

УДК 543.544.5.068.7

О ПРОБОПОДГОТОВКЕ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ТОКОФЕРОЛОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ

© *С.Н. Петрова**, *И.А. Максимова*, *А.Р. Ещенко*, *Е.М. Минеева*

*Ивановский государственный химико-технологический университет,
пр. Шереметьевский, 7, Иваново, 153000 (Россия), e-mail: psn903@mail.ru*

Токоферолы являются важными биологически активными веществами с доказанной антиоксидантной активностью, поэтому находят широкое применение для обогащения как пищевых, так и продуктов другого назначения. Синтезированные токоферолы, как правило, находятся в этерифицированной форме; их пробоподготовка для количественного определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии включает высокотемпературный щелочной гидролиз. Пробоподготовка маслосодержащих объектов с низкой влажностью, содержащих природные токоферолы в неэтерифицированной форме, осуществляется методом прямой экстракции неполярным растворителем. В данной работе проведено определение токоферолов в природных материалах (клюква и овсяные хлопья) методом ВЭЖХ с проведением пробоподготовки в двух вариантах: с применением щелочного гидролиза и методом прямой экстракции неполярным растворителем. Показано, что использование нормально-фазовой ВЭЖХ с подготовкой образца экстракцией гексаном и низкотемпературной выдержкой с последующим центрифугированием позволяет определить как общее содержание токоферолов, так и его отдельных форм. Этот вариант менее трудоемок, требует меньшего количества реактивов, что значительно влияет на стоимость проведения анализа. В случае проведения пробоподготовки со щелочным гидролизом возможно определение только общего количества токоферолов. При этом получили завышенные результаты, что, вероятно, связано с деструктивным разрушением как токоферолов, так и токотриенолов, присутствующих в объектах растительного происхождения, а на хроматограммах наблюдается один большой пик, включающий все продукты.

Ключевые слова: токоферолы, ВЭЖХ, щелочной гидролиз токоферолов, клюква, овсяные хлопья.

Введение

Витамины являются важнейшими биологически активными веществами, незаменимыми в рационе питания человека. Токоферолы, выполняющие роль биологических антиоксидантов, препятствуют разрушению эритроцитов и обеспечивают бесперебойное поступление имеющегося в них кислорода во все клетки организма; расширяют кровеносные сосуды и сохраняют их эластичность; уменьшают свертывание крови, воспалительные процессы; замедляют старение кожи; влияют на функцию половых и других эндокринных желез [1, 2]. Основными источниками витамина Е являются продукты растительного происхождения, среди которых лидируют растительные масла. Он содержится также в зеленых бобах, горохе, салате, луке зеленом, ягодах и зерновых культурах [3].

Актуальным является определение содержания токоферолов в различных объектах природного и синтетического происхождения. Несмотря на многообразие способов качественного и количественного определения витаминов данной группы [4–6], наиболее применяемым в настоящее время является метод ВЭЖХ [7–15], который рекомендован для контроля содержания витамина Е как в пищевых продуктах, так и в кор-

мах для животных [16–18]. В нормативных документах предлагаются два варианта пробоподготовки исследуемых материалов. Пробы, содержащие неэтерифицированные токоферолы (растительные масла, маргарин, сливочное масло), готовят прямой экстракцией неполярным растворителем (гексаном) и анализируют методом нор-

Петрова Светлана Николаевна – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры технологии пищевых продуктов и биотехнологии, e-mail: psn903@mail.ru
Максимова Ирина Александровна – магистрант, e-mail: psn903@mail.ru
Ещенко Анастасия Руслановна – магистрант, e-mail: psn903@mail.ru
Минеева Елена Михайловна – магистрант, e-mail: psn903@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

