

Streszczenie

Znacznie mniejsze wymagania dotyczące procesu wytwarzania produktów roślinnych o statusie suplementów diety niż leków, jak chociażby brak obowiązku standaryzacji surowców roślinnych oraz złożony skład samych surowców i wyciągów, mogą powodować zarówno problemy z utrzymaniem wysokiej jakości, jak i potencjalne zagrożenie dla konsumenta. Potrzeba kontroli takich produktów wymusza poszukiwanie efektywnych narzędzi analitycznych wspomagających ocenę jakościową ich złożonego składu chemicznego.

Celem pracy było wykorzystanie metod spektroskopowych (UV-VIS, ATR-FTIR), oraz wybranych metod chemometrycznych do identyfikacji nadmiarowej ilości (ang. adulterants) rutyny, kwercetyny i kemferolu w suplementach diety zawierających w składzie wyciąg z liści miłorzębu japońskiego (łac. *Ginkgo biloba* L.) oraz do analizy suszonych liści i suplementów diety zawierających wyciąg z liści morwy białej. W przypadku niektórych próbek ze względu na skomplikowany skład i niewielkie ilości domieszek użycie konwencjonalnego widma jest utrudnione ze względu na nakładające się sygnały. Dlatego też wykorzystano, wprowadzone przez Isao Nodę w 2018r., podejście obliczeniowe określane jako dwuśladowa dwuwymiarowa spektroskopia korelacyjna (2T2D-COS, ang. Two-trace two-dimensional correlation spectroscopy), która umożliwia ekstrakcję z widma dodatkowych informacji o próbce.

W pierwszym etapie, wykorzystano asynchroniczne widma korelacyjne w zakresie UV-Vis (245–410 nm) metanolowo-wodnych (80:20) ekstraktów, w celu wykrycia nadmiarowej ilości rutyny, kwercetyny i kemferolu w 20 suplementach diety z wyciągiem z liści miłorzębu japońskiego. Wykonano trzy serie dwuwymiarowych widm asynchronicznych, które poddano interpretacji a także eksploracji z wykorzystaniem wielowymiarowej analizy głównych składowych (MPCA). To stosunkowo szybkie i proste podejście okazało się skutecznym narzędziem w różnicowaniu suplementów diety z nadmiarową ilością rutyny, kwercetyny i kemferolu oraz próbek pozbawionych deklarowanego wyciągu z liści miłorzębu japońskiego. Dodatkowe informacje na temat badanych produktów uzyskano z różnicy pomiędzy procentem dezaktywacji rodnika DPPH przez metanolowo-wodne i wodne ekstrakty próbek. Metodą referencyjną była chromatografia cieczowa (HPLC-DAD). Dla porównania wykonano podobne analizy dla trzech

leków zawierających wyciąg z liści miłorzębu japońskiego oraz materiał referencyjny wyciągu z liści miłorzębu japońskiego (GB-XRM).

Kolejnym etapem pracy było wykorzystanie spektroskopii całkowitego wewnętrznego odbicia z transformatą Fouriera w podczerwieni (ATR-FTIR) w połączeniu z metodami chemometrycznymi dla suplementów diety z ekstraktem liści miłorzębu japońskiego (16 suplementów diety). Zbudowano i zwalidowano trzy modele z wykorzystaniem dyskryminacyjnego wariantu metody cząstkowych najmniejszych kwadratów z przedziałową selekcją zmiennych (iPLS-DA ang. interval Partial Least Square Discriminant Analysis) w celu identyfikacji suplementów z nadmiarową (w stosunku do naturalnej) ilością rutyny, kwercetyny i kemferolu. Modele iPLS-DA osiągnęły odpowiednio 87,5%, 93,7% i 87,5% poprawnych klasyfikacji próbek. Przygotowanie danych do analizy chemometrycznej obejmowało transformację widm (druga pochodna) oraz centrowanie względem średniej (ang. mean center). Wyniki uzyskane z modeli klasyfikacyjnych zweryfikowano za pomocą fingerprintów chromatograficznych niezhydrolizowanych ekstraktów próbek, a materiał referencyjny stanowiło sześć leków ze standaryzowanym wyciągiem z liści miłorzębu japońskiego. Korelując pary widm suplementów diety z uśrednionym widmem leków obliczono dwuwymiarowe asynchroniczne widma (2T2D-COS), które następnie poddano eksploracji z wykorzystaniem metody MPCA.

Trzeci etap pracy obejmował chromatograficzną i spektroskopową analizę suszonych liści i suplementów diety zawierających wyciąg z liści morwy białej (*Morus alba* L.). Oznaczono chromatograficznie, po derywatywacji próbki, zawartość moranoliny (1-deoksyjirimycyny, DNJ) jednej z głównych substancji aktywnych liści morwy białej. Ponadto zarejestrowano fingerprinty chromatograficzne i oznaczono zawartość rutyny, kwasu chlorogenowego i neochlorogenowego. Metodą cząstkowych najmniejszych kwadratów z przedziałową selekcją zmiennych (iPLS) zbudowano model kalibracyjny w oparciu o widma oscylacyjne (ATR-FTIR) do predykcji zawartości DNJ w próbkach. W ostatnim etapie podjęto próbę wykorzystania dwuwymiarowych asynchronicznych widm korelacyjnych do charakterystyki badanych produktów ze względu na zawartość DNJ, rutyny oraz kwasów chlorogenowego i neochlorogenowego.

Z przeprowadzonych badań wynika, że połączenie metod spektroskopowych z metodami chemometrycznymi oraz wykorzystanie dwuśladowej dwuwymiarowej

spektroskopii korelacyjnej (2T2D-COS) może stać się efektywnym narzędziem do oceny jakości produktów roślinnych, komplementarnym do metod chromatograficznych.

Waliński - Bródka

Słowa kluczowe: Dwuwymiarowa spektroskopia korelacyjna, chemometria, spektroskopia UV-VIS, spektroskopia ATR-FTIR, iPLS, MPCA

Wollweil - Brück