

# УСТОЙЧИВОСТЬ ВИТАМИНОВ

## В СВЕЖЕВЫЖАТЫХ СОКАХ

А.Захарова, к.х.н., А.Кравченко, Н.Исупова, к.х.н., И.Гринштейн, к.х.н.,  
ООО "Аналит Продактс"  
za@analit-spb.ru

**С**читается, что свежевыжатые соки очень полезны, поскольку в одном стакане этого продукта содержится значительное количество витаминов, так необходимых нам для нормальной жизнедеятельности [1]. Однако всех волнуют два вопроса. Во-первых, есть ли в овощах и фруктах в зимний период витамины вообще? А во-вторых, насколько быстро разрушаются витамины в соке, как долго можно его хранить без существенной потери качества? Авторы исследовали содержание основных витаминов в февралье в таких популярных соках, как апельсиновый, морковный, соки сельдерея и киви сразу после отжима, а также наблюдали изменение их концентрации в течение 24 часов.

Витаминами (vita - жизнь) называют низкомолекулярные органические соединения, необходимые для нормальной жизнедеятельности организмов и выполняющие каталитические и регуляторные функции [2]. Нарушение процессов обмена и развитие различных патологий (гиповитаминозы) часто связаны с недостаточным поступлением в организм, нарушением транспорта или изменениями синтеза коферментов с их участием. В качестве средства для предотвращения дефицита витаминов в организме популярны фруктовые и овощные свежевыжатые соки [3].

Согласно литературным данным, апельсиновый сок богат витамином С и фолиевой кислотой, обладает иммуноукрепляющими и противоканцерогенными свойствами. Свежий морковный сок содержит витамин А (каротин), витамины группы В, различные минеральные вещества: кальций, магний, медь, натрий, хлор, фосфор, серу и железо и др. В соке киви много витаминов группы В, особенно фолиевой кислоты, которая так необходима беременным женщинам; есть β-каротин, витамины А, Е, РР и С. Содержание последнего в киви так высоко, что взрослому человеку достаточно съесть всего один небольшой плод, чтобы получить его больше дневной нормы. В лимонах вита-

мина С гораздо меньше [4]. Сок сельдерея богат витаминами А, К, С и β-каротином, содержит витамин В<sub>6</sub>, калий, магний, цинк, кальций, фосфор и железо. Сельдерей - источник диетической клетчатки, содержит витамины групп В, Е, РР, провитамин А [5].

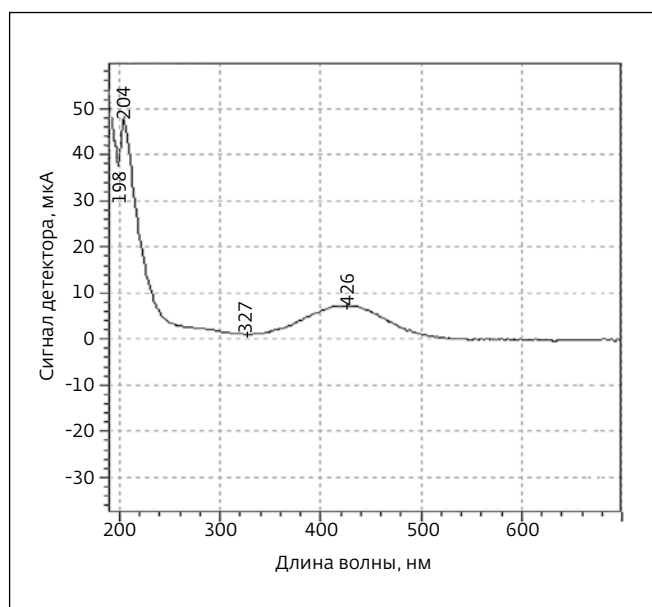


Рис.1. Спектр поглощения β-каротина (провитамина А)

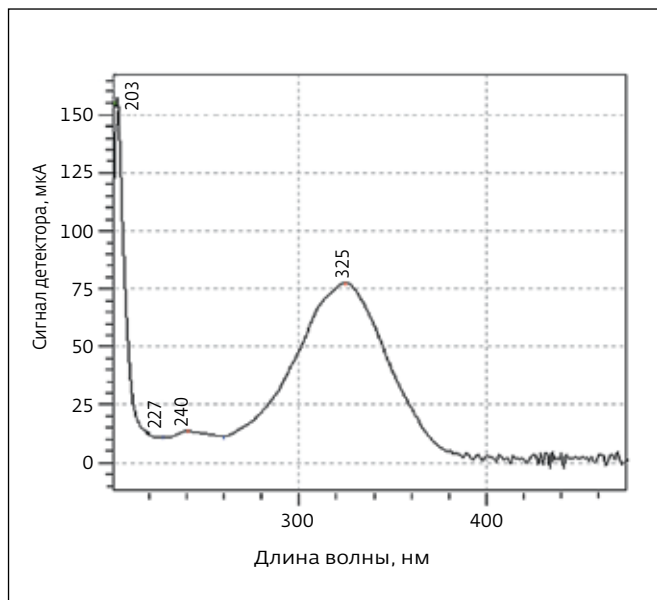


Рис.2. Спектр поглощения ретинола (А)

Исходя из растворимости, витамины делятся на две группы: жирорастворимые витамины А, Е, D, К и водорастворимые витамины группы В, биотин (Н), ниацин (в виде никотинамида или никотиновой кислоты) и С. Жирорастворимые витамины накапливаются в организме в жировой ткани и печени. Водорастворимые витамины в существенных количествах не депонируются и при избытке выводятся с водой. Это объясняет большую распространенность гиповитаминозов водорастворимых витаминов и гипервитаминозов жирорастворимых витаминов [6].

