

О. Д. ВОЙТЮК ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-0391-4380>),

А. В. ЄГОРОВА ² (<https://orcid.org/0000-0002-6979-553X>), д-р хім. наук, проф.,

Ю. В. СКРИПИНЕЦЬ ² (<https://orcid.org/0000-0001-5826-1914>), канд. хім. наук,

С. М. КАШУЦЬКИЙ ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8075-757X>),

О. Г. КЛЮЧНИК ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-7722-4422>),

І. В. УМЕЦЬКА ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-6716-6713>)

¹ Товариство з додатковою відповідальністю ТДВ «ІНТЕРХІМ», м. Одеса

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, м. Одеса

ВЕРХ-ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ У ДІЄТИЧНІЙ ДОБАВЦІ «L-КАРНІТИН СМАРТ»

Ключові слова: валідація, L-карнітину L-тарtrat, аскорбінова кислота, ВЕРХ, дієтична добавка

O. D. VOITIUK ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-0391-4380>),

A. V. YEGOROVA ² (<https://orcid.org/0000-0002-6979-553X>),

YU. V. SCRYPYNETS ² (<https://orcid.org/0000-0001-5826-1914>),

S. N. KASHUTSKYU ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8075-757X>),

O. G. KLUCHNIK ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-7722-4422>),

I. V. UMETSKAYA ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-6716-6713>)

¹ Bogatsky Physico-chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Odesa

² «INTERCHEM SLC», Odesa

HPLC-DETERMINATION OF ACTIVE COMPONENTS IN DIETARY SUPPLEMENT «L-CARNITINE SMART»

Key words: validation, L-carnitine L-tartrate, ascorbic acid, HPLC, dietary supplement

У Сполучених Штатах Америки застосовують терміни «food supplement» або «dietary supplement», що перекладається як добавка до їжі або дієтична добавка. Дієтичні добавки – це композиції природних (або ідентичних природним) біологічно активних речовин, призначених для споживання з їжею або додавання до складу харчових продуктів із метою збагачення раціону [1]. Дієтичні добавки застосовують в Україні близько 10 років. Лікар може вводити їх у раціон дієтичного чи раціонально-го харчування для оптимізації обмінних процесів та функцій організму людини [2].

Дієтичні добавки випускають у вигляді фармацевтичних форм: порошків, таблеток, капсул, сиропів, екстрактів, настоїв, концентратів із рослинної, тваринної або мінеральної сировини, виготовлених хімічним та біотехнологічним способами. Сьогодні реалізацію біологічно активних добавок здійснюють через аптеки, спеціалізовані магазини тощо. В аптеки дієтичні добавки приймають за наявності «Висновку» державної санітарно-епідеміологічної експертизи. На думку авторів, доцільно здійснювати контроль якості згідно з Державною Фармакопеею України [3]. До складу дієтичних добавок входять: вітаміни, мікроелементи, амінокислоти, вуглеводи, ферменти, протеїни, пробіотики, масла та інше, які можуть надавати антиоксидантну, детоксикаційну, імуномодулювальну, адаптогенну дію тощо.

Виявлення фізіологічно активних компонентів у дієтичних добавках є складним завданням і потребує використання сучасних високоінформативних методів дослідження. Одним із найпотужніших і універсальних способів визначення є метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), що поєднує в собі селективне розділення досліджуваних сумішей та високу чутливість. Авторами розроблено

дієтичну добавку «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше (ТДВ «ІНТЕРХІМ»).

Відома низка методик визначення аскорбінової кислоти (АК) та L-карнітину L-тартрату (КТ) у дозованих лікарських формах, біоридинах та в харчових продуктах з використанням високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [4–8] та капілярного електрофорезу [9]. Серед запропонованих методик відсутні методики сумісного визначення L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти.

Мета цієї роботи полягає у розробленні простої у виконанні, експресної, селективної методики ВЕРХ-кількісного визначення вмісту активних компонентів L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти у двокомпонентній дієтичній добавці «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше.

Матеріали та методи дослідження

Об'єкт дослідження – дієтична добавка «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше (ТДВ «ІНТЕРХІМ»). Для кількісного визначення застосовували метод високоефективної рідинної хроматографії. Хроматографування проводили на рідинному хроматографі Agilent 1260 Infinity 2D LC System (США) з УФ-детектором. Для приготування рухомої фази, розчинів порівняння активних компонентів застосовували метанол (кваліфікації для ВЕРХ, МЕРСК), воду для хроматографії. У роботі використовували реактиви кваліфікації не нижче «ч.д.а.».

