



Аналитические возможности жидкостного хроматографа МаэстроВЭЖХ на примере определения ресвератрола в красных винах

Яшин А. Я. к. х. н., ведущий инженер отдела исследований и разработок, ООО Интерлаб, Россия, Москва

Ключевые слова

Жидкостная хроматография, ресвератрол, детектор на диодной матрице, фотометрический детектор, красное вино

Резюме

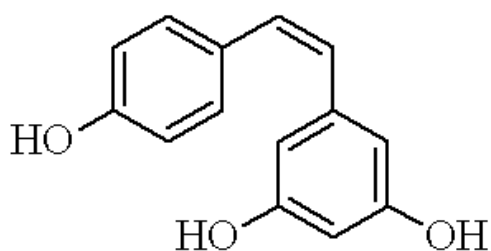
Показаны аналитические возможности МаэстроВЭЖХ на примере определения ресвератрола. Рассчитаны СКО по высотам и площадям. Определено содержание ресвератрола в некоторых красных винах

Введение

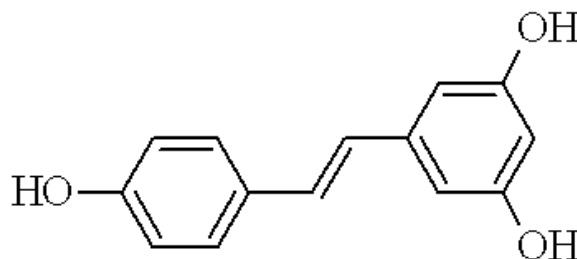
Ресвератролы (особенно транс-изомер) считаются одними из самых сильных антиоксидантов, находящихся в сухих винах, особенно в красных винах. Транс-ресвератрол (3,4',5-транс-тригидроксистильбен) – природное соединение, присутствующее в виноградном соке и в винах. Количество ресвератрола в винограде зависит от сорта винограда, почвы, климата, наличия инфекции (fungal), загрязнений окружающей среды, технологии переработки, хранения. В винограде ресвератрол синтезируется в основном в кожице, меньшее количество находится в зернах (в 5-7 раз) и еще меньше – в мякоти (в 10-50 раз).

Интерес к ресвератролу в первую очередь связан с его высокой антиоксидантной активностью, а также с антиканцерогенным, кардипротекторным, антивирусным, противовоспалительным и противосвертывающим действиями. Считалось, что «французский парадокс» объясняется в первую очередь именно присутствием транс-ресвератролов в винах. Однако, последние годы отмечается, что польза от употребления красного вина связана с присутствием в нем не только ресвератрола, но и других природных полифенолов.

Цис-ресвератрол



Транс-ресвератрол



Экспериментальная часть

Для анализа использовали чистые вещества фирмы Fluka:

Ресвератрол, 99%

Инструменты:

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице и фотометрическим детектором

Колонка Leapsil C18 2.7 мкм 100 x4.6 мм

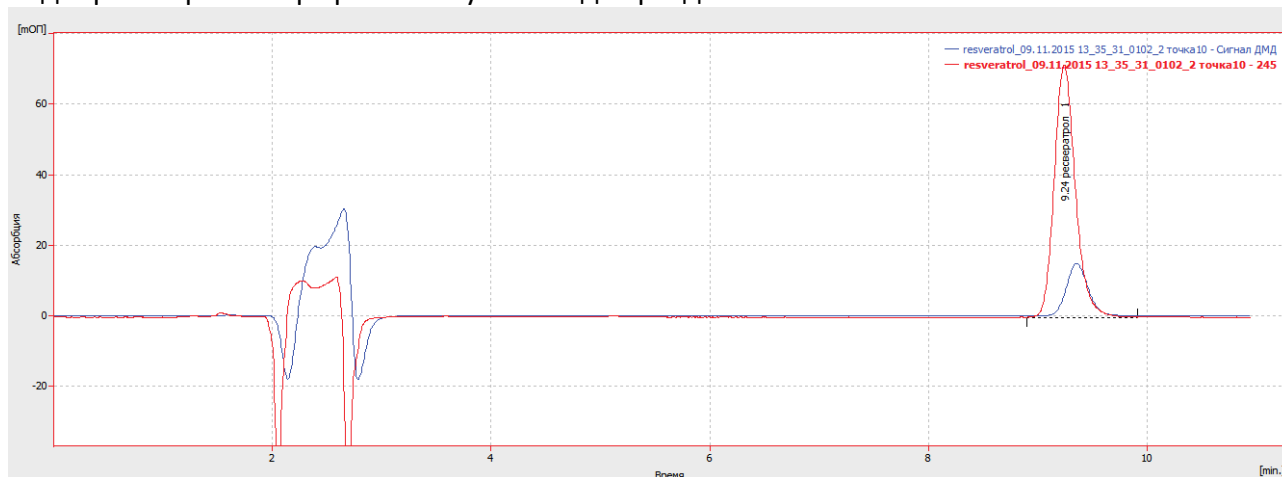
Подвижная фаза вода бидистиллированная: ацетонитрил (70:30)