мально-фазовой ВЭЖХ. В этом же стандарте пробоподготовку для прочих продуктов предлагается проводить по многостадийной схеме, включающей омыление образца в присутствии щелочи при температуре до 100 °С в течение 40 мин, трехкратное экстрагирование токоферолов из полученного раствора органическими растворителями, промывку и последующее концентрирование экстракта, разбавление полученного остатка в соответствующем растворителе. Эту же схему пробоподготовки рекомендуют при анализе функциональных пищевых продуктов [17]. Такая подготовка образцов слишком трудоемка. Кроме того, не исключена возможность разрушения и потерь токоферолов [19–21]. Щелочной гидролиз позволяет освободить токоферолы из их этерифицированных форм (ацетатов или пальмитатов). В продуктах растительного происхождения токоферолы присутствуют в неэтерифицированной форме и наиболее приемлемым вариантом пробоподготовки является способ прямой экстракции неполярным растворителем.

Цель настоящей работы – определение содержания витамина Е в натуральных продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при использовании различных вариантов пробоподготовки.

Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись ягоды клюквы и овсяные хлопья. Овсяные хлопья измельчали на мельнице до порошкообразного состояния. Ягоды клюквы замораживали в жидком азоте и полученный твердый полупродукт измельчали в фарфоровой ступке, что позволило провести дезинтеграцию (разрушение) клеточной стенки, как указано в [22].

Определение токоферолов осуществляли методом ВЭЖХ в двух вариациях. В первом случае использовали вариант обращенно-фазовой (ОФ) хроматографии, предлагаемый в государственном стандарте, с использованием диодно-матричного детектора. Подготовку исследуемых образцов проводили следующим образом: навеску материала растворяли в этаноле, добавляли аскорбиновую кислоту и затем 50%-ный раствор гидроксида калия. Омыление пробы проводили при температуре 85 °С в течение 30 мин в колбе с обратным холодильником в присутствии азота. Затем к полученному раствору добавили дистиллированную воду. Четырехкратное экстрагирование токоферолов из полученного раствора проводили гексаном, разделяя гидрофильную и гидрофобную фракции с использованием делительной воронки. Объединенные гексановые экстракты промыли водой до нейтральной реакции. Остаточные количества воды удалили с помощью сульфата натрия. Полученный экстракт упарили на роторном испарителе при температуре 50 °С практически досуха. Остаток растворили в ацетонитриле. Раствор перенесли в виалу и использовали для проведения ВЭЖХ анализа. Для анализа методом обращенно-фазовой хроматографии использовали жидкостной хроматограф Agilent 1260 с фотометрическим детектором, хроматографическую колонку Agilent Poroshell 120 (2.7 мкм, 3.0×150 мм). *Буфер А:* вода. *Буфер В:* ацетонитрил : метанол (1 : 1). Метод элюирования представлен в таблице 1.

В случае нормально-фазовой (НФ) ВЭЖХ подготовку образцов проводили методом прямой экстракции. К навеске измельченного материала добавляли гексан, тщательно перемешивали с использованием мультитротатора. Раствор после фильтрования помещали в низкотемпературный морозильник на 2–4 ч при температуре (-70 °С). Затем отбирали 1 мл гексанового раствора, центрифугировали его 10 мин (11000 об./мин, при +3 °С). Полученный раствор перенесли в виалу и использовали для проведения ВЭЖХ анализа. В этом варианте использовали жидкостной хроматограф GalaxyVarian 920 LC с фотометрическим и флуориметрическим детекторами. Для аналитической НФ ВЭЖХ использовали хроматографическую колонку Chromser HPLC Column HPLC (5 мкм, 4.6×250 мм) или аналогичную ей AgilentZorbaxRX-SIL (5 мкм, 4.6×250 мм). Использовали следующую буферную систему: *Буфер А:* гексан. *Буфер В:* метанол. *Буфер С:* гексан : 1-хлорбутан (6 : 4). Метод элюирования представлен в таблице 2.