Значення рН розчинів вимірювали за допомогою рН-метра Seven Easy Mettler Toledo (Китай) із скляним електродом. Використовували аналітичні електронні ваги серії ED 124 S фірми Sartorius (Німеччина).

Методика.

Для кількісного визначення брали наважку порошку з 10 саше.

Випробовуваний розчин. 6 400 мг порошку (що відповідає 1 200 мг L-карнітину L-тартрату та 80,5 мг аскорбінової кислоти) вміщували у мірну колбу ємністю 200,0 мл, додавали 150 мл води для хроматографії, перемішували на магнітній мішалці протягом 15 хв, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішували. Одержаний розчин фільтрували крізь мембранний фільтр (0,20 мкм; Minisart RC 15, Sartorius, Німеччина).

Розчин порівняння. Близько 1 200 мг РСЗ L-карнітину L-тартрату та 80,5 мг РСЗ аскорбінової кислоти вміщували в мірну колбу ємністю 200,0 мл, додавали 150 мл води для хроматографії, перемішували на магнітній мішалці протягом 15 хв, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішували. Одержаний розчин фільтрували крізь мембранний фільтр (0,20 мкм; Minisart RC 15, Sartorius, Німеччина).

Фосфатний буферний розчин рН 3,0. 3,40 г калію дигідрофосфату розчиняли в 900 мл води для хроматографії, доводили до рН 3,0 фосфорною кислотою, додавали 560,0 мг натрію гептансульфонату моногідрату, розчиняли, доводили об'єм розчину до 1 000,0 мл водою для хроматографії та перемішували (витримували упродовж 24 год до початку аналізу).

Хроматографування здійснювали на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов: колонка з нержавіючої сталі розміром 0,25 м × 4,6 мм, заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії з розміром частинок 5 мкм; швидкість рухомої фази – 2,0 мл/хв; об'єм проби, що вводиться, – 5 мкл; детектування спектрофотометрично за довжини хвилі 265 нм протягом перших 2,5 хв, за довжини хвилі 205 нм протягом наступних 13 хв; температура колонки – 50 °С;

- рухома фаза А – фосфатний буферний розчин рН 3,0;
- рухома фаза В – метанол;
- рухома фаза С – вода для хроматографії.

Використовували таку програму градієнта:

Час, хв	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)	Рухома фаза С (% об/об)
0–5	99	1	0
5–10	99→25	1→50	0→25
10–15	25	50	25
Post time 10 хв			

Послідовність виходу компонентів така: аскорбінова кислота, ацесульфам, L-карнітин.

Хроматографічну систему вважають придатною, якщо:

- коефіцієнт розділення піків аскорбінової кислоти та ацесульфаму на хроматограмі випробовуваного розчину становить не менше 1,5;
- відносне стандартне відхилення для площ піків аскорбінової кислоти та L-карнітину на хроматограмах розчину порівняння відповідає вимогам ДФУ (2.2.46 N).

Результати дослідження та обговорення

Вміст L-карнітину L-тарtrate (аскорбінової кислоти) (X_3) в одному саше, у міліграмах, обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 200 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 200 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100}$$

де S_1 – площа піка L-карнітину (аскорбінової кислоти) на хроматограмі випробовуваного розчину;

S_0 – площа піка L-карнітину (аскорбінової кислоти) на хроматограмі розчину порівняння;

m_0 – маса наважки РСЗ L-карнітину L-тарtrate (аскорбінової кислоти), мг;

m_1 – маса наважки порошку, мг;

b – середня маса порошку в одному саше, мг;

P – вміст основної речовини в РСЗ L-карнітину L-тарtrate (аскорбінової кислоти), %.

Розрахований вміст $C_{18}H_{36}N_2O_{12}$ (L-карнітину L-тарtrate) в саше має бути від 2 700 мг до 3 300 мг, $C_6H_8O_6$ (аскорбінової кислоти) – від 157,5 мг до 218,75 мг, у перерахунку на середню масу одного саше.

Склад дієтичної добавки і деякі метрологічні характеристики методики аналізу подано в табл. 1.

