ВИТАМИНЫ В СВЕЖЕВЫЖАТЫХ СОКАХ

В ЛЕТНИЙ ПЕРИОД

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

Мы продолжаем публикацию результатов проведенных в лаборатории "Аналит Продактс" исследований по определению содержания витаминов в свежевыжатых соках и их устойчивости при хранении. В предыдущей статье* приведены данные по сокам из фруктов и овощей, доступных в зимнее время (в феврале). В дальнейшем авторов заинтересовало, какие витамины содержатся и насколько они устойчивы в соках в конце лета, одинаково ли содержание витаминов в плодах отечественного и импортного производства. Анализировали свежевыжатые соки из самых популярных фруктов и овощей в период их полного созревания, в конце августа. Для исследования выбраны яблочный, виноградный, арбузный, сливовый, свекольный и морковный соки.

Яблочный сок – один из самых любимых напитков взрослых и детей. Он богат витамином С и фолиевой кислотой, которые особенно необходимы беременным и кормящим женщинам [1]. Яблочный сок помогает в профилактике и лечении простудных заболеваний, гриппа и кишечных инфекций [2].

Сок из винограда содержит массу ценных и полезных веществ, в том числе витамины А, B_1, B_2, B_3, С [3]. Он полезен при авитаминозах, в период реабилитации после операций и тяжелых болезней. Этот продукт улучшает обмен веществ, ускоряет пищеварение, удаляет из организма шлаки, помогает при очищении организма [4].

Арбуз содержит витамины А, С, Е, РР, группы В, обладает сильным мочегонным, желчегонным, противовоспалительным, жаропонижающим, слабительным и общеукрепляющим свойствами. Нормализует процессы обмена веществ, усиливает перистальтику кишечника [5].

Среди фруктовых соков по содержанию витаминов и минералов сок сливы заслуженно занимает высокие позиции. В плодах темного цвета особенно много витамина А, есть также витамины B_1, B_2, С и Р [6].

Хорошо известен и популярен у приверженцев здорового питания сок свеклы, богатый витаминами группы В и РР [7]. Этот корнеплод – прекрасный источник каротина (А) и аскорбиновой кислоты (С). Свекла и свеколь-

* Аналитика, 2014, №3, с.72.

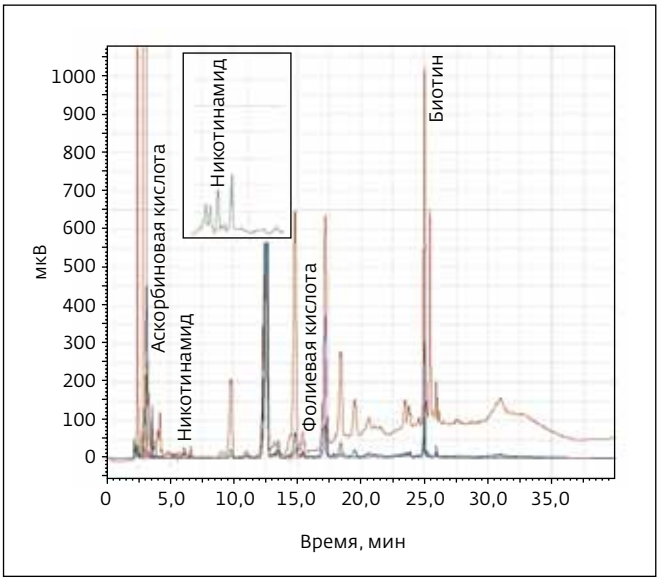

Рис.1. Хроматограмма свежевыжатого яблочного сока (яблоки выращены в Ленинградской области), определение водорастворимых витаминов

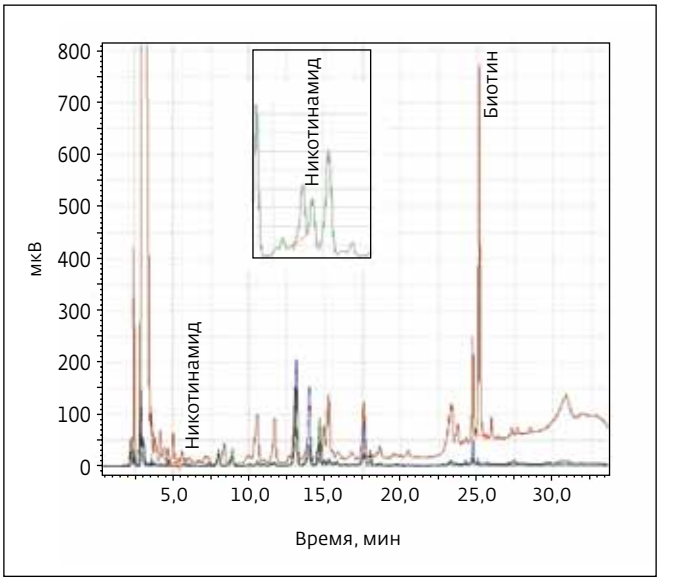

Рис.2. Хроматограмма свежевыжатого яблочного сока (импортные яблоки), определение водорастворимых витаминов

ный сок укрепляют иммунитет, улучшают обмен веществ и пищеварение [8].

Свежевыжатый морковный сок – это ценный поливитаминный продукт питания [9]. Он богат провитамином А, который в организме человека переходит в витамин А. Еще в нем есть витамины Е, С, Д, групп В и К, поэтому он незаменим для поддержания здоровья, особенно у людей со слабым иммунитетом, проблемной кожей и зрением [10].

