

О. В. Тринеева, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин

РАЗДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ А, D₂, Е И β-КАРОТИНА ПРИ СОВМЕСТНОМ ПРИСУТСТВИИ МЕТОДОМ СТУПЕНЧАТОГО ЭЛЮИРОВАНИЯ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА

ФГБОУ ВПО "Воронежский государственный университет", Воронеж, Россия

Разработана методика определения и разделения жирорастворимых витаминов методом ступенчатой тонкослойной хроматографии при совместном присутствии. Показана возможность теоретического подхода к выбору оптимальных условий хроматографического определения токоферола ацетата, ретинола ацетата, эргокальциферола и бета-каротина в тонком слое сорбента. Проведена валидация разработанной методики по показателям – предел обнаружения, специфичность, эффективность и повторяемость. Методика может быть использована в контроле качества комплексных поливитаминных препаратов, лекарственного растительного сырья, а также растительных масел, масляных экстрактов и биологически активных добавок на их основе.

Ключевые слова: токоферола ацетат; ретинола ацетат; эргокальциферол; бета-каротин; тонкослойная хроматография; ступенчатое элюирование.

Витамины являются важнейшим классом незаменимых пищевых соединений, представляющих собой биологически активные вещества (БАВ) разнообразной химической природы. Недостаток, как и избыток, витаминов в организме вызывает глубокие нарушения различных метаболических процессов, что приводит к тяжелым заболеваниям [1, 2].

В настоящее время ассортимент витаминных лекарственных средств представлен достаточно широко. Состав их сложен и многообразен. Жирорастворимые витамины (ЖРВ) применяются как самостоятельные лекарственные препараты, а также являются важнейшими минорными компонентами растительных масел (РМ).

Известны способы идентификации, разделения и количественного определения ЖРВ в субстанциях, одно- и многокомпонентных лекарственных формах, премиксах, биологически активных добавках, культурах микроорганизмов методом ВЭЖХ [3 – 8]. Нашли широкое применение также спектральные методы анализа, такие как фотоэлектроколориметрия, основанная на измерении оптической плотности растворов исследуемых витаминов после добавления каких-либо реагентов, образующих окрашенные продукты реакции [9, 10]. Прямая и дифференциальная спектрофотометрия находят широкое применение в анализе субстанций для определения подлинности, степени чистоты и количественного содержания [11, 12]. Недостатками указанных спектральных методов являются громоздкость и длительность определений, нестабильность окрашенных продуктов цветных реакций, недостаточная чувствительность и селективность, невозможность определения витаминов А, Е, D₂ и β-каротина при совместном присутствии, а также большие погрешности определения. Недостатком ВЭЖХ является дорогостоящие оборудование, реактивы и материалы, а также стандартные образцы. ТСХ, обладая всеми преимуществами хроматографических методов, нахо-

дит широкое применение ввиду своей экспрессности, доступности, достаточной чувствительности, селективности, малой стоимости и простоте выполнения анализа.

Цель работы – изучение различных элюирующих систем и возможности теоретического подхода к выбору оптимальных условий хроматографического разделения и определения ЖРВ при совместном присутствии методом ТСХ.

Экспериментальная часть

Разработка методики осуществлялась с использованием достоверных стандартных образцов изучаемых ЖРВ [11 – 14]. Детектирующий реагент выбирали с учетом таких требований как специфичность, высокая чувствительность, доступность и высокое качество получаемой картины. Для обнаружения хроматографических зон были использованы реагенты, представленные в табл. 1 (ФМК – фосфорномолибденовая кислота).

В описанных в табл. 2 элюентах осуществляли хроматографирование стандартных растворов эргокальциферола (витамина D₂, ФСП 42-0008018000), ретинола ацетата (витамина А, ФС 42-7811-97), токоферола ацетата (витамина Е, НД 42-7843-97) и β-каротина (ВФС 42-3128-98) [11 – 14]. Пробы на пластинки наносили с помощью микрошприцев объемом 1 и 10 мкл (МШ – 1 и 10, Россия). Для приготовления элюентов и детектирующих реагентов использовали растворители и реактивы марки х.ч. и ч.д.а. (ЗАО "Вектон", Россия, Санкт-Петербург).