Скорость потока 0.5 мл/мин

Длина волны 306 нм

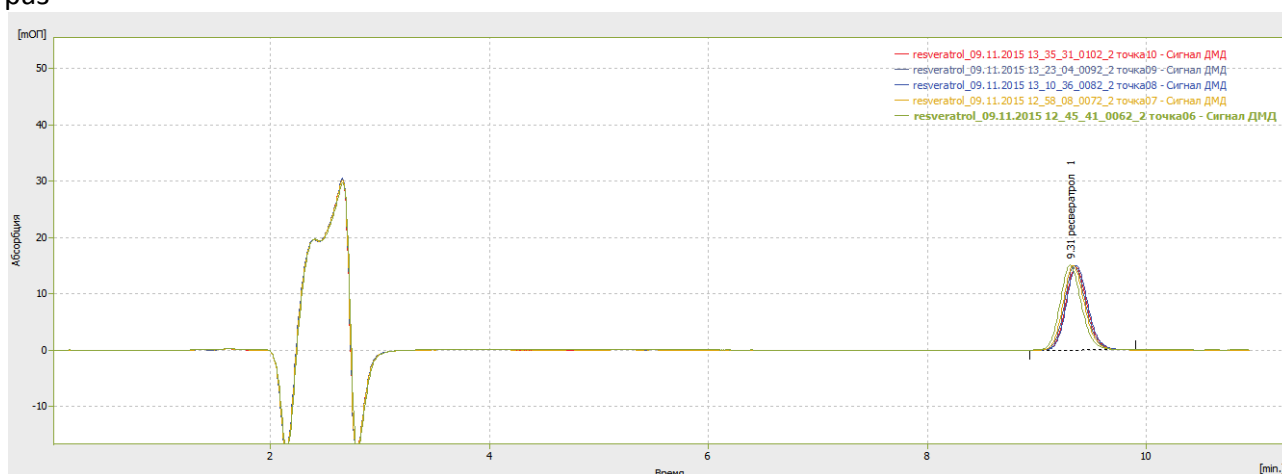
Результаты и обсуждения

Подобраны хроматографические условия для разделения:



Фотометрический детектор и детектор на диодной матрице были соединены последовательно, т.е. мы получаем одну хроматограмму на которой представлены сигналы от сразу от двух детекторов. Из этой хроматограммы видно, что **благодаря инновационной проточной кювете, используемой в фотометрическом детекторе, хроматографические пики имеют высоту (и площадь) в 4 раза выше, чем пики полученные от обычных 10 мм проточных кювет, при той же концентрации анализируемого вещества.**

