

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА А (РЕТИНОЛА) В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Научно-практический центр гигиены, г. Минск, Республика Беларусь

Результаты изучения фактического питания жителей Республики Беларусь свидетельствуют о недостаточном потреблении витаминов. Одним из эффективных путей, позволяющим обеспечить оптимальное поступление в организм людей витаминов, в том числе и витамина А, является прием поливитаминных препаратов, а также витаминизированных пищевых продуктов. В связи с этим проблема контроля содержания витаминов в подобной продукции становится актуальной.

Существует несколько методик определения витамина А в продуктах питания с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [1-2]. Диапазон определяемых концентраций составляет 0,5–10,0 мг/кг. В данных методиках при построении калибровочного графика и для проверки оптимальных условия хроматографирования используется смесь трех стандартных растворов витаминов: ретинола, ретинола ацетата, ретинола пальмитата с одинаковой концентрацией. Определение витамина А вышеуказанным способом годится только для образцов, не подвергающихся щелочному гидролизу, а также в случае использования нормальнофазной ВЭЖХ.

Однако для высвобождения из пищевых продуктов витамина А щелочной гидролиз обязателен: при нем все формы витамина А переходят в чистый ретинол. Вследствие этого нами при количественном определении витамина А в пищевых продуктах в качестве стандарта использовалась одна форма витамина А (ретинол), подвергаемая щелочному гидролизу. Конечная концентрация витамина А устанавливалась спектрофотометрически. Все это позволяло корректно определить время выхода стандарта и витамина А в пробе, т. к. время выхода и площадь пика гидролизованного и негидролизованного витамина А различаются. Количество ретинола ацетата, ретинола пальмитата рассчитывали с использованием соответствующих коэффициентов.

Для предотвращения потерь витамина А во время проведения щелочного гидролиза в качестве антиоксидантов в работах [1-2] предлагается использовать аскорбиновую кислоту, гидрохинон, бутилгидрокситолуол, а для гидролиза – 50 % спиртовой раствор КОН. Нами были использованы следующие условия щелочного омыления: в качестве антиоксиданта применялся пирогаллол, а вместо 4–40 см³ 50 % спиртового раствора КОН добавляли 3 г гранулированного гидроксида натрия (NaOH), что позволило свести к минимуму разрушение витамина А в стандартном растворе и в исследуемом образце.

Определение витамина А в пищевых продуктах осуществляли по следующей схеме. Навеску стандарта витамина А (ретинола) массой 0,1 г (образца 5,0 г) помещали в круглодонную колбу вместимостью 250 см³, добавляли 50 см³ этилового спирта, 100 мг пирогаллола, 3 г гранулированного гидроксида натрия (NaOH). Содержимое колбы нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 40 минут. После окончания гидролиза колбу быстро охлаждали под струей холодной воды и переносили содержимое в делительную воронку. Колбу ополаскивали 30 см³ дистиллированной воды и сливали в ту же делительную воронку. Признаком полного омыления служила прозрачность смеси при добавлении воды. Витамин А экстрагировали диэтиловым эфиром, используя последовательно 40, 25 и 25 см³ диэтилового эфира. Объединенный эфирный экстракт переносили в делительную воронку и отмывали от щелочи до нейтральной реакции, расходуя при этом 500–700 см³ дистиллированной воды. К промытому экстракту добавляли безводный сернокислый натрий и оставляли на 30–40 минут в темноте при комнатной температуре. Затем эфир отгоняют под вакуумом на ротационном испарителе до получения сухого остатка, который растворяли в 25 см³ этилового спирта. Полученный спиртовой раствор стандарта витамина А анализировали спектрофотометрически и методом ВЭЖХ.

Для ВЭЖХ использовали жидкостной хроматограф Shimadzu LC-20 Prominence (Япония) с диодно-матричным детектором, с колонкой NUCLEODUR C 18 Gravity (размером 150 × 3,8 мм с сорбентом, размер зерна которого равен 5 мкм). Температура колонки составляла 30°C. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила с метанолом (80:20). Элюирование проводили в градиентном режиме. Скорость подачи подвижной фазы составляла 0,6 см³/мин, объем вводимой пробы – 20 мкл. Регистрацию сигнала проводили при длине волны 324 нм. Время выхода витамина А – 1,7 минуты.

Количественное определение витамина А осуществляли методом абсолютной калибровки по площадям хроматографических пиков. Линейный диапазон детектирования находился в пределах 0,2–4,0 мкг/см³. Нижний предел измерения концентрации витамина А составлял 0,2 мг/кг.

Таким образом, нами разработана методика определения витамина А в пищевых продуктах с использованием ВЭЖХ. Метод основан на проведении щелочного гидролиза анализируемого образца, удалении растворителя и анализе сухого остатка, растворенного в этаноле. Методика пригодна для идентификации и количественного определения витамина А при контроле качества продуктов питания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *ГОСТ Р 54635-2011*. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина А. Введ. 12.12.2011. М. : Стандартинформ, 2013. 16 с.
2. *ГОСТ 32307-2013*. Мясо и мясные продукты Определение содержания жирорастворимых витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Гос. ком. по стандартизации Респ. Беларусь. Введ. 07.10.2015. Минск : БелГИСС, 2013. 12 с.