Для выбора оптимальных условий хроматографического разделения эргокальциферола, β-каротина, ацетатов ретинола и токоферола требовалось изучить влияние полярности элюентов на хроматографическую подвижность витаминов в тонком слое. В эксперименте изучено более 10 типов элюирующих систем с различными значениями полярности (табл. 2). Ис-

Детектирующие реагенты для определения ЖРВ методом ТСХ

№ п/п	Реагент	Витамин А	Витамин Е	Витамин D ₂	β-каротин
1	Концентрированная азотная кислота	–	Оранжево-красные зоны на белом фоне	–	–
2	Хлорид сурьмы(III)	Быстро исчезающее синее окрашивание	–	Розовые зоны на белом фоне	Быстро исчезающее синее окрашивание
3	Концентрированная хлорная кислота	–	–	Оранжево-коричневые зоны на белом фоне	–
4	Концентрированная серная кислота	Темно-фиолетовые зоны на белом фоне	–	–	Быстро исчезающее синее окрашивание
5	5 % спиртовый раствор ФМК	Темно-синие зоны на желто-зеленом фоне			–
6	Видимый свет	–	–	–	Желто-оранжевые зоны на белом фоне

следовали элюенты, предложенные в литературе [1, 2, 15, 16], а также апробированы новые хроматографические системы. Для каждой элюирующей системы рассчитаны полярность (P'), а также такие хроматографические параметры витаминов, как относительная скорость перемещения в слое сорбента (величина R_f), коэффициент распределения (K) и показатель селективности сорбции (L).

Установлены следующие оптимальные условия хроматографического разделения модельной смеси стандартных образцов препаратов с применением ступенчатого элюирования: силикагелевые пластинки марки “Sorbfil” ПТСХ-II-A (Россия, Краснодар) размером 5 × 10 см; время насыщения камеры парами элюентов 1 и 2 – 20 мин; оптимальный объем пробы – 10 мкл спиртового раствора β-каротина с содержанием 1 мг/мл, по 0,5 мкл спиртовых растворов витаминов А, Е и D₂ с содержанием 1, 10 и 0,035 мг/мл соответственно; элюент 1 – гексан : хлороформ (19:1), высота пробега 8 см с высушиванием пластины на воздухе при комнатной температуре до улетучивания паров растворителей; элюент 2 – гексан : хлороформ (3:1), высота пробега 6 см; общее время элюирования 55 мин; β-каротин идентифицируют по характерному окрашиванию в видимом свете, обнаруживающий реа-

гент для витаминов – 5 % спиртовый раствор ФМК; время выдерживания пластинки в термостате после проявления при $t \geq 80$ °С – 3 – 5 мин.

Разработанная методика была апробирована на комплексных поливитаминных препаратах “Аевит” (ООО “Люми”, Россия, Екатеринбург; капсулы по 0,2 г в блистерах № 10), “Аекол” (ЗАО “Алтайвитамины”, Россия, Бийск; флаконы по 100 мл) и РМ плодов облепихи (ЗАО “Алтайвитамины”, Россия, Бийск; флаконы по 50 мл). Выделение ЖРВ из препаратов осуществляли методом реперколяции. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 96 %, не смешивающийся с масляной фазой и обладающий хорошей растворяющей способностью для ЖРВ.

Определение в препарате “Аекол”. Навеску препарата “Аекол” [17] 900 мг делят на 3 равные части по 300 мг. Первую порцию обрабатывают чистым экстрагентом – 96 % этанолом в количестве 10 мл. Смесь энергично встряхивают в течение 5 мин, добиваясь тонкого эмульгирования масляной фазы в этаноле, а затем оставляют на 1 сут в прохладном, защищенном от света месте в плотно закупоренном виде. Спиртовый экстракт отделяют от масляной фазы с помощью делительной воронки. Каждую последующую порцию ис-

