

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2024-90-8-20-28>

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕТИНОЛА ПАЛЬМИТАТА И ТОКОФЕРОЛА АЦЕТАТА В ЛИПИДНЫХ МИКРОКАПСУЛАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С УФ-ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

© Елена Александровна Беспалова^{1,2*}, Елена Владимировна Дорожко¹,
Артем Михайлович Гурьев², Мария Михайловна Алексеева¹,
Сергей Владимирович Кривошеев²

¹ Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Россия, 634050, г. Томск, просп. Ленина, д. 30; *e-mail: lena.chursina.1996@mail.ru

² Центр внедрения технологий СибГМУ Минздрава России, Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2, стр. 18.

*Статья поступила 8 февраля 2024 г. Поступила после доработки 2 мая 2024 г.
Принята к публикации 23 мая 2024 г.*

Представлена методика пробоподготовки для определения токоферола ацетата (ТА) и ретинола пальмитата (РП) в липидных микрокапсулах методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием (ВЭЖХ-УФ) в изократическом режиме элюирования. Методика включает растворение микрокапсул при нагревании, охлаждение раствора, центрифугирование, фильтрацию и хроматографирование в выбранных условиях. На основании спектрофотометрических измерений определена оптимальная длина волны детектирования 288 ± 2 нм, позволяющая осуществлять совместное определение РП и ТА. Рассмотрено влияние состава подвижной фазы (ПФ) на хроматографические параметры (время удерживания, площадь пика, разрешение, ширина пика, коэффициент асимметрии пика) для стандартных образцов ТА и РП: наилучшие значения указанных параметров обеспечивает использование подвижной фазы ацетонитрил-изопропиловый спирт-1,2-дихлорэтан в объемном отношении 55:40:5. Предложенная методика позволяет определять ТА в диапазоне содержаний от 0 до 5 % и РП — от 0 до 10 %. Правильность результатов определения жирорастворимых витаминов (ТА и РП) в липидных микрокапсулах подтверждена методом «введено – найдено». Степень извлечения компонентов при использовании предложенной пробоподготовки составила не менее 98,5 % для ТА и не менее 99,6 % для РП. Методика может быть рекомендована для определения жирорастворимых витаминов в лабораториях контроля качества фармацевтических, косметических и пищевых производств.

Ключевые слова: токоферола ацетат; ретинола пальмитат; липидные микрокапсулы; ВЭЖХ-УФ; определение.

DETERMINATION OF RETINOL PALMITATE AND TOCOPHEROL ACETATE IN LIPID MICROCAPSULES BY HPLC/UV

© Elena A. Beshpalova,^{1,2*} Elena V. Dorozhko,¹ Artem M. Guryev,²
Maria M. Alekseeva,¹ Sergey V. Krivoshechekov²

¹ National Research Tomsk Polytechnic University, 30, prosp. Lenina, Tomsk, 634050, Russia; *e-mail: lena.chursina.1996@mail.ru

² Technology Implementation Center of the Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, 2-18, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia.

Received February 8, 2024. Revised May 2, 2024. Accepted May 23, 2024.

An original method for the quantitative determination of retinol palmitate (RP) and tocopherol acetate (TA) in lipid microcapsules using reverse-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV) in isocratic elution mode is proposed. The method includes sample preparation of lipid microcapsules, HPLC separation of microcapsule components TA and RP as well as metrological support for the quantitative determination of vitamins. Sample preparation of microcapsules included the following stages: dissolution of microcapsules by heating, cooling of the solution, centrifugation and filtration. The proposed sample preparation procedure provides the extraction degree no less than 98.5% for TA and 99.6% for RP, respectively. Optimal HPLC-UV chromatography conditions for isocratic elution were selected. The optimal wavelength of 288 ± 2 nm determined from spectrophotometric measurements

provides the joint determination of RP and TA. The effect of mobile phase (MP) composition on chromatographic parameters (retention time, peak area, resolution, peak width, peak asymmetry coefficient) for standard TA and RP samples is considered. The best values for these parameters were determined from the peaks obtained when using the mobile phase acetonitrile: isopropyl alcohol: 1,2-dichloroethane (55:40:5). Calibration dependences of the peak areas on the concentration of TA from 0 to 5% and RP from 0 to 10% were constructed; the correlation coefficients were 0.9981 and 0.9976, respectively. The accuracy of the method for the quantitative determination of fat-soluble vitamins (TA and RP) in lipid microcapsules was assessed in spike recovery tests. The method can be recommended for quality control laboratories to determine the quantitative content of fat-soluble vitamins such as retinol palmitate and tocopherol acetate in the pharmaceutical, cosmetic and food industries.

Keywords: tocopherol acetate; retinol palmitate; cosmetic microcapsules; HPLC-UV; determination.

Введение

Жирорастворимые витамины, такие как токоферола ацетат (ТА) и ретинола пальмитат (РП), нашли применение в разных отраслях промышленности в качестве активных ингредиентов. Однако в своем нативном виде ТА и РП нестабильны вследствие воздействия факторов окружающей среды [1]: эффективность продуктов, содержащих в качестве активных ингредиентов ТА и РП, уменьшается после вскрытия упаковки и определенного периода хранения из-за протекания процессов окисления под действием кислорода воздуха [2]. Для решения этой проблемы создана технология микрокапсулирования, позволяющая защитить активные ингредиенты. Как правило, для лучшего распределения жирорастворимых витаминов в матрице микрокапсулы оболочка должна состоять из липидных компонентов. Однако вследствие схожести физико-химических свойств компонентов оболочки и жирорастворимых витаминов возникает проблема определения ТА и РП в подобных микрокапсулах, в первую очередь связанная со сложностью выделения витаминов из липидной матрицы, а также с выбором условий хроматографического разделения определяемых и матричных компонентов. Большинство опубликованных работ по определению ТА и РП посвящено анализу сыворотки крови [3 – 5]. Описаны способы определения ТА и РП в пищевых и кормовых продуктах, а также в лекарственных препаратах методами ВЭЖХ-УФ [6 – 17], тонкослойной хроматографии (ТСХ) [15 – 17, 23], спектрофотометрии [21 – 26]. Оценка содержания витаминов в таких объектах, как липидные микрокапсулы, представляет собой более сложную задачу.

