

Catedra de farmacognozie a I.M.F. din Tîrgu-Mureş (cond.: prof. G. Rácz, doctor farmacist) şi Oficiul farmaceutic din Oradea (director: Florica Benţe, farmacist principal)

**SEPARAREA TERMOFRACROMATOGRAFICA
A COMPUŞILOR ULEIULUI VOLATIL DIN CONURILE DE HAMEI
(Humulus lupulus L.)**

dr. C. Csedő, dr. G. Rácz, T. Németh

Principiul metodei. O serie de principii active sînt volatile, respectiv pot fi separate din pulberi vegetale sau din amestecuri de substanţe prin încălzire (distilare sau sublimare). De asemenea pot fi caracteristici produşii de descompunere termică a diferitelor substanţe. Prin analogie cu

termenul de extracție utilizat în mod curent, inițiatorul procedurii. Stahl (2, 3, 4) recomandă introducerea noțiunii de „termoextracție“ („termofracționare“) pentru separarea prin metode termice a unor principii active. Metoda este foarte sensibilă, ea permite utilizarea unor probe de analiză de câteva miligrame. Sensibilitatea este accentuată parțial tocmai prin renunțarea utilizării unor solvenți, în situația din urmă conținutul în principii active se diluează, respectiv apare necesitatea concentrării ulterioare a soluției extractive.

Utilizând diferite temperaturi, prin încălzire treptată se asigură separarea succesivă a principiilor active volatile. Substanțele volatile sînt captate direct pe placa cromatografică, aceasta este deplasată succesiv în funcție de creșterea treptată a temperaturii. Astfel se realizează prima separare a fracțiunilor, respectiv a compușilor. În etapa următoare, cu cromatoplașa etalată termic cu seria de substanțe volatile din pulberea vegetală sau din amestecul de compuși, se lucrează în condițiile obișnuite ale cromatografiei pe strat subțire (2), reprezentînd cea de a doua separare prin repartiția cromatografică.

Aparatul și metoda. Aparatul (fig. nr. 1) a fost numit de E. Stahl (2, 3) „TAS-Ofen“ (etuvă TAS) după inițialele care stau la baza procedurii, T = „termomicro“; A = „Abtrennverfahren“ și „Auftragenverfahren“, ceea ce înseamnă separare și etalare, iar ultima literă (S) reprezintă inițialele numelui autorului.

Proba de analiză se introduce într-un mic tub de sticlă (fig. nr. 1, I), cu una din extremități subțiată, tubul asemănîndu-se cu o pipetă. În tubul de sticlă se așează o cantitate mică de vată de sticlă (1), împinsă pînă la punctul de îngustare. Pe urmă se introduce o cantitate de 10 pînă la 50 mg din proba de analiză (2). Partea cealaltă a tubului se închide ermetic cu un dop de silicium (5) protejat de o foită de aluminiu sau staniol (4) pentru a se asigura fluxul substanțelor volatile spre cromatoplașă. În tub pot fi introduși, după necesități, absorbantă, solvenți, în cantitate cunoscută.

Tubul astfel pregătit (I) se introduce în aparat (în etuvă), care este alcătuit dintr-un corp de încălzire electric (6). Încălzirea etuvei se realizează cu ajutorul unui termoregulator, cu care poate fi încălzit treptat pînă la 350 °C. Temperatura se înregistrează cu un termometru (fig. nr. 1, piesa 7).

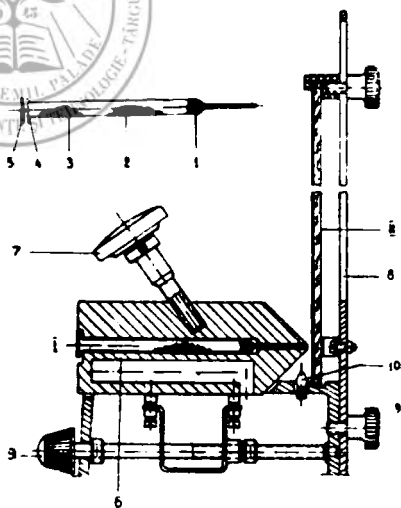


Fig. nr. 1: Etuvă TAS

Cromatoplaça (II) se fixează în poziție verticală de un stativ (fig. nr. 1, piesa 8).

Separarea și identificarea compușilor. Uleiul volatil s-a obținut prin distilare cu vapori de apă în aparatul Neo-Clevenger (F.R. VIII), din care am picurat 2 microlitri pe cca 0,10 g Kieselgel GF 254 (Merck). După amestecarea uleiului cu absorbantul, s-au introdus cu ajutorul unei spatule mici în tubul de termofracționare, pe care l-am așezat în etuvă, în așa fel încât între vârful tubului și cromatoplacă distanța să fie de 1 mm. Ca absorbant cromatografic am folosit de asemenea Kieselgel GF 254 (Merck), stratul avind o grosime de 0,25 mm.

