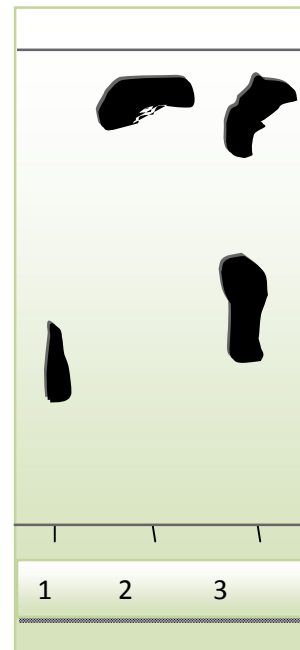
Для выбора оптимальных условий хроматографирования смеси сапонинов проводилось сравнение четырёх НФ: Сорбфил на алюминиевой подложке, Сорбфил на полимерной подложке, Сорбфил ТУ 26-11-17-89\* высокоэффективные, Сорбфил на стеклянной подложке. . В качестве ПФ апробировали системы н-бутанол : уксусная кислота : вода (5:1:4) [17], ацетонитрил : вода (3:2) [17]. Результаты исследования приведены на рисунке



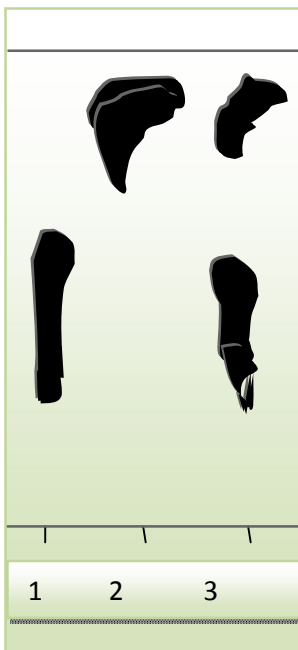
А



Б



В



Г

Рисунок 1– Влияние природы неподвижной фазы на хроматографическое поведение ол, гл кислоты. ПФ: а,б-н-бутанол : уксусная кислота : вода (5:1:4); в, г - ацетонитрил : вода (3:2). НФ: а, б – Сорбфил на алюминиевой подложке и высокоэффективный; в, г - Сорбфил на полимерной подложке и стеклянной подложке;

1 – ол, 2– гл, 3 – смесь ол и гл;  $C_R=2$  мг/мл.

Как видно из рисунка 1 на Сорбфиле на полимерной подложке и хроматографические зоны размыты. В результате хроматографирования на Сорбфиле на стеклянной подложке хроматографические зоны веществ не проявились. Наилучшим вариантом является использование пластин Сорбфил на алюминиевой подложке, так как образуются наиболее компактные зоны.

### 3.1.2 Выбор оптимальной подвижной фазы

На пластинах Сорбфил на алюминиевой подложке изучено хроматографическое поведение олеаноловой, глицирризиновой кислот в водно-органических ПФ на основе изопропанола, н-пропанола и ацетонитрила, концентрацию органической составляющей в которых варьировали в интервале от 5 до 80 об. %. При определении оптимальной концентрации органического растворителя в подвижной фазе, было выявлено расслоение подвижных фаз, содержащих изопропанол при концентрации, большей 10 об. %. В связи с этим, в качестве гомогенизатора смеси была выбрана ледяная уксусная кислота, концентрации 18 об. % (выбрана экспериментально), которая, кроме того, переводит исследуемые нами сапонины в молекулярную форму, что позволяет с большей точностью оценить их хроматографическое поведение в выбранных системах. В таблицах 1, 2 а также на рисунках 1, 2 приведены контролируемые параметры подвижности сапонинов для различных водно-органических систем.