Таблица 1. Программа элюирования для ОФ ВЭЖХ (скорость потока – 0.35 мл/мин)

Время, мин	Буфер А, %	Буфер В, %
0.0	12	88
3.0	12	88
3.1	0	100
17.0	0	100
17.1	12	88
25.0	12	88

Таблица 2. Программа элюирования для НФ ВЭЖХ (скорость потока – 0.5 мл/мин)

Время, мин	Буфер А, %	Буфер В, %	Буфер С, %
0.0	60	2	38
10.0	60	2	38
10.3	0	80	20
10.7	0	80	20
11.0	60	2	38
25.0	60	2	38

Обсуждение результатов

На рисунках представлены хроматограммы исследуемых объектов, полученные методом ОФ (рис. 1) и НФ (рис. 2) ВЭЖХ. На хроматограммах, полученных методом ОФ-ВЭЖХ, наблюдается один пик со временем выхода 16.85 мин, что соответствует времени выхода стандарта альфа-токоферола (табл. 3), для получения которого альфа-токоферол ацетат предварительно подвергли омылению с целью перевода его в свободную форму. Анализ образцов клюквы и овсяных хлопьев проводили в тех же условиях хроматографического разделения, что и стандарты альфа-, гамма-, дельта-токоферола (рис. 3). При использовании этого варианта ВЭЖХ пробоподготовка проводилась в условиях высокотемпературного щелочного гидролиза, в результате чего возможно разрушение натуральных токоферолов, а также неоднократного перерастворения пробы, приводящего к потерям витамина. Так, при изучении влияния омыления на состав токолов тыквенного масла наблюдали переход токоферольной формы в токотриенольную и изменение соотношения между α - и γ -токоферолами в сторону уменьшения последнего приблизительно в 1.5 раза [20, 21].

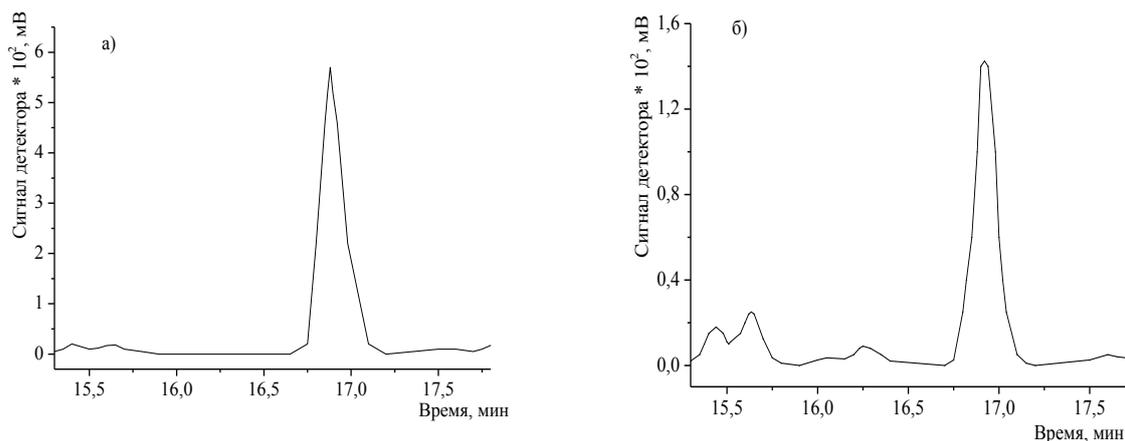


Рис. 1. Хроматограммы (ОФ-ВЭЖХ) образцов клюквы (а) и овсяных хлопьев (б)

