

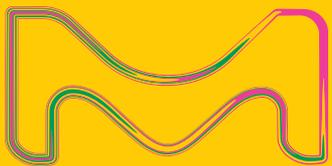
Supelco

Quality Control Products

Анализ пищевых продуктов и напитков

Гарантия безопасности
и здоровья

- Состав пищевых продуктов / Маркировка продуктов питания
- Безопасность пищевых продуктов
- Анализ напитков



В США и Канаде life science
подразделение компании Merck
работает под наименованием
MilliporeSigma.

MERCK

Анализ пищевых продуктов и напитков

Мы занимаемся разработкой аналитических решений и технологий для контроля качества пищевых продуктов и напитков.

Анализ пищевых продуктов и напитков проводят не только для того, чтобы определить пищевую ценность и качество, но и для того, чтобы гарантировать безопасность. Мы понимаем, насколько трудоёмкой является работа аналитиков, с какими проблемами они сталкиваются, и каким нормативным требованиям им необходимо следовать. Поэтому мы разработали специальные продукты для решения таких сложных задач. Аналитические продукты Supelco® позволяют упростить пробоподготовку, очистку и стадии анализа, увеличивая при этом чувствительность, что позволяет отслеживать целевые ингредиенты и вредные вещества.

Что мы предлагаем?

Оптимальный набор проверенных инструментов и расходных материалов, которые полностью соответствуют Вашим требованиям при пробоподготовке и анализе компонентов продуктов питания и напитков, а также конечной продукции.

Краткий обзор наших решений:

- Специальные колонки и стандарты для ГХ-анализа жирных кислот/ метиловых эфиров жирных кислот
- Определение содержания воды титрованием по методу Карла Фишера
- Наборы для метода QuEChERS и картриджи для ТФЭ для анализа остаточных количеств пестицидов и метаболитов
- Колонки Ascentis® Express для ВЭЖХ, предназначенные для анализа различных пестицидов и остаточных количеств ветеринарных препаратов
- Расширенную линейку продукции для обнаружения патогенных микроорганизмов

Содержание

Состав пищевых продуктов / Маркировка продуктов питания	4
Углеводы (сахара и сахариды) и пищевые волокна	4
Жиры (жирные кислоты и триглицериды), стерины и пищевые масла	6
Белки (аминокислоты, пептиды, белки и содержание азота)	9
Питательные вещества (за исключением углеводов, жиров и белков)	11
Непищевые ингредиенты и добавки	14
Содержание воды	17
Генетически модифицированные организмы (ГМО)	20
Физические характеристики	21
Безопасность пищевых продуктов	23
Микробиологический контроль качества	23
Остаточные количества пестицидов и метаболитов	26
Остаточные количества ветеринарных препаратов	30
Токсины (помимо следовых количеств пестицидов/лекарственных средств)	32
Загрязнения, появляющиеся на стадии производства/упаковки	35
Балластные наполнители	38
Исследование напитков	41



Углеводы

Углеводы (сахара и сахариды) и пищевые волокна

Содержание углеводов и пищевых волокон в продуктах питания является критерием пищевой ценности.

- Содержание углеводов обычно определяют путем анализа сахаров и усваиваемых сахаридов, зачастую с применением метода ВЭЖХ.
- Содержание пищевых волокон является мерой неусваиваемых компонентов, в число которых входят неперевариваемые сахариды и лигнин.

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Простые сахара

Хроматографический анализ простых сахаров может оказаться довольно трудной задачей, поскольку данные соединения высокополярны, не заряжены и лишены хромофорных групп. Наиболее предпочтительным режимом разделения методом ВЭЖХ является жидкостная хроматография, основанная на гидрофильных взаимодействиях (HILIC). Данный режим позволяет удерживать трудно разделяемые высокополярные соединения. Колонки с полимерным наполнителем, модифицированным привитыми аминопропильными группами, обеспечивают более высокую стабильность результатов и совместимость с масс-спектрометрическим детектором. Наша колонка arHera™ NH₂ на основе сополимера, ковалентно связанного с полиамином, сочетает в себе устойчивость в диапазоне pH от 2 до 12, механическую и химическую стабильность и высокую эффективность. На **рисунке 1** представлено разделение нескольких простых сахаров с помощью колонки arHera™

NH₂. Другими возможными применениями являются исследования дериватизированных сахаров, сложных углеводов, полярных органических кислот и оснований.

Другим методом, применяемым для исследования простых сахаров, является ионоэкслюзионная ВЭЖХ. Колонки SUPELCOGEL™ для ВЭЖХ на основе ионообменных смол содержат сферические частицы сульфированного полистирола/дивинилбензола с заданным противоионом. Каждый противоион (Ca, H, Pb, K or Ag) придает смолам уникальную селективность при анализе сахаров или органических кислот. Если матрицей образца является напиток, то требуется минимальная пробоподготовка. Например, перед анализом коктейля с виноградным соком достаточно отфильтровать его через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Хроматограмма, полученная на колонке с водородной формой (H) смолы, представлена на **рисунке 2**.