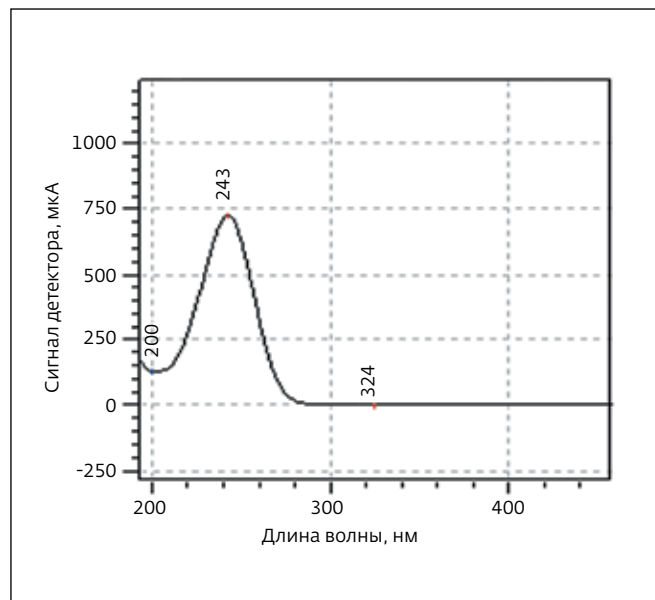


Рис.3. Спектр поглощения аскорбиновой к-ты (С)

Сегодня традиционные подходы к анализу витаминов (титрование, тонкослойная хроматография) [7] устарели, к тому же они очень трудоемки. Одновременное определение нескольких витаминов в пищевых продуктах – сложная задача. Во-первых, содержание витаминов в продуктах питания может значительно различаться (от микрограмм до грамм на 100 грамм продукта). Во-вторых, велико влияние сложной и разнообразной матрицы [8]. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых надеж-

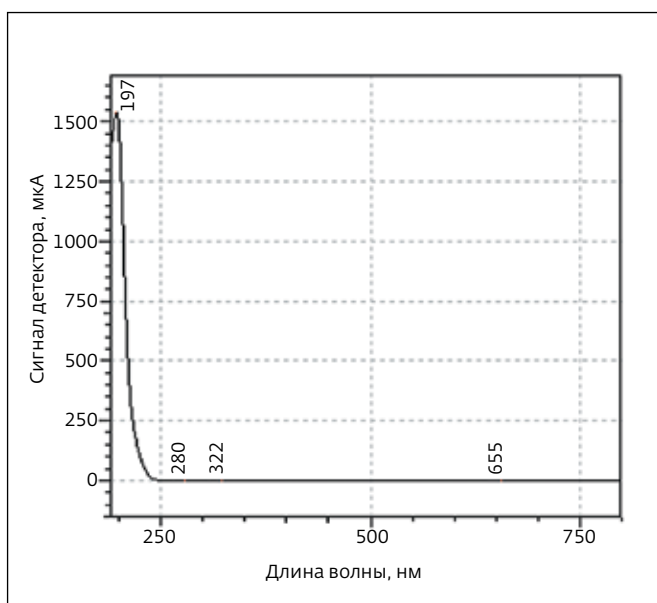
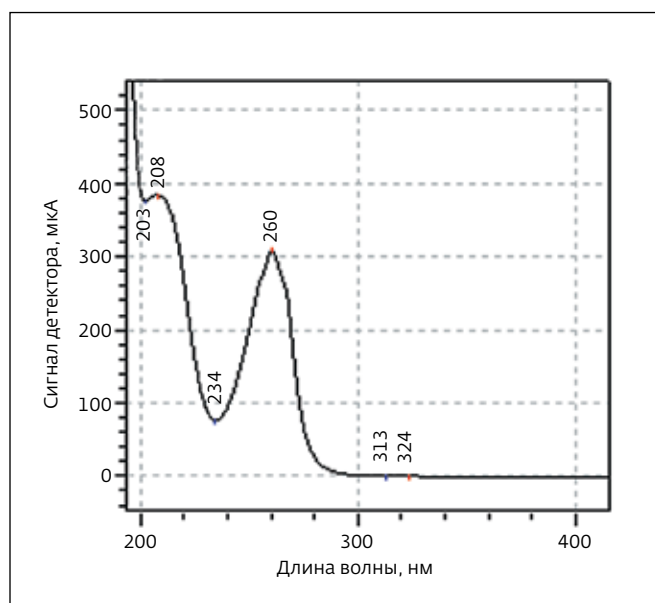
Рис.4. Спектр поглощения пантотеновой к-ты (В<sub>5</sub>)

Рис.5. Спектр поглощения никотиновой к-ты (РР)