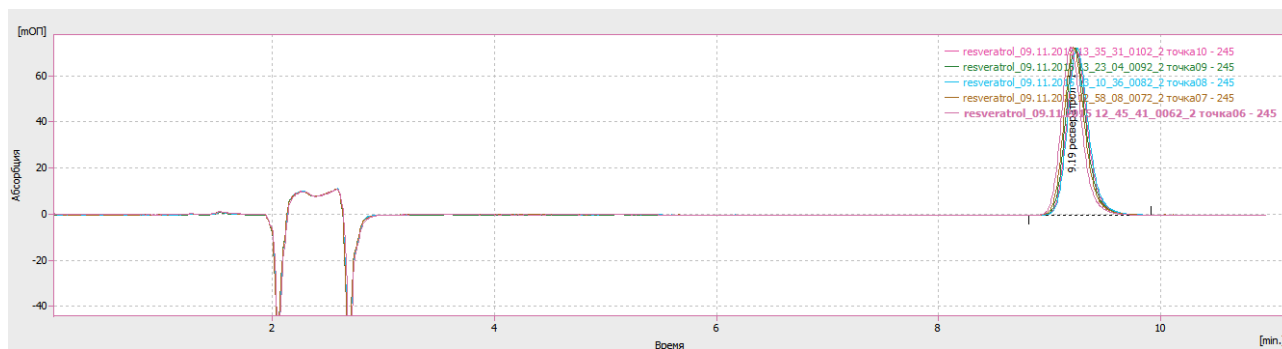
Проведена проверка стабильности системы. Рассчитаны СКО по временам удерживания, высотам и площадям для каждого компонента. Для этого стандарт ресвератрола вводился 5 раз



Детектор на диодной матрице

Таблица параметров для проверки стабильности системы

	Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]
Среднее значение	9.340	205.426	14.980
СКО, %	0.23	0.63	0.65
1	9.353	203.445	14.815
2	9.347	205.467	14.997
3	9.360	205.825	14.980
4	9.333	207.016	15.057
5	9.307	205.377	15.048

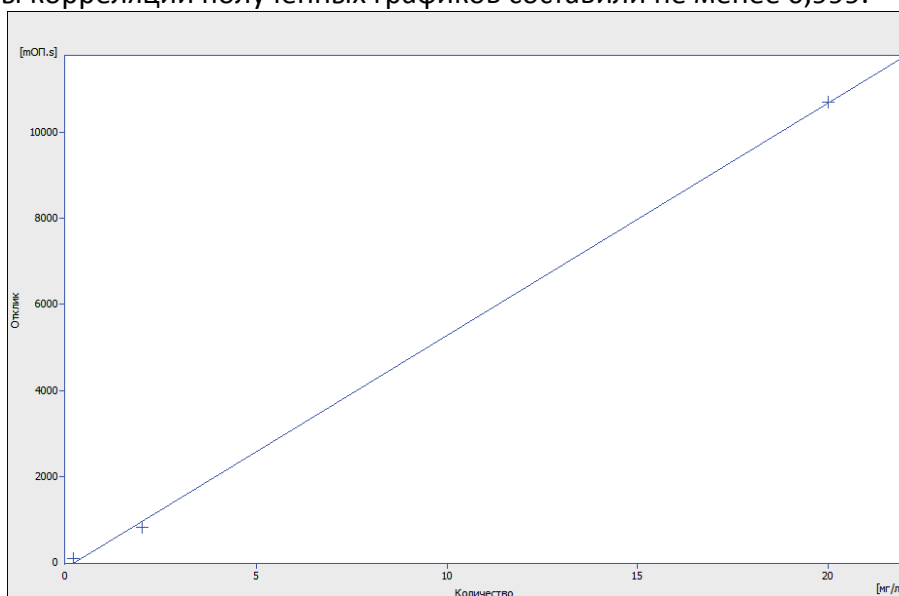


Фотометрический детектор

Таблица параметров для проверки стабильности системы

	Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]
Среднее значение	9.225	968.719	72.403
СКО, %	0.25	0.66	0.73
1	9.240	958.639	71.513
2	9.230	970.500	72.550
3	9.250	970.190	72.357
4	9.217	976.193	72.760
5	9.190	968.072	72.836

Для определения ресвератрола в красном вине построены калибровочные графики. Коэффициенты корреляции полученных графиков составили не менее 0,999.