Т а б л и ц я 1

Склад дієтичної добавки і деякі метрологічні характеристики методики аналізу

Склад	Активний компонент	Інтервал лінійності, мг/мл	Межа кількісного визначення, мг/мл
<i>активні компоненти:</i> аскорбінова кислота 175 мг L-карнітину L-тарtrate 3 000 мг <i>допоміжні речовини:</i> кислота лимонна, яблучна кислота, калію сорбат, ацесульфам калію, екстракт стевії (95%), ароматизатор ананасовий, рибофлавін (B2), ізомальт	аскорбінова кислота	0,245–0,455	0,04
	L-карнітину L-тарtrate	4,2–7,8	0,78

Експериментально встановлено оптимальні умови аналізу: тип сорбенту, склад елюента та його градієнт, довжина хвилі і час детектування для забезпечення виходу з колонки всіх компонентів (включаючи допоміжні речовини) (рис. 1), селективного поділу аскорбінової кислоти, ацесульфаму калію і L-карнітину L-тартрату, мінімізації часу аналізу. Методика розроблена відповідно до методичних та метрологічних вимог [3] та валідована за такими показниками: специфічність, лінійність, точність, межа кількісного визначення.

Час утримування піків L-карнітину та аскорбінової кислоти на хроматограмах випробовуваного розчину (рис. 1) та розчину порівняння (рис. 2), одержаних при випробуванні «Кількісне визначення» співпадають.

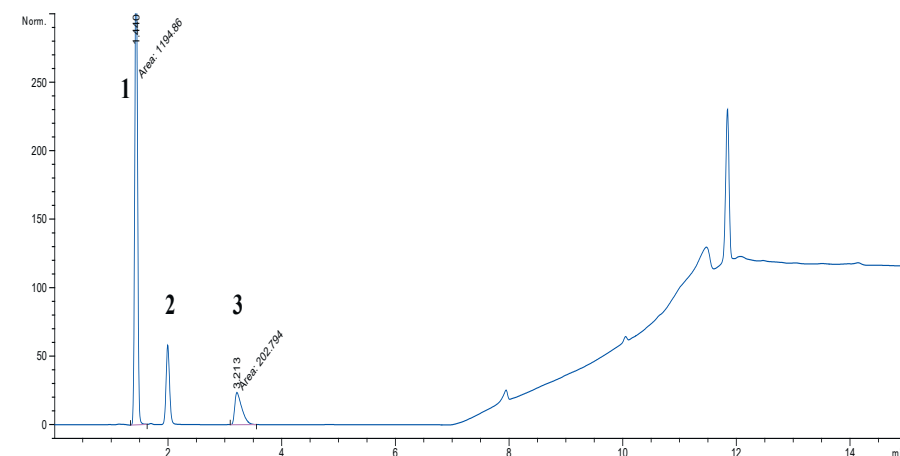


Рис. 1. Хроматограма випробовуваного розчину, одержаного при випробуванні «Кількісне визначення» (1 – аскорбінова кислота; 2 – ацесульфам; 3 – L-карнітин)

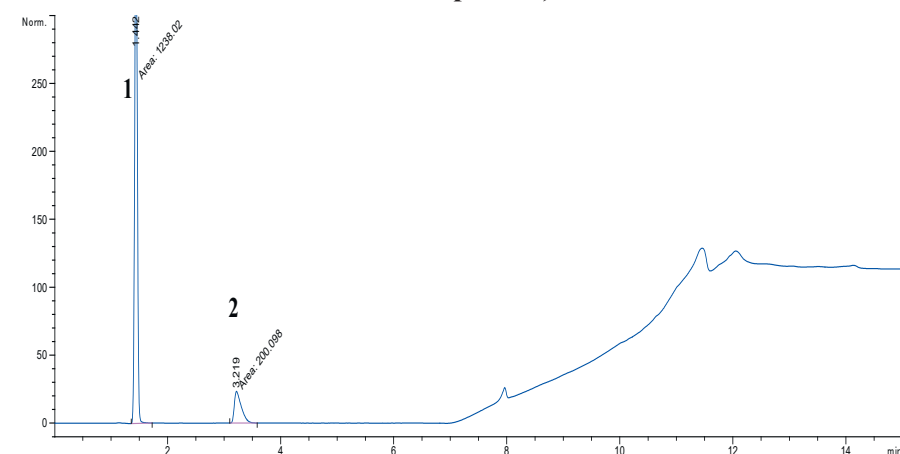


Рис. 2. Хроматограма розчину порівняння, одержаного при випробуванні «Кількісне визначення» (1 – аскорбінова кислота; 2 – L-карнітин)

Результати визначення в експериментальних зразках та метрологічні характеристики наведено у табл. 2. Ці дані свідчать про достатню точність та збіжність методики.