Водорастворимые (аскорбиновая кислота, никотиновая кислота, никотинамид, пантотенат кальция, фолиевая кислота, рибофлавин и биотин) и жирорастворимые (ретинол пальмитат, ретинол ацетат, эргокальциферол, холикальциферол, β-каротин и токоферол) витамины определяли

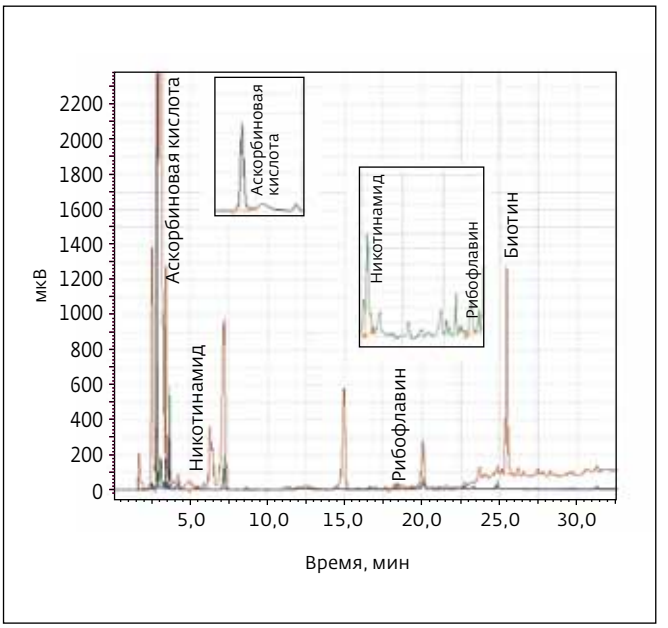

Рис.3. Хроматограмма свежевыжатого морковного сока (морковь выращена в Ленинградской области), определение водорастворимых витаминов

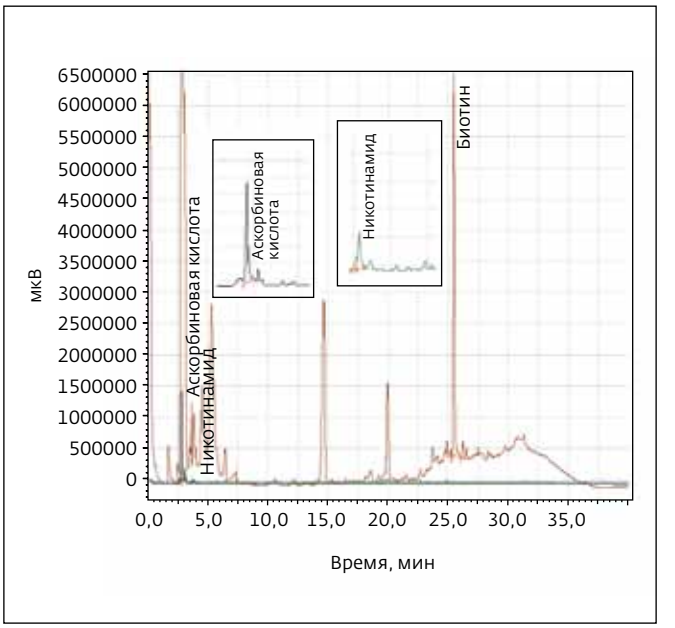

Рис.4. Хроматограмма свежевыжатого морковного сока (импортная морковь), определение водорастворимых витаминов

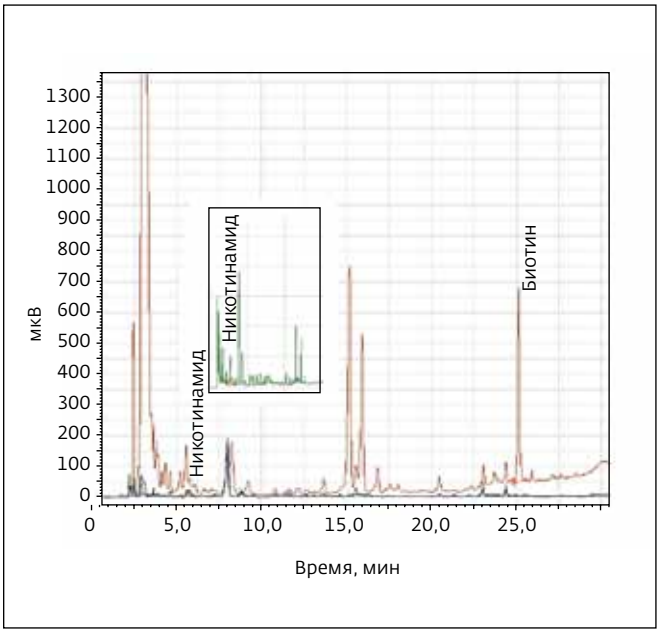

Рис.5. Хроматограмма свежевыжатого сока сливы (выращена в России), определение водорастворимых витаминов