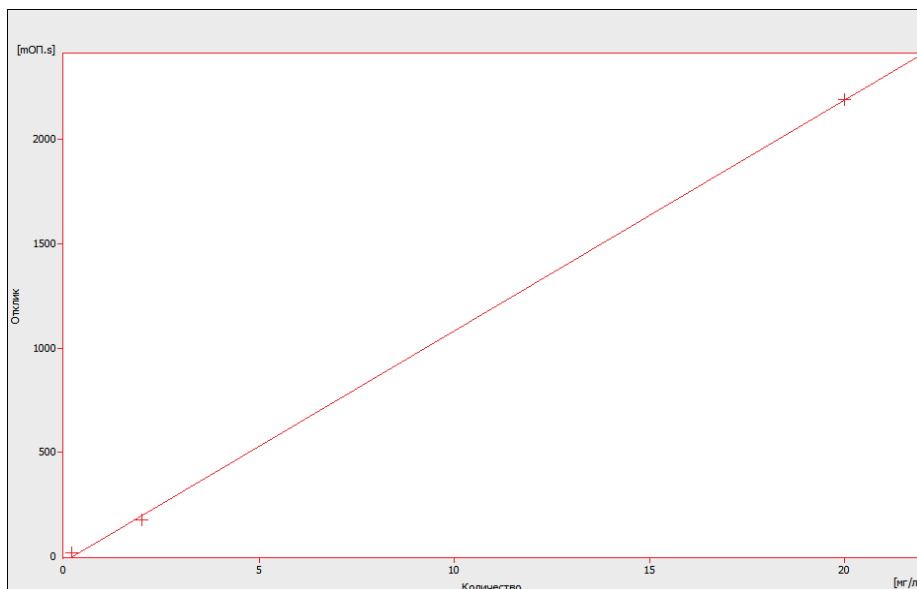


Фотометрический детектор

Уравнение калибровочного графика

$$Y = 541.00531 * X - 130.40124$$

Коэфф. Корреляции 0.9997723



Детектор на диодной матрице

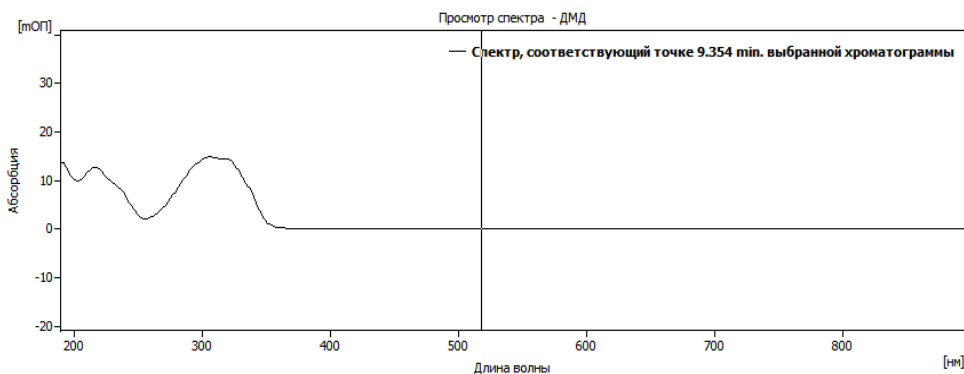
Уравнение калибровочного графика

$$Y = 110.71443 * X - 24.66125$$

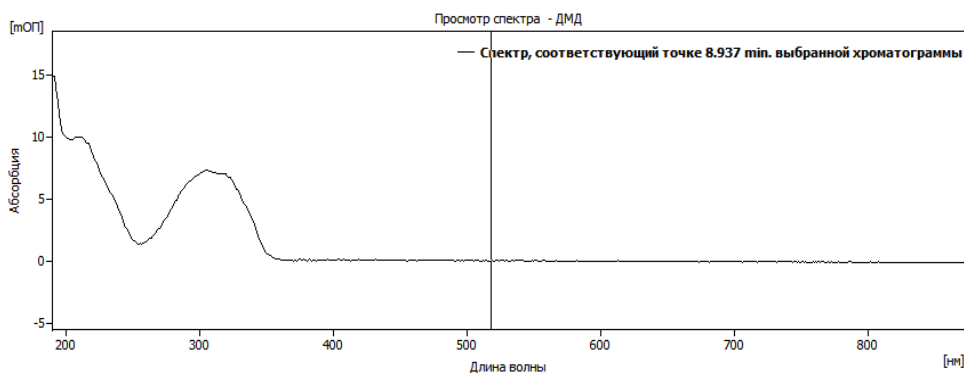
Коэфф. Корреляции 0.9998464

Образцы вина фильтровались с использованием фильтра – насадки на медицинский шприц PTFE 0.45µм. Фильтрат разбавлялся в 3 раза бидистиллированной водой и вводился в хроматограф.

