

Maja Pelajić

Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zavod za zaštitu bilja

maja.pelajic@hpcphs.hr

Dubravka Vitali Čepo

Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

dvitali@pharma.hr

Dragana Mutavdžić Pavlović

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

dmutavdz@fkit.hr

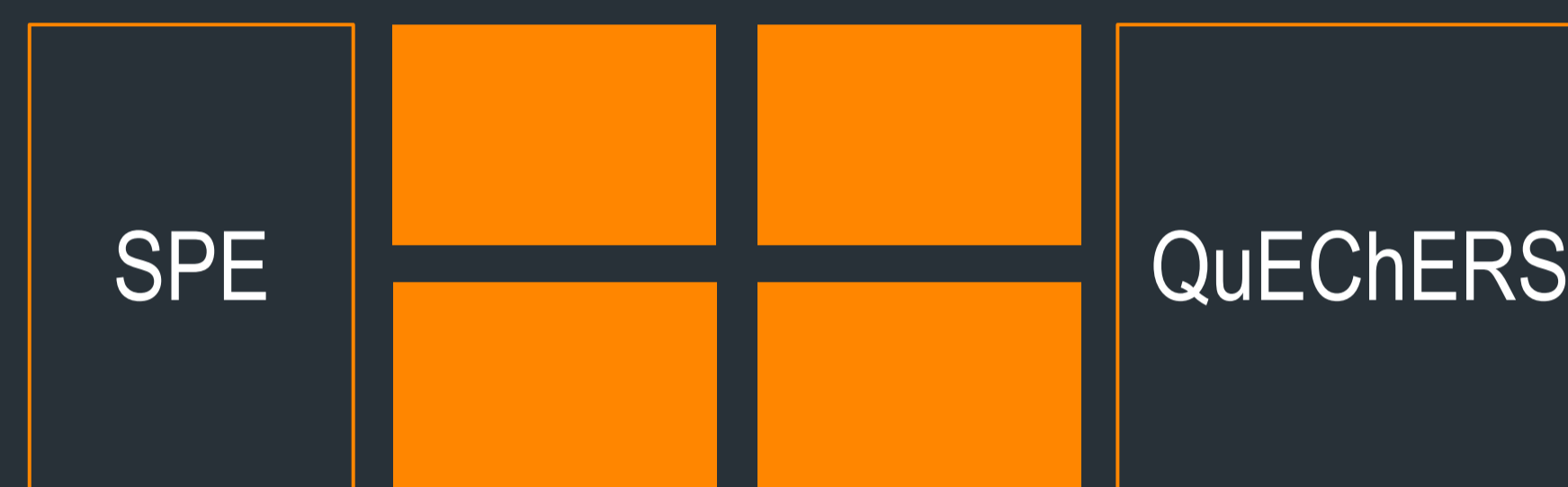


Fenolni i polifenolni spojevi jedni su od najvažnijih sastojaka vina, te ih je u vinu detektirano preko 200. Značajno utječu na organoleptička svojstva vina (boja, aroma, okus, trpkost), tijekom zrenja, stabilnost vina, te na njihovu nutritivnu kvalitetu i ljekovitu učinkovitost. Najveće količine fenolnih i polifenolnih spojeva nalaze se u kožici i sjemenki grožđa. U crnom grožđu, kao i u crnom vinu tih je spojeva više nego u grožđu i vinu bijelih kultivara. Fenolni i polifenolni spojevi su grupa sekundarnih aromatskih metabolita biljke za koje se zna da posjeduju biološko djelovanje kao što je antioksidacijska aktivnost. Antioksidacijska svojstva navedenih spojeva služi u prevenciji mnogih bolesti od koji valja napomenuti bolesti srca i koronarnih žila, te upalne procese. Dosadašnja istraživanja pokazala su da su bolesti srca i koronarnih žila manje učestale u zemljama gdje se više konzumira crno vino [1]. S obzirom na kemijsku prirodu, fenolni i polifenolni spojevi vrlo lako reagiraju s drugim spojevima što može rezultirati promjenom osjetljivih karakteristika vina. S druge strane, sve češća detekcija kontaminacije vina pesticidima dovodi u pitanje nutritivnu kvalitetu vina [2]. Prema fizikalno-kemijskim svojstvima pesticidi su spojevi koji su skloni reagirati s ostalim komponentama prisutnim u matrici uzorka. Iz navedenog slijedi pretpostavka da pesticidi reagiraju i kompleksiraju s fenolnim i polifenolnim spojevima koji su najzastupljenija skupina spojeva u vinu [3].

