



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ РЕЗВЕРАТРОЛА В ОБЪЕКТАХ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

О.О. НОВИКОВ
Д.И. ПИСАРЕВ
М.Ю. НОВИКОВА
Г.В. ВАСИЛЬЕВ
О.А. ВАНХИН

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail novikov@bsu.edu.ru

В статье представлены результаты разработки методики обнаружения резвератрола в объектах растительного происхождения с помощью хромато-масс-спектрометрии. Метод имеет такие преимущества, как экспрессность определения, отсутствие или минимальная пробоподготовка.

Ключевые слова: резвератрол, хромато-масс-спектрометрия.

Большинство из химических соединений винограда и вина обладают определенной биологической и фармакологической активностью, например, содержащиеся в красном вине полифенолы (флаваноиды: катехины, антоцианы, лейкоантоцианидины, флавоны, флавонолы и др.) в целом значительно снижают вероятность тромбообразования. Кроме того, у них зарегистрировано выраженное антиоксидантное действие [1].

Однако обилие флавоноидов в красном вине не полностью объясняет факт так называемого «французского парадокса», т. е. существуют продукты с большим содержанием природных антиоксидантов (в т. ч. флавоноидов).

В начале 90-х появился термин «французский парадокс» в связи с тем, что во Франции, где население отдает предпочтение продуктам с высоким содержанием жиров, уровень сердечно-сосудистых заболеваний намного ниже, чем в других развитых странах. В результате длительных исследований было установлено, что благотворное влияние на сердечно-сосудистую систему человека оказывает красное вино, а именно в первую очередь резвератрол.

Резвератрол – фитоалексин полифенольной природы, обладающий широким спектром биологической активности. Для него, как и многих полифенолов природного происхождения (флавоноиды, антоцианы и др.), характерно ярко выраженное антиоксидантное действие, а также противоопухолевая, антиатерогенная и другие виды активности [2-6].

Резвератрол содержится в некоторых растительных объектах, в частности: кожуре винограда, арахисе, хмеле. Для идентификации резвератрола в данных объектах используют разнообразные методы. Основными их недостатками являются длительная сложная пробоподготовка, сложное аппаратное оформление, большая продолжительность определения. Поэтому разработка оптимальных методов идентификации резвератрола в объектах растительного происхождения является актуальной проблемой.

В связи с этим целью настоящего исследования явилась разработка оптимального метода идентификации резвератрола в объектах растительного происхождения.

Для определения содержания транс-резвератрола в объектах растительного происхождения использовали пищевой концентрат полифенолов винограда – «Эноант». «Эноант» использовали в чистом виде, без разведений. Обнаружение проводили с помощью обращенно-фазной высокоэффективной хроматографии на приборе *Agilent Technologies 1260 Infinity* в изократическом режиме.

Условия хроматографического разделения: объем вводимой пробы – 3 μ л, колонка: ZORBAX Eclipse XDB – C18 600 Var 2.1 \times 100 мм, 1,8 Мм, подвижная фаза – 15% раствор уксусной кислоты в спирте этиловом 96% – ацетонитрил = 90 – 10, скорость подачи подвижной фазы – 0,150 см³/мин, температура колонки – 25 °С.

Детекция осуществлялась с помощью диодно-матричной лампы: $\lambda = 220 - 600$ нм, регистрацию сигналов проводили при длине волны $\lambda = 307$ нм.

Также использован масс-спектрометрический детектор. Ионизация осуществлялась комбинированным использованием электроспрейной и химической ионизации при атмосферном давлении – ESI+APCI в режиме селективного сканирования.

Таким образом, в эноанте найден 41 компонент (рис. 1), среди которых транс-резвератол (время удерживания 5.412.) (рис. 2), подлинность которого устанавливали по физико-химическим характеристикам, а именно он имеет характерный максимум поглощения при $\lambda = 307$ и пик молекулярного иона $m/z = 228$. Концентрация резвератрола на хроматограмме 0,65%.

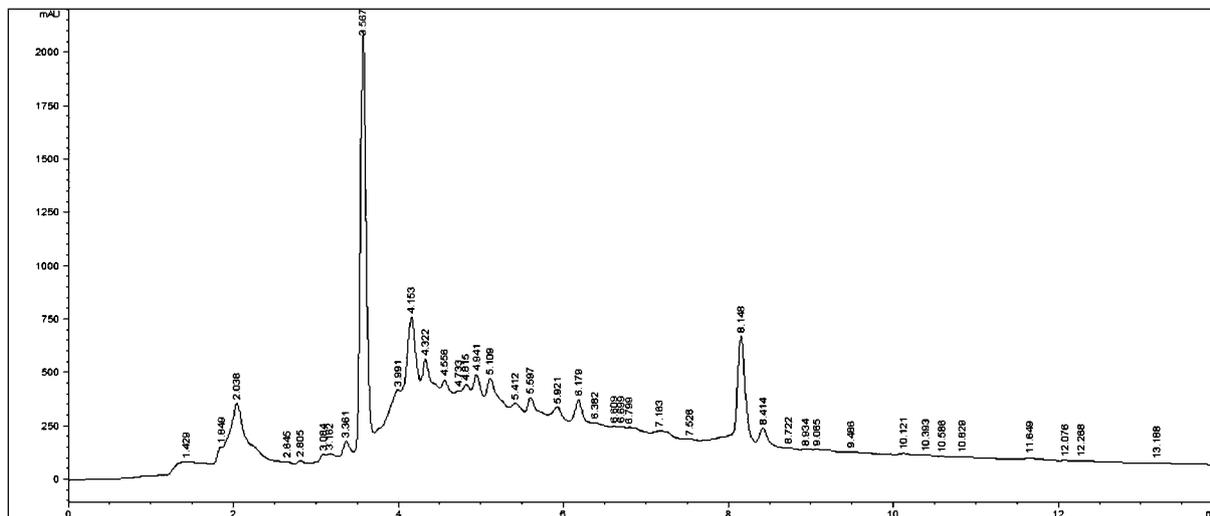


Рис. 1. Хроматограмма пищевого концентрата полифенолов винограда «Эноант»