Метод ТСХ характеризуется более низкой чувствительностью и меньшей эффективностью по сравнению с ВЭЖХ. Спектрофотометрическое определение, как правило, не обладает достаточной специфичностью и требует проведения дополнительных операций, например, омыления, в результате которого, помимо ТА и РП, будут выделяться сложные эфиры липидной матрицы. На сегодняшний день ВЭЖХ-УФ является одним

из самых эффективных методов определения ТА и РП, позволяющим получать наиболее достоверные результаты [27]. Микроколоночная ВЭЖХ становится все более популярным методом анализа во многих областях, поскольку уменьшение размера частиц сорбента и внутреннего диаметра колонки открывает возможности для повышения эффективности разделения, способствует увеличению разрешения и ускорению анализа [28]. Использование микроколонок позволяет значительно снизить стоимость расходных материалов, уменьшить время анализа в 3 раза, а расход растворителей — в 10 – 20 раз.

Эфиры ретинола, к которым относится РП, лучше разделяются при использовании обращенно-фазовой ВЭЖХ [29], поэтому этот метод в изократическом режиме элюирования является наиболее подходящим для совместного определения ТА и РП в липидных микрокапсулах [30].

В нормативных документах по анализу пищевых продуктов (ГОСТ Р 54950–2012, ГОСТ EN 12822–2014, ГОСТ Р 54634–2011) описано два варианта пробоподготовки. Пробы, содержащие неэтерифицированные токоферолы и ретинолы, готовят прямой экстракцией неполярным растворителем (гексаном) и анализируют методом нормально-фазовой ВЭЖХ-УФ. Пробоподготовку пищевых и кормовых продуктов предлагается проводить по многостадийной схеме, включающей омыление ТА и РП в присутствии щелочи при температуре до 100 °С в течение 40 мин [12, 13, 31]. Такая пробоподготовка приводит к разрушению ТА и РП [31 – 33].

Поскольку наличие гидрогенизированных растительных липидов в составе матрицы микрокапсул затрудняет извлечение жирорастворимых ТА и РП из-за их сродства и хорошей растворимости в матрице капсул готового продукта, актуальной задачей является разработка методики извлечения витаминов из липидных микрокапсул с последующим совместным хроматографическим определением ТА и РП при оптимальных условиях с использованием микроколоночного хроматографа.

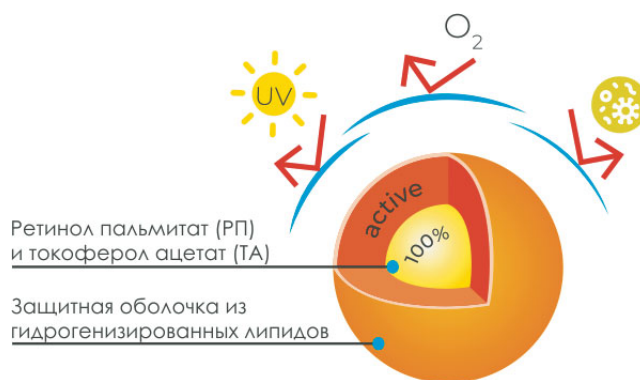


Рис. 1. Липидная микрокапсула в разрезе

Fig. 1. Lipid microcapsule in section

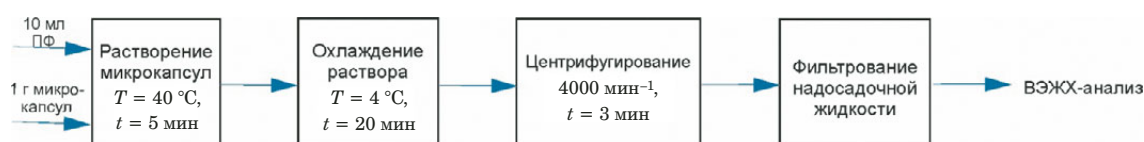


Рис. 2. Блок-схема пробоподготовки липидных микрокапсул

Fig. 2. Flowchart of lipid microcapsule sample preparation

Экспериментальная часть

Оборудование. Для определения ТА и РП в липидных микрокапсулах использовали хроматографическую систему «Миличром А-02» (Россия), оснащенную двухлучевым УФ-детектором и управляемую посредством ПЭВМ с использованием программного обеспечения для сбора и обработки хроматографических данных «Альфа-Хром» (Россия). Колонка 2×75 мм из нержавеющей стали содержала адсорбент ProntoSil-120-5-C18 AQ с размером частиц 5 мкм. В работе использовали аналитические весы «Госметр ВЛ-124» (Россия); центрифугу с адапторами для пробирок (4000 мин^{-1}) и термостат, обеспечивающий поддержание температуры 40 ± 2 °C.

Реактивы. Анализировали стандартные образцы ТА и РП (Sigma Aldrich, США) и технологические ТА и РП, используемые в производстве микрокапсул (BASF, Германия). В работе использовали этиловый спирт и растворители квалификации хч (Экос-1, Россия) — ацетонитрил, изопропиловый спирт, дихлорэтан, дихлорметан. Липидные косметические микрокапсулы для эксперимента (рис. 1) были предоставлены компанией BioBubbles: в соответствии с утвержденной на предприятии рецептурой они содержали активные компоненты — ТА (2,5 %), РП (5 %) — и матрицу микрокапсул (92,5 %) в виде гидрогенизированных липидов, которая препятствует разрушению витаминов под действием внешних факторов (ультрафиолетовое излучение, окис-

ление кислородом воздуха, воздействие микроорганизмов).

