

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О.
БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему «ВИЗНАЧЕННЯ РЕСВЕРАТРОЛУ В ДІСТИЧНИХ
ДОБАВКАХ ХРОМАТОГРАФІЧНИМ МЕТОДОМ»

Виконала здобувачка вищої освіти 3-го
курсу, групи 18Б2Б
напряму підготовки 226 «Охорона
здоров'я»
освітня програма «Фармація»
Дворецька Дар'я Михайлівна

Керівниця: завідувачка кафедри
аналітичної, фізичної та колоїдної хімії,
кандидатка хімічних наук, доцентка
Зайцева Галина Миколаївна

Рецензентка: д.фарм.н., професорка
Вельчинська Олена Василівна

Київ 2024

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів.	4
Вступ.	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Ресвератрол, методи визначення.	8
1.1. Загальна характеристика сполук фенольної та поліфенольної природи.	8
1.2. Фізико-хімічні методи аналізу ресвератролу.	9
1.3. Визначення сполук фенольної і поліфенольної природи методами хроматографії.	11
1.4. Визначення сполук фенольної і поліфенольної природи в різних об'єктах.	12
Розділ 2. Експериментальна частина.	14
2.1. Реагенти, приготування розчинів та об'єкти дослідження.	14
2.2. Адсорбент для ТЕ.	16
2.2.2. Приготування патронів (хроматографічна колонка) для ТЕ та їх кондиціювання.	17
2.3. Прилади.	17
2.4. Методики дослідження.	19
2.4.1. Пробопідготовка об'єкту дослідження.	19
2.4.2. Методика визначення ресверантролу у зразку.	19
2.4.3. Методика визначення оптимізації умов динамічного концентрування ресвератролу з стандартних розчинів та їх десорбції з фази сорбенту.	20
Розділ 3. Результати та їх обговорення.	21

3.1.	Вибір рухомої фази.	21
3.2.	Підбір оптимальних умов елюювання.	22
3.3.	Вплив складу розчинників.	24
3.4.	Визначення кореляційних залежностей між концентрацією фенольних сполук та хроматографічними параметрами (побудова градувального графіка).	24
3.5.	Дослідження стабільності розчинів ресвератролу у часі.	26
3.6.	Дослідження сорбційних характеристик $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ /ЧАС в динамічних умовах.	26
3.7.	Оптимізація умов десорбції ресвератролу.	29
3.8.	Визначення ресвератролу в об'єкті дослідження.	30
	Висновки.	32
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	33
	ДОДАТКИ	37
	Анотація (Summary)	40

ВСТУП

Фенольні та поліфенольні сполуки, будучи цінними біологічно активними речовинами (БАР) рослинного походження, мають широкий спектр біологічної активності: антиоксидантну, протівірусну, протизапальну, антибактерицидну, антиканцерогенну, Р-вітамінну, капілярно зміцнюючу та ін. [1].

Зважаючи на великий інтерес до біологічно-активних сполук фенольного типу, розробка надійних методик визначення індивідуальних антиоксидантів набуває великого значення через різну фізіологічну дію окремих складових рослинних екстрактів та харчових добавок, можливості фальсифікації. Особливо це важливо в процесі контролю якості дієтичних добавок та фармацевтичних препаратів.

На даний час для ідентифікації та кількісного визначення сполук фенольної та поліфенольної природи у лікарських засобах та дієтичних добавках широко використовуються методи вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)[2,3]. Але необхідною стадією пробопідготовки багатокomпонентних фармацевтичних препаратів та рослинної сировини є попереднє концентрування з метою відокремлення цільового компоненту від матриці. У зв'язку з вищезазначеним широке розповсюдження отримав метод твердофазної екстракції (ТЕ) [4-12]. Цей метод простий і підтвердив свою ефективність для концентрування різних типів фенольних сполук перед їх хроматографічним визначенням. Проте відомі патрони для концентрування на основі гідрофобізованого силікагелю ($\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$) погано підходять для концентрування поліфенольних сполук через можливість їх іонізації в нейтральному та лужному середовищах, що призводить в свою чергу до втрат аналізу, невисоких коефіцієнтів концентрування та низької ємності ТЕ по відношенню до поліфенольних сполук.