Таблица 1- Хроматографические параметры системы изопропанол-уксусная к(18%)-вода

W% изопр	Rf		Δ Rf
	олеан	глицир	

20	0	0,18	0,18
30	0,36	0,43	0,07
40	0,37	0,52	0,15
50	0,42	0,55	0,13
60	0,46	0,63	0,17

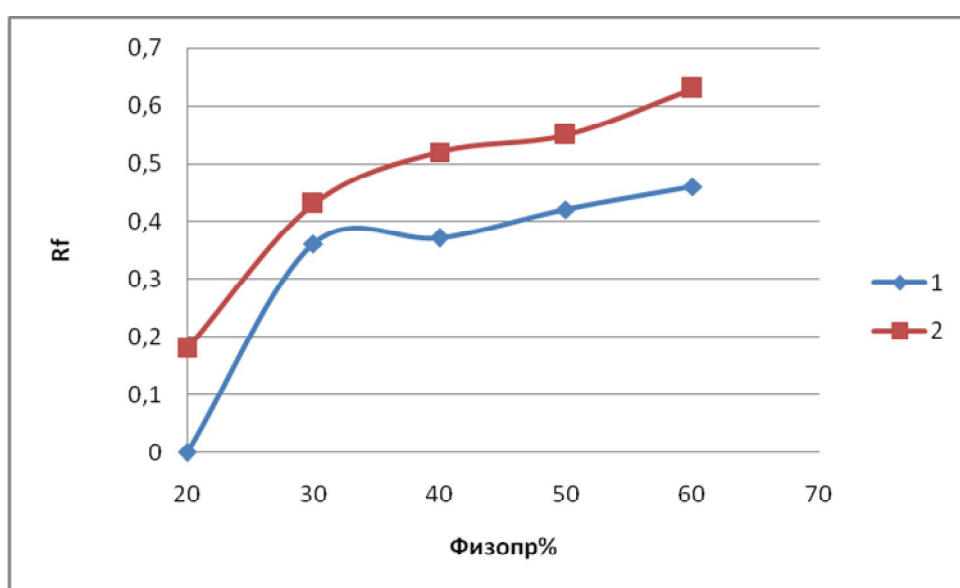


Рис 1- Графики зависимостей подвижности сапонинов системе системы изопропанол-уксусная к(18%)-вода

В таблице 1 и на рисунке 1 представлены данные поведения сапонинов в водно-изопропанольных смесях. Видно, что олеаноловая кислота незначительно изменяет значение  $R_f$  с увеличением концентрации изопропанола. Более резкие изменения в величинах  $R_f$  наблюдается для глицирризиновой кислоты.

Исходя из значений параметров  $\Delta R_f$  установлено, что оптимальной концентрацией бутанола для разделения олеаноловой и глицирризиновой кислот является 40 % по объёму. До 40 об. % растворителя разделения не наблюдается, т.к. зоны олеаноловой кислоты остаются на линии старта. При

концентрации н-бутанола белее 40 об. % образующиеся зоны достаточно компактны.

Таблица 2-Хроматографические параметры системы н-пропанол-уксусная к.(18%)-вода;  $C_R = 2$  мг/мл.

W% н-проп	Rf		$\Delta Rf$
	олеан	глицир	
20	0	0,57	0,57
30	0	0,64	0,64
40	0,41	0,67	0,26
50	0,46	0,78	0,32
60	0,51	0,86	0,35