Идентификация пика ресвератрола в образцах красного вина происходила как по времени удерживания, так и по его спектру. Детектор на диодной матрице позволяет одновременно со снятием хроматограммы получать и спектр в диапазоне от 190 до 900 нм.

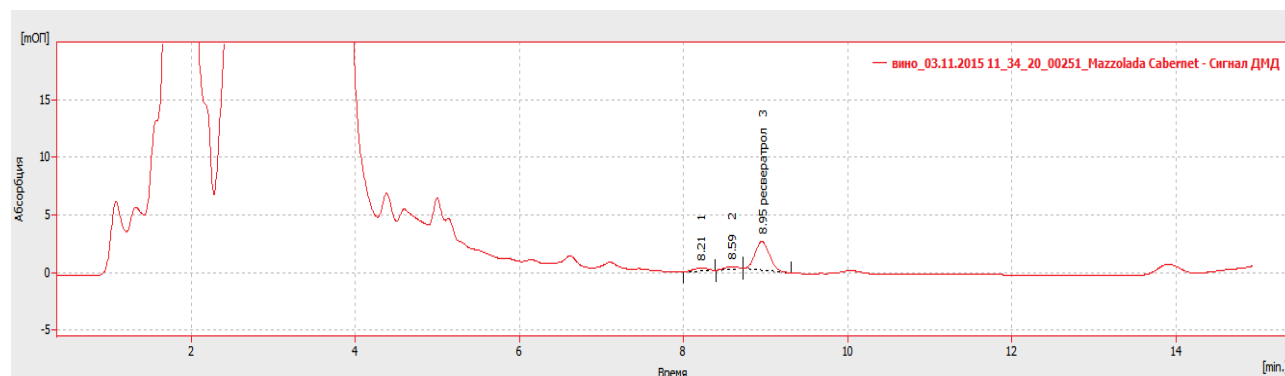


Спектр стандарта ресвератрола



Спектр пика, идентифицированного как ресвератрол, в образцах красного вина

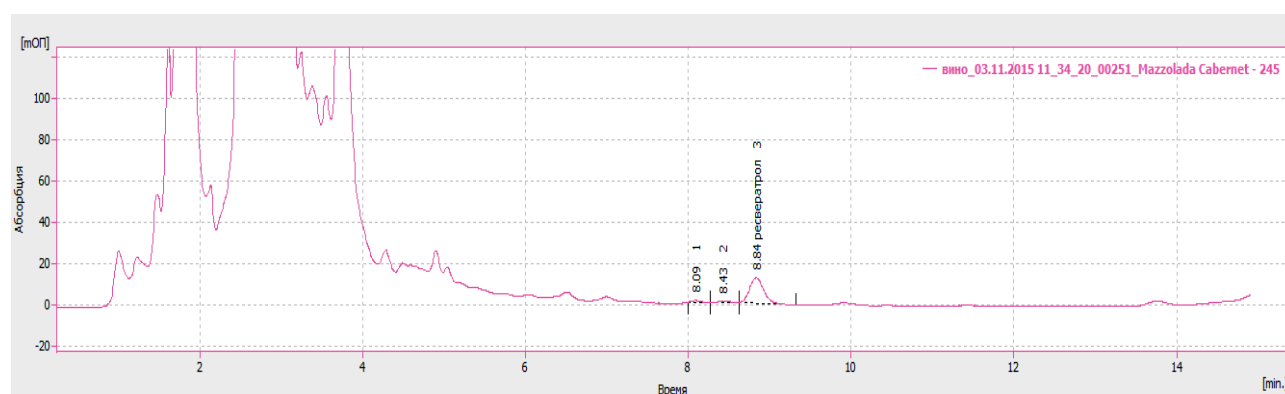
Определение ресвератрола в красном сухом вине “MAZZOLADA CABERNET FRANC VENEZIA” (Италия, урожай 2013)



Детектор на диодной матрице

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
8.837	149.977	12.383	1.507	ресвератрол