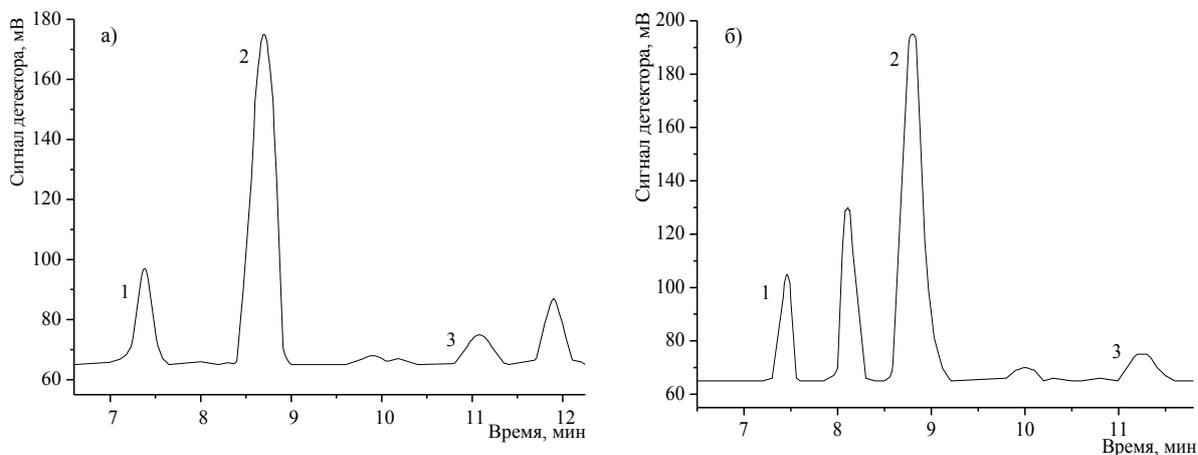
Рис. 2. Хроматограммы (НФ-ВЭЖХ) образцов клюквы и овсяных хлопьев: 1 – α -, 2 – γ -, 3 – δ -токоферолы

Таблица 3. Время удержания токоферолов при ОФ ВЭЖХ

Наименование	Rt стандартов, мин	Rt образцов клюквы/овсяных хлопьев, мин
α -токоферол	16.00–17.00	16.85/16.90
γ -токоферол	14.00–15.10	–/–
δ -токоферол	12.00–13.10	–/–

При подготовке проб исследуемых объектов методом прямой экстракции гексаном отделение омыляемых фракций липидов осуществляли выдержкой гексановых растворов в морозильнике с последующим центрифугированием. Для анализа использовали НФ-ВЭЖХ. Стандарты токоферолов были подвергнуты аналогичной обработке. На хроматограммах (рис. 2) имеются пики, соответствующие α -, γ - и δ -формам токоферолов (рис. 4). В данном случае возможно определение не только общего количества токоферолов, но и их качественного состава. Определение токоферолов в продуктах вели методом внешнего стандарта (время удержания стандартов токоферолов представлено в таблице 4).

Предлагаемый вариант пробоподготовки позволяет исключить жесткие условия обработки, приводящие к деструкции токоферолов. Он менее трудоемкий, экономичный с точки зрения расходования химических реактивов. Сравнение двух вариантов пробоподготовки для ВЭЖХ-анализа по определению токоферолов представлено в таблице 5.

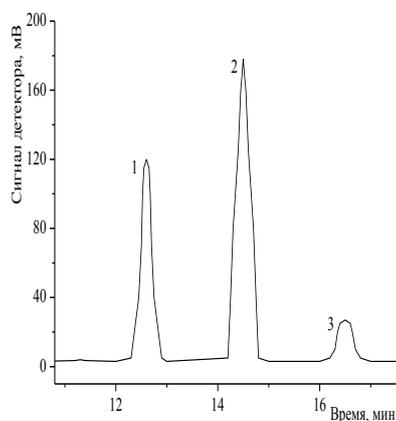
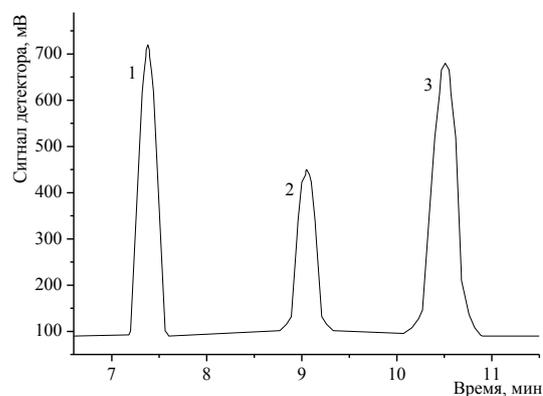
Рис. 3. Хроматограмма (ОФ ВЭЖХ) стандартов:
1 – δ -, 2 – γ -, 3 – α -токоферолыРис. 4. Хроматограмма (НФ ВЭЖХ) стандартов:
1 – α -, 2 – γ -, 3 – δ -токоферолы