Результати кількісного визначення L-карнітину L-тарtrate та аскорбінової кислоти у дієтичній добавці «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше ($f = n - 1 = 4$; $P = 0,95$; $t(0,95; 4) = 2,78$)

Компонент	X_i , мг	\bar{X} , мг	S^2	S	$\Delta \bar{X}$, мг	$E = \frac{\Delta \bar{X}}{\bar{X}} \cdot 100, \%$
L-карнітину L-тарtrate	3083,21 3082,33 3088,03 3070,50 3075,77	3079,97	47,09	6,86	8,53	0,28
Аскорбінова кислота	199,22 194,08 191,13 191,49 192,87	193,76	10,69	3,27	4,07	2,10

Перевірка специфічності

Допоміжні речовини (плацебо) не заважають визначенню L-карнітину L-тарtrate та аскорбінової кислоти, що дає змогу говорити про специфічність запропонованого методу визначення цих компонентів у саше (рис. 3). Для ідентифікації піка, що є на хроматограмах плацебо, записано хроматограму розчину ацесульфаму калію (рис. 4). Встановлено, що пік з часом утримування близько 2,2 хв є піком ацесульфаму.

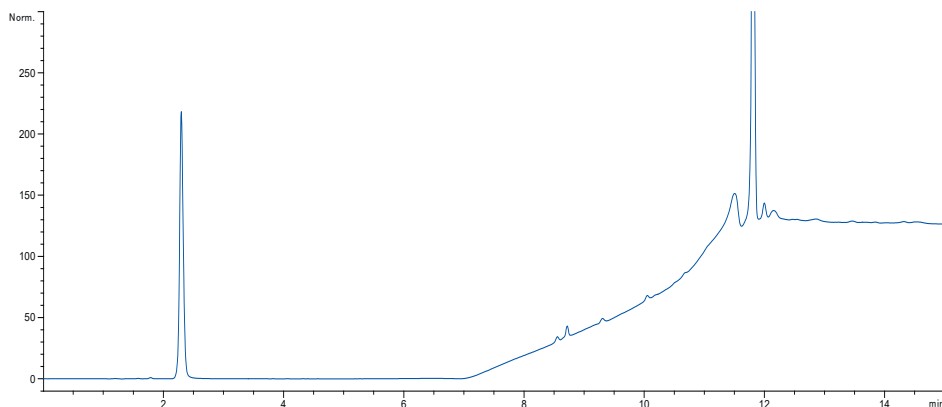


Рис. 3. Хроматограма розчину плацебо

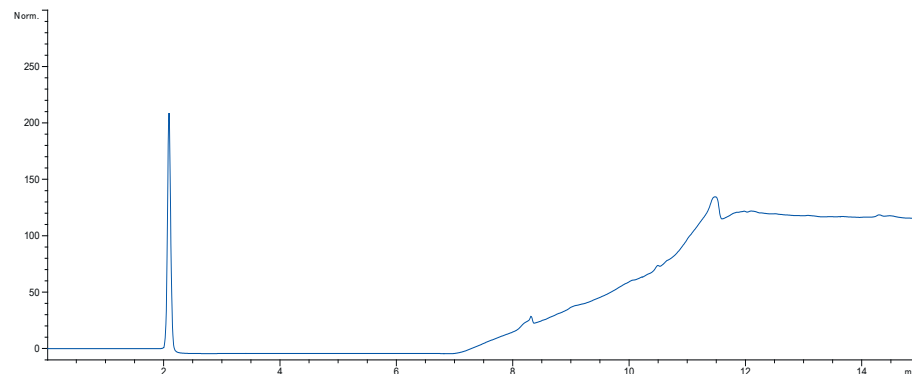


Рис. 4. Хроматограма розчину ацесульфаму калію

Перевірка лінійності і діапазону використання методики для тесту «Кількісне визначення»

Встановлені лінійні залежності площ піків L-карнітину та аскорбінової кислоти в тесті «Кількісне визначення» від концентрацій L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти в інтервалах 4,2–7,8 мг/мл та 0,245–0,455 мг/мл відповідно.

Побудова градувальних графіків.

Вихідний розчин L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти.

Близько 3 000 мг РСЗ L-карнітину L-тартрату та 175 мг РСЗ аскорбінової кислоти вміщували у мірну колбу ємністю 100,0 мл, додавали 70 мл води для хроматографії, перемішували на магнітній мішалці протягом 15 хв, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішували. Одержаний розчин фільтрували крізь мембранний фільтр (0,20 мкм; Minisart RC 15, Sartorius, Німеччина).

Випробовувані розчини. У мірні колби ємністю 25,0 мл вносили 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 та 6,5 мл вихідного розчину L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти, доводили об'єм розчину водою для хроматографії до позначки та перемішували.