Актуальність теми: Пошук нових адсорбентів для вилучення поліфенолів методом ТЕ, а також їх удосконалення і спрощення багатостадійних етапів пробопідготовки.

Мета: даної роботи полягала у розробці хроматографічної методики кількісного визначення ресвератролу у дієтичних добавках.

Завдання:

- підібрати оптимальні умови розділення та детектування ресвератролу у складних багатокомпонентних об'єктах – дієтичних добавках;
- розробити та апробувати хроматографічну методику кількісного визначення ресвератролу у дієтичній добавці;
- провести часткову валідацію методики.

Методи дослідження: бібліосемантичний, хроматографія, твердофазна екстракція, хемометричний.

Новизна та значення одержаних результатів: Вивчено умови концентрування ресвератролу з модельних розчинів на кремнеземі зковалентно-закріпленими групами довголанцюгової четвертинної солі алкіламмонію ($\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ /ЧАС). Встановлено, що сорбент $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ /ЧАС є придатним для використання в якості ТФЕ при концентруванні сполук фенольної природи при $\text{pH}=5,0$. Найбільш придатним елюентом для десорбції ресвератролу в умовах, що забезпечують інтеграцію запропонованого підходу з ВЕРХ визначенням сполук в елюаті є 0,5% метанольний розчин соляної кислоти. В оптимальних умовах методом ОФ-ВЕРХ показано можливість використання $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ /ЧАС для ТФЕ ресвератролу та визначення його у дієтичних добавках.

Апробація результатів дослідження:

Результати дослідження представлено на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету, 19-20.12.2023(Додаток 3).

Структура роботи. Рисунків 10, таблиць - 6, додатків - 3, робота представлена на 42 сторінках.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що сорбент $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ /ЧАС кількісно вилучає ресвератрол при $\text{pH}=5,0$. Найбільш придатним елюентом для десорбції ресвератролу в умовах, що забезпечують інтеграцію запропонованого підходу з ВЕРХ визначенням сполук в елюаті є 0,5% метанольний розчин соляної кислоти.
2. В оптимальних умовах методом ВЕРХ показано можливість використання $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ /ЧАС для твердофазної екстракції ресвератролу. Умови ОФ-ВЕРХ у порівнянні з іншими дають можливість більш швидко визначити ресвератрол (за 8 хв).
3. Проведено часткову валідацію методики за лінійністю, специфічністю, збіжністю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. // *J. Nutr. Biochem.* – 2002. - № 13. – P. 572-584.
2. Ревина А.А., Ларионов О.Г., Кочетова М.В, Луцик Т.К., Эль-Регистан Г.И. ВЕРХ ряду фенольных и полифенольных сполук. // *Вісник. АН. Сер. хім.* – 2003. - № 11 – С. 2257.
3. Kochetova. M.V., Semenistaya E.N., Larionov O.G., Revina A.A. Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques. // *Russ.Chem.Rev.* – 2007. – № 76 – 79-90 P.
4. Middleton Jr.E., Kandaswami C., Theoharides T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. // *Pharmacol. Rev.* – 2000 - V.52, № 4 – P. 673-751.
5. H.Nishino, M.Murakoshi, X.Y.Mou, S.Wada, M.Masuda, Y.Ohsaka, Y.Satomi, K.Jinno. Cancer prevention by phytochemicals. // *Oncology* – 2005. - № 69 – P. 38-40.
6. Diaz M.N., Frei B., Vita J.A., Keaney J.F. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. // *New Engl. J. Med.* – 1997. - V.337. – P. 408-416.
7. Joshipura K.J., Hu F.B., Manson J.E., Stampfer M.J., Rimm E.B., Speizer F.E., Colditz G., Ascherio A., Rosner B., Spiegelman D., Willett W.C. The Effect of Fruit and Vegetable Intake on Risk for Coronary Heart Disease. // *Ann. Intern. Med.*, - 2001. – V.134, № 12. – P. 1106-1114.
8. Hassan-Khabbar S, Cottart CH, Wendum D, Vibert F, Clot JP, Savouret JF, Conti M, Nivet-Antoine V. Postischemic treatment by trans-resveratrol in rat liver ischemia-reperfusion: a possible strategy in liver surgery. // *Liver Transplant.* – 2008. – V.14, № 4. – P. 451-459.