Таблица 2

Значения величин R_f стандартных образцов ЖРВ А, Е, D₂ и β-каротина

Система	Состав элюента	P'	Величина R_f			
			ретинола ацетат	токоферола ацетат	эргокальциферол	β-каротин
1	Гексан	0	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,025 ± 0,01	0,19 ± 0,01
2	Гексан – бензол (29:1)	0,15	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,38 ± 0,01
3	Гексан – бензол (19:1)	0,22	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,57 ± 0,01
4	Гексан – бензол (14:1)	0,29	0,01 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,69 ± 0,01
5	Гексан – хлороформ (19:1)	0,22	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,78 ± 0,02
6	Гексан – хлороформ (10:1)	0,40	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,91 ± 0,01
7	Гексан – хлороформ (5:1)	0,73	0,13 ± 0,02	0,46 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,98 ± 0,01
8	Гексан – хлороформ (4:1)	0,88	0,24 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,35 ± 0,02	0,98 ± 0,01
9	Гексан – хлороформ (3:1)	1,10	0,36 ± 0,02	0,76 ± 0,02	0,67 ± 0,02	0,98 ± 0,01
10	Гексан – хлороформ (2:1)	1,47	0,85 ± 0,02	0,92 ± 0,02	0,85 ± 0,02	0,98 ± 0,01
11	Гексан – хлороформ (1:1)	2,20	0,92 ± 0,02	0,95 ± 0,02	0,93 ± 0,02	0,98 ± 0,01
12	Хлороформ	4,40	0,95 ± 0,02	0,98 ± 0,02	0,99 ± 0,01	0,99 ± 0,01

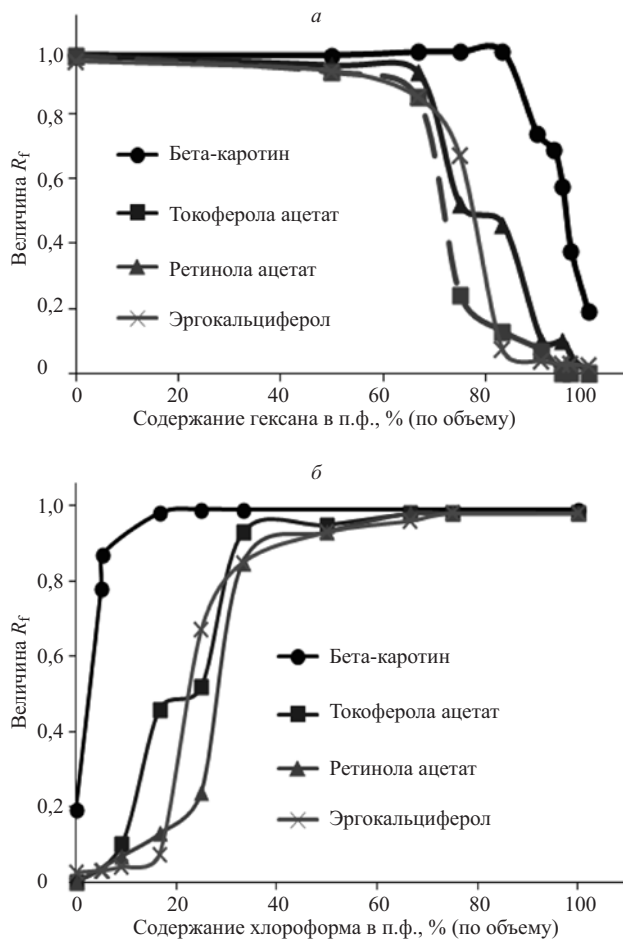


Рис. 1. Зависимость относительной скорости перемещения ЖРВ от содержания: *a* – гексана в подвижной фазе (неподвижная фаза – силикагель); *б* – хлороформа в подвижной фазе (неподвижная фаза – силикагель).

пытуемого препарата экстрагируют вытяжкой, полученной из предыдущей.

Определение в препарате “Аевит”. Содержимое 1 капсулы препарата “Аевит” [18] обрабатывают чистым экстрагентом – 96 % этанолом в количестве 10 мл. Смесь энергично встряхивают в течение 5 мин, добиваясь тонкого эмульгирования масляной фазы в этаноле, а затем оставляют на 1 сут в прохладном, защищенном от света месте в плотно укупоренном виде. Спиртовый экстракт отделяют от масляной фазы с помощью делительной воронки. Содержимое второй и третьей капсул препарата экстрагируют вытяжкой, полученной из предыдущей.

