

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **22228**

(13) **С1**

(46) **2018.10.30**

(51) МПК

G 01N 30/02 (2006.01)

G 01N 33/03 (2006.01)

(54) **СПОСОБ ЭКСПРЕСС-ИДЕНТИФИКАЦИИ ЭФИРНОГО МАСЛА
OSIMUM BASILICUM L., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В РЕСПУБЛИКЕ
БЕЛАРУСЬ**

(21) Номер заявки: а 20140103

(22) 2014.02.13

(43) 2015.10.30

(71) Заявитель: Учреждение образования "Белорусский государственный технологический университет" (ВУ)

(72) Авторы: Коваленко Наталья Александровна; Супиченко Галина Николаевна; Сачивко Татьяна Владимировна; Босак Виктор Николаевич (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение образования "Белорусский государственный технологический университет" (ВУ)

(56) ГАПОНЕНКО Ю.С. и др. Наука - шаг в будущее. Тез. докл. VII научно-практической конференции студентов, магистрантов и аспирантов факультета "Технология органических веществ". - Минск, 2013. - С. 17. ВУ 10273 С1, 2008.

ПАЛИЙ А.Е. и др. Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. - 2012. - Вып. 105. - С. 133-138.

Технология переработки эфиромасличного сырья. Методические указания к лабораторным работам по одноименной дисциплине для студентов специальности 1-48 02 01 "Биотехнология" специализации 1-48 02 01 03 "Технология жиров, эфирных масел и парфюмерно-косметических продуктов". - Минск, 2008. - С. 13-19.

КОВАЛЕНКО Н.А. и др. Труды БГТУ: Серия 4. Химия, технология органических веществ и биотехнология. - Вып. XVII. - Минск, 2009. - С. 183-187.

ЛЕОНТЬЕВ В.Н. и др. Труды БГУ: Серия. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. - Вып. 1. - Минск, 2006. - С. 261-267.

ВУ 15602 С1, 2012.

(57)

Способ экспресс-идентификации эфирного масла *Ocimum basilicum* L., произрастающего в Республике Беларусь, при котором отобранную пробу эфирного масла анализируют методом газо-жидкостной хроматографии с использованием метода внутренней нормализации без учета поправочных коэффициентов на капиллярной колонке CycloSil В длиной 30 м и внутренним диаметром 0,321 мм при линейной скорости газа-носителя азота 18,8 см/с и температуре испарителя и детектора 230 и 250 °С соответственно в режиме программирования температуры от изотермы при 70 °С в течение 5 мин с подъемом температуры со скоростью 3°/мин до изотермы при 115 °С в течение 20 мин и последующим подъемом температуры со скоростью 4°/мин до изотермы при 200 °С в течение 10 мин, определяют количественное соотношение характеристичных пиков метилхавикола и R(-)-линалоола и при содержании метилхавикола 20-30 % и R(-)-линалоола 50-70 % масло относят к эфирному маслу *Ocimum basilicum* L., произрастающему в Республике Беларусь.

Изобретение относится к способам идентификации продуктов переработки растительного сырья, а именно эфирного масла, полученного из *Ocimum basilicum L.*, и может быть использовано в химической, парфюмерной и пищевой промышленности, а также в медицине, фармации, сельском хозяйстве, метрологии и стандартизации.

Известно, что химический состав эфирных масел в значительной степени зависит от климатических и географических условий произрастания, технологических особенностей получения и сроков хранения [1].

Известен способ экспресс-оценки качества ароматных (эфирных) масел и продуктов на их основе [2], сущность которого заключается в использовании детектирующего устройства статического "пьезоэлектронного носа", матрицу которого формируют из восьми масс-чувствительных пьезосенсоров с пленками на электродах сорбентов, различных по полярности, нанесенных из растворов двух полярных, двух среднеполярных, двух неполярных хроматографических фаз, а также из растворов прополиса и триоктилфосфиноксида, в ячейку детектирования "пьезоэлектронного носа" вводят равновесную газовую фазу предварительно термостатированного образца, представляющего собой пробу эфирного масла или продукта на его основе, регистрируют отклики каждого пьезосенсора, формируют суммарный сигнал в виде временной "масс-ароматограммы" и сопоставляют ее с банком данных по результатам анализа проб-стандартов. Если идентичность суммарных сигналов составляет 60-80 %, то проба оценивается как низкокачественная, при совпадении более чем на 80 % анализируемая проба соответствует по качеству стандарту, при совпадении суммарных сигналов менее 60 % анализируемая проба бракуется как не соответствующая стандарту.