Модельные растворы ТА и РП для спектрофотометрических измерений. Для регистрации спектров поглощения в диапазоне 190 – 500 нм готовили модельные растворы ТА в выбранной ПФ (ацетонитрил-ИПС-ДХЭ, 55:40:5) с концентрацией $1,3 \cdot 10^{-3}$ моль/л и РП в ПФ с концентрацией $2,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Технологические растворы ТА и РП для ВЭЖХ-УФ анализа. Для регистрации хроматограмм готовили растворы технологического ТА в выбранной ПФ с концентрацией $5,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л и РП в ПФ с концентрацией $10,1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, что эквивалентно содержанию компонентов в микрокапсулах.

Рабочие растворы экстрагированных микрокапсул для ВЭЖХ-УФ анализа. Образцы готовили согласно схеме, представленной на рис. 2. Навеску микрокапсул массой 1 г растворяли в 10 мл ПФ, содержащей ацетонитрил, изопропиловый спирт и дихлорэтан в объемном соотношении 55:40:5, при 40 °C в течение 5 мин. После этого образцы помещали в холодильник при 4 °C на 20 мин для разделения раствора на две фазы — восковую часть, состоящую из гидрогенизированных липидов оболочки микрокапсул, и жидкую часть, содержащую ПФ и растворенные в ней ТА и РП. Затем образцы центрифугировали 3 мин при скорости 4000 мин^{-1} , надосадочную жидкость трижды фильтровали через шприцевой

Таблица 1. Методы пробоподготовки липидных микрокапсул для определения ТА и РП**Table 1.** Methods for sample preparation of lipid microcapsules for determination of TA and RP

Наименование	Суть метода	Степень извлечения, %
Омыление с дальнейшей экстракцией	Навеску микрокапсул (1 г) помещали в колбу, добавляли 10 мл воды, нагревали на водяной бане при 60 °С 5 мин. Затем добавляли 25 мл 96 %-ного этанола и 8 мл 50 %-ного КОН и нагревали на водяной бане с обратным холодильником при 60 °С в течение 30 мин. Полученную смесь охлаждали и экстрагировали гексаном несколько раз. Гексановые экстракты промывали водой до нейтрального pH и упаривали на роторном испарителе. Остаток после упаривания растворили в 50 мл ПФ (ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан 55:40:5)	ТА — 86,6 РП — 93,4
Экстракция по Сокслету	Навеску микрокапсул (1 г) измельчали в ступке и помещали в патрон из фильтровальной бумаги, который вносили в экстрактор, соединенный с приемной колбой и холодильником. В колбу добавляли высушенный диэтиловый эфир и нагревали на водяной бане при температуре не более 60 °С. Пары растворителя конденсируются в жидкость, которая каплями стекает в экстрактор. При подъеме уровня эфира с растворенными витаминами он стекает в приемную колбу. Процесс повторяли несколько раз, время экстракции составляет 10 – 12 ч. Далее эфир растворяли в ПФ ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (50:40:10) и пропускали через шприцевой фильтр	ТА — 42,6 РП — 59,5
Настаивание с растворителем	Навеску микрокапсул (1 г) вносили в колбу и добавляли 10 мл указанной ПФ, закрывали колбу корковой пробкой и взбалтывали. Затем содержимое колбы фильтровали сначала через бумажный, а затем — через шприцевой фильтр	ТА — 67,7 РП — 77,9
Экстракция с нагреванием и последующим охлаждением	Навеску микрокапсул (1 г) растворяли в 10 мл указанной ПФ при 40 °С в течение 5 мин. Затем образцы помещали в холодильник при 4° С на 20 мин, после чего центрифугировали 3 мин при скорости 4000 мин ⁻¹ . Надосадочную жидкость фильтровали через шприцевой фильтр	ТА — 98,5 РП — 99,0

фильтр Econofltr PVDF диаметром 25 мм с размером пор 0,45 мкм 5190-5264 Agilent, объем вводимой пробы составлял 2 мкл.

Хроматографический анализ проводили в режиме изократического элюирования при скорости потока 130 мкл/мин. ТА и РП детектировали на длине волны 288 нм.

Построение градуировочной зависимости для определения ТА и РП. Для построения градуировочной зависимости готовили серию растворов сравнения, содержащих 92,5 % компонента микрокапсулы (Witepsol H15), 5 % РП и от 0,5 до 5 % ТА или 2,5 % ТА и от 1 до 10 % РП. Пробоподготовку проводили по описанной схеме.

Обсуждение результатов

Было исследовано четыре различных способа подготовки липидных микрокапсул для последующего совместного определения ТА и РП (табл. 1). Первый и второй способы представляли собой модифицированные варианты известных методик [37, 38], последние два были разработаны в рамках эксперимента.

Проанализировав данные табл. 1, можно сделать вывод, что экстракция с охлаждением является наиболее успешным вариантом пробоподготовки липидных микрокапсул, при котором сте-

пени извлечения ТА и РП максимальны (98,5 и 99,0 % соответственно).

Для выбора длины волны детектирования регистрировали спектры поглощения растворов ТА и РП в подвижной фазе в диапазоне 190 – 500 нм (рис. 3).

Максимум поглощения РП в ПФ определен на длине волны 326 ± 2 нм, ТА — 285 ± 2 нм, для совместного определения витаминов выбрана длина волны 288 ± 2 нм в области перекрытия спектров.

В работе изучено влияние состава ПФ на времена удерживания, площади пиков, разрешение и коэффициент асимметрии пиков стандартных образцов ТА и РП. Результаты представлены в табл. 2.