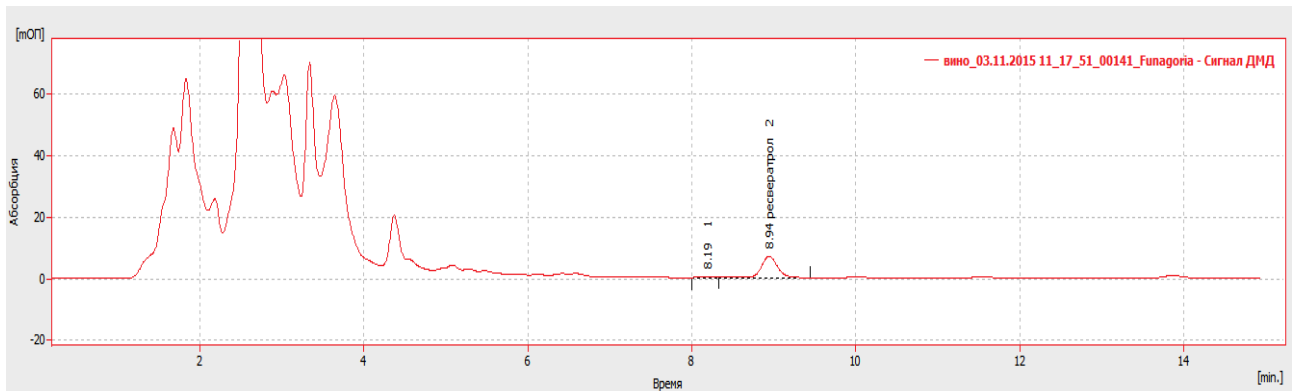


Фотометрический детектор

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
8.953	30.130	2.467	1.362	ресвератрол

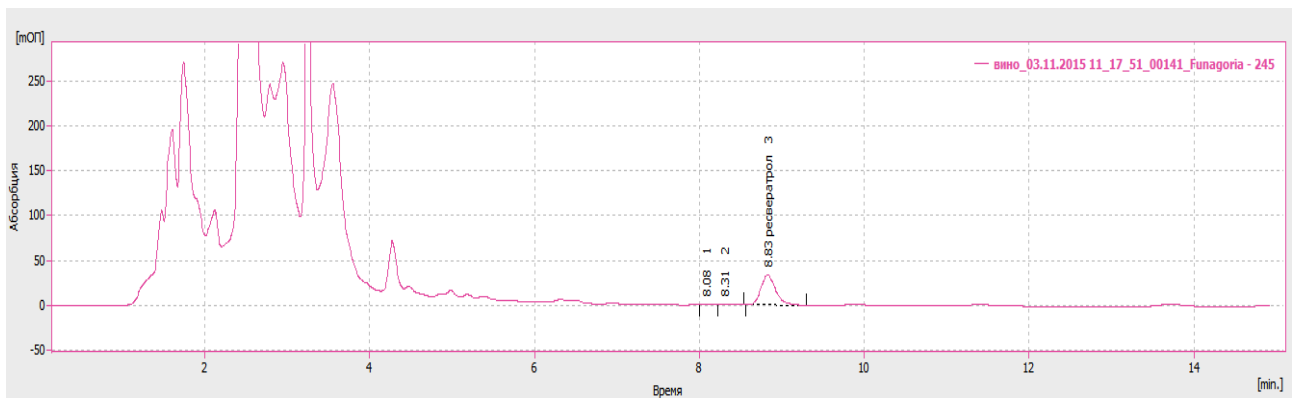
Определение ресвератрола в красном сухом вине "FANAGORIA" (РФ, урожай 2014, номерной резерв)



Детектор на диодной матрице

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
8.940	98.889	7.035	3.137	ресвератрол