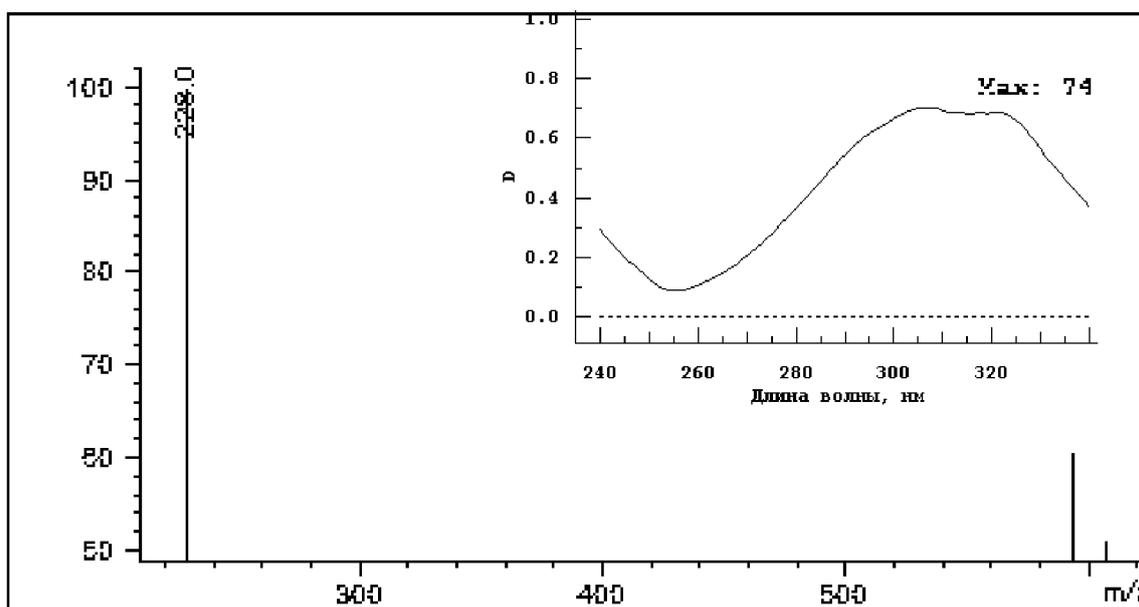


Рис. 2. Масс- и УФ-спектры резвератрола

Таким образом, в ходе исследования подобраны условия для обнаружения транс-резвератрола в объектах растительного происхождения с помощью хромато-масс-спектрометрии. Метод имеет такие преимущества, как экспрессность определения (время анализа 10 – 12 минут), отсутствие или минимальная пробоподготовка. Также для целей идентификации резвератрола не требуется использование стандартного образца, поскольку определяемые константы в методе хромато-масс-спектрометрии – УФ- и масс-спектры позволяют надёжно охарактеризовать подлинность вещества.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг.,



государственный контракт № П425 от 12 мая 2010 г. «Разработка методик выделения и определения полифенольных соединений классов флавоноидов, каротиноидов и антоцианов и технологии создания лекарственных форм на их основе».

Литература

1. Кишковский, З.Н. Химия вина / З.Н. Кишковский, И.М. Скуршин. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 312 с.
2. Bradamante, S. Cardiovascular protective effects of resveratrol / S. Bradamante, L. Barenghi, A. Villa // *Cardiovasc. Drug, Rev.* – 2004. – Vol.22(3). – P. 169-188.
3. Dong, H.H. New progression in the study of protective properties of resveratrol in anticardiovascular disease / H.H.Dong, H.L. Ren // *Bratisl. Lek. Listy.* – 2004. – Vol.105(5-6). – P. 225-229.
4. Olas, B. Resveratrol protects against peroxynitrite-induced thiol oxidation in blood platelets / B. Olas, P. Nowak, B. Wachowicz // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2004. – Vol.9(4A). – P. 577-587.
5. Olas, B. Resveratrol reduces oxidative stress induced by platinum compounds in blood platelets / B. Olas, B. Wachowicz // *Gen. Physiol. Biophys.* – 2004. – Vol. 23(3). – P. 315-326.
6. Onuki, J. Inhibition of 5-aminolevulinic acid-induced DNA damage by melatonin, N-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine, quercetin or resveratrol / J. Onuki, E.A. Almeida, M.H. Medeiros // *J. Pineal Res.* – 2005. – Vol. 38(2). – P. 107-115.

USE OF CHROMATO-MASS SPECTROMETRY IN FINDING OF RESVERATROL IN OBJECTS OF VEGETABLE ORIGIN

O.O. NOVIKOV
D.I. PISAREV
M.YU. NOVIKOVA
G.V. VASIL'EV
O.A. VANKHIN

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

The paper presents results of development of detection techniques of resveratrol in objects of vegetable origin by means of chromato-mass spectrometry. The method has the advantages, rapid determination, no or minimal sample preparation

Keywords: resveratrol, chromato-mass spectrometry