9. Finke M., Muth G., Reichhelm T., Thoma M., Duchene M., Hungerer K.D., Domdey H., B.U. von Specht. Protection of immunosuppressed mice against infection with *Pseudomonas aeruginosa* by recombinant *P. aeruginosa* lipoprotein I and lipoprotein I-specific monoclonal antibodies. // *Infect. Immun.* – 1991. - V.59, №4. - P. 1251–1254.
10. Leiro J, Alvarez E, Arranz JA, Laguna R, Uriarte E, Orallo F. Effects of cis-resveratrol on inflammatory murine macrophages: antioxidant activity and down-regulation of inflammatory genes. // *J Leukoc Biol.* – 2004. - V.75, №6. - P.1156-1165.
11. Yanagida N., Irie T., Tanaka E., Teramoto C., Kuwabara K., & Tajimi A. New choke diseases and their molecular phylogenetic analysis in *Agropyronciliare* var. *minus* and *Agropyronciliare* var. *transiens*. // *Mycologia.* – 2005. - V.97. – P. 1287-1291.
12. Asenstorfer R.E., Wang Y., Mares D.J. Chemical structure of flavonoid compounds in wheat (*Triticum aestivum* L.) flour that contribute to the yellow colour of Asian alkaline noodles. // *J. Cereal Sci.* – 2006. - V43, №1. - P. 108-119.
13. Higdon JV, Frei B. Coffee and health: a review of recent human research. // *Rev Food Sci Nutr.* – 2006. - V46, №2. - P. 101-123.
14. Arlorio M., Coisson J.D., Travaglia F., Varsaldi F., Miglio G., Lombardi G., Martelli A. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from Theobromine cacao hulls extracted with super critical CO₂. // *Food Res. Int.* – 2005. – V38, №8. - P. 1009-1014.
15. Ruidavets J.-B., Teissedre P.-L., Ferrieres J., Carando S., Bougard G., Cabanis J.-C. Catechin in the Mediterranean diet: vegetable, fruit or wine. – 2000. – V153, №1. - P. 107-117.
16. Tsanova-Savova S, Ribarova F, Gerova M. (+)- and (-)- Epicatechin in Bulgarian Fruits. // *Journal of Food Composition and Analysis.* – 2005. – V.18. – P. 691-698.