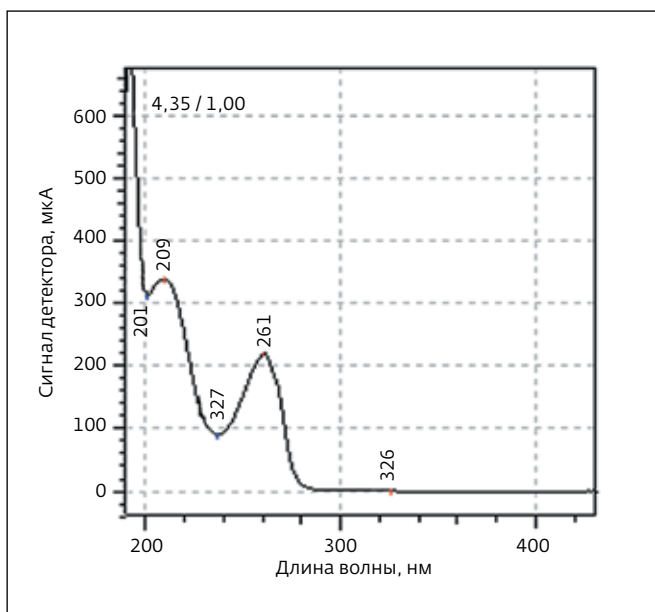


Рис.6. Спектр поглощения никотинамида (РР)

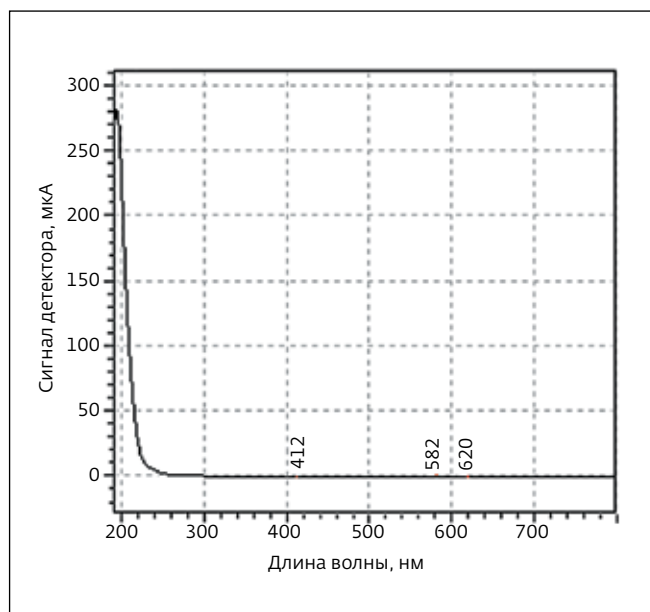


Рис.7. Спектр поглощения биотина (H)

ных методов определения благодаря возможности разделения компонентов на хроматографической колонке и высокой чувствительности современных детекторов [9].

В работе водорастворимые (аскорбиновая кислота, никотиновая кислота, никотинамид, пантотенат кальция, фолиевая кислота, биотин) и жирорастворимые (ретинол, эргокальциферол, холикальциферол,  $\beta$ -каротин и токоферол) витамины определяли отдельно методом обращено-

фазовой хроматографии с диодно-матричным детектированием.

## ЭКСПЕРИМЕНТ

Все овощи и фрукты, использовавшиеся для получения соков, закупали в одном из супермаркетов Санкт-Петербурга в период 15-20 февраля 2014 года. Промежуток между закупкой и выжимкой сока для каждого не превышал двух часов. Все продукты хранили до самой выжимки в холодильнике при

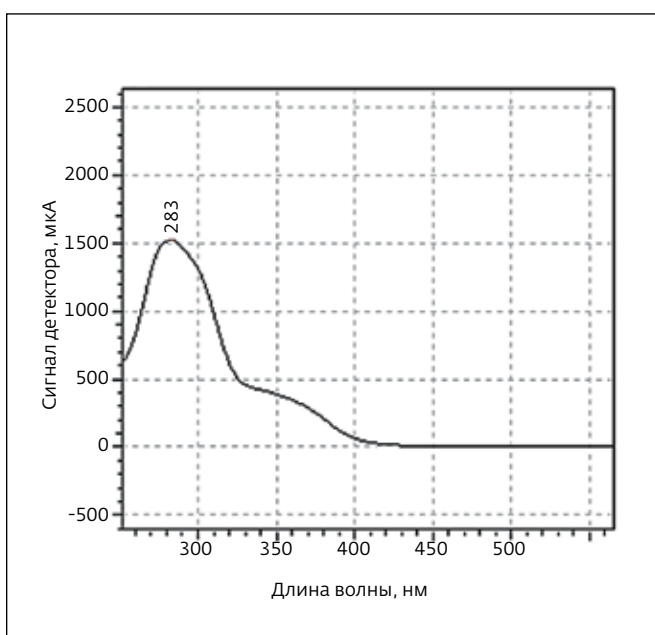
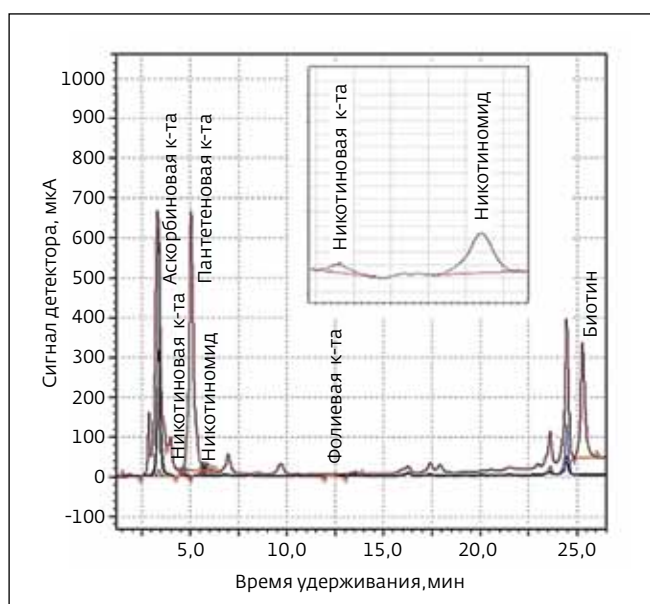
Рис.8. Спектр поглощения фолиевой кислоты (B<sub>9</sub>)