Определение в облепиховом масле. Навеску облепихового масла [19] массой 1,2 г делят на 3 равные части по 400 мг. Первую порцию масла обрабатывают чистым экстрагентом – 96 % этанолом в количестве 10 мл. Смесь энергично встряхивают в течение 5 мин, добиваясь тонкого эмульгирования масла в этаноле, а затем оставляют на 1 сут в прохладном, защищенном от света месте в плотно укупоренном виде. Спиртовый экстракт отделяют от масляной фазы с помощью делительной воронки. Каждую последующую порцию испытуемого препарата экстрагируют вытяжкой, полученной из предыдущей.

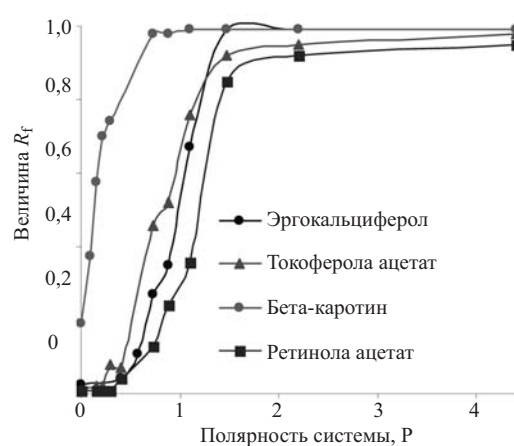


Рис. 2. Вид зависимости величины R_f токоферола ацетата, ретинола ацетата, эргокальциферола и β -каротина от полярности элюента.

Результаты и их обсуждение

Из данных табл. 1 видно, что ни один детектирующий реагент не может быть использован для одновременного проявления исследуемых ЖРВ. Пластинки после хроматографирования следует просматривать в видимом свете, а затем обрабатывать 5 % спиртовым раствором ФМК.

При варьировании соотношения гексана и хлороформа в двухкомпонентной подвижной фазе (гексан – хлороформ) были получены кривые зависимости величины R_f от процентного содержания каждого компонента в элюенте (рис. 1). Полученные зависимости позволили установить, что для достижения оптимальной величины R_f [20] содержание гексана и хлороформа в системе должно быть в определенном соотношении по объему (70 – 80/20 – 30 для витамина А; 75 – 85/15 – 25 для витамина Е; 75 – 77/23 – 25 для витамина D_2 и 94 – 96,7/3,3 – 6 для β -каротина).

По полученным данным была построена кривая зависимости величины относительной подвижности ЖРВ (рис. 2) от полярности системы (P') в интервале от 0 до 4,4 единиц. Как видно из данных табл. 2 и рис. 2, для достижения оптимальных величин R_f β -каротина необходимо использовать элюенты с малыми значениями полярности (от 0,15 до 0,30 единиц) [21]. Тогда как витамины А, Е и D_2 при таких значениях полярности прочно удерживаются сорбентом, оставаясь на линии старта. Для них оптимальные величины R_f достигаются в системах 6 – 8 (табл. 2), когда поляр-

Таблица 3
Пределы определения исследуемых ЖРВ

№п/п	ЖРВ	ПО, г
1	Витамин А	10^{-8}
2	Витамин Е	10^{-6}
3	Витамин D_2	$7 \cdot 10^{-9}$
4	β -каротин	10^{-5}

Результаты определения специфичности методики

Значение R_f стандартных образцов ЖРВ				Значение $R_{f(\text{масло - плацебо})}$
А	Е	D ₂	β-каротин	
0,36 ± 0,001	0,76 ± 0,001	0,69 ± 0,020	0,98 ± 0,010	0,01 ± 0,001
				0,04 ± 0,010
				0,1 ± 0,010
				0,15 ± 0,020
				0,64 ± 0,030