Izolacija pesticida iz uzoraka vina

Optimizacija ekstrakcije u čvrstoj fazi (SPE) i primjena analitičke metode za određivanje 25 pesticida u vinima vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).

Ekstrakcija u čvrstoj fazi

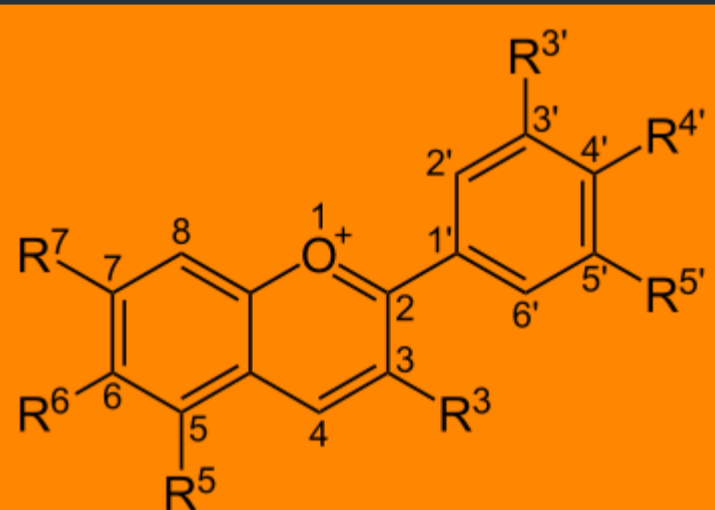


Quick
Easy
Cheap
Effective
Rugged
Safe

Optimizacija QuEChERS metode ekstrakcije i primjena metode za određivanje 25 pesticida u vinima vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).

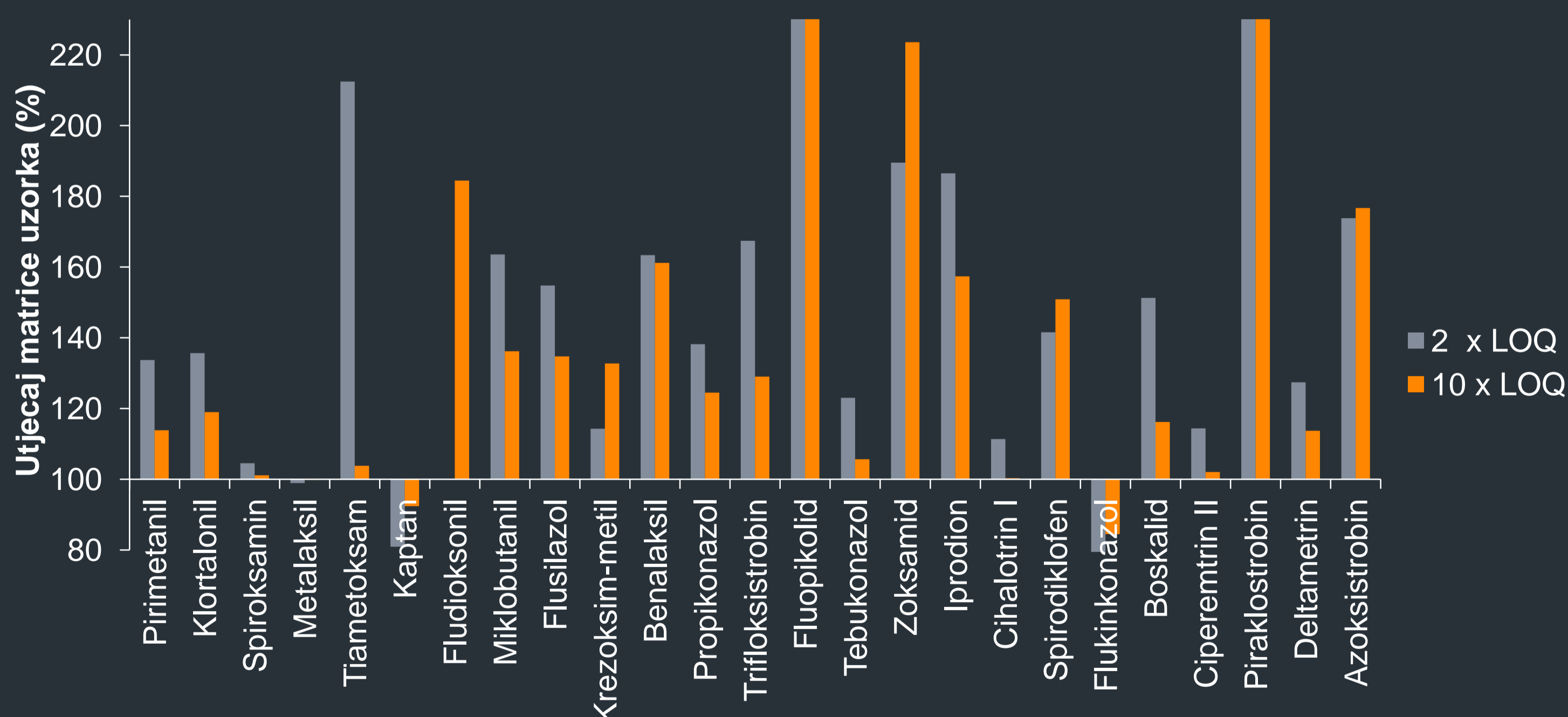
- Razrijeđenje uzorka | 10 mL uzorka sa 10 mL vode
- Kondicioniranje | Oasis HLB sa 3 mL acetonitrila i 3 mL vode
- Koncentriranje uzorka | Zaostajanje pesticida na sorbensu
- ispiranje sorbensa | Metanol:voda 50:50 v:v (antocijanini!)
- Eluiranje | 2 mL *n*-heksan i 8 mL acetonitril

