

VYUŽITÍ LC – MS/MS SYSTÉMŮ VE FYTOCHEMICKÉM VÝZKUMU PLODŮ TŘEŠNÍ

VOŘÍŠEK V.^{2,3}, EICHLEROVÁ E.², DVOŘÁKOVÁ R.², KABRHELOVÁ J.², HORNA A.^{1,2}



¹Institut Nutrce a Diagnostiky s.r.o., Sakařova 1400, 530 03 Pardubice

²RADANAL s.r.o., Okružní 613, 530 03 Pardubice

³Fakultní nemocnice v Hradci Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

e- mail: horna@radanal.cz



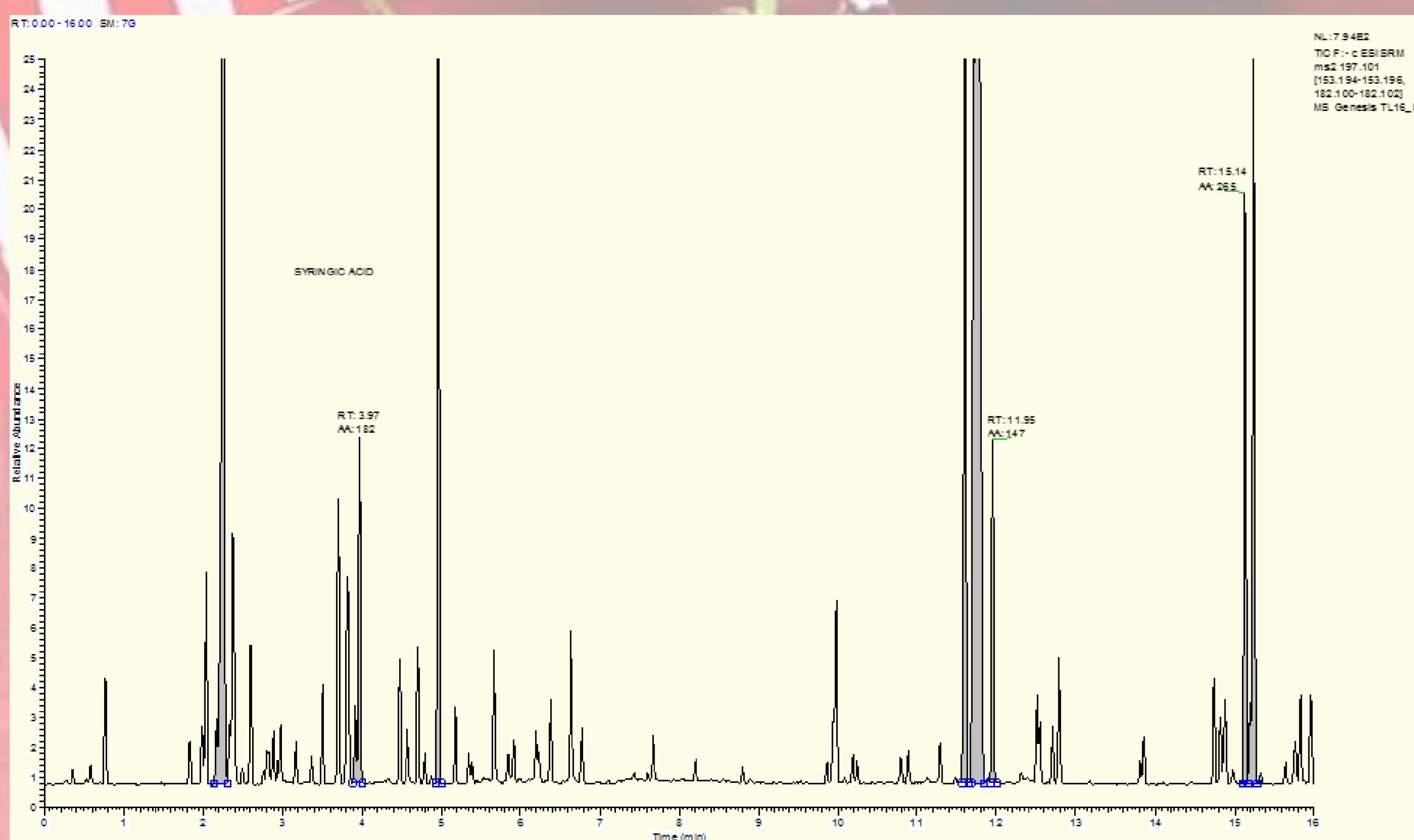
ÚVOD:

Třešně a višně jsou tradičně považovány za bohatý zdroj biologicky aktivních látek, jako jsou antokyany, vitamíny či karotenoidy, s pozitivním vlivem na lidské zdraví. Cílem naším práce bylo vyvinout a zavést analytickou metodu, která by umožňovala hodnotit obsah bioaktivních látek u třešní z Portugalska a České republiky. K tomu jsme využili spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí, kterou předcházela na jednoduchá příprava vzorků.

ANALÝZA TŘEŠNÍ UHPLC-MS/MS:

V první fázi byl použit systém lineární iontové pasti LTQ XL ve spojení s pumpou Ultimate 3000 pro zjištění profilu fenolických, případně zajímavých flavonoidních látek s antioxidační aktivitou. V návaznosti na provedené profilování byly dále stanoveny vybrané látky. Pro stanovení těchto antioxidantů v plodech třešní byl použit systém sestavený z ultraúčinného kapalinového chromatografu (UltiMate 3000 Binary RSLC) a tandemového hmotnostního spektrometru s trojitým kvadrupólem (TSQ Quantum Access Max) vybaveného ionizací elektrosprejem (H-ESI). Pro chromatografickou separaci byla použita kolona Hypersil GOLD, 50 x 2,1 mm, 1,9 µm (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) s univerzální předklonkou při teplotě 30 °C. Byla použita gradientová eluce. Průtok mobilní fáze byl 0,3 ml/min a nástřikový objem byl 10 µl. Mobilní fáze A obsahovala 0,1 obj. % mravenčí kyseliny ve vodě, mobilní fáze B obsahovala 0,1 obj. % mravenčí kyseliny v methanolu. Úprava vzorků byla následující: z homogenizovaných vzorků třešní byl zpracován extrakt s 5 ml 100% methanolu s přidavkem 2 obj. % kyseliny mravenčí.

