

УДК 543.544.6

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ В ВИТАМИННЫХ ПРЕМИКСАХ, БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ ВЫСОКО-ЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ГРАДИЕНТНЫМ ЭЛЮИРОВАНИЕМ

А.А. Бендрышев, Е.Б. Пашкова, А.В. Пирогов, О.А. Шпигун

*(кафедра аналитической химии; e-mail: zhab@mail.ru)*

Изучено влияние pH подвижной фазы и температуры на удерживание и разделение 14 витаминов и витаминных форм на четырех различных неподвижных фазах. Предложены хроматографические условия, позволяющие разделить 12 водорастворимых витаминов и витаминных форм. Установлено, что наилучшего разделения водорастворимых витаминов удается достигнуть при градиентном элюировании. Подвижная фаза А – (0,6%-я фосфорная кислота) pH 1,5–1,8; подвижная фаза Б – ацетонитрил. При разделении никотиновой и аскорбиновой кислот более предпочтительно использовать неподвижные фазы “Luna C18(2)” и “Gemini C18”, а при необходимости разделения рибофлавина и рибофлавин-5-фосфата – неподвижные фазы “Synergi Hydro RP” и “Zorbax SB-C18”. Подобранные условия использованы при определении витаминов в коммерческих образцах витаминных препаратов. Полученные результаты хорошо согласуются с паспортными данными.

**Ключевые слова:** водорастворимые витамины, ВЭЖХ, хроматография, фармацевтические препараты, БАД, премиксы.

### Введение

К водорастворимым витаминам относят соединения, имеющие очень разное строение и свойства. Как правило, в эту группу включают аскорбиновую кислоту (С), тиамин (В1), никотинамид (в разных источниках фигурирует как РР, В3, или В5), пиридоксин (В6), пантотеновую кислоту (в разных источниках фигурирует как В5 или В3), фолиевую кислоту (В9 или ВС), цианокобаламин (В12), рибофлавин (В2), биотин (Н) и иногда рутин (Р) [1, 2]. Ряд витаминов, помимо приведенных выше химических соединений, может существовать и в виде других веществ (витаминных форм). Например, витамин РР вводится в витаминизированные смеси или в виде никотинамида, или в виде никотиновой кислоты.

В рецептуру витаминизированных смесей входят сразу несколько витаминов, и существует необходимость определения содержания каждого из них, причем как в исходной смеси, так и в обогащенных ею продуктах питания. В настоящее время, согласно методикам, приведенным в двенадцатом издании Государственной фармакопеи Российской Федерации, каждый витамин определяется отдельно, причем используемые методы анализа зачастую являются устаревшими и трудоемкими (титрование, тонкослойная хро-

матография) [3]. Высоко-эффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых популярных методов определения водорастворимых витаминов, благодаря возможности одновременного определения сразу нескольких соединений. В большинстве случаев для определения витаминов используют обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ [4–22]. Одновременное определение всех водорастворимых витаминов в изократическом варианте затруднительно. Решить данную проблему можно, используя либо ион-парные реагенты, либо градиентное элюирование. Для одновременного определения нескольких витаминов традиционно используется вариант ион-парной хроматографии [5–9]. Однако часто не удается достигнуть полного разрешения пиков отдельных витаминов друг с другом и с присутствующими в образце компонентами матрицы. Ион-парный вариант предоставляет в данном случае очень небольшие возможности по улучшению разрешения соседних пиков.

Более перспективно, на наш взгляд, для решения данной задачи использовать градиентное элюирование. Существуют работы по определению групп водорастворимых витаминов в разных объектах с помощью метода градиентного элюирования [10–14], однако в