Таблица 4. Время удержания токоферолов при НФ ВЭЖХ

Наименование	Rt стандартов, мин	Rt образцов клюквы/овсяных хлопьев, мин
α -токоферол	7.00–8.00	7.39/7.43
γ -токоферол	8.50–9.50	8.70/8.78
δ -токоферол	10.10–11.40	11.10/11.21

Таблица 5. Сравнение вариантов пробоподготовки

Показатели	С использованием щелочного гидролиза	С использованием прямой экстракции
Стадии пробоподготовки	Навеска Гидролиз Экстракция Сушка с помощью сульфата натрия Упаривание растворителя Перерастворение пробы	Навеска Растворение в гексане Вымораживание Центрифугирование
Метод регистрирования	Обращенно-фазовая хроматография	Нормально-фазовая хроматография
Реактивы	Этиловый спирт Аскорбиновая кислота Гидроксид калия Гексан Сульфат натрия Ацетонитрил Метанол	Гексан Хлорбутан Метанол

В таблице 6 представлены экспериментальные данные по содержанию токоферолов в исследуемых объектах. Полученные результаты соответствуют литературным данным [23]. В случае использования щелочного гидролиза при подготовке образцов растительного сырья получили завышенные результаты, что может быть связано с разрушением как токоферолов, так и токотриенолов, и один большой пик, наблюдаемый на хроматограммах (рис. 1), получается за счет наложения всех этих продуктов.

Таблица 6. Количественное содержание токоферолов

Вариант пробоподготовки		Клюква, мг/кг	Овсяные хлопья, мг/кг
Прямая экстракция	Общее содержание	13.82±1.38	14.80±1.48
	Альфа-токоферол	3.84±0.38	4.04±0.40
	Гамма-токоферол	6.91±0.69	7.68±0.77
	Дельта-токоферол	3.07±0.31	3.08±0.31
Щелочной гидролиз	Общее содержание	39.51±3.95	51.60±5.16
Литературные данные	Общее содержание	10	14

Выводы

Таким образом, пробоподготовка образцов методом прямой экстракции неполярным растворителем с последующими низкотемпературной выдержкой и центрифугированием для определения свободных форм токоферолов в различных продуктах природного происхождения методом НФ ВЭЖХ позволяет получить достоверные результаты. Предлагаемый способ подготовки пробы является менее трудоемким, требует меньшего количества реактивов, что значительно влияет на стоимость проведения анализа. В работе подобраны условия проведения анализа ВЭЖХ с учетом особенностей матриц.

Авторы выражают особую благодарность руководству исследовательской лаборатории ООО «ИЛ Тест-Пуццино» в лице генерального директора В.М. Возняка, а также Л.М. Винокурову и Б.З. Елецкой за оказанную помощь при проведении исследования и обработку полученных результатов.