Obr.1: Pseudochromatogram kyseliny syringové



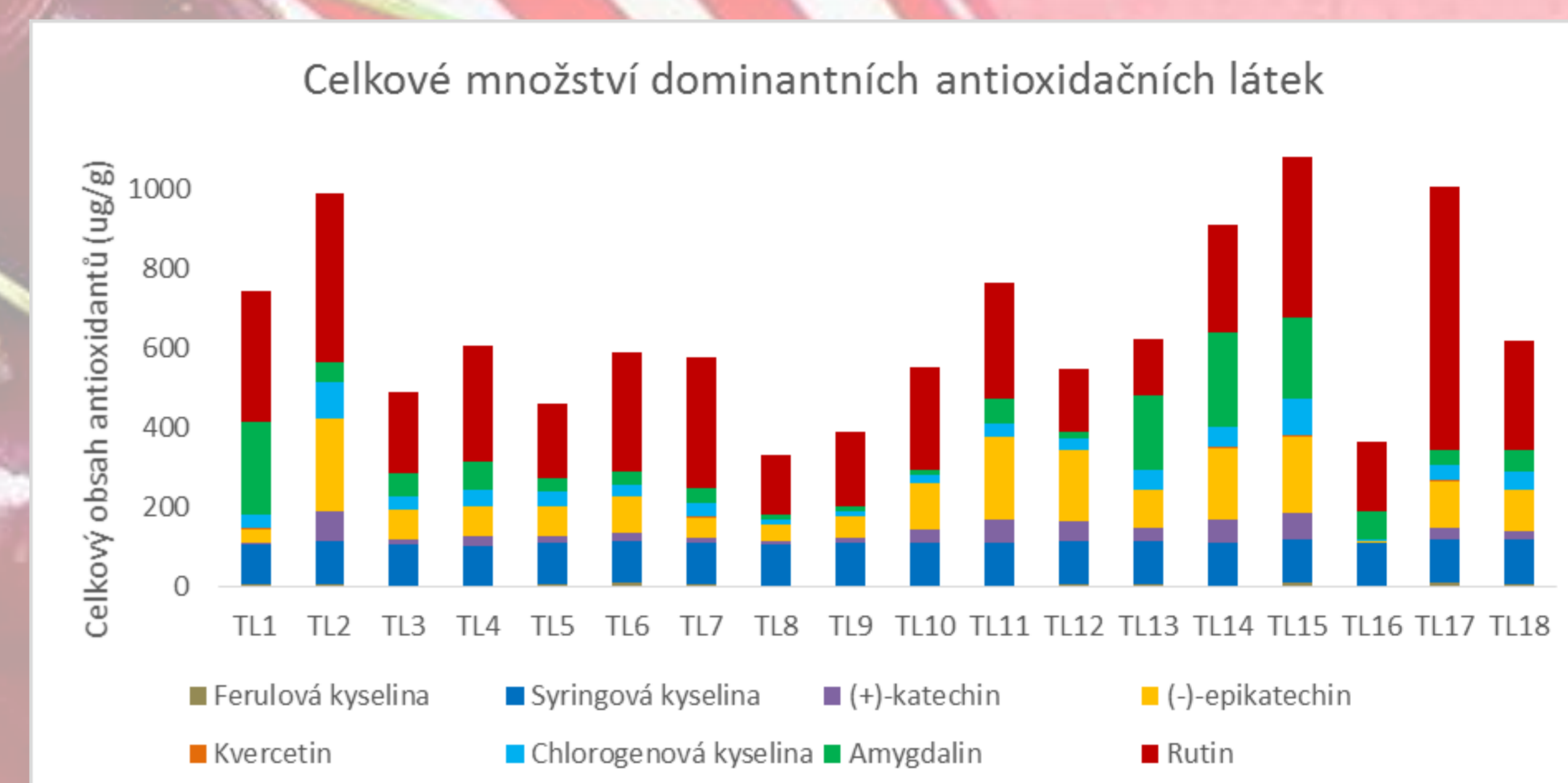
KLÍČOVÁ SLOVA:

Prunus, UPLC-MS/MS, antioxidanty, rutin, epi/katechin, kyselina syringová, amygdalin

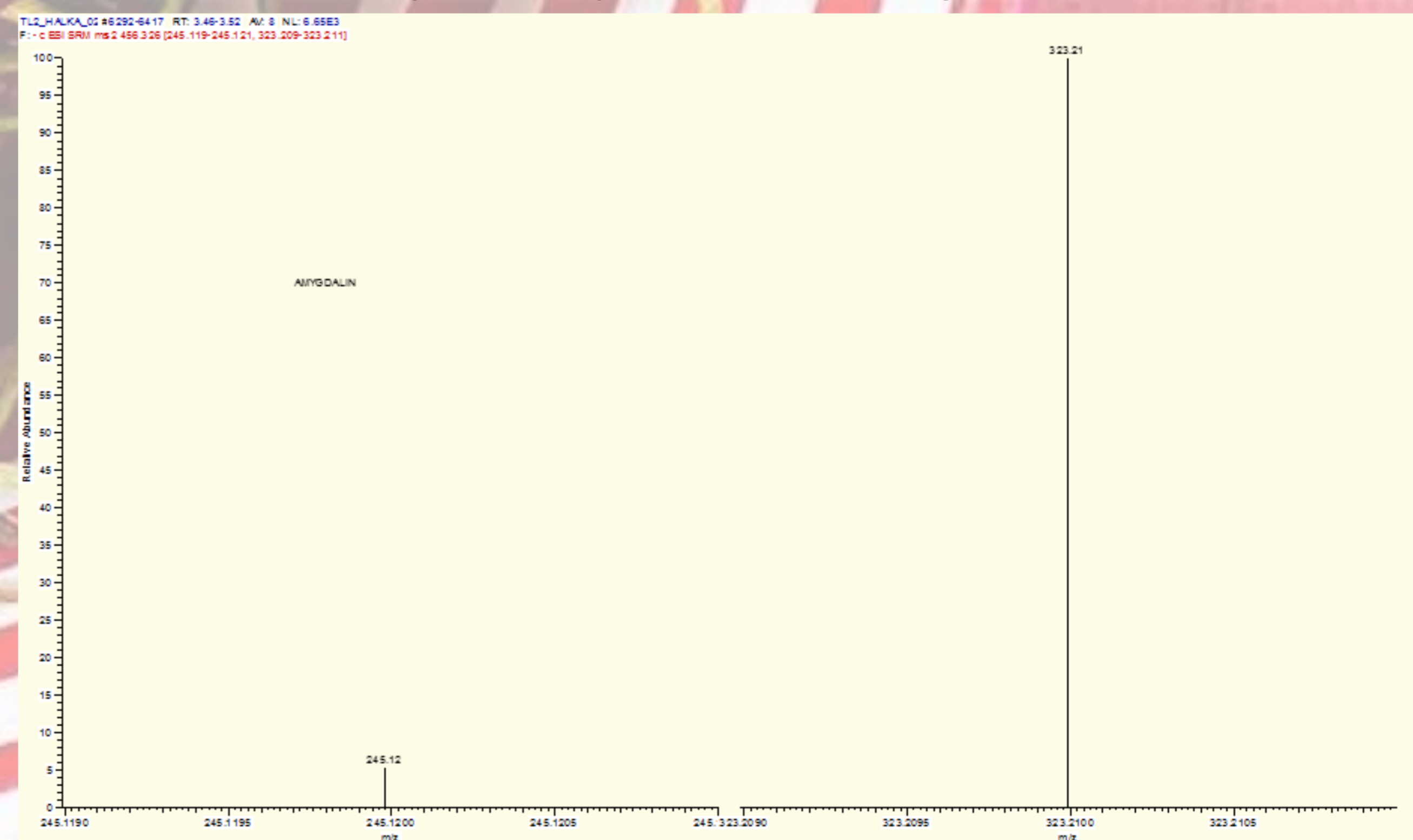
VÝSLEDKY:

Na Obr. 2 jsou prezentovány přehlednou formou dosažené výsledky. V třešňových plodech bylo zjištěno významné množství flavonoidu rutinu, který příznivě ovlivňuje složení cévní stěny a její pružnost. Kvercetin byl detekován jen stopově, což je odrazem míry stability rutinu v plodech po sklizni. Amygdalin, Obr. 3, byl zjištěn s většími množstvími výkyvy, neboť tato látka je lokalizována především v semenech (jádrech pecek). Jeho výsledná množství jsou odrazem difúze přes osemení do dužniny plodu. Kyselina syringová, Obr.1, v odborné literatuře často uváděná jako typická organická kyselina vyskytující se v plodech třešní, byla nalezena ve výrazně nižším množství než výše popsané antioxidanty. V poměru epikatechin/katechin byl sledován výrazně vyšší podíl epikatechinu. Chlorogenová kyselina byla zaznamenána v podstatně nižších množstvích, kyselina ferulová pak prakticky jen stopově.

Obr.2: Grafické porovnání celkového množství dominantních antioxidantů ve vzorcích třešní z Holovous, sklizeň r. 2017



Obr.3: Hmotnostní spektrum amygdalinu s vyznačenými hodnotami m/z nejdůležitějších produktových iontů



PODĚKOVÁNÍ: Práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství ČR, projektu QK 1910296.

LITERATURA:

- [1] Mrduljš N., Krešič G., Bilušič T., Polyphenols: Food sources and health benefits, 2017, <http://dx.doi.org/10.5772/in-techopen.68862>.
- [2] Jandera P., Škeříková V., Řehová L., Horna A., et al., RP- HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids in beverages and plant extracts using a CoulArray detector, *J. Sep. Sci.*, 2005, 28, 1005- 1022, doi:10.1002/jssc.200500003.
- [3] Sochor J., Zitka O., Shutková H., Horna A., Kizek R., et al., Content of phenolic compounds and antioxidant capacity in fruits of apricot genotypes, *Molecules*, ISSN 1420-3049, 2010, 6285- 6305, doi: 10.3390/molecules15096285.
- [4] Perez- Vizcaino F., Fraga CG, Research trends in flavonoids and health, *Arch. Biochem. Biophys.*, 646, 2018, 107- 112.