



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

260286

(11)

(B1)

(22) Prihlášené 14 07 86
(21) (PV 5333-86.C)

(40) Zverejnené 16 05 88

(45) Vydané 15 04 89

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 30/06

(75)

Autor vynálezu

LUKAČOVIČOVÁ ANNA ing., KARABINOŠOVÁ EVA ing., HLOHOVEC

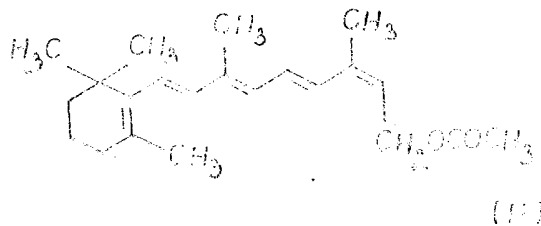
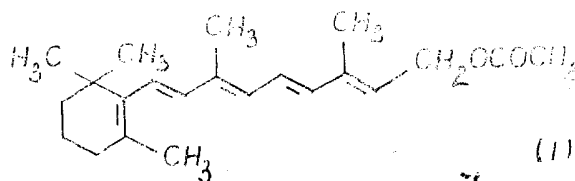
(54) Spôsob stanovenia acetátu vitamínu A

1

Riešenie sa týka stanovenia acetátu all-trans vitamínu vzorca I a vzorca II v sypkých materiáloch metódou kvapalinovej chromatografie na silikagéli s chemicky viazanými oktaedecylovými skupinami, pričom vzorka sa pripraví vyluhovaním vitamínu A zo sypkého materiálu zmesou vody a polárneho rozpúšťadla s vodou sa miešajúceho, za izokratickej elúcie acetonitril—voda (83 : 17) a detekcie eluovaných zložiek meraním absorpcie ultrafialového žiarenia pri vlnovej dĺžke 325 nm. Riešenie sa výhodne použije pri stanovení vitamínu A pri jeho výrobe v stupni medzioperačná kontrola, tiež pri stanovení obsahu vitamínu A v sypkých hmotách vyrábaných pre kŕmne účely.

2

Vynález sa týka stanovenia vitamínu A vzorca I a vzorca II v sypkých materiáloch kvapalinovou chromatografiou na silikagéli s chemicky viazanými okta-decylovými skupinami.



Doteraz používanou metódou pre stanovenie acetátu vitamínu A v sypkých produktoch je spektrofotometrická metóda, ktorej malá selektivita a prítomnosť balastných látok absorbujúcich v oblasti 320 až 330 nm ruší presnosť a správnosť výsledkov (Knobloch E., Fyzikálne chemické metódy stanovení vitamínů, 1956). Oddelenie týchto balastných látok čiastočne rieši AO č. 246 254 sorpciou na stĺpci Al_2O_3 .

Analýzou vitamínu A plynovou chromatografiou sa zaoberal rad autorov (Vecchi M., Vetter W., Walther V., Jermstad S. J., Schutt G. W., *Helv. Chim. Acta* 50, 5, 1967, 126; Swecley C. C., Bentley R., Mehite M., Wells W., *J. Amer. Chem. Soc.* 85, 1963, 2 497).

Aplikácia tejto fyzikálno-chemickej metódy je možná iba po predchádzajúcej sili-kácii vitamínu A, ktorá však, ako zistili autori, neprebíha kvantitatívne, na kolóne nastáva čiastočný rozklad a čiastočná izomerizácia vitamínu A. Všetky tieto nedostatky odstraňuje spôsob stanovenia acetátu vitamínu A metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie. Autori (Steuerle H., *Journal Chrom.* 206, 1981, 2, 319 až 326), použili na stanovenie izomérov acetátu vitamínu A absorpčnú chromatografiu s mobilnou fázou izooktán — diizopropyléter.

V prírodných materiáloch boli analyzované izoméry all-trans a 13-cis vitamínu A (Erberg D. C., Hereff J. C., Petter R. H., *J. Agric. Food. Chem.*, vol. 25, no 5, 1977) vysokoúčinnnou kvapalinovou chromatografiou na náplniach so zakotvenou obrátenou fázou typu okta-decylsilánu izokratickou elúciou ako aj adsorpčnou chromatografiou po predchádzajúcom zmydlení.

Nevýhodou týchto postupov je zložitá úprava vzorky (izolácia, zmydlenie) a žiadny z nich nepojednáva o stanovení acetátu vitamínu A v sypkých produktoch.

Spôsob stanovenia podľa vynálezu, ktorý je nový, doteraz nepopísaný, predstavuje účinný spôsob kontroly a riadenia výrobného procesu sypkých foriem acetátu vitamínu A vzorca I a II

Uvedené nedostatky spektrofotometrického stanovenia u sypkých foriem acetátu vitamínu A sa podarilo odstrániť vypracovaním stanovenia acetátu vitamínu A kvapalinovou chromatografiou na silikagéli s chemicky viazanými okta-decylovými skupinami tým spôsobom, že malé množstvo sypkej hmoty sa rozloží malým množstvom vody, k zmesi sa pridá polárne rozpúšťadlo s vodou miešateľné, zmes sa intenzívne trepe 5 minút a po následnej filtrácii sa kvantifikácia uskutoční metódou vonkajšieho štandardu, príslušný podiel pripraveného roztoku sa dávkuje do kolóny naplnenej sorbentom tvoreným silikagélom pokrytým chemicky viazanými okta-decylovými skupinami za izokratickej elúcie zmesou acetonitril : voda (83:17), detekcia eluovaných látok sa uskutoční meraním absorpcie ultrafialového žiarenia pri vlnovej dĺžke 325 nm.