Недостатками данного способа являются использование сложного детектирующего устройства на основе матрицы из 8 пьезосенсоров, предусматривающее предварительное нанесение различных по полярности хроматографических фаз, сложная и трудоемкая обработка полученных сигналов, а также невозможность использования заявленного метода для всех анализируемых объектов.

Известным способом идентификации и определения подлинности многокомпонентных фитопрепаратов является метод "отпечатков пальцев", при котором на хроматограммах оценивают не отдельные классы соединений, а совокупность биологически активных веществ, являющихся доминирующими компонентами [3]. В качестве растворов сравнения для идентификации и оценки подлинности фитопрепаратов используют матричные настойки, входящие в состав анализируемых фитопрепаратов.

Недостатками способа являются необходимость выбора условий элюирования и хроматографирования для анализируемых фитопрепаратов различной природы и происхождения, а также высокая погрешность количественного анализа методом тонкослойной хроматографии.

Известен способ выявления и идентификации компонентов лекарственных экстрактов растительного и животного происхождения с использованием хроматографических "отпечатков пальцев" [4], заключающийся в том, что компоненты лекарственных экстрактов растительного и животного происхождения подвергают разделению на основании различий в рН и полярности с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), формируют контурную и трехмерную хроматограмму элюированных компонентов с последующим преобразованием полученной хроматограммы в цветное изображение, которое затем анализируют с применением встроенного программного обеспечения для выявления всех его отдельных цветов с использованием координат, обозначающих все трехмерные свойства указанного изображения, обозначают концентрации отдельных компонентов, элюированных в течение времени, формируют хроматограмму на основе анализа цвета, идентифицируют компоненты по свойствам поглощения УФ-видимого спектра различных соединений в изображении с их последующей классификацией по полярности или сопряженности связей, генерируют штрих-код для выбранного пика, формируют базу

данных "отпечатков пальцев" и штрих-кодов и идентифицируют соответствующие соединения экстракта.

Недостатками данного способа являются длительность, сложность и трудоемкость пробоподготовки и выбора условий элюирования и хроматографирования для каждого из возможных анализируемых образцов, необходимость достаточных компьютерных мощностей для реализации и поддержания работоспособности заявленного способа, создание и поддержание библиотеки баз данных для различных объектов анализа, а также создание нетрадиционного и сложного программного обеспечения для его реализации.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату является способ идентификации растительного сырья [5], заключающийся в том, что проводят анализ хлорнокислого экстракта измельченного образца растительного сырья методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с контролируруемыми параметрами разделения и детектированием по флуоресценции и идентифицируют сырье путем выявления идентичности хроматограммы исследуемого образца с хроматограммой растения из библиотеки эталонных хроматограмм, полученных в таких же условиях. Данный способ является аналогом по отношению к заявленному изобретению.

Недостатками данного способа являются существенная зависимость разделения компонентов экстракта от трудноконтролируемых параметров хроматографирования, недостаточная селективность разделения энантиомеров методом ВЭЖХ, обусловленная блокированием хиральных полостей неподвижных фаз полярными модификаторами, входящими в состав растворителей, а также необходимость создания библиотеки баз данных для различных объектов анализа.

Из доступных литературных источников нами не был выявлен способ идентификации эфирного масла *Ocimum basilicum L.*, произрастающего в Республике Беларусь.

Задачей данного изобретения является разработка относительно простого, надежного и информативного способа идентификации эфирного масла *Ocimum basilicum L.*, произрастающего в Республике Беларусь.