17. Зиятдинова, Г.К. Г.К. Будников. Визначення флавонолів в фармпрепаратах методом вольтамперометрії// Хим.-фарм. журн.- 2005.- Т.39, № 10.- С.54-56.
18. Бельтюкова С.В., Бычкова А.А. Сорбційно-люмінесцентне визначення кверцетина в лікарських рослинах. – праці Одеського політехнічного університету. //Одеса- 2008. - №2. - С. 242-246.
19. JuanJuanRen, HaiYanLiu, YuHongHao, PinGangHe, YuZhi Fang. Determination of resveratrol in red wine by solidphase extraction-flow injection chemiluminescence method. //ChineseChemicalLetters. - 2007. - V.18,№ 8. - P. 985–988.
20. Основи аналітичної хімії. Під редакцією В.М.Зайцева.
- 21.Слепченко Т.Б. Контроль якості біологічно активних добавок методами вольтамперометрії. Визначення вітамінів В1, В2, С, Е. і кверцетина // Хим.-фарм. Журн., - 2005. – Т. 39, № 3. – С.54-56.
22. Makhotkina O., Kilmartin P.A. The use of cyclic voltammetry for wine analysis: Determination of polyphenols and free sulfur dioxide. // AnalyticaChimicaActa. – 2010. – V.668.- P. 155–165.
23. Hongfang Zhang, Lifeng Xu, Jianbin Zheng. Anodic voltammetric behavior of resveratrol and its electroanalytical determination in pharmaceutical dosage form and urine. //Talanta. - 2007. – V.71 - P.19-24.
24. Zielinska D., Nagels L., Piskula M.K.Determination of quercetin and its glucosides in onion by electrochemical methods. // Analytica Chimica Acta. – 2008. – V.617.- P.22-31.
- 25.Абдуллабекова В.Н. Идентификация рутина в растительном сырье методом капиллярного электрофореза/ В.Н. Абдуллабекова// Вестник фармации. – 2009. – №3. – С.23-28.
26. Кочетова М.В., Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных

об'єктах методами хроматографії.// Успехи химии. –2007. - Т.76,№1. – С.89-100.

27. Халаф В.А., Зайцев В.М. Пробовідбір та пробопідготовка в хроматографії: навч. посіб. для студ. Вищ. навч. закл. – К.: Вид-во – 2010 – 280 с.

28. Зайцев В. М., Халаф В. А., Зайцева Г. М. Методи концентрування та визначення фенольних сполук. // Методы и объекты химического анализа. - 2008. – 4-21 с.

29. Зайцев В. Н. Комплексообразующие кремнеземы: синтез, строение привитого слоя и химия поверхности. // Харьков: Фолио, 1997. - 240 с.

30. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015. в 3 т. Т.1. 1128 с.

31. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків : РІРЕГ, 2001. С.58 – 67. Доповнення 1. 2004. С. 2 – 4.

32. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц. О.А. Євтіфєєва. Фармацевтичний часопис. 2007. №2. С.13 – 18.

ДОДАТКИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

СЕРТИФІКАТ № 2023-1101- 5508998-100111

ЦИМ ПОСВІДЧУЄТЬСЯ, ЩО

ДВОРЕЦЬКА Д.М.

БРАВ(ЛА) УЧАСТЬ У НАУКОВО-ПРАКТИЧНІЙ КОНФЕРЕНЦІЇ
З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ, ПРИСВЯЧЕНІЙ 25-РІЧЧЮ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ФАКУЛЬТЕТУ

ФАРМАЦЕВТИЧНА ОСВІТА, НАУКА ТА ПРАКТИКА: СТАН, ПРОБЛЕМИ, ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ

Форма участі: слухач

ТРИВАЛІСТЮ 15 ГОДИН (0.5 КРЕДИТА ЄКТС)

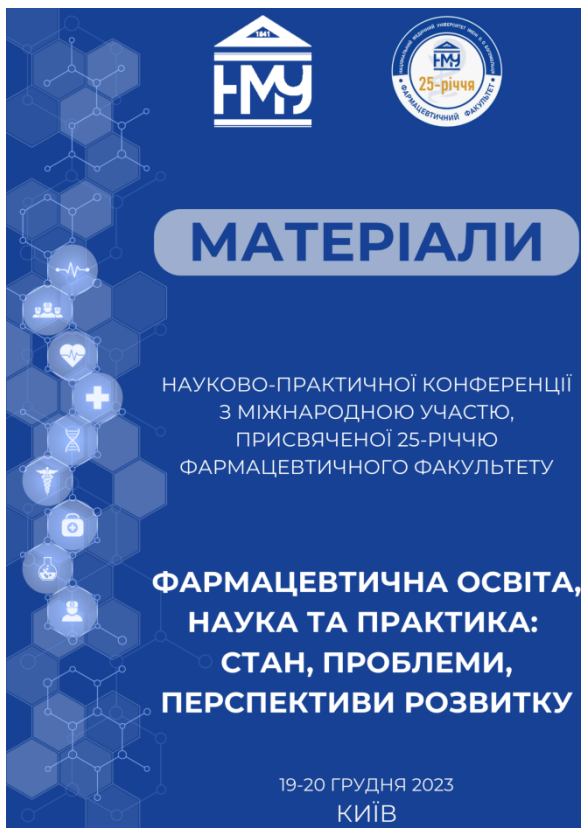
ГОЛОВА ОРГАНІЗАЦІЙНОГО КОМІТЕТУ,
РЕКТОР НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
ЧЛЕН-КОРЕСПОНДЕНТ НАМН УКРАЇНИ,
Д.МЕД.Н., ПРОФЕСОР