Vynález sa výhodne použije pri stanovení acetátu vitamínu A pri jeho výrobe v stupni medzioperačná kontrola, tiež pri stanovení obsahu vitamínu A v sypkých hmotách vyrábaných pre kŕmne účely.

Postup podľa vynálezu je objasnený na príkladoch prevedenia bez toho, že by tieto obmedzovali predmet vynálezu.

Príklad 1

0,150 g sypkého materiálu sa naváži do odmernej banky na 100 ml. Pridá sa 2 ml destilovanej vody, teplej 50 až 55 °C a zmes sa mieša na vodnom kúpeli pri teplote 55 až 60 °C po dobu 5 minút. Po ochladení na teplotu miestnosti sa k zmesi pridá izopropylalkohol a doplní sa ním odmerná banka po značku. Obsah sa ďalej pretrepáva po dobu 5 minút, potom sa filtruje cez Whatmanov filtračný papier. Z filtrátu sa nastre-

kuje 10 μ l do kvapalinového chromatografu.

Podmienky stanovenia: kolóna dĺžky 250 milimetrov, prierezu 4 mm, naplnená sférickým sorbentom tvoreným silikagélom pokrytým oktaedecylovými skupinami (Li-Chrosorb RP-18) s priemernou veľkosťou

častíc 7 μ m, mobilná fáza zloženia acetonitril : voda (83 : 17), prietok 1,5 cm³ min⁻¹. Na detekciu sa použije detektor s meniteľnou vlnovou dĺžkou, nastavený na 325 nm.

Kvantifikácia sa uskutoční metódou vonkajšieho štandardu.

$$\text{Obsah acetátu all-trans vitamínu A v n. j./g} = \frac{P_{vz}}{P_{st}} \cdot \frac{n_{st}}{n_{vz}} \cdot f \cdot 2\,907\,000$$

$$\text{Obsah acetátu 13-cis vitamínu A v m. j./g} = \frac{P_{vz}}{P_{13}} \cdot \frac{n_{st}}{n_{vz}} \cdot 2\,907\,000$$

$f = 1,089$ — prepočítací faktor na 13 cis izomér, prevzatý z literatúry (Steuerle, H., Journal Chrom., 206, 1981, 2, 319 až 326). Výsledok analýzy:

acetátu 13-cis-vitamínu A je 67 000 m. j./g
acetátu all-trans-vitamínu A 360 000 m. j.
na gram
spolu: 427 000 m. j./g

Výsledok spektrálnej analýzy podľa PNY je 380 000 m. j./g.

Výsledok analýzy podľa PV súhlasí s celkovou materiálovou bilanciou.

Príklad 2

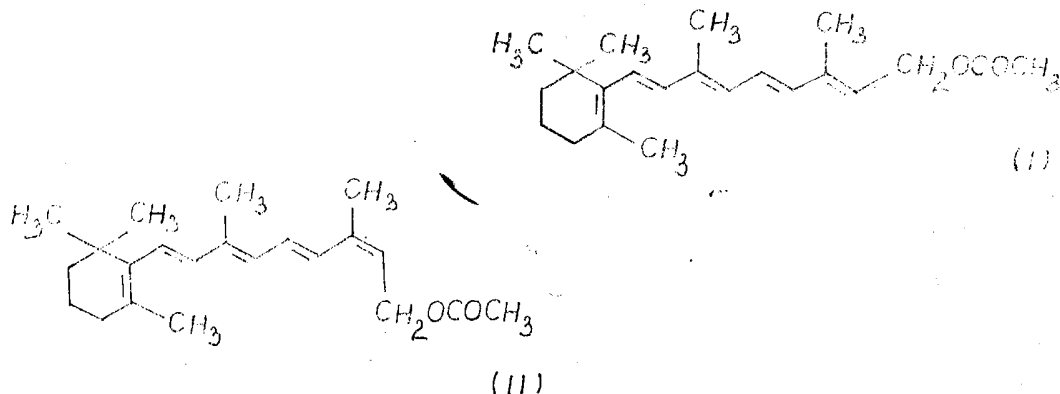
Bola pripravená modelová vzorka o obsahu acetátu vitamínu A 400 000 m. j./g. Analyzovalo sa podľa postupu uvedeného v príklade 1. Stanovil sa obsah 396 000 m. j./g.

Príklad 3

Podľa postupu uvedeného v príklade 1 bola analyzovaná vzorka sypkého acetátu vitamínu A z dovozu s deklarovaným obsahom 325 000 m. j./g. Stanovil sa obsah 326 400 m. j./g.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob stanovenia acetátu vitamínu A vzorca I a vzorca II

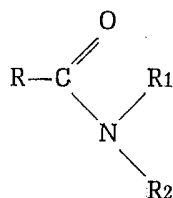


v sypkých materiáloch kvapalinovou chromatografiou na silikagéli s chemicky viazanými oktaedecylovými skupinami vyznačený tým, že sa sypká hmota zmieša s vodou, k zmesi sa pridá polárne rozpúšťadlo miešateľné s vodou, zmes sa intenzívne trepe 5 minút a po prefiltrovaní sa filtrát nastrekuje do kvapalinového chromatografu.

2. Spôsob podľa bodu 1 vyznačený tým, že sa ako polárne rozpúšťadlo výhodne použije alkohol C₁ až C₆.

3. Spôsob podľa bodu 2 vyznačený tým, že sa použije ako polárne rozpúšťadlo ace-

tonitril, dimetylsulfoxid alebo amid karboxylových kyselín všeobecného vzorca



kde R sú H alebo alkyly C₁ až C₃, výhodne H, C₁; R₁, R₂ sú H a C₁ až C₃ alkyly.