В каждом варианте ПФ присутствовало около 50 ± 10 % ацетонитрила, изопропиловый спирт как хороший растворитель для жирорастворимых компонентов и галогеналканы (дихлорэтан, дихлорметан) в качестве модификатора ПФ [34 – 37].

Проанализировав данные табл. 2, для дальнейших исследований выбрали ПФ № 3 — ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан в объемном соотношении 55:40:5, так как ее использование обеспечивает наилучшие параметры хроматографического разделения при небольших временах удерж-

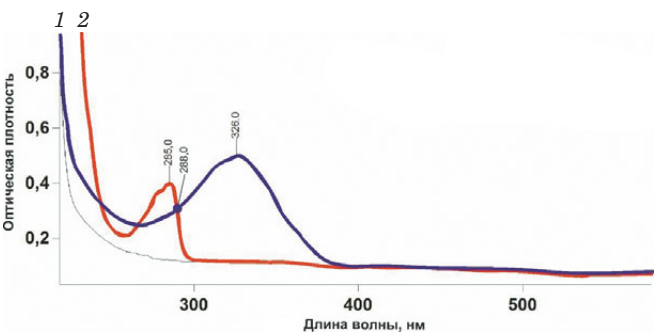


Рис. 3. Спектры поглощения РП ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) (1) и ТА ($1,3 \cdot 10^{-3}$ моль/л) (2), растворенных в ПФ ацетонитрил-изопропиловый спирт-1,2-дихлорэтан (55:40:5)

Fig. 3. Absorption spectra of RP (5×10^{-4} mol/liter) (1) and TA (1.3×10^{-3} mol/liter) (2) dissolved in the mobile phase acetonitrile-isopropyl alcohol-1,2-dichloroethane (55:40:5)

живания (коэффициенты асимметрии пиков ТА и РП — 1,01 и 0,97 соответственно).

Мы исследовали влияние на степень извлечения ТА и РП температуры растворения и време-

ни нагревания микрокапсул (рис. 4). Для анализа брали капсулы с утвержденной на предприятии рецептурой (2,5 % ТА, 5 % РП). Из рис. 4, а можно сделать вывод, что критическое значение температуры составляет 40 °С: с этого момента оболочка микрокапсулы полностью растворяется, при этом степень извлечения остается примерно на том же уровне, что и при 50 °С. Из рис. 4, б видно, что оптимальное время нагревания составляет 5 мин: при меньшем времени выдержки степень извлечения ТА и РП низкая, а при большем времени возрастает риск окисления компонентов смеси.

На рис. 5 представлена хроматограмма технологических компонентов ТА ($5,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) и РП ($9,7 \cdot 10^{-3}$ моль/л), используемых при производстве микрокапсул, полученная при ранее выбранных условиях: ПФ — ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (55:40:5); скорость потока ПФ — 130 мкл/мин, длина волны детектора — 288 ± 2 нм.

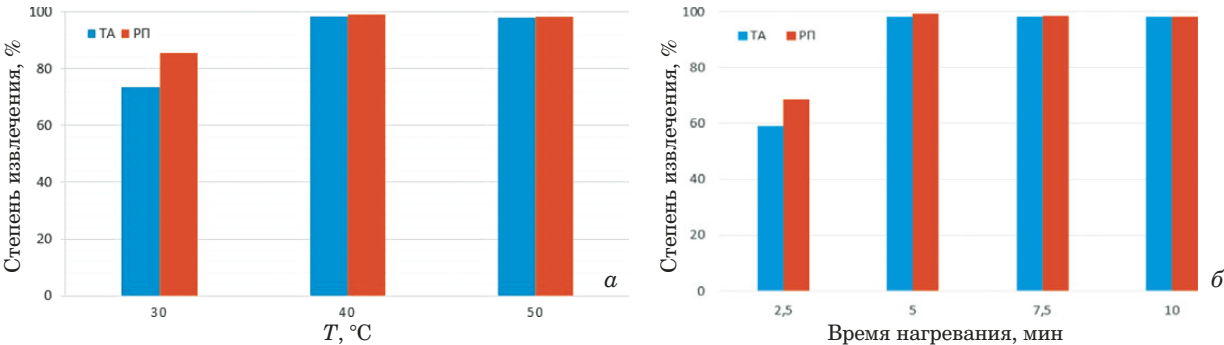


Рис. 4. Диаграммы, описывающие влияние температуры (а) и времени нагревания (б) на степень извлечения ТА и РП

Fig. 4. Diagrams illustrating the effect of temperature (a) and heating time (b) on the degree of extraction of TA and RP

Таблица 2. Хроматографические параметры удерживания стандартных образцов ТА и РП при разном составе ПФ ($\lambda = 288$ нм, $n = 5$)

Table 2. Chromatographic retention parameters of TA and RP standard samples at different PF compositions at a wavelength of 288 nm

Номер ПФ	Состав ПФ	Время удерживания, мин		Ширина пиков		Разрешение пиков, R_s	Площадь пика, мкл* е.о.п.		Коэффициент асимметрии пика	
		ТА	РП	ТА	РП		ТА	РП	ТА	РП
1	Ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (40:55:5)	4	6,38	0,1	0,2	8,43	1,7725	8,3665	0,98	1,33
2	Ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (50:45:5)	3,65	6,29	0,13	0,17	7,34	1,8667	8,4443	0,52	1,45
3	Ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (55:40:5)	3,63	6,37	0,12	0,19	8,75	2,4950	9,9978	1,01	0,97
4	Ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (50:40:10)	3,06	4,79	0,13	0,17	6,97	1,7719	8,3231	0,63	1,29
5	Ацетонитрил-ИПС-1,2-дихлорэтан (40:50:10)	3,32	4,74	0,11	0,14	6,63	1,7339	8,7053	1,00	1,46
6	Ацетонитрил-ИПС-дихлорметан (50:45:5)	3,44	5,66	0,09	0,35	8,65	1,8769	9,1680	0,80	1,14

На рис. 6 представлена хроматограмма микрокапсул после пробоподготовки, проведенной в соответствии с предложенной методикой.