Задача изобретения решается путем экспресс-идентификации эфирного масла *Ocimum basilicum L.*, произрастающего в Республике Беларусь, заключающегося в том, что отбранную пробу эфирного масла анализируют методом газо-жидкостной хроматографии с использованием метода внутренней нормализации без учета поправочных коэффициентов на капиллярной колонке CycloSil B длиной 30 м и внутренним диаметром 0,321 мм при линейной скорости газа-носителя азота 18,8 см/с и температуре испарителя и детектора - 230 и 250 °С соответственно в режиме программирования температуры от изотермы при 70 °С в течение 5 мин с подъемом температуры со скоростью 3°/мин до изотермы при 115 °С в течение 20 мин и последующим подъемом температуры со скоростью 4°/мин до изотермы при 200 °С в течение 10 мин, определяют количественное соотношение характеристических пиков метилхавикола и R-(-)-линалоола и при содержании метилхавикола 20-30 мас. % и R-(-)-линалоола 50-70 % масло относят к эфирному маслу *Ocimum basilicum L.*, произрастающему в Республике Беларусь.

При этом в процессе исследований было выяснено, что из всего набора выявленных при анализе веществ для двух идентифицированных компонентов - метилхавикола и линалоола в R-(-)-форме независимо от способа подготовки растительного сырья и срока хранения готового эфирного масла количественное соотношение между содержанием характеристических компонентов эфирного масла сохраняется неизменным, что подтверждается данными исследований (табл. 1, 2).

Предел допускаемых значений относительной погрешности результата измерений $\pm 4\%$ при доверительной вероятности 0,95.

По данным проведенных исследований эфирное масло *Ocimum basilicum L.*, произрастающее в Республике Беларусь, содержит 20-30 мас. % метилхавикола и 50-70 мас. % линалоола, представляющего собой оптически чистый R-(-)-линалоол.

Таблица 1

Влияние способа подготовки растительного сырья на содержание характеристических компонентов в эфирном масле *Ocimum basilicum* L.

Соединение	Содержание, мас. %	
	Свежее растительное сырье	Сухое растительное сырье
R-(-)-линалоол	56,3	64,4
Метилхавикол	25,6	22,5

Таблица 2

Влияние длительности хранения на содержание характеристических компонентов эфирного масла *Ocimum basilicum* L.

Соединение	Содержание, мас. %	
	Свежеприготовленный образец	Образец после хранения в течение 6 мес.
R-(-)-линалоол	54,5	56,1
Метилхавикол	25,3	24,1

Заявленный способ осуществляется следующим образом.

Аликвоту эфирного масла, предварительно высушенного в течение 24 ч безводным сульфатом натрия, объемом 0,1 мл с помощью микрошприца вводят через испаритель в хроматографическую колонку газового хроматографа "Цвет-800", оснащенного пламенно-ионизационным детектором. Хроматографирование проводят на стеклянной капиллярной колонке длиной 30 м и внутренним диаметром 0,321 мм с использованием неподвижной фазы CycloSil B (толщина 0,25 мкм) в токе газа-носителя азота с линейной скоростью потока 18,8 см/с, при температуре испарителя и детектора - 230 и 250 °С соответственно в следующем режиме программирования температуры колонки: изотерма при 70 °С в течение 5 мин с подъемом температуры со скоростью 3°/мин до изотермы при 115 °С в течение 20 мин и подъем температуры со скоростью 4°/мин до изотермы при 200 °С в течение 10 мин.

На полученной хроматограмме идентифицируют и определяют количественное соотношение характеристических пиков метилхавикола и R-(-)-линалоола и при содержании метилхавикола 20-30 мас. % и R-(-)-линалоола 50-70 мас. % масло относят к эфирному маслу *Ocimum basilicum* L.

В качестве конкретных примеров, подтверждающих возможность осуществления заявленного способа, приводим хроматограммы эфирных масел *Ocimum basilicum* L., *Agastache rugosa* L. и *Coriandrum sativum* L., в состав которых входят метилхавикол и линалоол, представленные на фиг. 1-4

На фиг. 1 изображена хроматограмма эфирного масла *Ocimum basilicum* L.