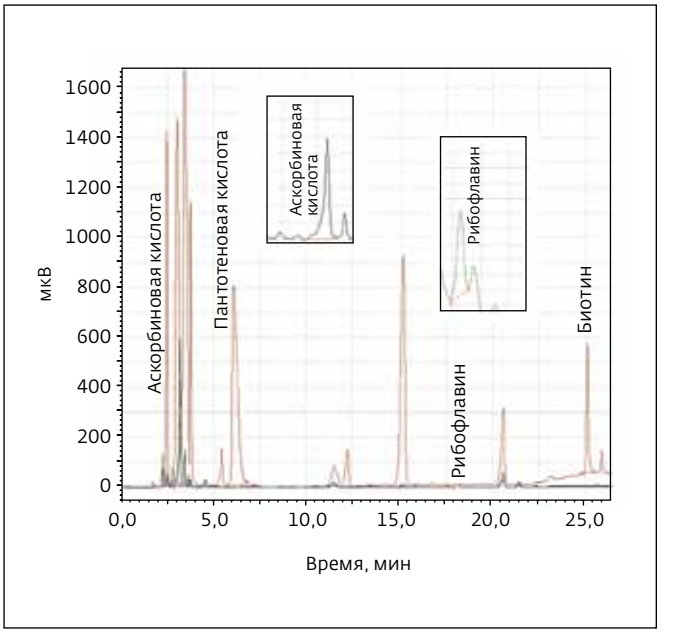

Рис.6. Хроматограмма свежевыжатого арбузного сока (арбуз выращен в России), определение водорастворимых витаминов

отдельно методом обращенно-фазовой хроматографии с диодно-матричным детектированием [11–14].

ХОД ЭКСПЕРИМЕНТА

Овощи и фрукты, использовавшиеся для получения соков, закупали в одном из магазинов Санкт-Петербурга в период с 19 по 30 августа 2014 года. Промежуток между закупкой и выжимкой каждого сока не превышал двух часов. Мы приобрели арбуз, сливу, виноград и свеклу, полученные от отечественных производителей. Яблоки и морковь были закуплены импортные. Для сравнения исследованы яблоки сорта "Белый налив" и морковь "Нантская", выращенные в северо-западном регионе России. Соки 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 (3–5 минут после отжима), а также после выдержки в течение 1, 3, 6, 12 и 24 ч. Виалу с соком не закрывали крышкой, не охлаждали, обеспечивали доступ дневного света.

Анализ водорастворимых и жирорастворимых витаминов в соках проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе фирмы Shimadzu (Япония), оснащенным детектором на диодной матрице, автодозатором, насосом, работающим в режиме градиента высокого давления. Для разделения витаминов использовали обращенно-фазовую колонку C18 производства фирмы Supelco, 250×4,6 мм, 5 мкм [10–13]. Правильность идентификации искомых соединений подтверждали совпадением времен удерживания пиков и спектров поглощения витаминов в пробе и в стандартном растворе. Количественное определение каждого соединения выполняли на оптимальных длинах волн. Спектры стандартов витаминов представлены в предыдущей статье [15].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ

В качестве подвижной фазы использовали смесь: 60 мМ фосфатный буфер, pH 2,5 с добавкой гексансульфоната натрия и ацетонитрила (конпонент А) и ацетонитрил (компонент В). Для построения градуировочной зависимости применяли чистые вещества производства Sigma.

Основной градуировочный раствор аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты, никотинамида, пантотеновой кислоты готовили в 10 мМ водном растворе калия фосфорнокислого однозамещенного. Ортофосфорной кислотой доводили pH раствора до 2,5 (контроль по pH-метру). Основной градуировочный раствор фолиевой кислоты, рибофлавина и биотина готовили в 0,2 М водном растворе гидроксида натрия. Рабочие градуиро-

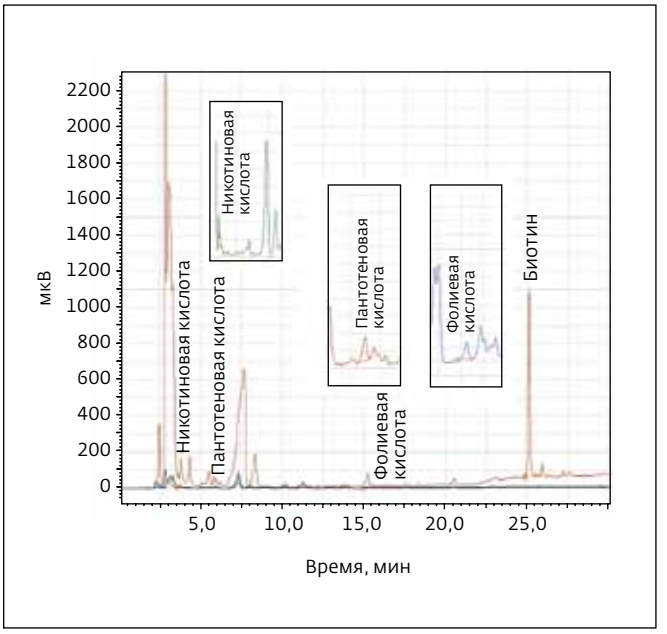

Рис.7. Хроматограмма свежевыжатого виноградного сока (виноград выращен в России), определение водорастворимых витаминов