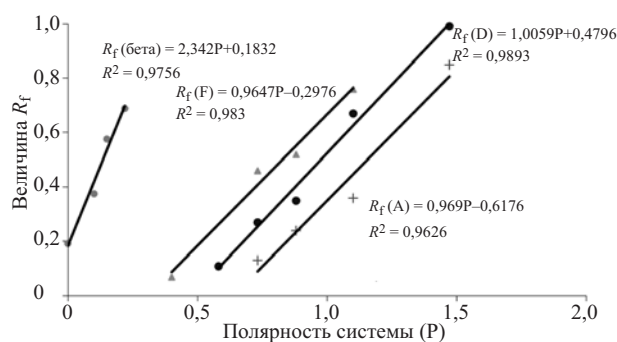


Рис. 3. Линейные зависимости величины R_f ЖРВ от значения полярности элюента.



Рис. 4. Вид хроматограммы 3 мкл спиртового раствора препарата "Аекол" при ступенчатом хроматографировании (система 1 – гексан – хлороформ (19:1), пробег 8 см; система 2 – гексан – хлороформ (3:1), пробег 6 см).

ность подвижной фазы находится в интервале 0,73 – 1,10. Это означает, что за 1 процедуру хроматографирования разделить данные витамины и добиться высокой эффективности разделения не представляется возможным. Однако данную задачу возможно решить при использовании ступенчатого элюирования. Более детальное изучение влияния полярности системы на величину R_f для каждого ЖРВ позволило выбрать интервал значений P' элюента, в котором данные зависимости приобретают линейный характер (от 0 до 0,2 единиц полярности системы для β-каротина; от 0,4 до 1,1 единиц для витамина Е; от 0,58 до 1,47 единиц для эргокальциферола и от 0,7 до 1,5 единиц для витамина А) (рис. 3).

С помощью предложенных зависимостей можно подбирать различные системы для разделения изучаемых ЖРВ в тонком слое сорбента при совместном присутствии таким образом, чтобы величина R_f укладывалась в оптимальные значения. Следовательно, исходя из уравнений прямых (рис. 3), интервал полярностей элюента может варьировать в достаточно узком диапазоне от 0,05 до 0,168 единиц (для β-каротина); от 0,62 до 0,93 единиц (для витамина Е); от 0,76 до 1,07

единиц (для эргокальциферола) и от 0,95 до 1,26 единиц (для витамина А).

Проведена валидация разработанной методики по показателям: предел обнаружения (ПО), специфичность, эффективность и повторяемость.

Чувствительность методики устанавливали по величине обнаруживаемого минимума вещества в пятне, который визуально проявляется после детектирования. Пределы обнаружения исследуемых ЖРВ с помощью выбранных реагентов представлены в табл. 3. Выбранные способы детекции зон на хроматограммах отличаются достаточной чувствительностью, что сопоставимо с методом ВЭЖХ, а также экономически доступны.



Рис. 5. Вид хроматограммы 5 мкл спиртовой вытяжки из масла плодов облепихи при ступенчатом хроматографировании.

Таблица 5

Результаты расчета эффективности пластин в методике

№ п/п	ЖРВ	H , мкм	N
1	Витамин А	50	1200
2	Витамин Е	93	645,16
3	Витамин D ₂	55	1090,91
4	β-Каротин	138	601,45

Параметры хроматографического разделения ЖРВ в препарате “Аекол”

№ п/п	Параметр хроматографического разделения	А	Е	β-Каротин
1	Величина R_f	$0,33 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,02$	$0,78 \pm 0,02$
2	Коэффициент распределения (К)	2,03	0,39	0,28
3	Селективность сорбции (L)	5,21		1,40

Таблица 8

Параметры хроматографического разделения витаминов А и Е в препарате “Аевит”

№ п/п	Параметр хроматографического разделения	А	Е
1	Величина R_f	$0,36 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,02$
2	Коэффициент распределения (К)	1,79	0,29
3	Селективность сорбции (L)	6,17	



1 2

Рис. 6. Вид хроматограммы раствора препарата “Аевит” в этаноле (точка 1 – 0,5 мкл) и смеси стандартных образцов (0,5 мкл) ретинола ацетата и (0,5 мкл) токоферола ацетата (точка 2) в системе гексан – хлороформ (3:1).

