

С. К. КАРАПЕТЯН, В. А. ВАРТАНЯН, Р. Г. БАЛАСАНЯН

О СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРОТИНА
В РАСТЕНИЯХ И КОРМОВЫХ ВЕЩЕСТВАХ

Витамин А и каротин являются биологически весьма активными веществами, имеющими большое значение для нормальной жизнедеятельности организма человека и животных. В то же время они являются нестойкими органическими соединениями, легко подвергаются разрушению, в результате чего теряют свою А-витаминозную активность. Содержание каротина меняется в зеленых растениях на разных фазах вегетации. Отсюда вытекает необходимость периодически производить его определение в естественных кормах и рационах животных и птиц.

Методы определения каротиноидов разновременно разрабатывались П. Х. Попандопуло [3—5], П. Х. Попандопуло и К. Н. Шкинской [2], И. К. Мурри [1] и др.

Перед нами была поставлена задача изучить содержание каротина в зеленой траве, в листьях виноградной лозы и различных фруктовых деревьев в разные периоды вегетации. При проведении серийных определений каротиноидов в различных кормах и растительных материалах по методу П. Х. Попандопуло, мы сталкивались с значительными затруднениями, так как по указанному методу промывку бензином адсорбента приходится производить непрерывно, до обесцвечивания стекающих из колонки капель, что приводит к значительному разбавлению каротина и постоянно занимает экспериментатора. Поэтому возникла необходимость модификации применяемого метода, которая дала бы возможность получить более точные и достоверные данные.

В результате неоднократных проверок и конкретных испытаний нами предлагается следующий модифицированный метод определения каротина в растительных кормах.

Навеска исследуемого материала берется в количестве от 0,5 до 1 г (вместо 5—10 г по П. Х. Попандопуло), который растирается в ступке с постепенным добавлением 96° спирта до 20 мл. Тщательно растертый материал переносится в пробирку и для полной экстракции оставляется на 2—3 ч. После этого спиртовый экстракт переносится в делительную воронку с добавлением 50 мл бензина Б-70, хорошо взбалтывается и добавляется 30 мл дистиллированной воды. После отстаивания, когда образуется четкая граница между двумя слоями, верхний слой, содержащий каротин, сохраняется для дальнейшей обработки, а нижний—бесцветный слой жидкости, удаляется. Оставшаяся жидкость делительной воронки, содержащая массу каротина, переносится в хроматографическую колонку, наполненной окисью алюминия (5% влажности). Перед

наполнением адсорбентом на дно колонки вставляется ватный тампон (для задержки адсорбента). После отделения сопутствующих веществ хроматографической адсорбцией, полученная бензиновая вытяжка каротиноидов сравнивается со стандартной цветной шкалой (стандарт готовился из двуххромовокислого калия 720 мг на 1 литр воды), 1 мл основного раствора соответствует 0,000416 мг каротина. Для приготовления стандарта применялся также азобензоловый раствор.

Данные, полученные методом П. Х. Попандопуло и модифицированным нами методом, были подвергнуты статистической обработке. Результаты приводятся в таблице.

О п ы т ы	П	$M \pm m$	Вероятность разницы
Модифицированные нашим методом	15	$57,3 \pm 2,95$	не вероятна
Методом Попандопуло	15	$56,5 \pm 13,39$	

По новой методике в нашей лаборатории проведено более 800 анализов различного растительного сырья. Сопоставление результатов проведенных анализов различными методами и их статистическая обработка показала, что, при определении каротина предложенным нами методом, на малом количестве исследуемого материала, по своей точности не уступает методу П. Х. Попандопуло и имеет некоторые преимущества.

Предварительная спиртовая обработка материала обеспечивает более надежную и полную экстракцию каротиноидов по сравнению с методом Попандопуло, что имеет большое значение при малом содержании каротина в исследуемых материалах и обуславливает точность полученных данных.

По методу П. Х. Попандопуло промывку бензином адсорбента—окись алюминия производится непрерывно, до обесцвечивания стекающих из колонки капель, что приводит к значительному разбавлению каротина и постоянно занимает экспериментатора для наблюдения за колонкой. В предлагаемой модификации для предупреждения разбавления каротина берется определенный объем (50 мл) экстрагирующего вещества—бензина. Повторная промывка адсорбента не проводится, так как исчисление количества каротина производится в заранее известном, исходном объеме экстрагирующего вещества. Предлагаемый метод одновременно облегчает и ускоряет проведение серийных определений каротиноидов.

Институт физиологии
им. акад. Л. А. Орбели
АН АрмССР

Поступило 3.V 1963 г.