Рисунок 1. Анализ недериватизированных простых сахаров методом ВЭЖХ

Колонка:	arHera™ NH ₂ , 15 см x 4,6 мм внутр. диам., размер частиц 5 мкм (56401AST)
Подвижная фаза:	20:80 вода:ацетонитрил
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Температура колонки:	25°C
Детектор:	ELSD, 45°C, 3,5 фунт/кв.дюйм, азот
Объем пробы:	10 мкл
Образец:	Каждый аналит с концентрацией 500 мкг/мл в смеси вода:ацетонитрил (30:70)

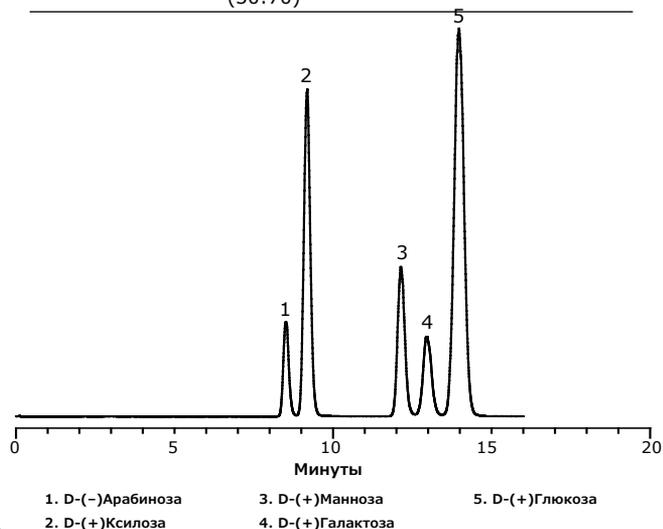
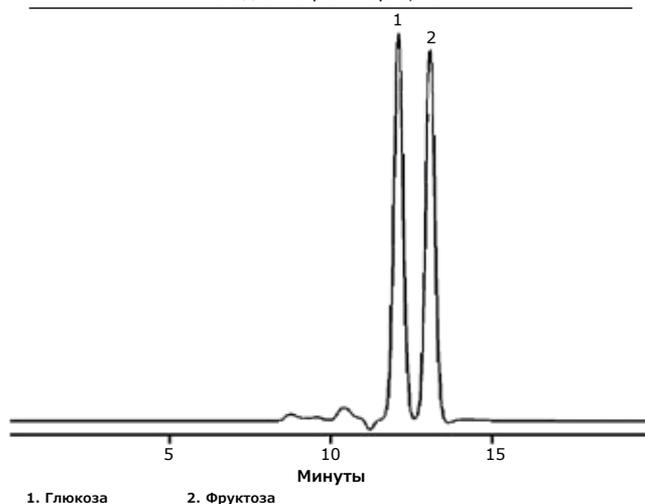


Рисунок 2. Анализ сахаров в коктейле с виноградным соком методом ВЭЖХ

Колонка:	SUPELCOGEL™ C-610H, 30 см x 7,8 мм внутр.диам., размер частиц 9 мкм (59320-U)
Подвижная фаза:	0,1% раствор ортофосфорной кислоты
Скорость потока:	0,5 мл/мин
Температура колонки:	30°C
Детектор:	Рефрактометр
Объем пробы:	10 мкл коктейля с виноградным соком фильтровали через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,45 мкм

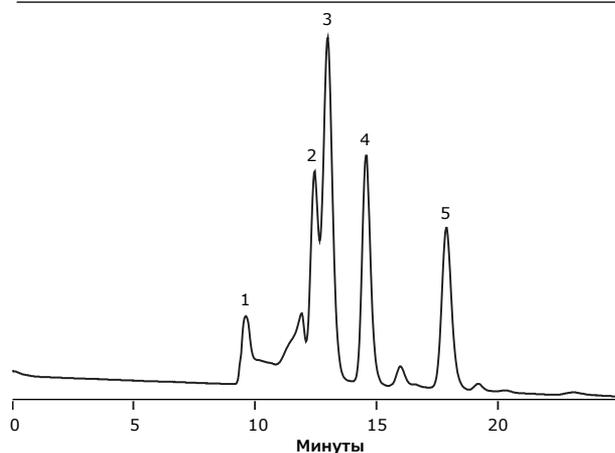


Сахариды

Из-за сходства химических и физических свойств различных сахаридов они являются более сложным объектом исследования по сравнению с другими классами соединений. Обычно для анализа сахаридов используют метод ВЭЖХ, основываясь на разнице в конформации, конфигурации и типе образования химических связей. Однако ни одна колонка для ВЭЖХ и ни один метод не способны разделить все сахариды. Поэтому мы предлагаем набор колонок SUPELCOGEL™ для ионоэкслюзионной хроматографии, предназначенный специально для анализа различных сахаридов. На **рисунке 3** представлены результаты анализа сахаридов во фруктовом йогурте методом ВЭЖХ. Колонки SUPELCOGEL™ C-611 содержат не один, а два двухвалентных катиона. Это обеспечивает особую селективность по сравнению с другими колонками SUPELCOGEL™.