ЮРІЙ КУЧИН

ЦІЛЬОВА АУДИТОРІЯ: АНАЛІТИЧНО-КОНТРОЛЬНА ФАРМАЦІЯ, ЗАГАЛЬНА ФАРМАЦІЯ, КЛІНІЧНА ФАРМАЦІЯ, ОРГАНІЗАЦІЯ І УПРАВЛІННЯ ФАРМАЦІЄЮ, ОРГАНІЗАЦІЯ І УПРАВЛІННЯ ОХОРОНОЮ ЗДОРОВ'Я, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОСМЕТОЛОГІЯ, ФАРМАЦЕВТИЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ

19-20 грудня 2023 року



ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ РЕСВЕРАТРОЛУ В ДІЄТИЧНИХ ДОБАВКАХ ХРОМАТОГРАФІЧНИМ МЕТОДОМ

Коноплицька О.П.¹, Зайцева Г.М.², Дворецька Д.М.²

¹Кафедра аналітичної хімії

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

²Кафедра аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
м. Київ, Україна

Вступ. Зважаючи на великий інтерес до біологічно-активних сполук фенольного типу, до яких відноситься і ресвератрол, розробка надійних методик визначення індивідуальних антиоксидантів набуває великого значення. Це обумовлено як різною фізіологічною дією складових рослинних екстрактів та біологічно-активних добавок, так і можливістю фальсифікації. Особливо це важливо в процесі контролю якості дієтичних добавок.

Мета дослідження полягала у розробці хроматографічної методики визначення ресвератролу та способу його ідентифікації.

Об'єктами дослідження обрано твердофазний екстрагент для концентрування ресвератролу з розчинів зразків перед стадією його рідинно-хроматографічного визначення - кремнезем із ковалентно-закріпленими групами доволанцогової четвертинної солі алкіламонію ($\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$) та дієтичну добавку антиоксидантної дії «Евелор» (капсули, активний інгредієнт: транс-ресвератрол 50 мг), «Agetis Supplements Ltd», Кипр, ЕС.

Методи дослідження. У роботі використано патрони для твердофазної екстракції (ТФЕ) фірми Agilent з фазою C_{18} та патрони із фазою $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$, що готували шляхом заповнення стандартного пластикового картриджа водно-метанольною суспензією, яка містила 0,1 г сорбенту. Визначення ресвератролу проведено на модульному рідинному хроматографі Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, США).

415

підвищення рівня безпеки щодо виявлення визначення зв'язування $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$ та концентрування ресвератролу екстракційно ($\text{SiO}_2\text{-HCl}$) з наступним його вивільненню з використанням ковалентно-закріплених іонів четвертинної солі алкіламонію шляхом зворотньої екстракції ресвератролу на кремнеземі із високим ступенем іонізації. Підтверджено, що час утримування ресвератролу в розчині без та з пробопідготовкою співпадають. Це дало можливість застосувати отримані результати для кількісного визначення вмісту

Оптимальні умови сорбції/десорбції ресвератролу на поверхні модифікованого кремнезему $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$ досліджували в динамічному режимі шляхом пропускання через патрони з ТФЕ стандартних розчинів з швидкістю 1 мл/хв. Порції розчину на виході із патрону збирали та визначали вміст аналіту хроматографічним методом. Ступінь адсорбції ресвератролу розраховували за різницею його початкового та рівноважного вмісту в розчині після пропускання через патрон.