Рис.9. Хроматограмма свежевыжатого апельсинового сока, определение водорастворимых витаминов

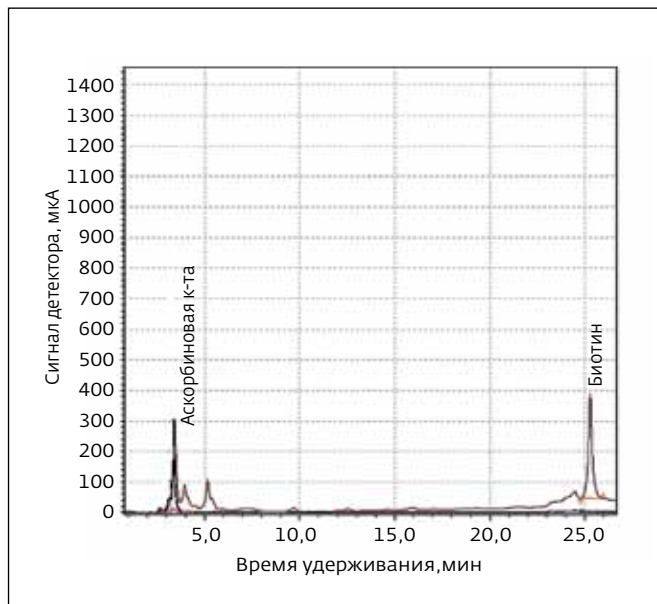


Рис.10. Хроматограмма свежевыжатого сока киви, определение водорастворимых витаминов

температуре 7°C. Сок отжимали с помощью бытовой соковыжималки в стеклянный чистый стакан, затем отфильтровывали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм в стеклянную виалу автодозатора хроматографа. Анализировали сок свежевыжатым через 3–5 минут после отжима, а также после выдержки в течение 1, 2, 3, 6, 9, 12 и 24 часов. Виалу с соком не закрывали крышкой, не охлаждали, обеспечивали доступ дневного света.

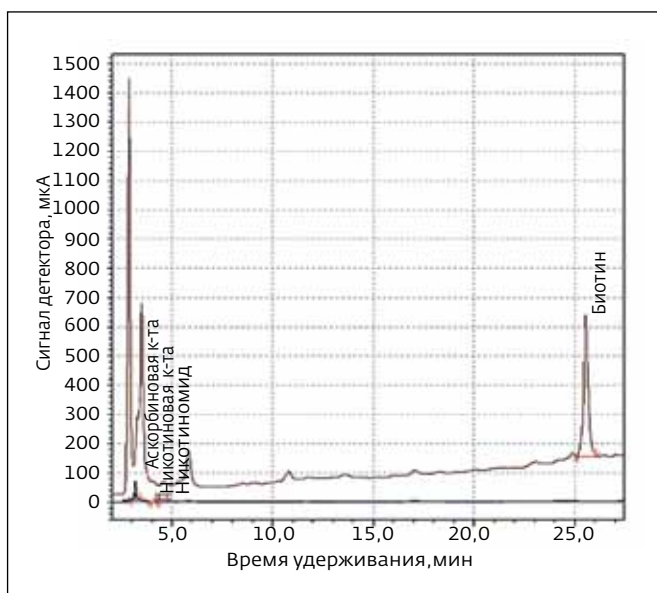


Рис.12. Хроматограмма свежевыжатого морковного сока, определение водорастворимых витаминов

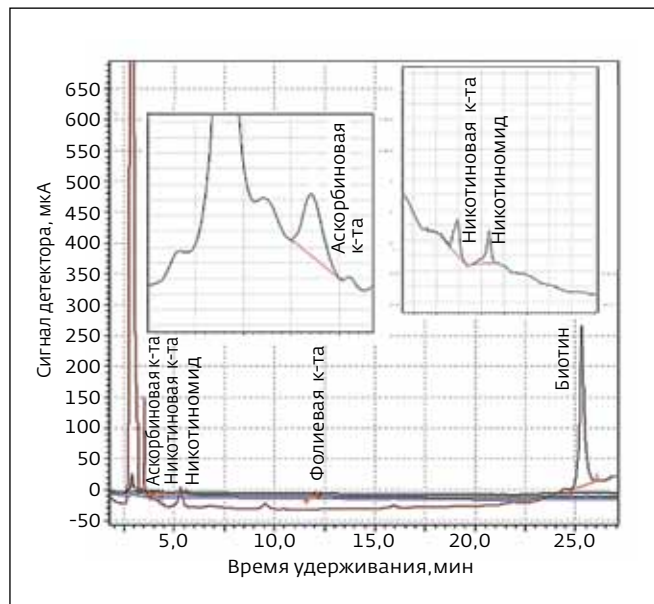


Рис.11. Хроматограмма свежевыжатого сока сельдерея, определение водорастворимых витаминов