Специфичность определяли по величине R_f пятна контрольного трека, которое должно соответствовать R_f пятен стандартных образцов. Для определения специфичности также проводился эксперимент с плацебо (рафинированное соевое масло, часто используемое в качестве растворителя при производстве масляных препаратов ЖРВ). Спиртовые растворы данного вида масла хроматографировали в системе гексан – хлороформ (3:1) параллельно со стандартными образцами ЖРВ. Обнаружено 5 хроматографических зон с величинами R_f , равными ($0,01 \pm 0,001$); ($0,04 \pm 0,01$); ($0,1 \pm 0,02$); ($0,15 \pm 0,02$) и ($0,64 \pm 0,03$). Результаты представлены в табл. 4. Данные табл. 4 свидетельствуют о соответствии разработанной методики критерию приемлемости. На хроматограмме плацебо отсутствуют пятна на уровне зон стандартных образцов.

Эффективность пластинки определяли по числу теоретических тарелок зон стандартных образцов (табл. 5). Данный показатель соответствует допустимому критерию приемлемости (не менее 500).

Полученную суммарную вытяжку из препарата “Аекол” в количестве 3 мкл хроматографировали в системе 1 (пробег 8 см), а затем в системе 2 (пробег 6 см). Следует отметить, что при хроматографировании смеси ЖРВ, выделенной из масляных фаз препаратов (“Аекол” и “Облепиховое масло”), зоны индивидуальных веществ на хроматограммах располагались

несколько ниже (табл. 6 и 7 и рис. 4 и 5), чем при элюировании чистых стандартных образцов (табл. 2), что может быть связано с возможным взаимодействием ЖРВ и β-каротина между собой в сложной смеси. Это, по-видимому, приводит к некоторому отставанию веществ при перемещении в тонком слое сорбента. Вид хроматограммы представлен на рис. 4. Параметры хроматографического разделения ЖРВ и β-каротина в препарате “Аекол” приведены в табл. 6.

Полученную суммарную вытяжку из препарата “Аевит” в количестве 0,5 мкл наносили на стартовую линию хроматографической пластинки и хроматографировали в системе 2 (пробег 8 см), так как препарат не содержит β-каротина. Вид хроматограммы раствора “Аевит” и смеси стандартных образцов ретинола ацетата и токоферола ацетата представлен на рис. 6. Параметры хроматографического разделения ЖРВ в препарате “Аевит” приведены в табл. 8.

Таблица 9

Результаты определения повторяемости методики

Образец	Значение R_f						
	стандартных образцов ЖРВ				ЖРВ в лекарственных формах		
	А	Е	D ₂	β-каротин	аевит	аекол	масло облепихи
1	0,36	0,76	0,64	0,78	0,36	0,33	0,61
2	0,35	0,77	0,67	0,79	0,76	0,72	0,76
3	0,37	0,75	0,68	0,77		0,78	0,78
RSD, %	4,29	3,03	4,86	0,906	–	–	–
ε _{ср.} , %	5,33	3,44	7,73	1,12			

Таблица 7
Параметры хроматографического разделения ЖРВ в облепиховом масле

№ п/п	Параметр хроматографического разделения	D ₂	Е	β-Каротин
1	Величина R_f	$0,61 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,02$	$0,78 \pm 0,02$
2	Коэффициент распределения (К)	2,57	0,39	0,28
3	Селективность сорбции (L)	5,59		1,40

Полученную суммарную вытяжку из РМ в количестве 5 мкл наносили на стартовую линию хроматографической пластинки и хроматографировали в системе 1 (пробег 8 см), а затем в системе 2 (пробег 6 см). Вид хроматограммы спиртовой вытяжки из масла плодов облепихи при ступенчатом хроматографировании представлен на рис. 5. Параметры хроматографического разделения ЖРВ и β -каротина в облепиховом масле приведены в табл. 7.

Полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительном разделении хроматографических зон ЖРВ на хроматограммах (так как критерием эффективного разделения является величина $L > 1$) и правомерности использования данной методики.