На фиг. 2 показан фрагмент той же хроматограммы, включающий пики метилхавикола и R-(-)-линалоола.

На фиг. 3 показан фрагмент хроматограммы эфирного масла *Agastache rugosa* L. включающий пики метилхавикола, R-(-)- и S-(+)-линалоола.

На фиг. 4 показан фрагмент хроматограммы эфирного масла *Coriandrum sativum* L., включающий пики метилхавикола, R-(-)- и S-(+)-линалоола.

Фрагменты хроматограмм различных эфирных масел существенно различаются между собой вплоть до того, что в них отсутствуют общие хроматографические пики.

В эфирном масле *Ocimum basilicum* L. концентрация линалоола составляет 50-70 мас. %, причем линалоол представлен исключительно R-(-)-формой, а содержание метилхавикола составляет 20-30 мас. %.

BY 22228 C1 2018.10.30

В эфирном масле *Agastache rugosa* L. концентрация линалоола составляет 1-2 мас. % с 65 %-ным энантиомерным избытком R-(-)-формы, а содержание метилхавикола составляет 30-35 мас. %.

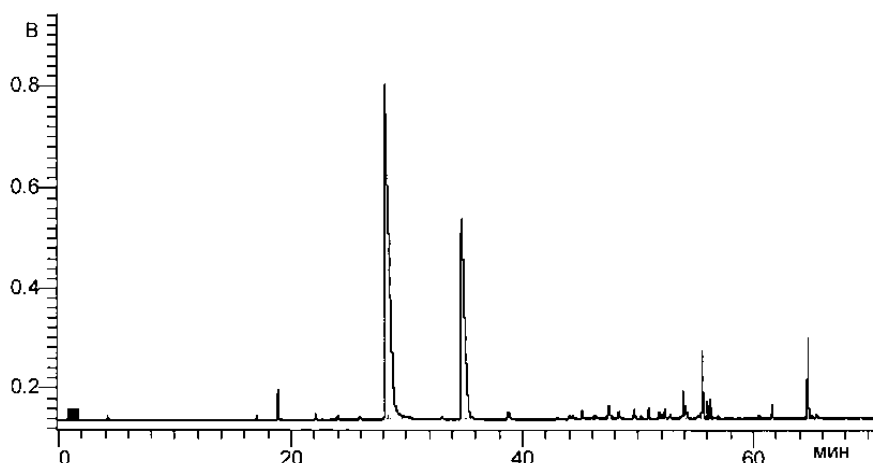
В эфирном масле *Coriandrum sativum* L. метилхавикол находится в следовых количествах, а линалоол является главным компонентом (более 60 мас. %) и представлен обеими энантиомерными формами с преимущественным преобладанием S-(+)-линалоола.

Очевидно, что количественное соотношение метилхавикола и R-(-)- линалоола для всех трех эфирных масел будет различным, что позволяет однозначно идентифицировать эфирное масло *Ocimum basilicum* L. среди эфирных масел других наиболее распространенных растений Республики Беларусь.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет достаточно быстро и с высокой точностью идентифицировать эфирное масло *Ocimum basilicum* L. независимо от способа предварительной подготовки растительного сырья и сроков хранения готового эфирного масла. При этом отпадает необходимость идентификации всех отдельных пиков с помощью стандартов, а для идентификации могут быть использованы даже фрагменты хроматограмм, содержащие пики метилхавикола и R-(-)-линалоола.