Анализ водорастворимых и жирорастворимых витаминов в соках проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония), оснащенном детектором на диодной матрице, автодозатором, насосом, работающим в режиме градиента высокого давления. Для разделения витаминов использовали обращено-фазовую колонку C18 производства фирмы Supelco, 250 × 4,6 мм, 5 мкм. Методическое решение опиралось на нормативные документы [10–13]. Правильность идентификации искоемых соединений подтверждали совпадением времен удерживания пиков и спектров поглощения витамина в пробе и в стандартном растворе. Количественное определение каждого соединения проводили на оптимальных длинах волн. Для построения градуировочной зависимости применяли чистые вещества производства Sigma. Спектры стандартов витаминов представлены на рис. 1–8.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ

В качестве подвижной фазы использовали смесь: 60 мМ фосфатный буфер, pH 2,5 с добавкой гексансульфоната натрия и ацетонитрила (компонент А) и ацетонитрил (компонент В).

Основной градуировочный раствор аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты, никотинамида, пантотеновой кислоты готовили в 10 мМ водном

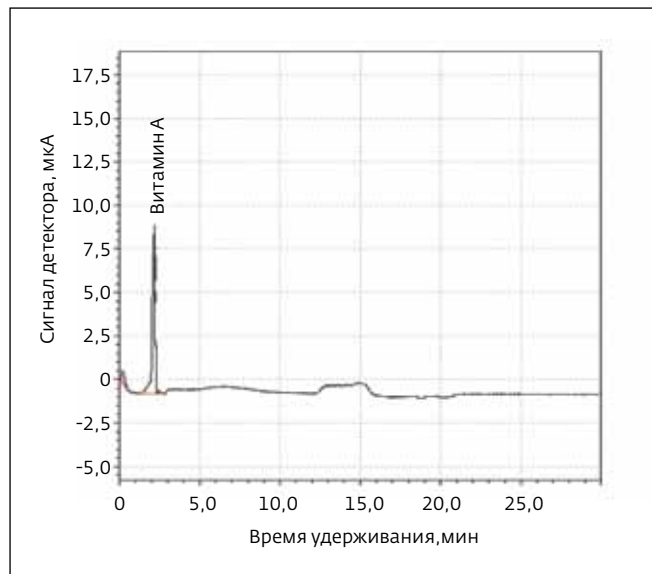
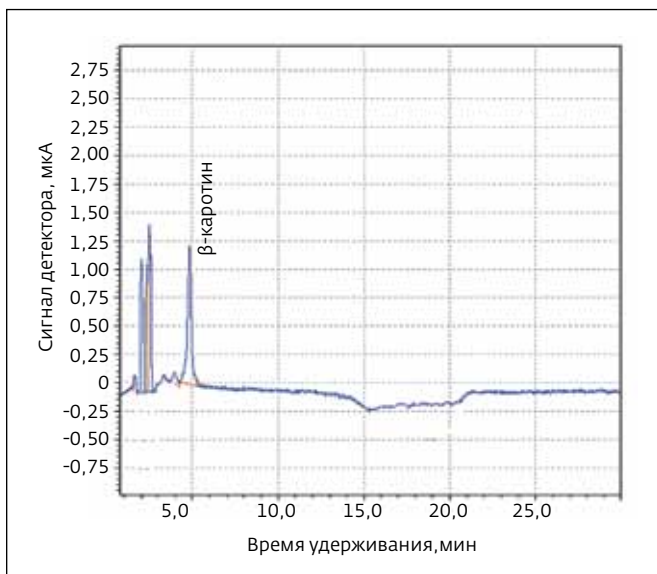


Рис.13. Хроматограмма свежавыжатого морковного сока, определение жирорастворимых витаминов

Рис.14. Хроматограмма свежавыжатого сока сельдерея, определение жирорастворимых витаминов

растворе калия фосфорнокислого однозамещенного. Ортофосфорной кислотой доводили рН раствора до 2,5 (контроль по рН-метру). Основной градуировочный раствор фолиевой кислоты и биотина готовили в 0,2 М водном растворе гидроксида натрия.

Хроматографические условия анализа водорастворимых витаминов: продолжительность анализа 35 минут, скорость потока подвижной фазы 1 мл/мин, температура термостата 35°C, начальный состав подвижной фазы – 96% А и 4% В, использовался градиентный режим элюирования. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Детектор на диодной матрице (λ 195, 243, 260, 290 нм).

Рабочие градуировочные растворы витаминов подготавливали ежедневно путем разбавления основного градуировочного раствора. Концентрацию подбирали таким образом, чтобы она была близка к содержанию витаминов в пробе сока.

Водорастворимые витамины обнаружены во всех проанализированных соках: апельсиновом, морковном, соках сельдерея и киви (см. таблицу).