Termofracționarea compușilor s-a încercat între 25—100 °C, 101—200 °C, 201—250 °C și 251—325 °C. După fiecare interval de temperatură, cromatoplaça s-a deplasat cu cîte 2 cm la stînga. După terminarea termofracționării, am așezat cromatoplaça într-un bac cromatografic, folosind soluția de migrare: benzen-acetat de etil (98:2). S-a efectuat cromatografierea obișnuită (distanța de migrare a fazei mobile: 16,5 cm). Dezvoltarea spoturilor s-a făcut cu ajutorul unei soluții de acid sulfuric conc.-vanilină (99:1), prin aerosolizare. Cromatogramele obținute sînt reprezentate în fig. nr. 2.

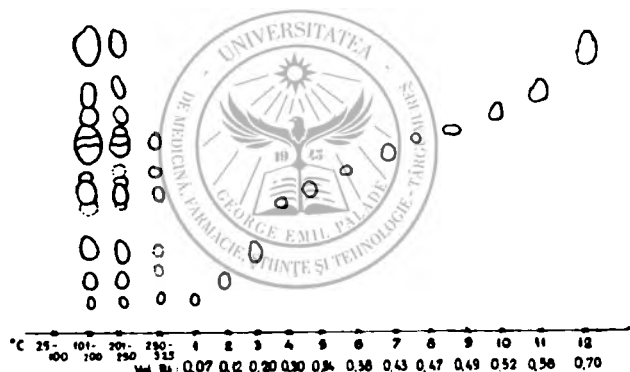


Fig. nr. 2: Termofractocromatograma uleiului volatil obținut din conurile de hamei (*Humulus lupulus*). Sol. de migrare: benzen-acetat de etil (98:2); dezvoltant: vanilină în acid sulfuric conc. (1:99); absorbant: Kieselgel—GF₂₅₄ (Merck) 0,25 mm. 1 = geraniol, 2 = nerol, 3 = borneol, 4 = limonen, 5 = beta-pinen, 6 = alfa-pinen, 7 = linalool, 8 = cineol, 9 = acet-geraniol, 10 = acet-linalil, 11 = valerianat de linalil, 12 = cariofilenă

Separarea optimă a compușilor s-a realizat la intervalul termic de 201—250 °C. Componentii pot fi identificați cu certitudine fiindcă separarea spoturilor este selectivă, atât la derivații terpenici (zona inferioară), cât și la componentii sesquiterpenici (zona superioară). Identificarea componentilor s-a realizat prin comparare cu substanțe etalon, pe baza Rf-lor din fig. nr. 2 și tabelul nr. 1. Rezultatele sînt cuprinse în tabelul nr. 1 și reproduse în fig. nr. 2.

Tabelul nr. 1

Valorile Rf ale compușilor identificați în uleiul volatil din conurile de hamei

Componentul identificat	Valoarea Rf
Geraniol	0,07
Nerol	0,12
Borneol	0,20
Limonen	0,30
Beta-pinen	0,34
Alfa-pinen	0,38
Linalool	0,43
Cineol	0,47
Acetat de geraniol	0,49
Acetat de linalil	0,52
Valerianat de linalil	0,58
Cariofilen	0,70

Concluzii

Termofracționarea compușilor s-a realizat la 201—250 °C cu ajutorul etuvei TAS. Pe stratul de Kieselgel GF 254 (Merck) 0,25 mm, folosind ca soluție de migrare benzen-acetat de etil (98:2) și ca detector acid sulfuric conc.-vanilină (99:1), s-au putut identifica următorii 12 componenți: geraniol, nerol, borneol, limonen, beta-pinen, linalool, cineol, acetat de geraniol, acetat de linalil, valerianat de linalil și cariofilen. Acetatul de geraniol și valerianatul de linalil nu sînt descrise în bibliografia studiată.

Sosit la redacție: 20 ianuarie 1975.

Bibliografie

1. Németh T.: Studiu farmacognostic asupra hameiului (*Humulus lupulus* L.) Teză de doctorat, I.M.F. Tirgu-Mureș, 1974; 2. Stahl E.: Dünnschicht-Chromatographie, Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1967; 3. Stahl E.: J. Chromatog. (1968), 37, 99; 4. Stahl E., Fuchs J.: Deutsch. Apoth. Ztg. (1968), 108, 1227; 5. Stahl E.: Analyst (1969), 94, 723; 6. * * * Farmacopeea Română, Ed. a VIII-a, Ed. medicală, București, 1965, 784.