Розчини використовували свіжоприготованими.

За отриманими результатами будували градувальні графіки, відкладаючи на осі абсцис значення концентрацій L-карнітину L-тартрату (аскорбінової кислоти), а по осі ординат – значення площ піків, у нормалізованих координатах.

Отримані прямі наведено на рис. 5 та описані рівняннями:

$$S_1 = 1,01335 \cdot x_1 - 2,66607,$$

де x_1 – вміст L-карнітину L-тартрату в розчині, %;

S_1 – площа піка L-карнітину, %.

$$S_2 = 1,00784 \cdot x_2 - 0,75086,$$

де x_2 – вміст аскорбінової кислоти в розчині, %;

S_2 – площа піку аскорбінової кислоти, %.

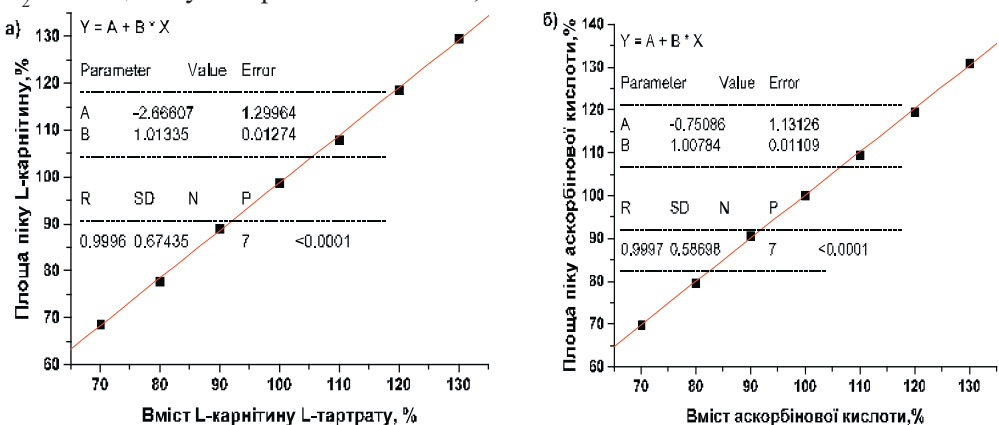


Рис. 5. Градувальні графіки для визначення L-карнітину L-тартрату (а) та аскорбінової кислоти (б)

Метрологічні характеристики лінійної залежності для визначення L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти наведено у табл. 3.

Т а б л и ц я 3

Метрологічні характеристики лінійної залежності для визначення L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти

Величина	Значення		Допуски	Висновки
	L-карнітину L-тартрат	аскорбінова кислота		
b	1,01335	1,00784	Близько до 1	Відповідає
a	-2,66607	-0,75086	$\leq 5,1$	Відповідає
R	0,9996	0,9997	$\geq 0,9924$	Відповідає

Лінійні залежності методики характеризують здатність отримання аналітичних сигналів, прямопропорційних вмісту визначаємих речовин у випробовуваному зразку.

Дані, наведені в табл. 2, свідчать про «жорсткість» отриманих лінійних залежностей і підтверджують лінійність методик. Систематична помилка методик незначуща, оскільки отримані значення коефіцієнтів «а» менше припустимого.

Перевірка правильності

Результати визначення L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти для тесту «Кількісне визначення», в інтервалі вмісту від 960 мг до 1 440 мг (80–120% від 1 200 мг) для L-карнітину L-тартрату та в інтервалі вмісту від 64,4 мг до 96,60 мг (80–120% від 80,5 мг) для аскорбінової кислоти в модельних сумішах, відповідних складу дієтичної добавки «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше, наведено в табл. 4.

Т а б л и ц я 4

Результати визначення L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти в модельних сумішах

Активний компонент	Введено, мг	Знайдено, мг	R (знайдено/введено), %
L-карнітину L-тарtrat	960,3	959,9	99,96
	960,1	948,2	98,76
	960,0	952,1	99,18
	1200,5	1196,4	99,66
	1200,3	1189,2	99,08
	1200,1	1185,3	98,77
	1440,4	1440,3	99,99
	1440,0	1440,2	100,01
	1440,3	1439,3	99,93
Аскорбінова кислота	64,45	64,48	100,05
	64,41	64,37	99,94
	64,43	64,44	100,02
	80,52	80,01	99,37
	80,50	79,51	98,77
	80,54	79,79	99,07
	96,61	96,6	99,99
	96,64	96,65	100,01
	96,60	96,68	100,08

Правильність оцінюється по відкриваємості R ($R = \text{знайдено/введено} \cdot 100\%$) і її довірчого інтервалу (ΔR) при заданій ймовірності ($P = 95\%$): $R + \Delta R$.