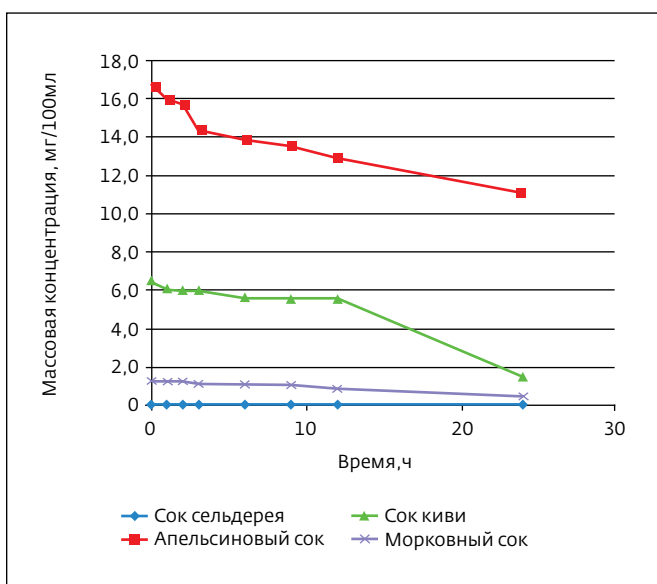


Рис.15. Диаграмма изменения концентрации витамина С

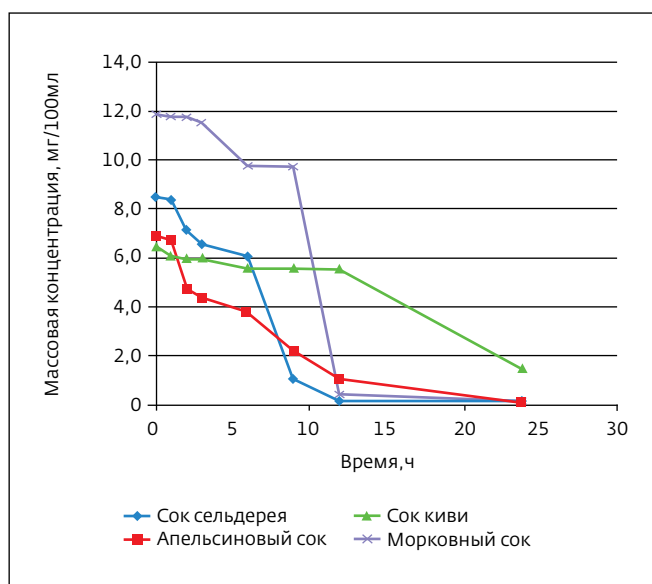


Рис.16. Диаграмма изменения концентрации витамина Н

Соответствующие хроматограммы приведены на рисунках 9–12.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ

В качестве подвижной фазы использовали смесь: вода (компонент А) и метанол (компонент В).

Основной градуировочный раствор ретинола, эргокальциферола, холикальциферола, β-каротина и токоферола готовили в изопропиловом спирте. Рабочие градуировочные растворы витаминов подготавливали ежедневно путем разбавления основного градуировочного раствора.

Хроматографические условия анализа жирорастворимых витаминов: продолжительность анализа 30 минут, скорость потока подвижной фазы 1,5 мл/мин, температура термостата 40°C, начальный состав подвижной фазы – 5% А и 95% В, использо-

вали градиентный режим элюирования. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Детектор на диодной матрице: λ 328 нм для ретинола, 450 нм для β-каротина.

Жирорастворимые витамины обнаружены только в морковном соке и соке сельдерея. В первом – провитамин А (β-каротин), во втором – витамин А (ретинол). Хроматограммы приведены на рисунках 13 и 14.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Получены данные по количественному содержанию и стабильности в течение 24 часов водорастворимых и жирорастворимых витаминов в апельсиновом, морковном соках, а также соках киви и сельдерея. Результаты приведены в таблице.

Даже в зимнее время года во фруктах и овощах есть витамины. Водорастворимые витамины присутствуют во всех проанализированных соках. Наибольшее их количество содержат апельсино-

Количественные результаты определения витаминов в соках

Витамин	Сок	Концентрация витамина, мкг/мл				
		Свежевыжатый сок	3 ч	6 ч	12 ч	24 ч
С (аскорбиновая к-та)	Сок киви	89,6	75,4	74,4	54,2	43,4
	Апельсиновый сок	166,8	143,4	138,4	129,0	110,8
	Сок сельдерея	0,7	0,4	0,34	0,30	0,16
	Морковный сок	12,7	11,4	10,9	8,7	4,7
В <sub>5</sub> (пантотеновая к-та)	Апельсиновый сок	5162,7	3843,8	203,7	8,2	7,1
В <sub>9</sub> (фолиевая к-та)	Апельсиновый сок	1,0	0,8	0,7	0,5	0,3
	Сок сельдерея	0,4	–	–	–	–
Никотиновая к-та	Сок сельдерея	0,8	0,2	0,21	0,12	0,09
	Морковный сок	0,3	0,1	–	–	–
Никотинамид	Сок сельдерея	1,3	0,1	0,09	0,06	0,04
	Морковный сок	0,4	–	–	–	–
Н (биотин)	Апельсиновый сок	68,9	43,7	37,7	10,7	0,7
	Сок киви	64,6	30,0	56,1	55,4	14,8
	Сок сельдерея	84,9	65,5	60,45	1,52	1,2
	Морковный сок	118,8	115,6	97,4	1,5	0,7
А(ретинол)	Сок сельдерея	365,5	261,9	259,4	196,0	164,0
β-каротин (провитамин А)	Морковный сок	35,6	32,4	31,5	30,5	17,2