Список литературы

1. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М., 1987. 668 с.
2. Taghvaei M., Jafari S.M. Application and stability of natural antioxidant sin edible oil sin order to substitute synthetic additives // Jr. Association of Food Scientists & Technologists. 2013. Vol. 53. Pp. 1272–1282. DOI: 10.1007/s13197-013-1080-1.
3. Позняковский В.М., Дроздова Т.М., Влощинский П.Е. Физиология питания. М., 2018. 432 с.
4. Сизова Н.В., Андреева Н.Ю. Определение витамина Е в растительных маслах методом микрокалориметрии // Химико-фармацевтический журнал. 2007. Т. 41. №6. С. 49–52. DOI: 10.30906/0023-1134-2007-41-6-49-52.
5. Тринеева О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Определение жирорастворимых витаминов в растительных объектах методом ТСХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14, вып. 1. С. 144–149.
6. Тринеева О.В. Методы анализа витамина Е // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. 2013. №1. С. 212–224.
7. Gornas P., Solivenb A., Seglinaa D. Seed oils recovered from industrial fruit by-products: Rapid separation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues by RP-HPLC/FLD method // European Journal of Lipid Science and Technology. 2015. Vol. 116. Pp. 773–777. DOI: 10.1002/ejlt.201400566.
8. Gornas P. Unique variability of tocopherol composition in various seed oils recovered from by-products of apple industry: Rapid and simple determination of all four homologues (a, b, c and d) by RP-HPLC/FLD // Food Chemistry. 2014. Vol. 172. Pp. 129–134. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.051.
9. Pycia K., Kapusta I., Jaworska G., Jankowska A. Antioxidant properties, profile of polyphenolic compounds and tocopherol content in various walnut (*Juglans regia* L.) varieties // European Food Research and Technology. 2018. Vol. 245. Pp. 607–616. DOI: 10.1007/s00217-018-3184-3.
10. Yang Y., Yang Y., Lu D., Yin S., Yang D., Chen Y., Li Y., Sun C. A convenient ultrasound-assisted saponification for the simultaneous determination of vitamin E isomers in vegetable oil by HPLC with fluorescence detection // Journal of Separation Science. 2018. Vol. 41. Pp. 1829–1838. DOI: 10.1002/jssc.201701393.
11. Ishimaru M., Haraoka M., Hatate H., Tanaka R. High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection for Simultaneous Analysis of Retinoids (Retinyl Palmitate, Retinyl Acetate, and Free Retinol) and α -, β -, γ -, and δ -Tocopherols in Foods // Food Analytical Methods. 2017. Vol. 10. Pp. 92–99. DOI: 10.1007/s12161-016-0553-z.
12. Tarhan I., Kara H. A new HPLC method for simultaneous analysis of sterols, tocopherols, tocotrienols, and squalene in olive oil deodorizer distillates using a monolithic column with chemometric techniques // Analytical Methods. 2019. Vol. 11. Pp. 4681–4692. DOI: 10.1039/C9AY01525F.

13. Barros L., Pereira E., Calhella R. C., Duenas M., Carvalho A. M., Santos-Buelga C., Ferreira C.F.R.I. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. // *Journal of Functional Foods*. 2013. Vol. 5. Pp. 1732–1740. DOI: 10.1016/j.jff.2013.07.019.
14. Лутцева А.И., Маслов Л.Г., Середенко В.И. Методы контроля и стандартизации лекарственных препаратов, содержащих жирорастворимые витамины // *Химико-фармацевтический журнал*. 2001. Т. 35. №10. С. 41–45.
15. Козлов Э.И., Солунина И.А., Любарева М.Л., Надточий М.А. Определение витаминов А, D, Е в поливитаминных препаратах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Химико-фармацевтический журнал*. 2003. Т. 37. №10. С. 50–53.
16. ГОСТ EN 12822-2014. Продукты пищевые. Определение содержания витамина Е (α -, β -, γ - и δ -токоферолов) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. М., 2015. 16 с.
17. ГОСТ Р 54634-2011. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина Е. М., 2013. 15 с.
18. ГОСТ Р 54949-2012 (ИСО 6867:2000). Корма для животных. Определение содержания витамина Е методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. М., 2014. 16 с.
19. Кищенко В.А., Левчук И.В., Ефименко С.Г. Влияние органических растворителей на определение содержания токоферолов в растительных маслах // *Масличные культуры: Науч.-техн. бюл. ВНИИ масличных культур*. 2008. №1(38). С. 35–37.
20. Воробьева О.А. Особенности пробоподготовки при проведении ОФ-ВЭЖХ анализа токолов в масле семян тыквы // *Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты*. 2016. №24. С. 147–151.
21. Воробьева О.А., Мельникова Н.Б. Разработка и валидация методов анализа компонентов фармацевтической композиции бетулина и тимола в масле семян тыквы *scurbita* перо // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015. №10-2. С. 295–303.
22. Руднев С.Д., Грачев А.В., Лавринова Е.А. Природа прочности растительной ткани с позиций селективной дезинтеграции // *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*. 2011. №2. С. 186–192.
23. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Химический состав российских пищевых продуктов. М., 2002. 237 с.