Ս. Կ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Վ. Ա. ՎԱՐԳԱՆՅԱՆ, Հ. Գ. ԲԱԼԱՍԱՆՅԱՆ

ՔՈՒՍԱԿԱՆ ԿԵՐԱՅԻՆ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՄԵՋ ՊԱՐՈՒՆԱԿՎՈՂ ԿԱՐՈՏԻՆԻ
ՈՐՈՇՄԱՆ ՄԵԹՈԴԻ ԿԱՏԱՐԵԼԱԴՈՐՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կարոտինոիդների որոշման գոյություն ունեցող մեթոդները մշակվել են տարբեր հեղինակների կողմից (Պ. Խ. Պոպանդոպուլո [3—5], Պոպանդոպուլո և Շկինսկի [2], Ի. Կ. Մուրիի [1] և այլն)։

Նպատակ ունենալով որոշել խաղողի վազի և մի քանի պտղատու ծառերի վեգետացիայի տարբեր շրջաններում գտնվող տերևների մեջ պարունակվող կարոտինի քանակը, մենք սկզբում օգտվեցինք Պ. Խ. Պոպանդոպուլոյի առաջարկած մեթոդից, բայց պարզվեց, որ այդ մեթոդը ունի որոշ թերություններ. ամենից առաջ այն, որ ադսորբենտի լվացումը բենզինով կատարվում է անընդհատ՝ մինչև կաթոդ կաթիլի գունաթափումը, որն զգալիորեն նոսրացնում է կարոտինի քանակը լուծույթի մեջ և մշտապես գրավում փորձարարի ուշադրությունը։ Նշված թերությունը վերացնելու նպատակով, մենք ձեռնարկեցինք այդ մեթոդի որոշ կատարելագործում, որի էությունը հետևյալն է։

Փորձարկվող նյութից վերցվում է 0,5—1,0 գ (փոխանակ 5—10 գ ըստ Պոպանդոպուլոյի (մանրացվում հախճապակյա թասի մեջ, աստիճանաբար ավելացնելով մինչև 20 մլ 96° սպիրտ։ Մանրացված նյութը տեղափոխվում է փորձանոթի մեջ և թողնվում 2—3 ժամ՝ լրիվ մզվելու համար, որից հետո մզվածքը տեղափոխվում է բաժանող ձագարի մեջ, վրան ավելացվում բ—70 մարկայի 50 մլ բենզին, լավ թափահարվում և ավելացվում 30 մլ թորած ջուր։ Լեյդ վիճակում որոշ ժամանակ թողնելուց հետո, ներքին շերտը հեռացվում է իսկ վերինը, որի մեջ գտնվում է կարոտինը, լցվում է խրոմատոգրաֆիկ սյան մեջ, որտեղ նախօրոք տեղադրված է 5% խոնավությանմբ ալյումինի օքսիդ։ Ադսորբցիայից հետո ստացված կարոտինոիդների բենզինային մզվածքը համաձայնեցվում է ստանդարտի հետ։

Աղյուսակում բերված են մեր կողմից ձևափոխված և Պոպանդոպուլոյի մեթոդով ստացված համեմատական տվյալները։ Նոր մեթոդով կատարված է տարբեր բույսերի մոտավորապես 800 անալիզ։ Կարոտինի որոշման փոփոխված մեթոդը իր ճշտությամբ չի գիշում Պոպանդոպուլոյի մեթոդին և նույնիսկ ունի տրոշակի առավելություններ, ամենից առաջ այն, որ վերցված նյութերի նախնական սպիրտային մշակումը ապահովում է կարոտինոիդների լիակատար էքստրակցիան, որը շատ կարևոր նշանակություն ունի մանավանդ այն դեպքերում, երբ ուսումնասիրվող նյութի մեջ կարոտինոիդների քանակը քիչ է։

Բացի այդ, կարոտինոիդների լուծվելը կանխելու համար առաջարկվող մեթոդի դեպքում վերցվում է որոշակի քանակությամբ (50 մլ) էքստրակցնույն նյութ—բենզին, որը հնարավորություն է տալիս ադսորբենտի կրկնակի լվացում չկատարել, քանի որ կարոտինի քանակի տրոշումը կատարվում է էքստրակցող նյութի նախօրոք հայտնի ելակետային ծավալում։

Առաջարկվող մեթոդը մի կողմից՝ ապահովում է ավելի ճշգրիտ տվյալների ստացումը, իսկ մյուս կողմից՝ հեշտացնում և արագացնում է անալիզների ընթացքը։

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мурри И. К. Журн. Биохимия, т. II, вып. 6, 1937.
2. Попандопуло П. Х., Шкинская К. Н. Журн. Успехи зоотехнических наук, т. IV, вып. II, 1937.
3. Попандопуло П. Х. Журн. Советская зоотехния, 3, 1941.
4. Попандопуло П. Х. Труды отд. кормления ВИЖ'а. 1946.
5. Попандопуло П. Х. Витаминный состав кормов. 1949.