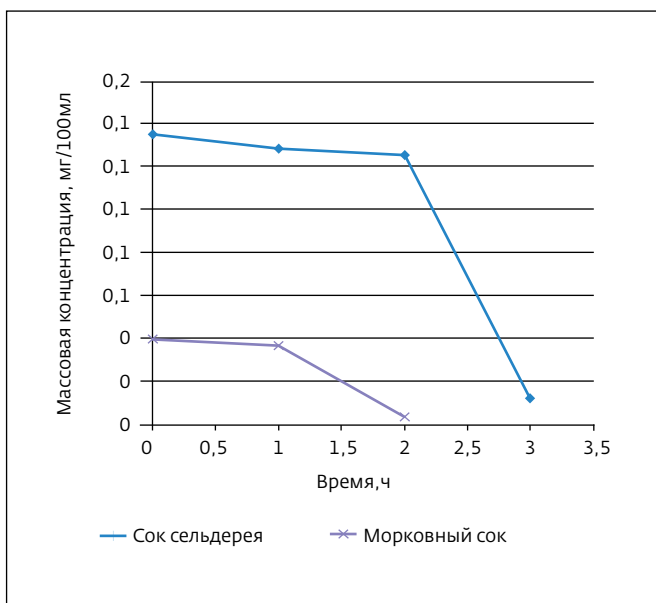


Рис.17. Диаграмма изменения концентрации витамина  $B_3$

вый сок и сок сельдерея. В апельсиновом соке найдены аскорбиновая, пантотеновая, фолиевая кислоты и биотин. В соке сельдерея – все выше перечисленные, кроме витамина  $B_5$ , плюс ниацин ( $B_3$ ) или РР (в виде смеси никотиновой кислоты и никотиамида). В морковном соке содержатся витамин С,  $B_3$  и Н. В соке киви только два витамина: аскорбиновая кислота и биотин.

Жирорастворимых витаминов найдено меньше, чем ожидалось, согласно литературным данным. В апельсиновом соке и соке киви жирорастворимые витамины отсутствовали. В морковном соке найден провитамин А ( $\beta$ -каротин), а в соке сельдерея – витамин А (ретинол).

Для наглядности полученные экспериментальные данные по изменению концентрации витаминов в соках в течение суток представлены в виде диаграмм на рис.15–20.

Концентрация аскорбиновой кислоты (С) во всех соках плавно уменьшается и через 24 часа снижается в 2–3 раза по сравнению с начальной (см. рис.15). Биотин (Н) разрушается быстрее, за 12 часов (рис.16).

Рис.17 – иллюстрация изменения концентрации витамина  $B_3$  – смеси никотиновой кислоты и никотиамида. Содержание ниацина убывает еще стремительнее. Через 3 часа его концентрация снижается в 1,5 раза, а через 6 – в 25 раз. Пантотеновая кислота ( $B_5$ ) обнаружена только в апельсиновом соке. Уже через 6 часов концентрация этого витамина близка к нулю.

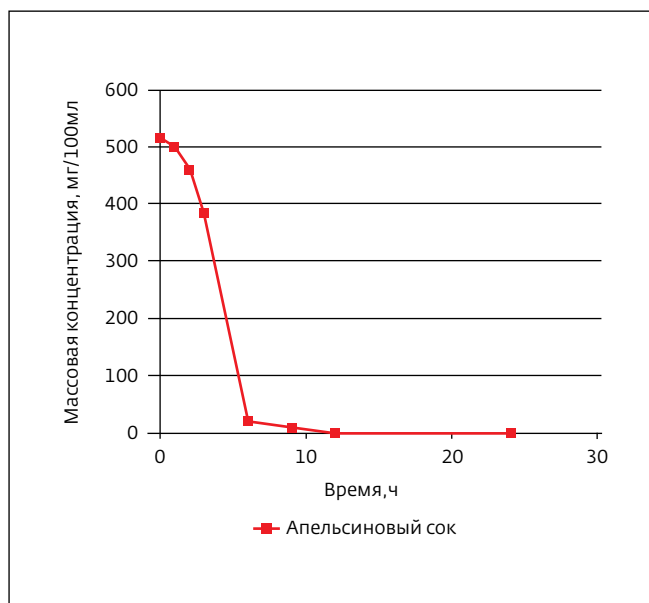


Рис.18. Диаграмма изменения концентрации витамина  $B_5$

Витамин  $B_5$  полностью разрушается в течение 12 часов (см. рис.18).

Фолиевая кислота (витамин  $B_9$ ) обнаружена в соках сельдерея и апельсиновом. Концентрация витамина  $B_9$  в апельсиновом соке снижается за 12 часов в 2 раза, а через сутки в нем остается только 30% по сравнению со свежесожатым. В соке сельдерея разрушение фолиевой кислоты происходит еще быстрее, спустя 3 часа концентрация этого витамина ниже предела обнаружения 0,05 мкг/мл (см. рис.19).

$\beta$ -каротин в морковном соке и ретинол в соке сельдерея более стабильны. Их концентрация почти не менялась в течение 12 часов, но за сутки снизилась в два раза по сравнению с исходной (см. рис.20).

