

2. INTRODUCCIÓN

La vitamina A, también denominada *trans*-retinol, es un alcohol isoprenoide que desempeña un papel clave en la visión. También interviene en el control del crecimiento animal, estimulando de alguna manera el desarrollo del sistema nervioso. La vitamina puede ingerirse con el alimento o puede biosintetizarse a partir del β -caroteno, un compuesto isoprenoide especialmente abundante en las zanahorias (Mathews *et al*, 2002).

Aunque la cromatografía de capa fina (TLC por sus siglas en inglés) y la cromatografía en columna (aquí la fase estacionaria normalmente se encuentra dentro de una columna de vidrio de 5-30 mm de diámetro con empaques de alúmina, gel de sílice etc.) han jugado un papel importante en el análisis de retinoides y carotenoides, ambos métodos han sido casi completamente reemplazados por la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La cromatografía en papel nunca ha sido muy empleada para el análisis de retinoides y carotenoides.

Las ventajas del HPLC sobre otros métodos de análisis convencionales como la TLC o la cromatografía en columna abierta incluyen tiempos de análisis más cortos, una mayor resolución, una cuantificación más fácil y límites de detección más bajos; el equipo de HPLC es ahora ampliamente disponible. Con el incremento del uso de detectores fotodiodos más sensibles para HPLC ahora es posible no sólo separar retinoides y carotenoides sino también identificar el pico de cada compuesto por su espectro de absorción. Tanto el HPLC de fase normal como el de fase reversa han sido ampliamente utilizados (Leenheer *et al*. 2000).

La cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (HPLC-RP), es uno de los métodos de elección para el análisis de carotenoides debido a que: (1) la retención se ve poco afectada por pequeñas variaciones en la composición de la fase móvil, y (2) el riesgo de la formación de contaminantes en el paso a través de la columna es mínimo mientras las interacciones del soporte sobre las fases no polares solo involucran fuerzas débiles. Están disponibles una variedad de fases estacionarias de diversos porcentajes de carbono, tales como la C18, C8, C4, C2, C1, fenil, y ciano derivados; la fase C18 es la más popular (Hamilton *et al*, 1977).

La cromatografía de gases ha sido muy poco usada para el análisis de retinoides y carotenoides, por que (1) estos compuestos son particularmente fáciles de ser destruidos en presencia de altas temperaturas, (2) se isomerizan fácilmente a altas temperaturas y (3) no son muy volátiles (Leenheer *et al*, 2000).

Ya que los carotenoides son térmicamente sensibles y no son compatibles con cromatografía de gases, las separaciones de carotenoides se llevan a cabo comúnmente usando HPLC de fase reversa (Hamilton *et al*, 1977).