Ідентифікацію ресвератролу проводили методом стандартних добавок, а також за спектрами оптичного поглинання індивідуальних сполук. Довжина хвилі детектування транс-ресвератролу 305 нм.

Вихідний розчин ресвератролу ($C_0=5000$ мг/л) готували шляхом розчинення капсули стандарту транс-ресвератролу компанії «Фітопанася» (98,5 % чистоти) у 10 мл метанолу. Стандартні розчини готували змішуванням аликвот вихідних розчинів та розведенням суміші метанолом. Вихідні та стандартні розчини зберігали в темному місці за температури 5 °С протягом не більше ніж 1 місяць.

Результати. Встановлено, що ресвератрол сорбується значно краще на сорбенті $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$, ніж на $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$. Це можна пояснити тим, що у процесі сорбції ресвератролу на $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$, приймають участь не лише гідрофобні октадецильні групи сорбенту, але й групи четвертинної амонійної солі сорбенту. Значення повної динамічної ємності $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$ по відношенню до ресвератролу складає 45 мкмоль/г при $\text{pH}=5,4$. За цих значень pH силанольні групи $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$ перебувають у молекулярному вигляді і не впливають на адсорбцію ресвератролу. Тому оптимальним для ТФЕ ресвератролу $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$ є $\text{pH}=5,4$, яке створили ацетатним буфером. За цих умов ступінь вилучення ресвератролу на $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}^+\text{Cl}^-$ становить більше 99 %.

Показано, що ефективність твердофазної екстракції залежить від ступеня іонізації сполук, тобто від pH досліджуваного розчину. Встановлено, що із збільшенням іонізованості молекул аналіту ефективність вилучення ресвератролу зростає і досягає максимуму при $\text{pH}\geq 5,0$. А ефективність сполучення зростає за умов перебування аналіту в молекулярній формі, тобто у розчинах із $\text{pH}\leq 2,0$. Кількісна десорбція ресвератролу в умовах, що забезпечують інтеграцію запропонованого підходу з ВЕРХ визначенням ресвератролу в елюаті досягається застосуванням метанольного розчину із вмістом 0,5 % хлоридної кислоти.

Для ідентифікації ресвератролу застосовано метод внутрішнього та зовнішнього стандартів (метод добавок). Встановлено, що час утримування ресвератролу в модельній суміші та в об'єктах дослідження практично однаковий. Тому, ідентифікацію піків проводили шляхом порівняння спектрів поглинання чистих речовин із положенням піків стандартів в методі добавок.

Показано, що інтенсивність піків на хроматограмі зростає пропорційно збільшенню концентрації ресвератролу. Підтверджено, що час утримування ресвератролу у розчині без та з пробопідготовкою співпадають. Це дало можливість застосувати отримані результати для кількісного визначення вмісту

416

АНОТАЦІЯ (Summary)

Considering the great interest in biologically active compounds of the phenolic type, which includes resveratrol, the development of reliable methods for the determination of individual antioxidants is of great importance. This is due to both the different physiological effects of the components of plant extracts and biologically active additives, as well as the possibility of falsification. This is especially important in the quality control process of dietary supplements.

The purpose of the study was to develop a chromatographic technique for the determination of resveratrol and a method for its identification.

A solid-phase extractant for concentration of resveratrol from sample solutions before the stage of its liquid chromatographic determination - silica with covalently fixed groups of long-chain quaternary alkylammonium salt ($\text{SiO}_2\text{-C}_{18}/\text{CHAS}$) and dietary supplement with antioxidant action "Evelor" (capsules, active ingredient: trans-resveratrol 50 mg), Agetis Supplements Ltd, Cyprus, EU.