Правильність визначення L-карнітину L-тартрату для тесту «Кількісне визначення» становить $(99,48 \pm 0,41)\%$, аскорбінової кислоти $(99,70 \pm 0,38)\%$.

Якщо межі відкриваємості з урахуванням довірчого інтервалу не виходять за межі 98,0–102,0% для тесту «Кількісне визначення», то немає необхідності тестувати методику на відсутність значимої систематичної помилки. Результати, подані в табл. 4, відповідають цим умовам.

В и с н о в к и

1. Запропонована та валідована проста у виконанні, експресна та селективна методика ВЕРХ-кількісного визначення L-карнітину L-тартрату та аскорбінової кислоти у двокомпонентній дієтичній добавці «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше.

2. Експериментально встановлено оптимальні умови аналізу: тип сорбенту, склад елюента та його градієнт, довжину хвилі і час детектування для забезпечення виходу з колонки всіх компонентів (включаючи допоміжні речовини), селективного поділу аскорбінової кислоти, ацесульфаму калію і L-карнітину L-тартрату, мінімізації часу аналізу. Методика валідована за такими показниками: специфічність, лінійність, точність, межа кількісного визначення.

Список використаної літератури

1. *Слободская Н. С.* Биологически активные добавки: значение и применение // Журнал ГрГМУ – 2015. – № 4. – С. 119–122.

2. *Позняковский В. М., Чугунова О. В., Тамова М. Ю.* Пищевые ингредиенты и биологически активные добавки. Учебник. – ООО «Научно-издательский центр ИНФРА-М», 2017. – 143 с.

3. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид, доп. 2. – Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

4. *Parbhunath O. L., Rautenbach F., Davison G., Marnewick J. L.* Optimization and Validation of a Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography Assay with Ultra-Violet Detection for Measuring Total L-Ascorbic Acid in Food and Beverage Products // J. Anal. Bioanal. Tech. – 2014. – V. 5. – P. 201–206. <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000201>.

5. *Mitic S. S., Kostic D. A., Naskovicokic D. C., Mitic M. N.* Rapid and Reliable HPLC Method for the Determination of Vitamin C in Pharmaceutical Samples Tropical // J. Pharm. Res. – 2011. – V. 10 (1). – P. 105–111.

6. *He G. X., Dahl T.* Improved high-performance liquid chromatographic method for analysis of L-carnitine in pharmaceutical formulations // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2000. – V. 23. – P. 315–321.

7. *McEntyre C. J., Lever M., Storer M. K.* A high performance liquid chromatographic method for the measurement of total carnitine in human plasma and urine // Clin. Chim. Acta. – 2004. – V. 344. – P. 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.02.010>.

8. *Qadir M. A., Ahmed M., Hussain W. A., Tahir M. S.* Development and Validation of New HPLC Method for Simultaneous Estimation of L-Lysine Hydrochloride and L-Carnitine-L-Tartrate in Pharmaceutical Dosage Form // Indian J. Pharm. Sci. – 2015. – V. 77 (4). – P. 434–438. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.164772>.

9. *Laura S. H., Maria C. P., Carmen G. R., Antonio L. C., Maria L. M.* Determination of L-and D carnitine in dietary food supplements using capillary electrophoresis tandem mass spectrometry // Food Chem.– 2010. – V. 120. – P. 921–928. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.004>.

References

1. *Slobodskaya N. S.* Biologicheskii aktivnyie dobavki: znachenie i primenenie // Zhurnal GrGMU. – 2015. – № 4. – S. 119–122.

2. *Poznyakovskiy V. M., Chugunova O. V., Tamova M. Yu.* Pischevyie ingredientyi i biologicheskii aktivnyie dobavki. Uchebnik. – ООО «Nauchno-izdatelskiy tsentr INFRA-M», 2017. – 143 s.

3. Derzhavna Farmakopeya UkraYini / DP «Naukovo-ekspertniy farmakopeyniy tsentr». 1-e vid., dop. 2. – Harkiv: DP «Naukovo-ekspertniy farmakopeyniy tsentr», 2008. – 620 s.

4. Parbhunath O. L., Rautenbach F., Davison G., Marnewick J. L. Optimization and Validation of a Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography Assay with Ultra-Violet Detection for Measuring Total L-Ascorbic Acid in Food and Beverage Products // J. Anal. Bioanal. Tech. – 2014. – V. 5. – P. 201–206. <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000201>.