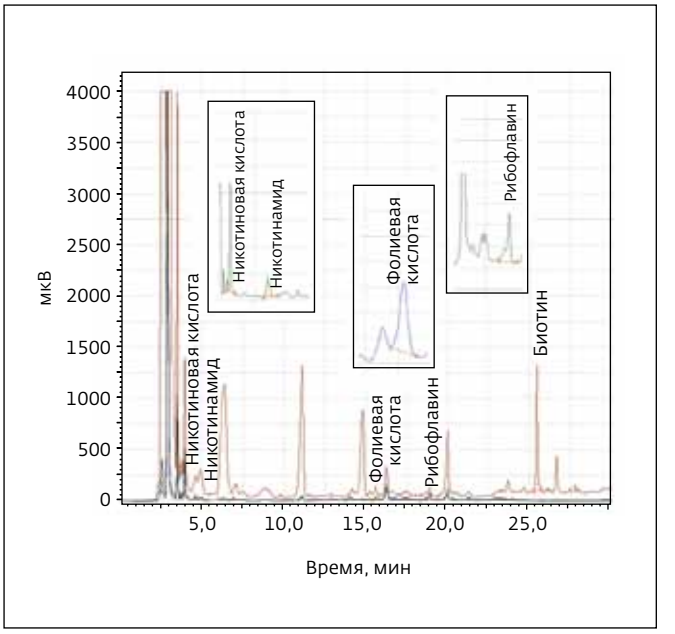

Рис.8. Хроматограмма свежевыжатого свекольного сока (свекла выращена в России), определение водорастворимых витаминов

вочные растворы витаминов подготавливали ежедневно, разбавляя основной градуировочный раствор. Концентрацию подбирали таким образом, чтобы она была близка к содержанию витаминов в пробе сока.

Хроматографические условия анализа водорастворимых витаминов: продолжительность анализа 35 мин., скорость потока подвижной фазы 1мл/мин, температура термостата 35°С, начальный состав подвижной фазы – 96% А и 4% В, использовался градиентный режим элюирования. Объем вводимой пробы – 20 мкл.

Водорастворимые витамины обнаружены во всех проанализированных соках: яблочных (выращенных в Ленинградской области и импортных), виноградном, арбузном, сливовом, свекольном и морковном (табл.1). Соответствующие хроматограммы приведены на рис.1–8.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ

В качестве подвижной фазы использовали смесь: вода (компонент А) и метанол (компонент В). Для построения градуировочной зависимости применяли чистые вещества производства Sigma.

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

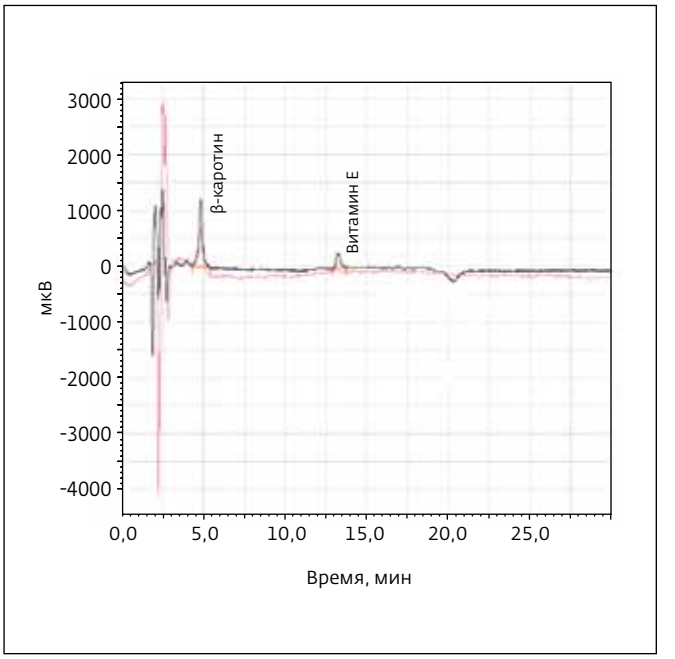

Рис.9. Две хроматограммы в режиме "Сравнение" свежевыжатого морковного сока (черная хроматограмма – морковь, выращенная в Ленинградской области, красная – морковь импортная), определение жирорастворимых витаминов