- Nerazrijeđeni uzorak | 10 mL uzorka vina
- Ekstrakcija | 10 mL acetonitrile
- | 4 g MgSO₄ i 1.5 g NaCl
- | 2 g Na citrat i 2 g Na acetat
- | Miješanje 10 min i centrifuga 15 min
- Pročišćavanje uzorka | Alikvot 8 mL
- | 0.2 g PSA i 1 g MgSO₄



Utjecaj matrice uzorka

Velik rasponi fizikalno-kemijskih svojstava pesticida, te složenost kemijske prirode vina uzrokuju velike poteškoće pri razvoju analitičkih postupaka za određivanje pesticida, ali i drugih spojeva u vinima.



- Crvena boja eluata
- Antocijanini daju vinu crvenu boju – reaktivna skupina flavonoida
- Masenom spektrometrijom potvrđena prisutnost antocijanina
- Reakcija pesticida sa antocijaninima!

Utjecaj matrice uzorka ispitan metodom po Matuszewski-om na dvije koncentracijske razine [4].

ME% = B/A · 100, dobiven na temelju instrumentalnih odziva dobivenih za pesticide u vinima poslije ekstrakcije (B) i u čistom otapalu (A)

Zaključak

Tijekom razvoja analitičkog postupka uočene su interferirajuće komponente koje utječu na izolaciju pesticida pri čemu je potvrđena prisutnost antocijanina u eluatu. S ciljem dokazivanja reakcije pesticida s fenolnim i polifenolnim spojevima prisutnim u vinu ispitan je i potvrđen utjecaj matrice uzorka na određivanje pesticida u vinima. Povišene (>100 %) i snižene (<100 %) vrijednosti za ME ukazuju na povećanje odnosno, prigušenje instrumentalnog odziva pesticida. Prema dobivenim vrijednostima ME vidljivo je da matrica uzorka ima velik utjecaj na cjelokupnu djelotvornost postupka. Jedan od razloga dolazi od kemijske prirode vina. Vrlo bitan sastojak vina su fenolni i polifenolni spojevi koji reagiraju s drugim spojevima u vinu ili koeluiraju zajedno s analizom što može rezultirati prigušenjem ili povećanjem instrumentalnog odziva pesticida. Na temelju dosadašnjih rezultata zaključuje se da pesticidi reagiraju s fenolnim i polifenolnim spojevima, od kojih valja izdvojiti antocijanine, te se postavlja pitanje i javlja potreba za daljnjim istraživanjima u kojoj mjeri pesticidi utječu na nutritivnu kvalitetu vina, kao i na antioksidacijsku aktivnost.

[1] L. Minuti, R. M. Pellegrino, I. Tesei, J. Chromatogr. A 1114 (2006) 263-268

[2] A. Economou, H. Botitsi, S. Antoniou, D. Tsipi, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 5856-5867

[3] R. Fontana, I. Rodriguez, M. Ramil, J. C. Altamirano, R. Cela, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 2165-2175

[4] B.K. Matuszewski, M.L. Constanzer, C.M. Chavez-Eng, Anal.Chem. 75 (2003) 3019-3030