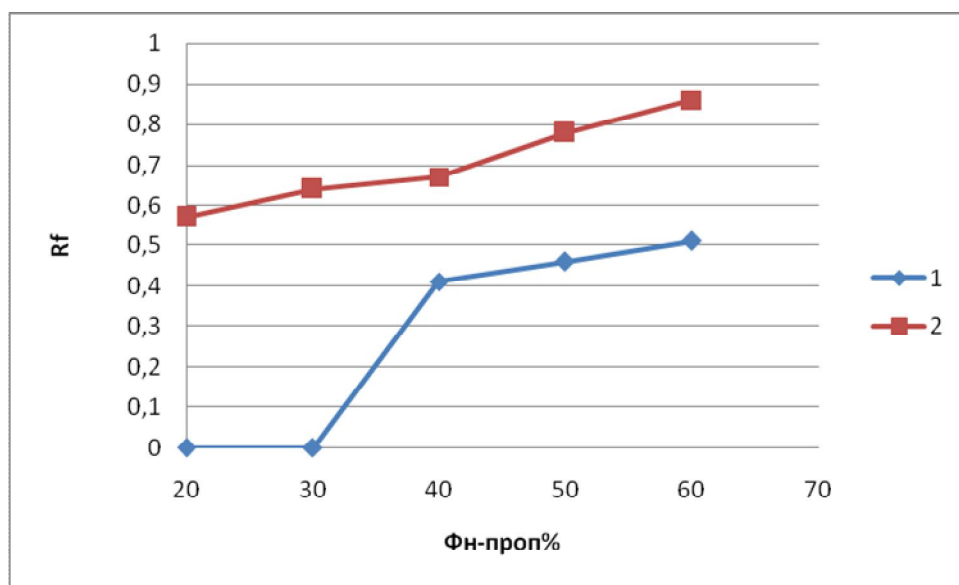


Рис 2- Графики зависимостей подвижности сапонинов в системе н-пропанол-уксусная к.(18%)-вода;  $C_R = 2$  мг/мл.

В таблице 2 и на рисунке 2 представлены данные поведения олеаноловой и глицирризиновой кислот в водно-пропанольных смесях. Из графика видно, что олеаноловая кислота начинает свое движение при концентрации н-пропанола более 30 об.% причем при всех концентрациях зоны размыты и плохо разделены между собой, а, следовательно, не подходят для дальнейшего исследования.

Таблица 3 – Подвижность смеси сапонинов в системе ацетонитрил – вода

W% ацетонит	Rf		$\Delta Rf$
	олеан	глицир	
60	0,52	0,46	0,06
70	0,59	0,54	0,05
80	0,65	0,62	0,03

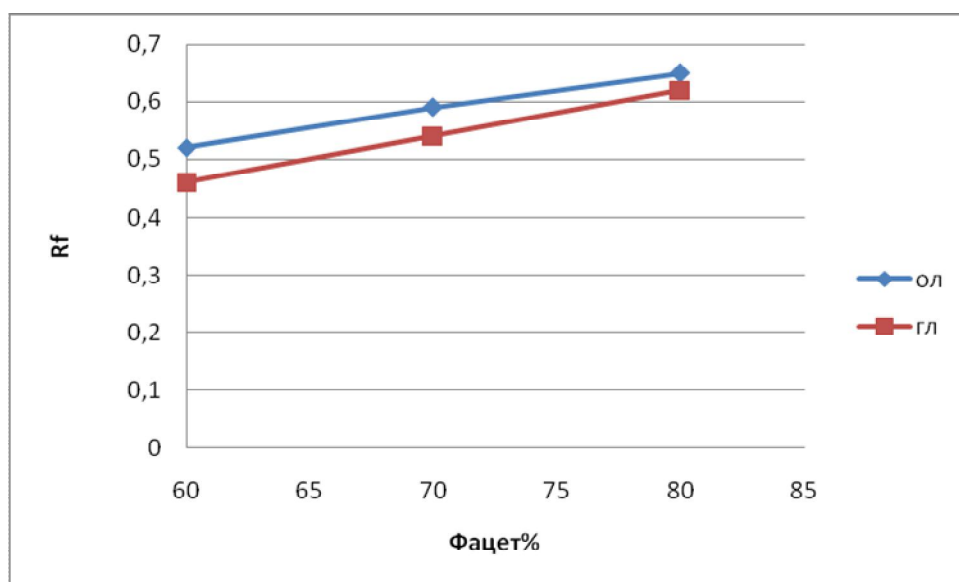


Рис 3-Графики зависимостей подвижности сапонинов системе ацетонитрил – вода. 1 – ол; 2 –гл;  $C_R = 2$  мг/мл.

На графике представлены данные поведения глицирризиновой и олеаноловой кислот в ацетонитрильных смесях. До концентрации



ацетонитрила 60 об.% сапонины оставались на линии старта. Движение сапонинов началось при концентрации больше 60об.% ,при этом зоны плохо разделены между собой и сильно размыты, следовательно не подходят для дальнейшего исследования.

При исследовании водно-бутанольной системы зоны веществ олеаноловой и глицириззиновой кислот при любых концентрациях двигались вместе с фронтом элюента. Таким образом для разделения исследуемых веществ, нами был выбран изопропанол в концентрации 40 % по объёму в качестве органической составляющей подвижной фазы и уксусная кислота в концентрации 18 об. % для гомогенизации ПФ.