Таблица 1. Количественные результаты определения витаминов в соках

Витамин	Сок	Концентрация витамина, мг/100 мл сока				
		Свежевы-жатый сок	Время выдержки			
			3 ч	6 ч	12 ч	24 ч
С (аскорбиновая к-та)	Яблочный (отеч.)	6,50	5,00	2,30	0,10	-
	Морковный (отеч.)	10,0	9,40	3,40	0,30	0,05
	Морковный (имп.)	4,70	3,80	1,90	0,07	-
	Арбузный (отеч.)	5,30	4,60	3,50	1,20	0,01
B_5 (пантотеновая к-та)	Арбузный (отеч.)	15,70	0,07	-	-	-
	Виноградный (отеч.)	0,60	0,20	-	-	-
B_9 (фолиевая к-та)	Яблочный (отеч.)	7,90	-	-	-	-
	Виноградный (отеч.)	4,70	4,20	3,50	1,30	0,20
	Свекольный (отеч.)	2,0	-	-	-	-
B_2 (рибофлавин)	Морковный (отеч.)	6,50	-	-	-	-
	Свекольный (отеч.)	2,80	-	-	-	-
Никотиновая к-та	Виноградный (отеч.)	0,10	0,09	-	-	-
	Свекольный (отеч.)	10,40	0,10	-	-	-
Никотинамид	Яблочный (отеч.)	0,20	0,10	0,05	-	-
	Яблочный (имп.)	0,15	0,11	-	-	-
	Сливовый (отеч.)	0,38	0,33	0,28	0,25	0,02
	Морковный сок (отеч.)	0,16	0,10	0,10	-	-
	Морковный (имп.)	0,10	0,09	-	-	-
	Свекольный (отеч.)	0,47	0,41	0,38	0,38	0,33
Н (биотин)	Яблочный (отеч.)	28,60	28,30	22,10	20,10	10,40
	Яблочный (имп.)	30,10	29,50	27,60	21,50	12,50
	Морковный (отеч.)	38,70	35,60	34,60	28,40	2,10
	Морковный сок (имп.)	21,80	16,90	14,80	12,60	1,10
	Арбузный (отеч.)	21,32	19,60	16,0	15,23	14,0
	Виноградный сок (отеч.)	39,0	24,0	18,70	17,50	15,0
	Свекольный (отеч.)	46,70	46,50	44,62	38,21	15,60
	Сливовый (отеч.)	21,0	20,9	18,9	18,78	14,40
А (ретинола ацетат и ретинола пальмитат)	Сливовый (отеч.)	104,62	81,54	42,56	1,23	0,05
	Свекольный (отеч.)	301,60	61,50	48,32	20,14	1,56
β-каротин (провитамин А)	Морковный (отеч.)	7341,0	160,0	130,0	81,70	21,62
	Морковный (имп.)	398,50	261,90	259,40	69,0	4,0
Е (токоферола ацетат)	Морковный (отеч.)	30,80	29,80	10,50	1,10	-
	Морковный (имп.)	0,05	-	-	-	-

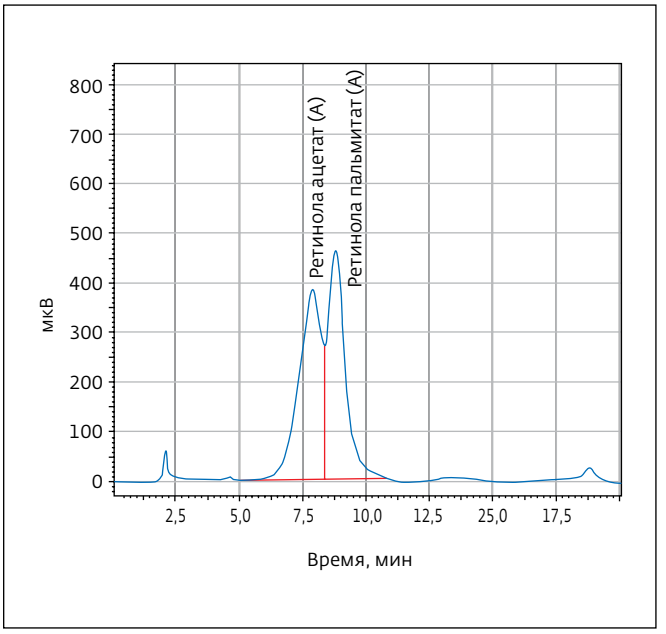

Рис.10. Хроматограмма свежевыжатого сока сливы (выращена в России), определение жирорастворимых витаминов

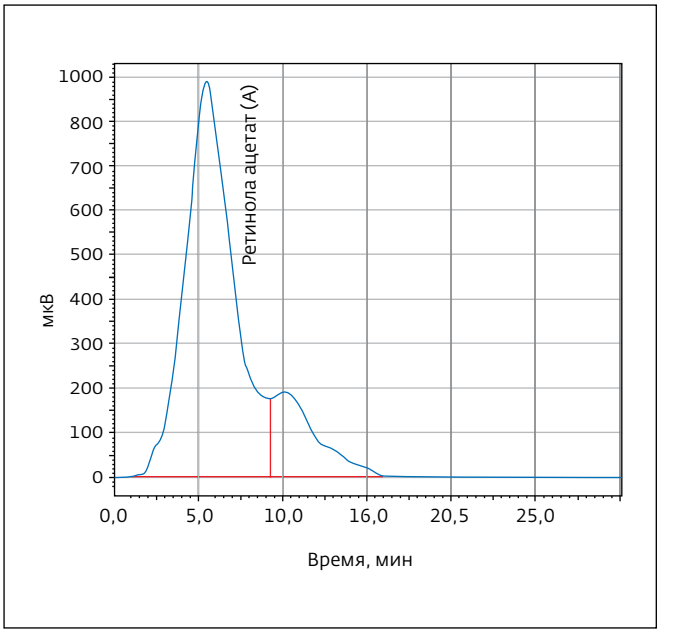

Рис.11. Хроматограмма свежевыжатого сока свеклы (выращена в России), определение жирорастворимых витаминов

Хроматографические условия анализа жирорастворимых витаминов: продолжительность анализа 40 мин, скорость потока подвижной фазы 1,5 мл/мин, температура термостата 40°С, начальный состав подвижной фазы – 5% А и 95% В, использовали градиентный режим элюирования. Объем вводимой пробы – 20 мкл.

Жирорастворимые витамины обнаружены только в морковном соке, свекольном и соке сливы. В первом – провитамин А (β-каротин) и витамин Е (токоферол ацетат), во втором и третьем – витамин А (ретинол) (табл.1). Хроматограммы приведены на рис.9–11.