Полученные данные дают ценную информацию для производителей и потребителей свежесожатых соков. Самая общая рекомендация: не хранить отжатый сок более 3 часов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Phillips K. M., Tarrago-Trani M. T., Gebhardt S. E., Exler J., Patterson K. Y., Haytowitz D. B., Pehrsson P. R., Holden J. M. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. – Journal of Food Composition and Analysis, 2010, v.23, p.253–259.
2. Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., Agabbio M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments

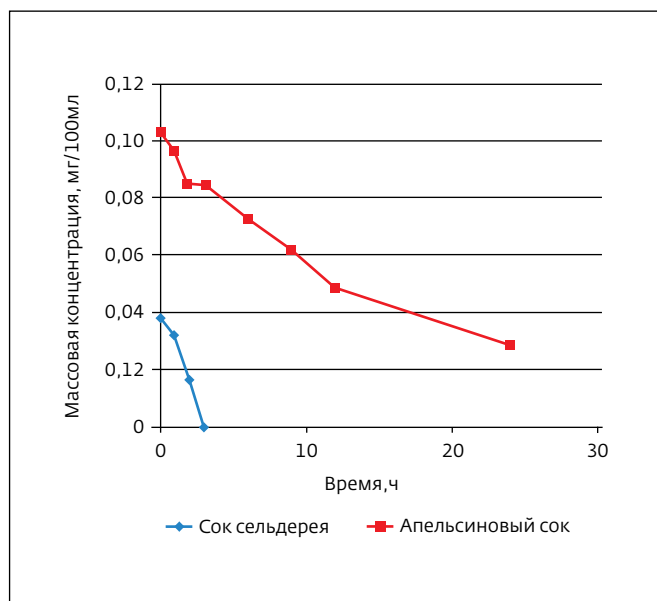


Рис.19. Диаграмма изменения концентрации витамина B<sub>9</sub>

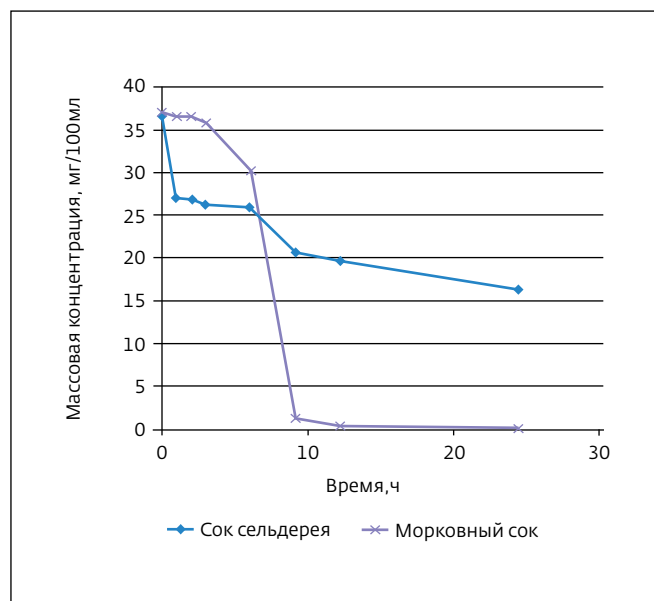


Рис.20. Диаграмма изменения концентрации витамина и провитамина А

and juices during storage. – Food Chemistry, 2004, v.84, p.99-105.

3. Cortes, C., Esteve, M.J., Frigiola, A., Torregrosa, F. Identification and quantification of carotenoids including geometrical isomers in fruit and vegetable juices by liquid chromatography with ultraviolet-diode array detection. – Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2004, v.52, p.2203-2212.
4. Scherer R., Ana Poloni Rybkaa C., Ballus C., Dillenburg Meinhart A., Filho J., Teixeira Godoy H. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. – Food Chemistry, 2012, v.135, Issue 1, p.150-154.
5. Dietmar E. Breithaupt. Determination of folic acid by ion-pair RP-HPLC in vitamin-fortified fruit juices after solid-phase extraction. – Food chemistry, 2001, v.74, p.521-525.
6. А.А.Бердышев, Е.Б.Пашкова, А.В.Пирогов, О.А.Шпигун. Определение водорастворимых витаминов в премиксах, биологически-активных добавках и фармацевтических препаратах методом ВЭЖХ с градиентным элюированием. – Вестник Московского Университета, 2010, сер.2, Химия, т.51, №4, с.315-324.
7. Eitenmiller R.R., Ye L. LandenW.O. Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. Boca Raton, N.Y., 2008, v.3, p.54-60.
8. R.E. Kinci, G. Kadakal. Determination of seven water-soluble vitamins in tarhans, a traditional Turkish cereal food, by High-Performance Liquid Chromatography. – Acta Chromatographica, 2005, v.315, p.289-297.
9. D.Rachieru, R.Duca, M. Olteanu. Validation of a method to determine vitamin E(alpha tocopherol) from feed ingredients by HPLC using reversed phase chromatography. – Lucrari Stiintifice. Seria Zootehnie, 2009, v.52, p.543-547.
10. ООО "Аналит" М-02-1006-08 "Биологически активные добавки, премиксы, корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методика выполнения измерений массовой доли жирорастворимых витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии". Аттестована ВНИИМ им. Менделеева, СПб, свидетельство № 242/121-08.
11. ООО "Аналит". М-02-902-146-08 "Биологически активные добавки, премиксы, корма, премиксы, комбикорма, комбикормовое сырье. Методика выполнения измерений массовой доли водорастворимых витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии". Аттестована ВНИИМ им. Менделеева, СПб, свидетельство № 242/31-08.
12. ГОСТ Р 54637-2011. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина D<sub>3</sub>.
13. ГОСТ Р ЕН 14130-2010. Продукты пищевые. Метод определения витамина С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.