





б) астаксантин (3,3'-дигидрокси-β,β-каротин-4,4'-дион)

*Рис. 1. Структура лютеина (а) и астаксантина (б)*

Следует отметить, что в природе каротиноиды могут находиться в различных состояниях: в свободном виде, в виде эфиров жирных кислот, а также в форме протеиновых комплексов. Млекопитающие не способны синтезировать каротиноиды, при этом эти соединения являются незаменимыми факторами питания человека.

**Цель исследования** – качественный анализ биологически активных добавок к пище (БАД) – капсул «Биоастин» и «Лютеин 100%» методом тонкослойной хроматографии.

#### **Объекты и методы исследования**

##### *Объекты исследования*

Капсулы «Биоастин» № 30, содержащие натуральный астаксантин от 4 до 5 мг/капс., серии 23.12.13 и 25.12.13, производитель – «Cyanotech Corporation», США, фасовка – ООО «В-МИН», г. Сергиев Посад, Московская обл., РФ.

Капсулы «Лютеин 100%» № 60, серии 01.04.14 и 04.04.14, производитель – ЗАО «РеалКапс», пгт. Свердловский, Московская обл., РФ.

##### *Методика ТСХ-анализа*

*Приготовление раствора стандартного образца (СО) астаксантина, лютеина, β-каротина.* Около 0,01 г (точная навеска) или астаксантина, или лютеина, или β-каротина помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 5–6 мл гексана и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор А).

5 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор Б).

*Приготовление раствора испытуемого образца капсул «Биоастин».* Содержимое одной капсулы количественно переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 5-6 мл гексана и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

*Приготовление раствора испытуемого образца капсул «Лютеин 100%».* Содержимое одной капсулы количественно переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 5–6 мл гексана и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

##### *Методика проведения испытания*

На линию старта хроматографической пластинки 10x15 см «Sorbfil» наносили по 5 мкл растворов испытуемых образцов капсул «Биоастин» и «Лютеин 100%» и растворов Б СО астаксантина, лютеина,  $\beta$ -каротина.

Образцы хроматографировали восходящим способом в соответствующей подвижной фазе.

*Составы подвижных фаз: I – петролейный эфир — диэтиловый эфир — кислота уксусная (85:15:1);*

*II – диэтиловый эфир — петролейный эфир (3:1);*

*III – петролейный эфир — бензол (10:1);*

*IV – гексан — ацетон (6:2).*

После продвижения подвижной фазы до края пластинки пластинку вынимали и сушили.

*Детекцию* проводили визуально по окраске зон адсорбции. Далее опрыскивали пластинки 10%-ным раствором фосфорно-молибденовой кислоты с последующим нагреванием до 60°C в течение 2 мин. Зоны адсорбции всех каротиноидов окрашивались в ярко-синий цвет.

*Идентификацию* каротиноидов осуществляли по величинам коэффициентов подвижности, сравнивая их с опубликованными в периодической литературе [4-9] коэффициентами подвижности для использованных в эксперименте хроматографических условий и по СО астаксантина, лютеина и  $\beta$ -каротина.

### **Результат и их обсуждение**

Для подтверждения наличия астаксантина в образцах капсул «Биоастин» был проведен хроматографический анализ образцом методом ТСХ в четырех системах растворителей. В ходе предварительных исследований было оптимизировано количество испытуемых и СО образцов, которое необходимо наносить на линию старта хроматографической пластинки.

В результате проведенного эксперимента были получены хроматограммы образцов капсул «Биоастин» серий 23.12.13 и 25.12.13, рассчитаны коэффициенты подвижности для всех зон адсорбции. Результаты ТСХ-анализа испытуемых образцов капсул «Биоастин» представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты анализа капсул «Биоастин» методом ТСХ

Каротиноид	Система растворителей/коэффициенты подвижности ( $R_f$ )							
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	серия 23.12.13				серия 25.12.13			
лютеин	0,015	0,125	—	0,633	0,016	0,123	—	0,633
не идентифицирован	0,044	0,195	—	—	0,043	0,192	—	—
не идентифицирован	0,059	0,281	—	—	0,060	0,280	—	—
астаксантин	0,067	0,367	0,040	0,867	0,070	0,370	0,045	0,870
кантаксантин	0,348	0,703	—	—	0,350	0,700	—	—
$\beta$ -каротин	0,470	0,820	0,056	0,933	0,468	0,818	0,058	0,935

По результатам анализа установлено, что качественный состав анализируемых серий капсул «Биоастин» идентичен. В ходе исследования с использованием СО астаксантина, лютеина,  $\beta$ -каротина и систем растворителей I, II были обнаружены шесть каротиноидов, среди них идентифицированы атаксантин, кантаксантин, лютеин и  $\beta$ -каротин. Все эти четыре каротиноида заявлены производителем как компоненты капсул «Биоастин». Кроме того, использование систем растворителей I и II позволило обнаружить дополнительно два неидентифицированных соединения. Эти вещества были отнесены к классу каротиноидов, так как их зоны адсорбции были окрашены в красный и оранжевый цвета, а после обработки 10%-ным раствором фосфорно-молибденовой кислоты окрасились в синий цвет.