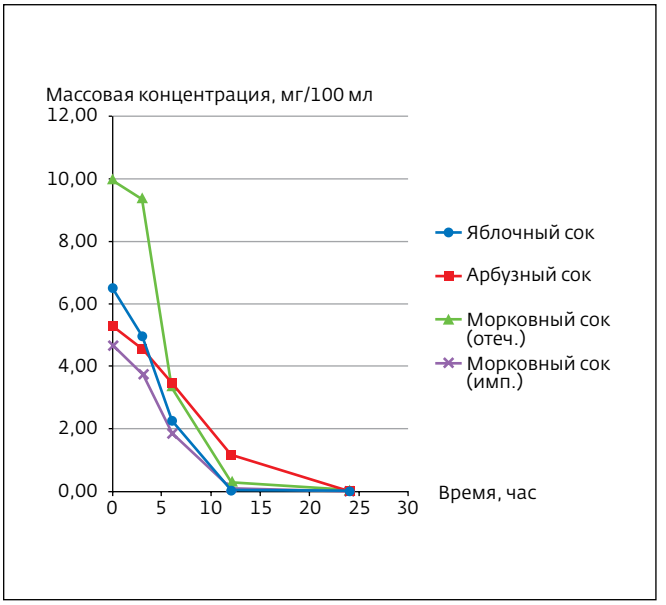

Рис.12. Диаграмма изменения концентрации витамина С

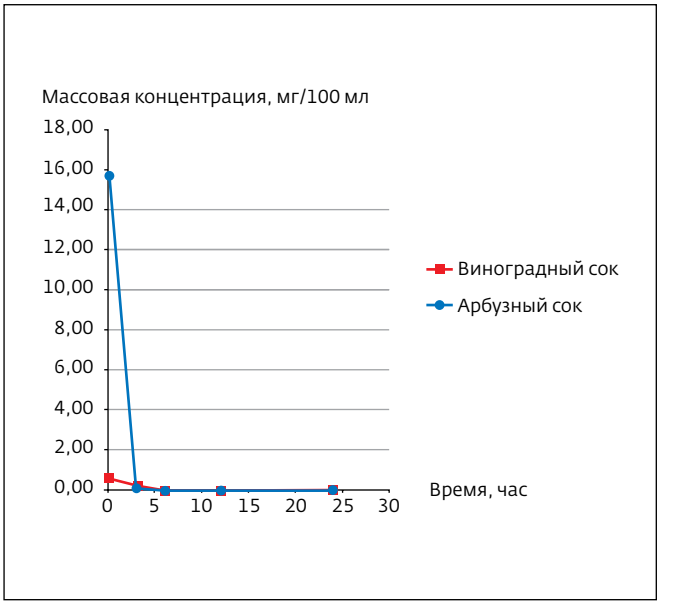

Рис.13. Диаграмма изменения концентрации витамина B_5

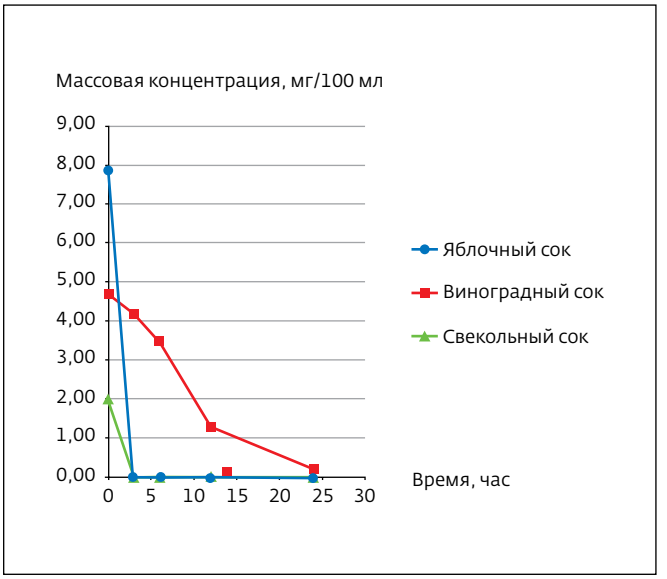

Рис.14. Диаграмма изменения концентрации витамина B_9

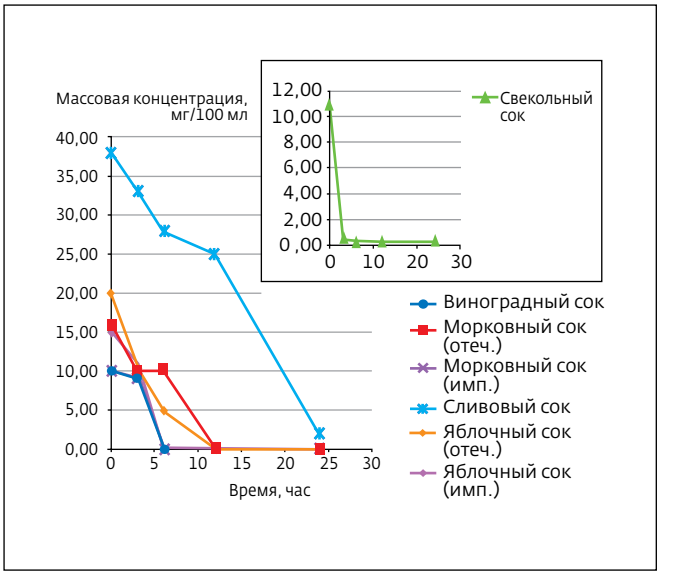

Рис.15. Диаграмма изменения концентрации витамина PP

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получены данные по количественному содержанию и стабильности в течение 24 часов водорастворимых и жирорастворимых витаминов в яблочном, виноградном, арбузном, сливовом, морковном и соке свеклы (табл.1).