Research methods. Cartridges for solid-phase extraction (SFE) from Agilent with the C_{18} phase and cartridges with the $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}/\text{CHAS}$ phase were used in the work, prepared by filling a standard plastic cartridge with a water-methanol suspension containing 0.1 g of sorbent. Determination of resveratrol was carried out on a modular liquid chromatograph Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, USA).

The optimal conditions of sorption/desorption of resveratrol on the surface of modified silica $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}/\text{CHAS}$ were studied in dynamic mode by passing standard solutions through TFE cartridges at a rate of 1 ml/min. Portions of the solution at the exit from the cartridge were collected and the analyte content determined by the chromatographic method. The degree of adsorption of resveratrol was calculated by the difference between its initial and equilibrium content in the solution after passing through the cartridge.

Identification of resveratrol was carried out by the method of standard additions, as well as by optical absorption spectra of individual compounds. The detection wavelength of trans-resveratrol is 305 nm.

The initial solution of resveratrol (St=5000 mg/l) was prepared by dissolving a capsule of trans-resveratrol standard of the company "Fitopanaceya" (98.5% purity) in 10 ml of methanol. Standard solutions were prepared by mixing aliquots of the original solutions and diluting the mixture with methanol. The starting and standard solutions were stored in a dark place at a temperature of 50C for no more than 1 month.

Research results. It was established that resveratrol is sorbed much better on SiO₂-C₁₈/CHAS sorbent than on SiO₂-C₁₈. This can be explained by the fact that in the process of sorption of resveratrol on SiO₂-C₁₈/CHAS, not only the hydrophobic octadecyl groups of the sorbent, but also the quaternary ammonium salt groups of the sorbent take part. The value of the full dynamic capacity of SiO₂-C₁₈/ CHAS in relation to resveratrol is 45 μmol/g at pH=5.4. At these pH values, the silanol groups of SiO₂-C₁₈/CHAS are in molecular form and do not affect the adsorption of resveratrol. Therefore, the optimal pH for TFE of resveratrol SiO₂-C₁₈/CHAS is 5.4, which was created with an acetate buffer. Under these conditions, the degree of extraction of resveratrol on SiO₂-C₁₈/ CHAS is more than 99%.

It is shown that the efficiency of solid-phase extraction depends on the degree of ionization of compounds, that is, on the pH of the investigated solution. It was established that with increasing ionization of the analyte molecules, the efficiency of resveratrol extraction increases and reaches a maximum at pH≥5.0. And the efficiency of elution increases if the analyte is in molecular form, i.e. in solutions with pH ≤ 2.0. Quantitative desorption of resveratrol under conditions that ensure the integration of the proposed approach with HPLC determination of resveratrol in the eluate is achieved using a methanol solution containing 0.5% hydrochloric acid.

The method of internal and external standards (additive method) was used to identify resveratrol. It was established that the retention time of resveratrol in the model mixture and in the research objects is practically the same. Therefore, the identification of the peaks was carried out by comparing the absorption spectra of pure substances with the position of the peaks of the standards in the additive method.

It is shown that the intensity of the peaks on the chromatogram increases in proportion to the increase in the concentration of resveratrol. It has been confirmed that the retention time of resveratrol in the solution without and with sample preparation coincides. This made it possible to apply the obtained results for quantitative determination of resveratrol content in real objects using the additive method. The result of the chromatographic determination of the content of resveratrol in the research object is 46 ± 0.09 mg.

Conclusions. A methodology for the determination of resveratrol and a method of identification by solid-phase extraction of resveratrol on silica with covalently attached groups of long-chain quaternary alkylammonium salt ($\text{SiO}_2\text{-CHAS}$) followed by its liquid chromatographic determination are proposed. The use of $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}/\text{CHAS}$ to concentrate resveratrol leads to a decrease in its detection limit.