Следует отметить, что зоны адсорбции на хроматограммах образцов капсул «Биоастин», соответствующие атаксантину, находились на одном уровне с зонами адсорбции СО астаксантина (табл. 2)

Таблица 2

Результаты идентификации атаксантина в капсулах «Биоастин»

Каротиноид	Система растворителей/относительные коэффициенты подвижности ( $R_s$ )							
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	серия 23.12.13				серия 25.12.13			
астаксантин	0,98	1,01	1,00	0,98	1,00	1,01	0,98	0,99

Таким образом, в капсулах «Биоастин» методом ТСХ были идентифицированы четыре каротиноида, заявленные производителем, и обнаружены два неидентифицированных каротиноида.

С целью идентификации каротиноидов капсул «Лютеин 100%» был проведен ТСХ-анализ двух серий этой БАД. Данные результатов исследования образцов капсул «Лютеин 100%» методом ТСХ в четырех системах растворителей приведены в таблице 3.

**Таблица 3**

Результаты анализа капсул «Лютеин 100%» методом ТСХ

Каротиноид	Система растворителей/ коэффициенты подвижности ( $R_f$ )							
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	серия 01.04.14				серия 04.04.14			
<i>не идентифицирован</i>	0,074	0,05	—	0,375	0,073	0,048	—	0,374
<i>лютеин</i>	0,270	0,124	—	0,879	0,265	0,126	—	0,880
<i><math>\beta</math>-каротин</i>	0,484	0,818	0,033	0,960	0,489	0,821	0,035	0,958

Как показали результаты ТСХ-анализа с использованием СО лютеина и  $\beta$ -каротина и систем растворителей I, II и IV, в капсулах «Лютеин 100%» присутствуют эти каротиноиды. Кроме того, эти системы позволили установить наличие одного неидентифицированного каротиноида в капсулах. С помощью подвижной фазы III в сравнении с СО  $\beta$ -каротина был идентифицирован только  $\beta$ -каротин, остальные каротиноиды остались на линии старта.

#### **Выводы:**

1. Методом ТСХ в капсулах «Биоастин» идентифицированы четыре каротиноида, заявленные производителем: астаксантин, кантаксантин, лютеин и  $\beta$ -каротин. Подвижная фаза состава петролейный эфир — диэтиловый эфир — кислота уксусная (85:15:1) позволила обнаружить в образцах капсул «Биоастин» обеих серий два неидентифицированных соединения, которые были отнесены к классу каротиноидов.
2. ТСХ-анализ капсул «Лютеин 100%» показал наличие в них лютеина и  $\beta$ -каротина. Подвижные фазы I, II, IV позволили обнаружить один неидентифицированный каротиноид в капсулах «Лютеин 100%».
3. Подвижная фаза III, состоящая из петролейного эфира и бензола в соотношении 10:1, не дает возможности идентифицировать лютеин в капсулах «Биоастин» и «Лютеин 100%».
4. Все четыре подвижные фазы позволили идентифицировать  $\beta$ -каротин во всех проанализированных сериях капсул «Биоастин» и «Лютеин 100%».

#### **Список литературы**

1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир, 1986. – 422 с.

2. Курегян А.Г., Печинский С.В. Способ получения каротиноидов из растительного сырья // Современная медицина актуальные вопросы: материалы XXI междунар. заоч. науч.-практ. конф. 29 июля 2013 г. – Новосибирск: СибАК, 2013. – С. 94 –99.
3. Печинский С.В., Курегян А.Г. Влияние каротиноидов на иммунитет // Хим.-фармац. журн. – 2013.– Т. 47. – №10. – С. 3–8.
4. Печинский С.В., Курегян А.Г. Структура и биологические функции каротиноидов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 9. – С. 4–15.
5. Федеральный реестр БАД [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://obad.ru> (дата обращения 16 апреля 2015).
6. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Carotenoids Handbook. Basel AG.:Springer. 2004. – 646 p.
7. Delia B. Rodriguez-Amaya, Mieko Kimura Handbook for Carotenoid Analysis Washington.: Copyright HarvestPlus, 2004. – 59 p.
8. SandeshKamath B. Biotechnological production of microalgal carotenoids with reference to astaxanthin and evaluation of its biological activity // Dis. by D.Ph. – Department of Biotechnology of University of Mysore, Indian, 2007. – 208 p.

**Рецензенты:**

Степанова Э.Ф., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Кайшева Н.Ш. д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.