В конце лета, как и ожидалось, в свежевыжатых соках много витаминов.

Плоды, выращенные на приусадебных участках Ленинградской области (яблоки и морковь), оказались богаче витаминами, чем импортные (табл.2).

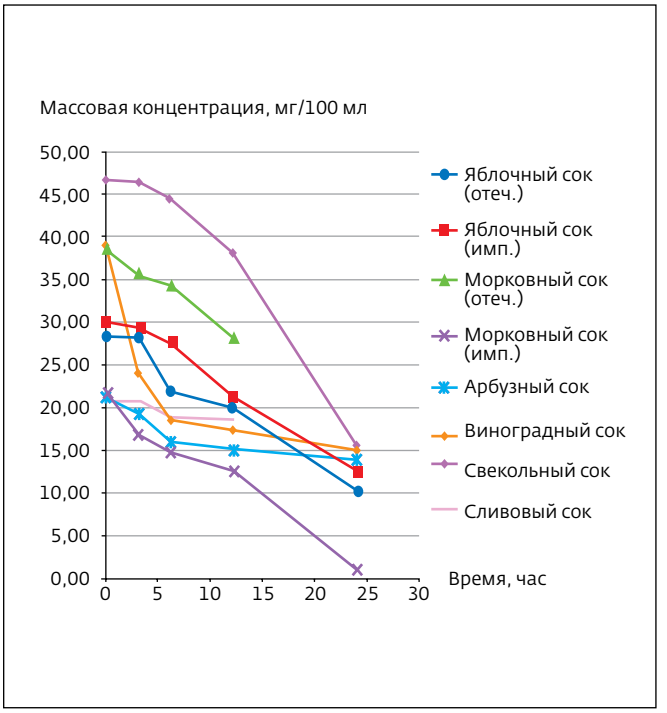

Рис.16. Диаграмма изменения концентрации витамина H

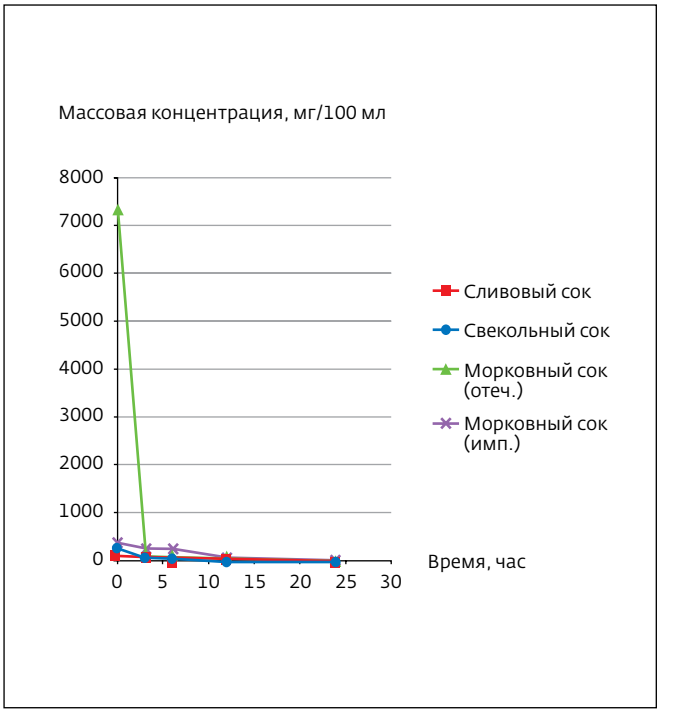

Рис.17. Диаграмма изменения концентрации витамина A и β-каротина

Таблица 2. Содержание витаминов в свежевыжатых соках, полученных из местных и импортных моркови и яблок

Сок	Концентрация витамина, мг/100 мл сока						
	C	PP	B_9	B_2	H	Провитамин A	E
Яблочный сок из яблок, выращенных в Ленинградской области	6,50	0,20	7,90	-	28,60	-	-
Яблочный сок из импортных яблок	-	0,15	-	-	30,10	-	-
Морковный сок из моркови, выращенной в Ленинградской области	10,0	0,16	-	6,50	38,70	7341,0	30,80
Морковный сок из импортной моркови	4,70	0,10	-	-	21,80	398,50	0,05

Водорастворимые и жирорастворимые витамины присутствуют во всех проанализированных объектах. По результатам сравнения содержания витаминов в соках из плодов, выращенных в Ленинградской области, и импортных, можно сделать вывод, что чем быстрее продукция попадает к потребителю, тем большее количество полезных веществ в ней сохраняется.

Наибольшее число витаминов содержится в овощных соках (морковном и свекольном). В свежевыжатом свекольном соке обнаружены витамины PP, B_9, B_2, H и A. Но этот сок не рекомендуется пить свежевыжатым из-за присутствия в нем токсичных веществ, которые разрушаются на воздухе. Он должен отстояться в холодильнике не менее двух часов, несмотря на то, что за это время теряются витамины B_9, B_2 и снижается содержание остальных.