5. Mitic S. S., Kostic D. A., Naskovicokic D. C., Mitic M. N. Rapid and Reliable HPLC Method for the Determination of Vitamin C in Pharmaceutical Samples Tropical // J. Pharm. Res. – 2011. – V. 10 (1). – P. 105–111.

6. He G. X., Dahl T. Improved high-performance liquid chromatographic method for analysis of L-carnitine in pharmaceutical formulations // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2000. – V. 23. – P. 315–321.

7. McEntyre C. J., Lever M., Storer M. K. A high performance liquid chromatographic method for the measurement of total carnitine in human plasma and urine // Clin. Chim. Acta. – 2004. – V. 344. – P. 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.02.010>.

8. Qadir M. A., Ahmed M., Hussain W. A., Tahir M. S. Development and Validation of New HPLC Method for Simultaneous Estimation of L-Lysine Hydrochloride and L-Carnitine-L-Tartrate in Pharmaceutical Dosage Form // Indian J. Pharm. Sci. – 2015. – V. 77 (4). – P. 434–438. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.164772>.

9. Laura S. H., Maria C. P., Carmen G. R., Antonio L. C., Maria L. M. Determination of L-and D carnitine in dietary food supplements using capillary electrophoresis tandem mass spectrometry // Food Chem. – 2010. – V. 120. – P. 921–928. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.004>.

Надійшла до редакції 15 листопада 2018 р.

Прийнято до друку 15 грудня 2018 р.

О. Д. Войтюк ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-0391-4380>),

А. В. Єгорова ² (<https://orcid.org/0000-0002-6979-553X>),

Ю. В. Скрипинець ² (<https://orcid.org/0000-0001-5826-1914>),

С. М. Кашуцький ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8075-757X>),

О. Г. Ключник ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-7722-4422>),

І. В. Умецька ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-6716-6713>)

¹ Товариство з додатковою відповідальністю ТДВ «ІНТЕРХІМ», м. Одеса

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, м. Одеса

ВЕРХ-ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ У ДІЄТИЧНІЙ ДОБАВЦІ
«L-КАРНІТИН СМАРТ»

Ключові слова: валідація, L-карнітину L-тарtrat, аскорбінова кислота, ВЕРХ, дієтична добавка

А Н О Т А Ц І Я

Дієтичні добавки – це композиції біологічно активних речовин, призначених для споживання з їжею або додавання до складу харчових продуктів із метою оптимізації обмінних процесів і функцій організму людини. До складу дієтичних добавок входять вітаміни, мікроелементи, амінокислоти, ферменти, протеїни, пробіотики, масла, які можуть надавати антиоксидантну, детоксикаційну, імуномодулювальну, стимулювальну та ін. дію.

Виявлення фізіологічно активних компонентів у дієтичних добавках є складним завданням і вимагає використання сучасних високоінформативних методів дослідження. Одним із найбільш потужних і універсальних способів визначення є метод вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), що поєднує в собі селективне розділення досліджуваних сумішей та високу чутливість.

Метою цього дослідження було розроблення простої у виконанні, експресної та селективної методика визначення аскорбінової кислоти і L-карнітину L-тартрату в багатокомпонентній дієтичній добавці, що випускають у вигляді саше, з використанням ВЕЖХ зі спектрофотометричним детектуванням.

Об'єкт дослідження – дієтична добавка «L-КАРНІТИН смарт», порошок для орального розчину по 16 г у саше (ТДВ «ІНТЕРХІМ»). Для кількісного визначення застосовували метод високоефективної рідинної хроматографії. Хроматографування здійснювали на рідинному хроматографі Agilent 1260 Infinity 2D LC System (США) з УФ-детектором.

Експериментально встановлено оптимальні умови аналізу: тип сорбенту, склад елюента та його градієнт, довжину хвилі і час детектування для забезпечення виходу з колонки усіх компонентів (включаючи допоміжні речовини), селективного поділу аскорбінової кислоти, ацесульфаму калію та L-карнітину L-тартрату, мінімізації часу аналізу. Методика валідована за такими показниками: специфічність, лінійність, точність, межа кількісного визначення.