Сравнив времена удерживания сырьевых компонентов на рис. 5 и 6, можно сделать вывод, что пик 3 соответствует ТА, а пик 4 — РП.

Полученные градуировочные зависимости для определения ТА и РП описываются уравнениями $S = 5,3981C$ ($R^2 = 0,9981$) и $S = 29,867C$ ($R^2 = 0,9976$) соответственно.

Для оценки правильности предлагаемой методики совместного определения ТА и РП в микрокапсулах использовали три варианта модельных смесей с различным содержанием ТА и РП в диапазоне от 80 до 120 %. Концентрации компонентов рассчитывали на основе полученных гра-

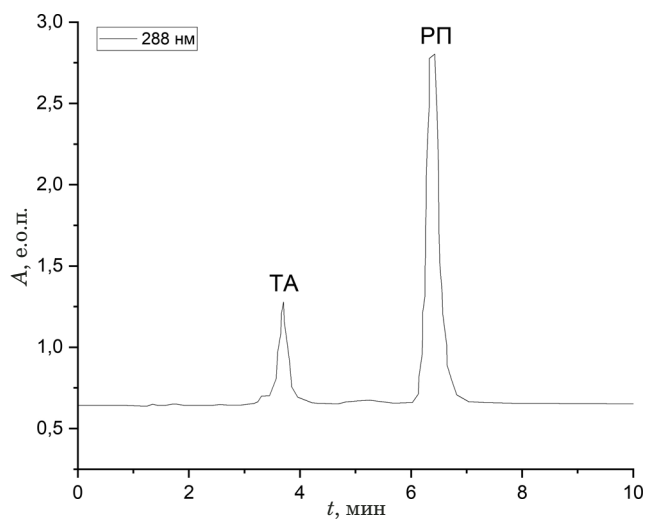


Рис. 5. Хроматограмма смеси технологических ТА ($5,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) и РП ($9,7 \cdot 10^{-3}$ моль/л), входящих в состав микрокапсул, растворенных в ПФ ацетонитрил-ИПС-дихлорэтан (55:40:5) (время удерживания ТА — 3,67 мин, РП — 6,36 мин; площадь пика ТА — 18,8357 мкл · е.о.п., РП — 93,4970 мкл · е.о.п.; разрешение пиков — 8,61)

Fig. 5. Chromatogram of a mixture of technological TA ($5,5 \times 10^{-3}$ mol/liter) and RP ($9,7 \times 10^{-3}$ mol/liter) contained in the composition of microcapsules, dissolved in MP acetonitrile-IPA-dichloroethane (55:40:5) (retention time of TA — 3.67 min, RP — 6.36 min; TA peak area is 18.8357 $\mu\text{l} \cdot \text{e.o.p.}$, RP — 93.4970 $\mu\text{l} \cdot \text{e.o.p.}$; peak resolution — 8.61)

дуировочных характеристик. В табл. 3 приведены результаты определения ТА и РП методом «введено – найдено» в модельных растворах.

Как видно из приведенных в табл. 3 данных, результаты определения ТА и РП методом ВЭЖХ-УФ хорошо воспроизводимы, степень извлечения ТА составляет не менее 98,5 %, РП — не менее 99,6 %.

Заключение

Предложена методика определения ТА и РП в липидных микрокапсулах методом ВЭЖХ-УФ. Рассмотрена эффективность ПФ разного состава при хроматографическом разделении ТА и РП: наилучшие хроматографические параметры разделения обеспечило использование ПФ ацетонитрил-ИПС-ДХЭ в объемном соотношении 55:40:5. Скорость потока ПФ — 130 мкл/мин. Наиболее приемлемым вариантом пробоподготовки по результатам эксперимента была при-

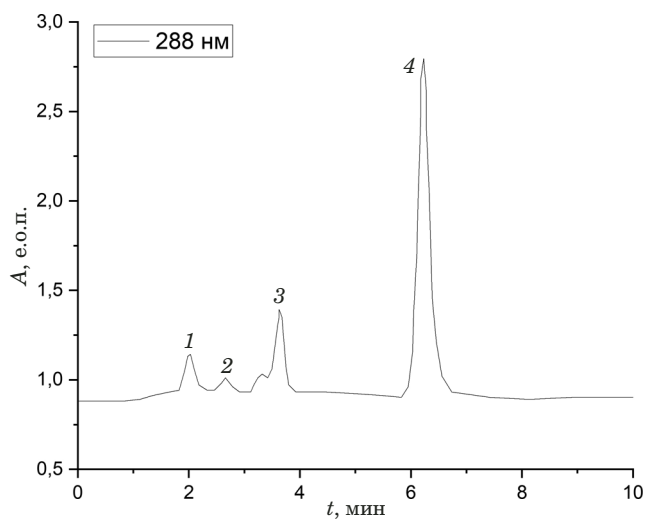


Рис. 6. Хроматограмма микрокапсул, растворенных в выбранной ПФ (время удерживания ТА — 3,60 мин, РП — 6,21 мин; площадь пика ТА — 16,6138 мкл · е.о.п., РП — 86,4248 мкл · е.о.п.; разрешение пиков — 2,36)

Fig. 6. Chromatogram of microcapsules dissolved in MP optimized (retention time of TA — 3.60 min, RP — 6.21 min; TA peak area is 16.6138 $\mu\text{l} \cdot \text{e.o.p.}$, RP — 86.4248 $\mu\text{l} \cdot \text{e.o.p.}$; peak resolution — 2.36)