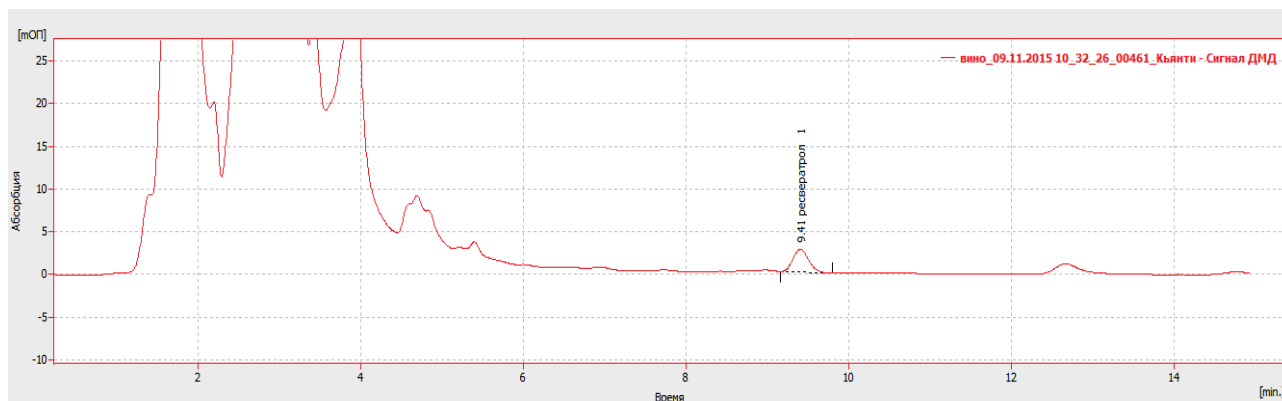


Фотометрический детектор

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
8.833	423.438	33.501	2.931	ресвератрол

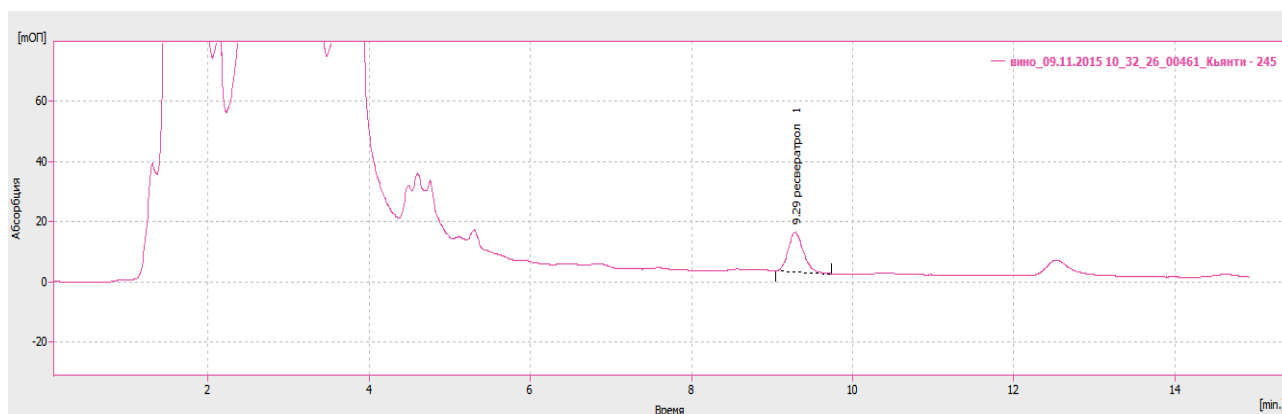
Определение ресвератрола в красном сухом вине «CHIANTI VITE ANTICA DOCG» (Италия, урожай 2014)



Детектор на диодной матрице

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
9.407	35.687	2.658	1.635	ресвератрол