О. Д. Войтюк ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-0391-4380>),
А. В. Егорова ² (<https://orcid.org/0000-0002-6979-553X>),
Ю. В. Скрипинец ² (<https://orcid.org/0000-0001-5826-1914>),
С. Н. Кашуцкий ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8075-757X>),
О. Г. Ключник ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-7722-4422>),
И. В. Умецкая ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-6716-6713>)

¹ *Общество с дополнительной ответственностью ОДО «ИНТЕРХИМ», г. Одеса*

² *Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, г. Одесса*

ВЭЖХ-ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ В ДИЕТИЧЕСКОЙ ДОБАВКЕ «L-КАРНИТИН СМАРТ»

Ключевые слова: валидация, L-карнитина L-тарترات, аскорбиновая кислота, ВЭЖХ, диетическая добавка

А Н Н О Т А Ц И Я

Диетические добавки – это композиции биологически активных веществ, предназначенных для потребления с пищей или добавления в состав пищевых продуктов с целью оптимизации обменных процессов и функций организма человека. В состав диетических добавок входят витамины, микроэлементы, аминокислоты, ферменты, протеины, пробиотики, масла, которые могут оказывать антиоксидантное, детоксикационное, иммуномодулирующее, адаптогенное и др. действие.

Обнаружение физиологически активных компонентов в диетических добавках является сложной задачей и требует использования современных высокоинформативных методов исследования. Одним из наиболее мощных и универсальных способов определения является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), сочетающий в себе селективное разделение исследуемых смесей и высокую чувствительность.

Целью этого исследования была разработка простой в выполнении, экспресной и селективной методика определения аскорбиновой кислоты и L-карнитина L-тартрата в многокомпонентной диетической добавке, выпускаемой в виде саше, с использованием ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием.

Объект исследования – диетическая добавка «L-КАРНИТИН смарт», порошок для орального раствора по 16 г в саше (ОДО «ИНТЕРХИМ»). Для количественного определения применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Хроматографирование осуществляли на жидкосном хроматографе Agilent 1260 Infinity 2D LC System (США) с УФ-детектором.

Експериментально установленны оптимальные условия анализа: тип сорбента, состав элюента и его градиент, длина волны и время детектирования для обеспечения выхода из колонки всех компонентов (включая вспомогательные вещества), селективного разделения аскорбиновой кислоты, ацесульфаму калия и L-карнитина L-тартрата, минимизации времени анализа. Методика валидирована по таким показателям: специфичность, линейность, точность, предел количественного определения.

O. D. Voitiuk ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-0391-4380>),
A. V. Yegorova ² (<https://orcid.org/0000-0002-6979-553X>),
Yu. V. Scrypynets ² (<https://orcid.org/0000-0001-5826-1914>),
S. N. Kashutskyy ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8075-757X>),
O. G. Kluchnik ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-7722-4422>),
I. V. Umetskaya ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-6716-6713>)

¹ *Bogatsky Physico-chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Odesa*

² «*INTERCHEM SLC*», *Odesa*

HPLC-DETERMINATION OF ACTIVE COMPONENTS IN DIETARY SUPPLEMENT «L-CARNITINE SMART»

Key words: validation, L-carnitine L-tartrate, ascorbic acid, HPLC, dietary supplement

ABSTRACT

Dietary supplements are compositions of biologically active substances intended for consumption with food or addition to food products for the purpose of optimization of metabolic processes and functions of the human body. The dietary supplements include: vitamins, trace elements, amino acids, enzymes, proteins, probiotics, oils that can provide antioxidant, detoxifying, immunomodulatory, adaptogenic effects, etc.

Detection of physiologically active components in dietary supplements is a difficult task and requires the use of modern highly informative research methods. One of the most powerful and versatile methods of determination is the method of high performance liquid chromatography (HPLC), combining the selective separation of the studied mixtures and high sensitivity.

The purpose of this study was to develop a simple, rapid and selective method for determining ascorbic acid and L-carnitine L-tartrate in a multicomponent dietary supplement, produced in the form of sachets, using HPLC with spectrophotometric detection.

The object of the study is the dietary supplement «L-CARNITINE smart», powder for oral solution of 16 g each in a sachet (INTERCHEM). For the quantitative determination of the applied method of high-performance liquid chromatography. Chromatography was performed on an Agilent 1260 Infinity 2D LC System (USA) liquid chromatograph with a UV detector.

The optimal conditions for the analysis have been experimentally determined: the type of sorbent, the composition of the eluent and its gradient, the wavelength and the detection time for ensuring the release of all components (including auxiliary substances) from the column, selective separation of ascorbic acid, potassium acesulfame and L-carnitine L-tartrate, minimization analysis time. The method has been validated according to the following parameters: specificity, linearity, accuracy, limit of quantitation.

Електронна адреса для листування з авторами: yegorova@interchem.com.ua

(Єгорова А. В.)