### Водно-мицеллярные подвижные фазы

В настоящем разделе исследованы ПФ на основе поверхностно-активных веществ. Концентрацию ПАВ в ПФ выбирали выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ), т. е. использовали мицеллярную ТСХ.

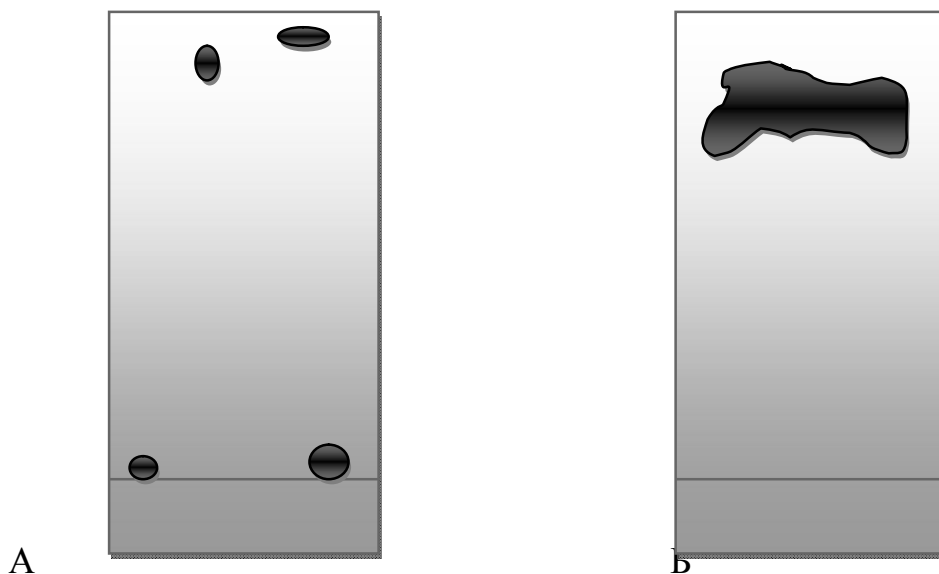


Рисунок 4-Влияние природы подвижной фазы на хроматографическое поведение ол,гл. кис ПФ: а-ЦПХ-вода( $C_{\text{ПАВ}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ) ; б-ДДС – вода ( $C_{\text{ПАВ}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ). ПФ: Сорбфил на алюминиевой подложке. 1 – ол, 2 – гл, 3 – смесь ол, гл;  $C_{\text{R}} = 2 \text{ мг/мл}$ .

На рисунке 4 приведены хроматограммы исследования сапонинов в водно-мицеллярных ПФ. Видно, что хроматографируется только глицирризиновая кислота из смеси в системе ЦПХ – вода ( $C_{\text{ЦПХ}} = 1 \cdot 10^{-3}$  М), в то время как в ДДС – вода ( $C_{\text{ДДС}} = 1 \cdot 10^{-2}$  М) хроматографические зоны всех веществ продвигались с фронтом элюента и сливались друг с другом.

Установлены зависимости подвижностей хроматографических зон двух веществ от природы и концентрации ПАВ в МПФ (таблица 4, рисунок 4-5).

Таблица 4-Подвижность смеси сапонинов в системе ЦПХ-вода:

$C \cdot 10^3$ (ЦПХ), М	$Rf_{\text{ол}}$	$Rf_{\text{гл}}$
1	0	0,88
2,5	0	0,93
5	0,07	0,89
7,5	0,09	0,86
10	0,03	0,81