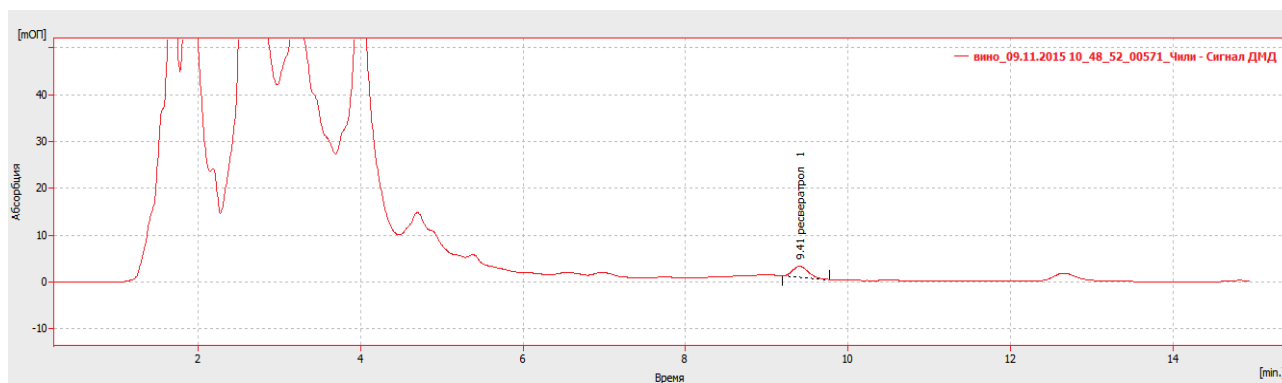


Фотометрический детектор

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
9.290	172.877	13.160	1.682	ресвератрол

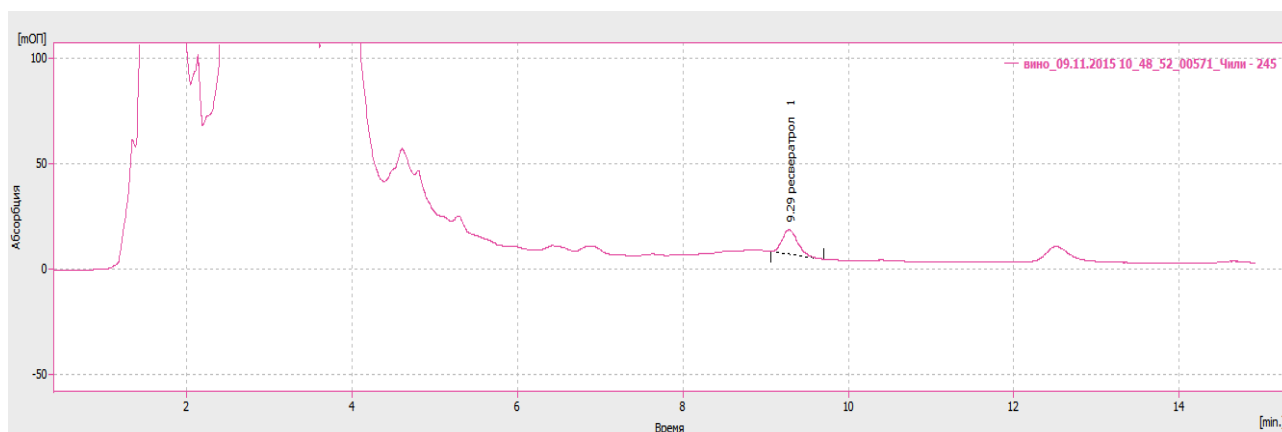
Определение ресвератрола в красном сухом вине «REGALO DE LA TIERRA CABERNET SAUVIGNON» (Чили, урожай 2014)



Детектор на диодной матрице

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
9.407	31.210	2.339	1.514	ресвератрол



Фотометрический детектор

Таблица результатов

Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
9.290	151.844	11.641	1.565	ресвератрол

Выводы

Во всех полученных результатах, при проверке стабильности системы, СКО составляло менее 1%. Определен ресвератрол в некоторых образцах красного вина. Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице и фотометрическим детектором можно рекомендовать для определения ресвератрола в винодельческих предприятиях и в лабораториях организаций, контролирующих качество винодельческой продукции. Кроме того, из-за более высокой чувствительности фотометрический детектор в составе жидкостного хроматографа «МаэстроВЭЖХ» можно рекомендовать для определения ресвератрола в розовых и белых винах, где его уровень значительно ниже, чем в красных винах.



За дополнительной информацией обращайтесь в компанию Интерлаб

127055, Москва, Тихвинский пер., д.11 стр.2
т. (495) 788-09-83, ф. (495) 755-77-61
www.interlab.ru
e-mail: interlab@interlab.ru

Екатеринбург:
т. (343) 379-57-33,
ф. (343) 379-57-34
e-mail: ural@interlab.ru

Новосибирск:
т. (383) 330-56-91
ф. (383) 330-56-03
e-mail: nsk@interlab.ru

Санкт Петербург:
т/ф. (812)643-14-23
e-mail: spb@interlab.ru