Таблица 3. Результаты ВЭЖХ-УФ определения ТА и РП в микрокапсулах методом «введено – найдено»

Table 3. Results of HPLC-UV determination of TA and RP in microcapsules by the spike recovery test

Номер раствора	Компонент	Введено, %	Найдено, %	Степень извлечения, %	RSD _x , %
1	ТА	2	1,97 ± 0,09	98,5	0,54
	РП	4	4,0 ± 0,2	100,0	0,35
2	ТА	2,5	2,48 ± 0,12	99,2	0,68
	РП	5	4,98 ± 0,25	99,6	0,57
3	ТА	3	2,97 ± 0,15	99,0	0,51
	РП	6	6,00 ± 0,3	100,0	0,36

знана экстракция ТА и РП смесью полярных растворителей с добавлением небольшого количества дихлорэтана. Рассмотрены спектры поглощения ТА и РП в диапазоне от 190 до 500 нм, выбрана длина волны детектирования 288 нм для совместного определения компонентов. Правильность методики хроматографического определения ТА и РП в микрокапсулах подтверждена методом «введено – найдено».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Центра внедрения технологий СибГМУ на базе кафедры ИШПР Национального исследовательского Томского политехнического университета.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Figueiredo J. A., Silva C. R. P., Souza Oliveira M. F., et al.** Microencapsulation by spray chilling in the food industry: Opportunities, challenges, and innovations / *Trends Food Sci. Technol.* 2022. Vol. 120. P. 274 – 287. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.12.026
2. **Dhakal S. P., He J.** Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review / *Food Res. Int.* 2020. Vol. 16. P. 137 – 180. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109326
3. **Jadoon S., Waseem A., Yaqoob M., Nabi A.** Flow injection spectrophotometric determination of vitamin E in pharmaceuticals, milk powder and blood serum using potassium ferricyanide — Fe (III) detection system / *Chinese Chem. Lett.* 2010. Vol. 21. N 6. P. 712 – 715. DOI: 10.1016/j.ccl.2009.11.013
4. **Qi F. F., Tao L. M., Dai Y. M., et al.** Optimization and application of high-throughput supported liquid extraction for simultaneous determination of carotenoids and fat-soluble vitamins in serum / *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2021. Vol. 1173. 122672. DOI: 10.1016/j.jchromb.2021.122672
5. **Khan A., Khan M. I., Iqbal Z., et al.** An optimized and validated RP-HPLC/UV detection method for simultaneous determination of all-trans-Retinol (Vitamin A) and α -Tocopherol (Vitamin E) in human serum: Comparison of different particulate reversed-phase HPLC columns / *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2010. Vol. 878. N 25. P. 2339 – 2347. DOI: 10.1016/j.jchromb.2010.07.009
6. **Craft N. E., Furr H. C.** Chapter 2 — Methods for assessment of Vitamin A (Retinoids) and carotenoids / *Laboratory Assessment of Vitamin Status* / D. Harrington, Ed. — Elsevier Inc., 2019. P. 21 – 47. DOI: 10.1016/B978-0-12-813050-6.00002-4
7. **de la Cruz Quiroz R., Chotyakul N., Saraiva J. A., et al.** Retention of Ascorbic Acid, Retinol, β -Carotene, and α -Tocopherol in Milk Subjected to Pressure-Assisted Thermal Processing (PATP) / *Food Eng. Rev.* 2020. Vol. 13. P. 634 – 641. DOI: 10.1007/s12393-020-09242-z
8. ГОСТ Р 54635–2011. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина А. — М.: Стандартинформ, 2013. — 15 с.
9. ОФС.1.2.3.0017.15. Методы количественного определения витаминов / Государственная фармакопея РФ XIV издания.
10. **Temova Rakusa Z., Srećnik E., Roskar R.** Novel HPLC-UV method for simultaneous determination of fat-soluble vitamins and coenzyme Q10 in medicines and supplements / *Acta Chim. Slov.* 2017. Vol. 64. P. 523 – 529. DOI: 10.17344/acsi.2016.2856
11. ГОСТ 32043–2012. Премиксы. Методы определения витаминов А, D, Е. — М.: Стандартинформ, 2012. — 16 с.
12. ГОСТ Р 54950–2012 (ИСО 14565:2000). Корма для животных. Определение содержания витамина А методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. — М.: Стандартинформ, 2012. — 15 с.
13. ГОСТ EN 12822–2014. Продукты пищевые. Определение содержания витамина Е (альфа-, бета-, гамма- и дельта-токоферолов) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. — М.: Стандартинформ, 2014. — 25 с.
14. ГОСТ Р 54949–2012 (ИСО 6867:2000). Корма для животных. Определение содержания витамина Е методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. — М.: Стандартинформ, 2012. — 11 с.
15. **Тимофеев Н. П.** Содержание витаминов в листьях левзеи сафлоровидной (на фоне экдистероидов) / Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. Т. 3. — М.: ВНИИССОК, 2017. С. 72 – 74.
16. **Востоков В. М., Карташев В. Р.** Хроматографический контроль биохимической активности жирорастворимых витаминов (А, D, Е) в пищевой и кормовой продукции / *Изв. вузов. Серия: Химия и химическая технология.* 2006. Т. 49. № 4. С. 115 – 118.
17. **Белозерцева Е. А., Финкельштейн Е. И., Еремин С. В., Швец В. И.** Новый подход к ВЭЖХ-анализу жидких витаминсодержащих лекарственных форм / *Вестн. МИТХТ им. М. В. Ломоносова.* 2012. Т. 7. № 2. С. 58 – 64.
18. **Самусева К. Р.** Контроль содержания жирорастворимых витаминов в косметических кремах / Тезисы докладов VIII Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов «Молодость. Интеллект. Инициатива». Витебск, 2020. С. 97 – 98.
19. **Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И.** Определение витаминов А и Е в тонком слое при совместном присутствии / *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2015. Т. 3. С. 129 – 134.
20. **Романов О. Е., Будинов С. В., Штыков С. Н.** Тонкослойная хроматография витаминов А и Е на силикагеле / Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. № 4. С. 563 – 571.
21. Государственная фармакопея СССР. XI издание. — М.: Медицина, 1987. — 324 с.
22. **Фадеекина И. Н., Пеункова Е. С., Зуев Б. К.** Определение витамина Е (ацетата α -токоферола) на поверхности кожи человека методом ИК-Фурье спектроскопии и изучение некоторых аспектов его трансдермального переноса / *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. № 2. С. 130 – 134. DOI: 10.31857/S0044450221020080
23. **Финкельштейн Е. И., Рудакова И. П., Самылина И. А.** Методы количественного определения витаминов в лекарственных формах / *Фармация.* 2007. Т. 4. С. 45 – 48.
24. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. — М.: Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств, 2018. — 704 с.
25. **Михеева Е. В., Анисимова Л. С.** Физико-химические методы определения витамина Е в различных объектах (обзор) / *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* 2005. Т. 71. № 2. С. 3 – 9.
26. **Кульнева Ю. Ю.** Оптимизация определения жирорастворимых витаминов / Материалы VI (63-й) ежегодной научно-практической конференции «Университетская наука — региону» Северо-Кавказского федерального университета. — Ставрополь, 2018. С. 383 – 387.
27. **Kazakevich Y. V., LoBrutto R., Eds.** HPLC for Pharmaceutical Scientists. — John Wiley & Sons Inc., 2007. — 1104 p. DOI: 10.1002/0470087951
28. **Gogal'ová Z., Kahle V., Šesták J.** An improved design of the fused silica capillary flow cell for absorbance detection in micro-column liquid chromatography / *Anal. Chim. Acta.* 2023. Vol. 1238. 340637. DOI: 10.1016/j.aca.2022.340637