Для определения повторяемости полный метод разделения и идентификации ЖРВ был выполнен трижды для образцов готовых продуктов. Результаты представлены в табл. 9.

В испытании были получены пятна с примерно одинаковыми интенсивностями и значениями R_f . Вычисленные значения RSD не превышают критериев приемлемости – 5 %, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Таким образом, разработана методика определения и разделения ЖРВ при совместном присутствии методом ступенчатого элюирования в тонком слое сорбента, которая может быть использована в контроле качества комплексных поливитаминных препаратов, лекарственного растительного сырья, а также РМ, масляных экстрактов и биологически активных добавок на их основе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. А. Мелентьева, *Фармацевтическая химия некоторых природных веществ с сильным биологическим действием*,

Изд-во мед. института им. И. М. Сеченова, Москва (1984), сс. 48 – 56.

2. *Экспериментальная витаминология*, Ю. М. Островский (ред.), Наука и техника, Минск (1979), сс. 80 – 129.
3. Э. И. Козлов, И. А. Солунина, М. Л. Любарева, М. А. Надточий, *Хим.-фарм. журн.*, **37**(10), 50 – 53 (2003); *Pharm.-Chem. J.*, **37**(10), (2003).
4. Л. В. Денисова, В. Н. Филимонов, Л. Н. Балятинская, И. Ф. Колосова, *Ж. анал. химии*, **52**(9), 967 – 969 (1997).
5. “Аевит в капсулах”. ФС 42-1699-95.
6. А. И. Лутцева, Л. Г. Маслов, В. И. Середенко, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(10), 41 – 45 (2001); *Pharm.-Chem. J.*, **35**(10), (2001).
7. В. И. Дейнека, Л. А. Дейнека, *Сорбц. и хроматограф. процессы*, **6**(3), 366 – 375 (2006).
8. С. А. Клюев, *Ж. анал. химии*, **51**(9), 961 – 963 (1996).
9. ФС 42-2798-99. Таблетки “Глутамевит”, покрытые оболочкой.
10. ГОСТ 30417-98. “Растительные масла. Методы определения массовых долей витаминов А и Е”.
11. “Эргокальциферол раствор в масле 0,5 %”. ФСП 42 – 0008018000.
12. ВФС 42-3128-98. “Драже бета-каротина 0,0025”.
13. “Раствор ретинола ацетата в масле 33000 МЕ в капсулах”. ФС 42-7811-97.
14. “Витамин Е в капсулах”. НД 42-7843-97.
15. Ю. Кирхнер, *Тонкослойная хроматография*, Мир, Москва (1981), сс. 402 – 407.
16. М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец, *Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии*, Т. 2, Мир, Москва (1980), сс. 610.
17. “Аекол”. ФС 42-3182-95.
18. “Аевит в капсулах”. ФС 42-1699-95.
19. ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей.
20. Ф. Гейсс, *Основы тонкослойной хроматографии*, Мир, Москва (1999).
21. О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров и др., *Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии*, Водолей, Воронеж (2004).

Поступила 27.01.15

SEPARATION AND DETERMINATION OF JOINTLY PRESENT FAT-SOLUBLE VITAMINS A, D₂, E, AND β -CAROTENE BY GRADIENT-ELUTION THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

O. V. Trineeva, E. F. Safonova, and A. I. Slivkin

Voronezh State University, Voronezh, 394036 Russia

A method for the separation and determination of jointly present fat-soluble vitamins by thin layer chromatography (TLC) with stepwise (gradient) elution has been developed. The possibility of a theoretical approach to the selection of optimum conditions for the TLC determination of tocopherol acetate, retinol acetate, ergocalciferol, and beta-carotene is demonstrated. The approach has been validated in terms of the limit of detection, specificity, efficiency, and repeatability. The proposed technique can be used in the quality control of complex multi-vitamin preparations, raw medicinal plant materials, as well as in vegetable oils, oil extracts, and dietary supplements based on these materials.

Keywords: tocopherol acetate, retinol acetate, ergocalciferol, beta-carotene, thin layer chromatography, gradient elution.