Поступила в редакцию 16 февраля 2020 г.

После переработки 3 апреля 2020 г.

Принята к публикации 7 апреля 2020 г.

Для цитирования: Петрова С.Н., Максимова И.А., Ещенко А.Р., Минеева Е.М. О пробоподготовке при определении токоферолов в растительном сырье методом ВЭЖХ // *Химия растительного сырья*. 2020. №3. С. 225–231. DOI: 10.14258/jcrpm.2020037383.

*Petrova S.N.**, *Maksimova I.A.*, *Yeshchenko A.R.*, *Mineyeva Ye.M.* ABOUT TRAINING IN THE DETERMINATION OF TOCOPHEROLS IN VEGETABLE RAW MATERIAL BY HPLC

Ivanovo State University of Chemical Technology, pr. Sheremet'yevskiy, 7, Ivanovo, 153000 (Russia), e-mail: psn903@mail.ru

Tocopherols, which are important biologically active substances, play the role of antioxidants. Synthesized tocopherols are usually in esterified form; their sample preparation for quantification by high performance liquid chromatography includes high temperature alkaline hydrolysis. Sample preparation of oil-containing objects having natural tocopherols in an unesterified form is carried out by direct extraction in a non-polar solvent. In this work, we determined the content of tocopherols in natural materials (the method of analysis of viscous particles) using the alkaline hydrolysis method and the direct extraction method in a non-polar solvent. It was shown that the use of normal-phase HPLC with a prepared extraction sample in hexane and low-temperature exposure allows us to determine both the total content of tocopherols and its individual forms. This option is less time consuming, requires fewer reagents, which significantly affects the cost of the analysis. It is possible to determine only the total number of tocopherols. At the same time, overestimated results were obtained, which are probably associated with the destructive destruction of both tocopherols and tocotrienols present in plants of plant origin, and one large peak, including all products, is observed in the chromatograms.

Keywords: tocopherols, HPLC, alkaline hydrolysis of tocopherols, cranberries, oat flakes.

* Corresponding author.