29. Алексеева А. С., Шемерянкина Т. Б., Лякина М. Н. и др. Анализ витамина А в поливитаминных препаратах / Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2021. Т. 11. № 3. С. 174 – 184. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-174-184
30. Костарной А. В., Голубицкий Г. Б., Басова Е. М. и др. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа многокомпонентных лекарственных препаратов / Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 6. С. 566 – 580.
31. ГОСТ Р 54634–2011. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина Е. — М.: Стандартинформ, 2013. — 15 с.
32. Rimkus G. G., Schubert M., Morgan D., Jungjohann S. Rapid direct analysis of retinyl palmitate (vitamin A) in fortified vegetable oils by HPLC-FLD / Food Addit. Contam.: Part A. 2022. Vol. 39. N 1. P. 24 – 34. DOI: 10.1080/19440049.2021.1977854
33. Воронцова О. С., Маркова К. В. Способ определения витамина А (ретинола) в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Сб. науч. трудов Международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда». — Минск, 2016. С. 227 – 229.
34. Воробьева О. А. Особенности пробоподготовки при проведении ОФ-ВЭЖХ анализа токолов в масле семян тыквы / Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты. 2016. Т. 24. С. 147 – 151.
35. Рудаков О. Б., Хорохордина Е. А., Рудакова Л. В., Грошев Е. Н. Ацетонитрил-уникальный растворитель для жидкостной хроматографии и экстракции / Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2015. Т. 3. С. 41 – 46.
36. Садек П. Растворители для ВЭЖХ. — М.: Бином. Лаборатория знаний, 2006. — 704 с.
37. Филимонов В. Н., Замуруев О. В. Многопараметрическая оптимизация состава трехкомпонентной подвижной фазы для хроматографического разделения смеси жирорастворимых витаминов методом нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии / Журн. физ. химии. 2001. Т. 75. № 12. С. 2226 – 2232.
7. de la Cruz Quiroz R., Chotyakul N., Saraiva J. A., et al. Retention of Ascorbic Acid, Retinol, β -Carotene, and α -Tocopherol in Milk Subjected to Pressure-Assisted Thermal Processing (PATP) / Food Eng. Rev. 2020. Vol. 13. P. 634 – 641. DOI: 10.1007/s12393-020-09242-z
8. State Standard GOST R 54635–2011. Functional food products. Method for determining vitamin A. — Moscow: Standartinform, 2013. — 15 p. [in Russian].
9. OFS.1.2.3.0017.15. Methods for the quantitative determination of vitamins / State Pharmacopoeia of Russian Federation XIV Edition [in Russian].
10. Temova Rakusa Z., Srecnik E., Roskar R. Novel HPLC-UV method for simultaneous determination of fat-soluble vitamins and coenzyme Q10 in medicines and supplements / Acta Chim. Slov. 2017. Vol. 64. P. 523 – 529. DOI: 10.17344/acsi.2016.2856
11. Interstate Standard GOST 32043–2012. Premixes. Methods for determining vitamins A, D, E. — Moscow: Standartinform, 2012. — 16 p. [in Russian].
12. State Standard GOST R 54950–2012 (ISO 14565:2000) Animal feed. Determination of vitamin A content by high-performance liquid chromatography. — Moscow: Standartinform, 2012. — 15 p. [in Russian].
13. State Standard GOST EN 12822–2014. Food products. Determination of vitamin E content (alpha-, beta-, gamma- and delta-tocopherols) by high-performance liquid chromatography. — Moscow: Standartinform. 2014. — 25 p. [in Russian].
14. GOST R 54949–2012 (ISO 6867:2000). Animal feed. Determination of vitamin E content by high-performance liquid chromatography. — Moscow: Standartinform, 2012. — 11 p. [in Russian].
15. Timofeev N. P. Content of vitamins in leaves of *Leuzea carthamoides* (against ecdysteroids) / New and non-traditional plants and prospects for their use. Vol. 3. — Moscow: VNISSOK, 2017. P. 72 – 74 [in Russian].
16. Vostokov V. M., Kartashev V. R. Chromatographic control of the biochemical activity of fat-soluble vitamins (A, D, E) in food and feed products / Izv. Vuzov. Ser. Khimiya Khim. Tekhnol. 2006. Vol. 49. N 4. P. 115 – 118 [in Russian].
17. Belozertseva E. A., Finkelshtein E. I., Eremin S. V., Shvets V. I. A new approach to HPLC analysis of liquid vitamin-containing dosage forms / Vestn. MITKhT im. M. V. Lomonosova. 2012. Vol. 7. N 2. P. 58 – 64 [in Russian].
18. Samuseva K. R. Control of the content of fat-soluble vitamins in cosmetic creams / Proc. of VIII Int. Scientific-practical Conference “Youth. Intelligence. Initiative”. Vitebsk, 2020. P. 97 – 98 [in Russian].
19. Trineeva O. V., Safonova E. F., Slivkin A. I. Determination of vitamins A and E in a thin layer when present together / Vestn. VGU. Ser. Khim. Biol. Farm. 2015. Vol. 3. P. 129 – 134 [in Russian].
20. Romanov O. E., Budinov S. V., Shtykov S. N. Thin layer chromatography of vitamins A and E on silica gel / Sorb. Khromatogr. Prots. 2014. Vol. 14. N 4. P. 563 – 571 [in Russian].
21. State Pharmacopoeia of the USSR. XI edition. — Moscow: Meditsyna, 1987. — 324 p. [in Russian].
22. Fadeikina I. N., Peunkova E. S., Zuev B. K. Determination of vitamin E (α -tocopherol acetate) on the surface of human skin by IR Fourier-transform spectrometry and study of some aspects of its transdermal transfer / J. Anal. Chem. 2021. Vol. 76. N 2. P. 191 – 195 [in Russian]. DOI: 10.1134/S1061934821020088
23. Finkelshtein E. I., Rudakova I. P., Samylina I. A. Methods for the quantitative determination of vitamins in dosage forms / Farmatsiya. 2007. Vol. 4. P. 45 – 48 [in Russian].
24. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. — Moscow, 2018. — 704 p. [in Russian].
25. Mikheeva E. V., Anisimova L. S. Physicochemical methods for determining vitamin E in various objects (review) / Industr. Lab. Mater. Diagn. 2005. Vol. 71. N 2. P. 3 – 9 [in Russian].
26. Kulneva Yu. Yu. Optimization of determination of fat-soluble vitamins / Proc. of VI (63rd) Annual Scientific and Practical Conference “University science for the region” of the North Caucasus Federal University. — Stavropol, 2018. P. 383 – 387 [in Russian].