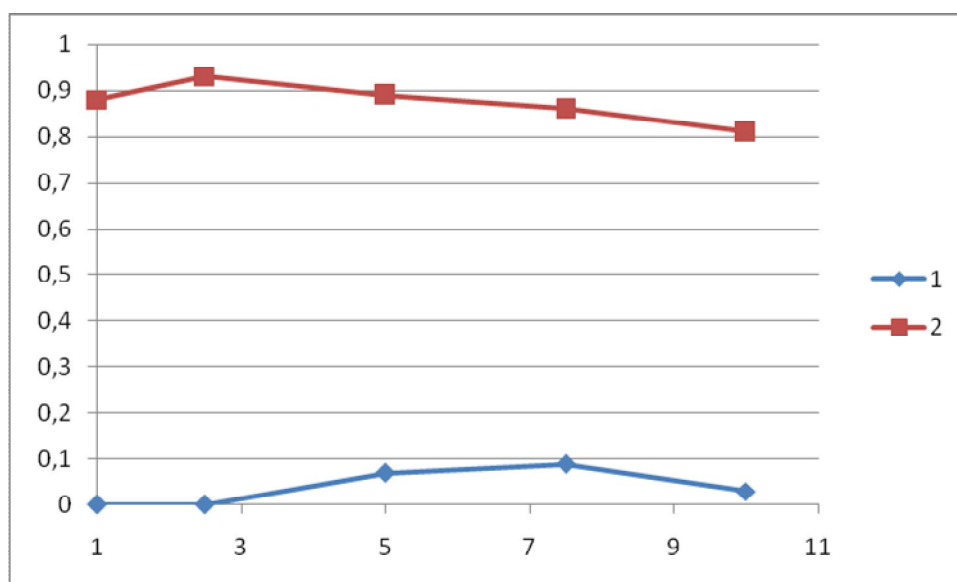


Рисунок 5- Графики зависимостей подвижности сапонинов в системе ЦПХ-вода.

Из графика 5 видно, что зоны олеаноловой кислоты остаются на старте, однако при концентрациях  $5 \cdot 10^{-3}$  -  $7,5 \cdot 10^{-3}$  М наблюдается их движение. При этом подвижность глицирризиновой кислоты незначительно уменьшилась с увеличением концентрации ПАВ.

Также было установлено, что в ПФ на основе ДДС все сапонины двигались с фронтом ПФ.

Исходя из представленных данных, можно сделать вывод, что система ЦПХ-вода более подходит для дальнейшей модификации органическим растворителем.

### ***Количественное определение сапонинов в биологических объектах методом ТСХ***

В данном разделе показана возможность применения мицеллярной и водно-органической ТСХ для количественного определения олеаноловой и глицирризиновой кислот в лекарственных растениях.

Таблица 5- Сравнение метрологических характеристик градуировочных графиков

Характеристики	Водно-органическая ПФ		Мицеллярная ПФ	
	олеаноловая кислота	глицирризиновая кислота	олеаноловая кислота	глицирризиновая кислота
Уравнение градуировочного графика	$y = 10575x + 66684$	$y = 12382x + 75082$	$y = 69006x + 3093$	$y = 10184x + 27189$
Коэффициент корреляции ( $R^2$ )	0,961	0,944	0,973	0,961
Интервал линейности, мг/мл	0,25-3,0	0,25-3,0	0,25-3,0	0,25-3,0
чувствительность ( $\text{tg } \alpha$ )	0,52	0,63	0,47	0,69

## **Выводы**

1.Собраны, обобщены и проанализированы литературные данные по хроматографическим методам определения сапонинов в реальных объектах. Установлено, что наиболее перспективными в анализе являются методы ТСХ и ВЭЖХ.

2.Методом ТСХ изучено хроматографическое поведение олеаноловой и глицирризиновой кислот в водно-органических подвижных фазах. Установлено, что оптимальной водно-органической ПФ является система изопропанол (15%) – ледяная уксусная кислота (18%) – вода. Оптимальной НФ являются пластины Сорбфил на алюминиевой подложке.

3.Изучено хроматографическое поведение олеаноловой, глицирризиновой кислот в мицеллярных ПФ различной природы, модифицированных органическим растворителем. Установлено, что наиболее эффективными системами являются элюенты состава изопропанол (15%) –ЦПХ ( $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л), НФ – Сорбфил на алюминиевой подложке.

4.Методом модифицированной мицеллярной ТСХ определено содержание олеаноловой, глицирризиновой кислот в экстракте перечной мяты и настойки корней солодки. Значение  $S_r$  не превышало 0,08.