References

1. Ovchinnikov Yu.A. *Bioorganicheskaya khimiya*. [Bioorganic chemistry]. Moscow, 1987, 668 p. (in Russ.).
2. Taghvaei M., Jafari S.M. Jr. *Association of Food Scientists & Technologists*, 2013, vol. 53, pp. 1272–1282. DOI: 10.1007/s13197-013-1080-1.
3. Poznyakovskiy V.M., Drozdova T.M., Vloshchinskiy P.Ye. *Fiziologiya pitaniya*. [Physiology of nutrition]. Moscow, 2018, 432 p. (in Russ.).
4. Sizova N.V., Andreyeva N.Yu. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2007, vol. 41, no. 6, pp. 49–52. DOI: 10.30906/0023-1134-2007-41-6-49-52. (in Russ.).
5. Trineyeva O.V., Safonova Ye.F., Slivkin A.I. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 144–149. (in Russ.).
6. Trineyeva O.V. *Vestnik VGU, seriya: khimiya, biologiya, farmatsiya*, 2013, no. 1, pp. 212–224. (in Russ.).
7. Gornas P., Solivenb A., Seglina D. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2015, vol. 116, pp. 773–777. DOI: 10.1002/ejlt.201400566.
8. Gornas P. *Food Chemistry*, 2014, vol. 172, pp. 129–134. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.051.
9. Pycia K., Kapusta I., Jaworska G., Jankowska A. *European Food Research and Technology*, 2018, vol. 245, pp. 607–616. DOI: 10.1007/s00217-018-3184-3.
10. Yang Y., Yang Y., Lu D., Yin S., Yang D., Chen Y., Li Y., Sun C. *Journal of Separation Science*, 2018, vol. 41, pp. 1829–1838. DOI: 10.1002/jssc.201701393.
11. Ishimaru M., Haraoka M., Hatate H., Tanaka R. *Food Analytical Methods*, 2017, vol. 10, pp. 92–99. DOI: 10.1007/s12161-016-0553-z.
12. Tarhan I., Kara H. *Analytical Methods*, 2019, vol. 11, pp. 4681–4692. DOI: 10.1039/C9AY01525F.
13. Barros L., Pereira E., Calhella R. C., Duenas M., Carvalho A. M., Santos-Buelga C., Ferreira C.F.R.I. *Journal of Functional Foods*, 2013, vol. 5, pp. 1732–1740. DOI: 10.1016/j.jff.2013.07.019.
14. Luttseva A.I., Maslov L.G., Seredenko V.I. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2001, vol. 35, no. 10, pp. 41–45. (in Russ.).
15. Kozlov E.I., Solunina I.A., Lyubareva M. L., Nadtochiy M.A. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2003, vol. 37, no. 10, pp. 50–53. (in Russ.).
16. *GOST EN 12822-2014. Produkty pishchevyye. Opredeleniye sodержaniya vitamina E (α-, β-, γ- i δ-tokoferolov) metodom vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii*. [GOST EN 12822-2014. Food products. Determination of vitamin E (α-, β-, γ- and δ-tocopherols) content by high performance liquid chromatography]. Moscow, 2015, 16 p. (in Russ.).
17. *GOST R 54634-2011. Produkty pishchevyye funktsional'nyye. Metod opredeleniya vitamina E*. [GOST R 54634-2011. Functional food products. Method for determination of vitamin E]. Moscow, 2013, 15 p. (in Russ.).
18. *GOST R 54949-2012 (ISO 6867:2000). Korma dlya zhivotnykh. Opredeleniye sodержaniya vitamina E metodom vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii*. [GOST R 54949-2012 (ISO 6867: 2000). Pet food. Determination of vitamin E content by high performance liquid chromatography]. Moscow, 2014, 16 p. (in Russ.).
19. Kishchenko V.A., Levchuk I.V., Yefimenko S.G. *Maslichnyye kul'tury: Nauchno-tekhnicheskii byulleten' VNII maslichnykh kul'tur*, 2008, no. 1(38), pp. 35–37. (in Russ.).
20. Vorob'yeva O.A. *Fundamental'nyye i prikladnyye issledovaniya: problemy i rezul'taty*, 2016, no. 24, pp. 147–151. (in Russ.).
21. Vorob'yeva O.A., Mel'nikova N.B. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*, 2015, no. 10-2, pp. 295–303. (in Russ.).
22. Rudnev S.D., Grachev A.V., Lavrinova Ye.A. *Nauchnyy zhurnal NIU ITMO. Seriya «Protsessy i apparaty pishchevykh proizvodstv»*, 2011, no. 2, pp. 186–192. (in Russ.).
23. Skurikhin I.M., Tutel'yan V.A. *Khimicheskii sostav rossiyskikh pishchevykh produktov*. [The chemical composition of Russian food products]. Moscow, 2002, 237 p. (in Russ.).

Received February 16, 2020

Revised April 3, 2020

Accepted April 7, 2020

For citing: Petrova S.N., Maksimova I.A., Yeshchenko A.R., Mineyeva Ye.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 3, pp. 225–231. (in Russ.). DOI: 10.14258/jepm.2020037383.