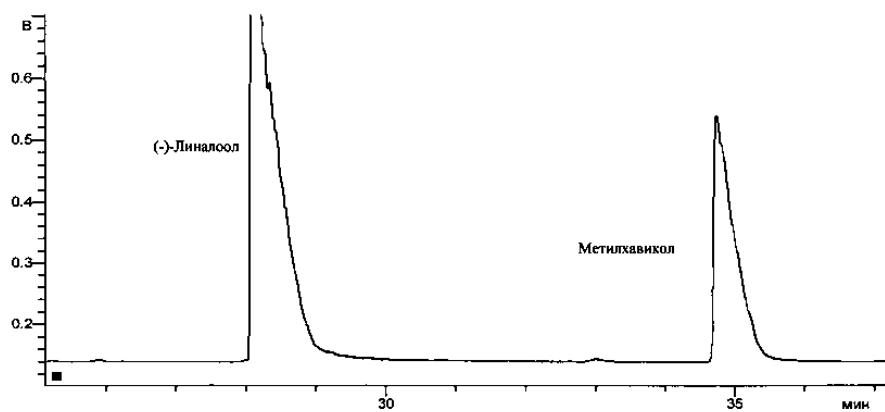
Источники информации:

1. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, анализ и применение. - М.: Школа Косметических Химиков, 2005. - 192 с.
2. Патент RU 2327985 C1, МПК G 01N 33/03, 2008.
3. Терешина И.С., Абрамов А.А., Маркарян А.А. Анализ гомеопатических препаратов барбариса хроматографическими методами // Вестник Моск. Ун-та. - Сер. Химия. - Т. 47. - № 5. - С. 346-349.
4. Патент EA 4663 B1, МПК G 01N 33/88, 2004.
5. Патент BY 10273 C1, МПК G 01N 30/00, 2008.

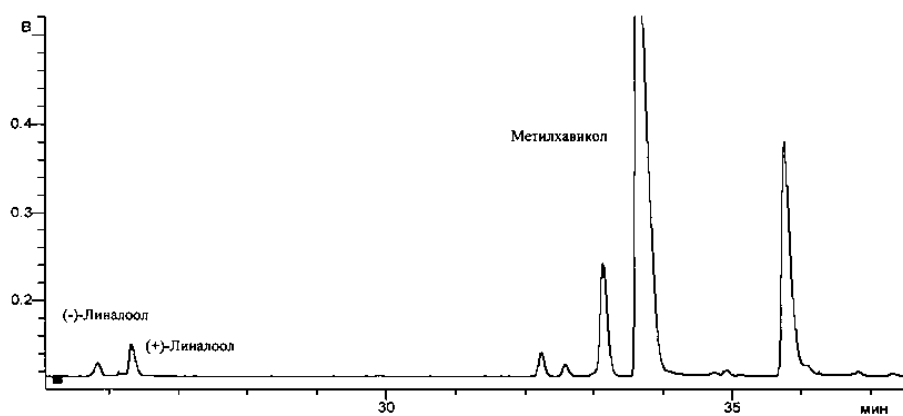


Фиг. 1

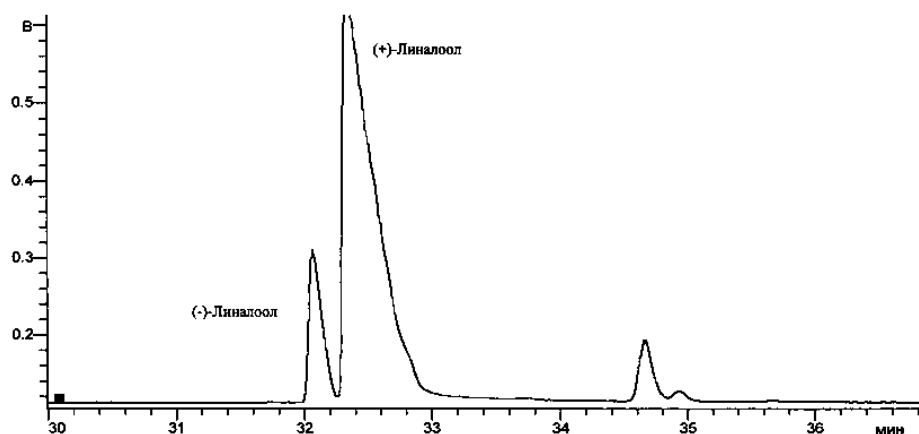
BY 22228 C1 2018.10.30



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4