REFERENCES

27. **Kazakevich Y. V., LoBrutto R., Eds.** HPLC for Pharmaceutical Scientists. — John Wiley & Sons Inc., 2007. — 1104 p. DOI: 10.1002/0470087951
28. **Gogal'ová Z., Kahle V., Šesták J.** An improved design of the fused silica capillary flow cell for absorbance detection in micro-column liquid chromatography / *Anal. Chim. Acta.* 2023. Vol. 1238. 340637. DOI: 10.1016/j.aca.2022.340637
29. **Alekseeva A. S., Shemeryankina T. B., Lyakina M. N., et al.** Analysis of Vitamin A in Multivitamin products / *Vedom. Nauch. Tsentra Ékspert. Sredstv Med. Prim.* 2021. Vol. 11. N 3. P 174 – 184 [in Russian]. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-174-184
30. **Kostarnoi A. V., Golubitskii G. B., Basova E. M., et al.** High-performance liquid chromatography in the analysis of multicomponent / *J. Anal. Chem.* 2008. Vol. 63. N 6. P 516 – 529. DOI: 10.1134/S1061934808060026
31. State Standard GOST R 54634–2011. Functional food products. Method for determining vitamin E. — Moscow: Standartinform, 2013. — 15 p. [in Russian].
32. **Rimkus G. G., Schubert M., Morgan D., Jungjohann S.** Rapid direct analysis of retinyl palmitate (vitamin A) in fortified vegetable oils by HPLC-FLD / *Food Addit. Contam.: Part A.* 2022. Vol. 39. N 1. P 24 – 34. DOI: 10.1080/19440049.2021.1977854
33. **Vorontsova O. S., Markova K. V.** A method for determining vitamin A (retinol) in food products using high-performance liquid chromatography / *Proc. of the International Scientific and Practical Conference “Health and the Environment”.* — Minsk, 2016. P. 227 – 229 [in Russian].
34. **Vorobyova O. A.** Features of sample preparation during RP-HPLC analysis of tocopherols in pumpkin seed oil / *Fund. Prikl. Issl. Probl. Result.* 2016. Vol. 24. P. 147 – 151 [in Russian].
35. **Rudakov O. B., Khorokhordina E. A., Rudakova L. V., Groshev E. N.** Acetonitrile is a unique solvent for liquid chromatography and extraction / *Vestn. VGU. Ser. Khim. Biol. Farm.* 2015. Vol. 3. P. 41 – 46 [in Russian].
36. **Sadek P. C.** The HPLC solvent guide. — NY: Wiley, 1996. — 346 p.
37. **Filimonov V. N., Zamuruev O. V.** Multiparametric optimization of the composition of a three-component mobile phase for separating a mixture of fat-soluble vitamins by normal-phase high-performance liquid chromatography / *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2001. Vol. 75. N 12. P. 2046 – 2052.