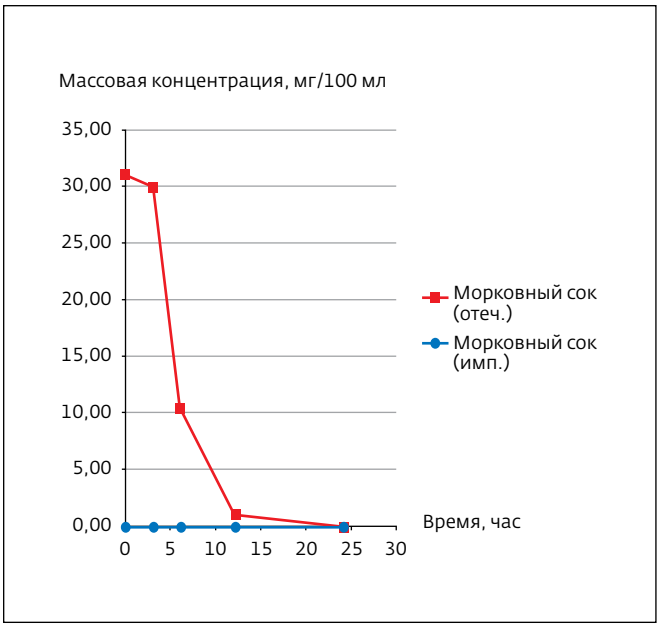

Рис.18. Диаграмма изменения концентрации витамина E

Из фруктовых соков лидируют по разнообразию витаминного состава яблочный, виноградный и арбузный. Полученные экспериментальные данные по изменению концентрации витаминов в соках в течение суток представлены в виде диаграмм (рис.12–18).

Из полученных результатов изучения устойчивости витаминов можно сделать вывод, что по истечении трех часов содержание практически всех витаминов в соках резко снижается. Поэтому лучше не хранить отжатый сок дольше.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Browne M.B.** Lable for healthful eating. Mazer corporation, Dayton, OH, 1993, 87, p.1566–1578.
2. FAO/WHO 2002. Human vitamins and mineral requirements. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO, Rome, p.73–86.
3. **Zeynep Aydogmus, Sevil Muge**. Determination of vitamins in vegetable, vatiue spectrophotometry. Tark J. Chem., 2002, v.26, p.697–704.
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, 11(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. **Eitenmiller R.R., Ye L. Landen W.O.** Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. Boca Raton. N.Y., 2008, v.3, p.54–60.
7. **Kinci R.E., Kadakal G.** 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.
8. **Rachieru D., Duca R., Olteanu M.** Validation of a method to determine vitamin E (alpha tocopherol) from feed ingredients by HPLC using reversed phase chromatography. Seria Zootehnie, v.52, p.543-547.
9. **Joanna Plonka, Agata Toctek, Violetta Tomzyk.** Multivitamin analysis of fruits, fruit-vegetable juices, and diet supplements. – Food Analytical Methods, 2012, v.5, p.1167–1176.
10. **Бердышев А.А., Пашкова Е.Б., Пирогов А.В., Шпигун О.А.** 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.
11. **Захарова А.М., Руденко А.О.** М-02-1006-08 Биологически активные добавки, премиксы, корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методика выполнения измерений массовой доли жирорастворимых витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
12. **Захарова А.М., Рейнгеверц М.Д., Руденко О.А.** 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.
13. ГОСТ Р 54637-2011. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина D_3.
14. ГОСТ Р ЕН 14130-2010. Продукты пищевые. Метод определения витамина С с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.
15. **Захарова А., Кравченко А., Исупова Н., Гринштейн И.** Устойчивость витаминов в свежевыжатых соках. – Аналитика, 2014, №3, с.72–79.

Новый стандарт эффективности работы лабораторий – система ВЭЖХ сверхвысокого давления Agilent 1290 Infinity II от компании Agilent Technologies

Компания Agilent Technologies представила на рынке аналитического оборудования передовую систему ВЭЖХ сверхвысокого давления Agilent 1290 Infinity II. Система позволяет операторам, исследователям и руководителям лабораторий перейти на новый уровень эффективности работы за счет легкости в использовании высококачественного аналитического оборудования и возможности интеграции в лаборатории любого типа.

"Мы работали в тесном сотрудничестве с большим количеством клиентов, чтобы выявить самые уязвимые и труднорешаемые задачи, связанные с жидкостной хроматографией. И мы рады поделиться новым решением в области жидкостной хроматографии сверхвысокого давления с теми, кто желает добиться максимальной эффективности", – сказал Стефан Шьют, вице-президент, генеральный директор отдела жидкостной хроматографии компании Agilent Technologies.

Система нового поколения Agilent 1290 Infinity II LC представляет надежную и высокоточную систему ВЭЖХ сверхвысокого давления. Уникальные возможности новой системы гарантируют высокое качество полученных результатов, позволяют усовершенствовать процесс проведения исследований для достижения максимальной эффективности и снизить финансовые затраты лабораторий. Программное обеспечение OpenLAB Chromatography Data System обеспечивает сбор и управление данными, а также позволяет получать детальные отчеты проведенных исследований.

Подробнее с системой Agilent 1290 Infinity II можно ознакомиться на сайте http://www.EfficientUHPLC.agilent.com.

Источник: www.agilent.ru