Рисунок 3. Анализ сахаридов во фруктовом йогурте методом ВЭЖХ.

Матрица образца:	10 г йогурта смешивают со 100 мл деионизованной воды, фильтруют через фильтр с размером пор 0,20 мкм
Колонка:	SUPELCOGEL™ C-611, 30 см x 7,8 мм внутр.диам., размер частиц 9 мкм (59310-U)
Подвижная фаза:	10 ⁻⁴ гидроксида натрия
Скорость потока:	0,5 мл/мин
Температура колонки:	60°C
Детектор:	Рефрактометр
Объем пробы:	10 мкл

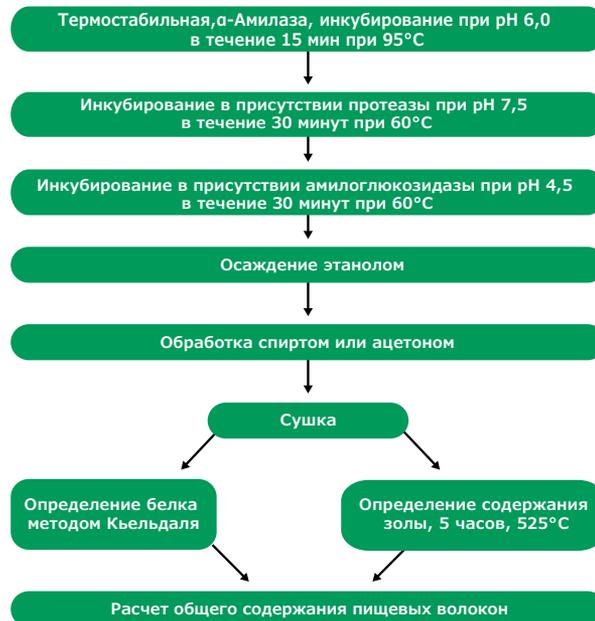


1. Олигосахариды 3. Лактоза 5. Фруктоза
2. Сахароза 4. Глюкоза

Пищевые волокна

Общее содержание пищевых волокон в продуктах можно определить, используя сочетание ферментативных и гравиметрических методов. Описание методики (на основе метода Ассоциации аналитических сообществ (АОАС) 2009.01) с использованием соответствующего набора материалов для проведения данного анализа представлена на **рисунке 4**. Образцы высушенных пищевых продуктов, не содержащих жиров, желатинируют при помощи термостабильной амилазы. Затем смесь обрабатывают протеазой и амилоглюкозидазой для удаления белков и крахмала. Добавляют этанол для осаждения растворимых пищевых волокон. Остаток фильтруют и промывают этанолом и ацетоном. После высушивания остаток взвешивают. Половину образца анализируют на наличие белка, вторую половину озоляют. Общее содержание пищевых волокон рассчитывают как разность массы остатка и массы белка и золы.

Рисунок 4. Блок-схема использования набора реактивов для определения общего содержания пищевых волокон



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Колонки для ВЭЖХ arHera™ (размер частиц 5 мкм)	
arHera™ C18, 15 см x 4,6 мм	56102AST
arHera™ C8, 15 см x 4,6 мм	56202AST
arHera™ C4, 15 см x 4,6 мм	56302AST
arHera™ NH ₂ , 15 см x 4,6 мм	56401AST
Колонки для ВЭЖХ SUPELCOGEL™ (размер частиц 9 мкм)	
SUPELCOGEL™ Ca, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59305-U
SUPELCOGEL™ C-610H, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59320-U
SUPELCOGEL™ H, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59304-U
SUPELCOGEL™ Pb, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59343
SUPELCOGEL™ K, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59342
SUPELCOGEL™ Ag2, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59315
SUPELCOGEL™ C-611, 30 см x 7,8 мм внутр.диам.	59310-U
Аналитические стандарты	
Набор моносахаридов	47267
В индивидуальной упаковке по 500 мг	
<ul style="list-style-type: none"> • D-(-)Арабиноза • Фруктоза • D-(+)Галактоза • D-(+)Глюкоза, смесь аномеров • D-(+)Манноза, смесь аномеров • D-(-)Рибоза • D-(+)Ксилоза 	
Набор дисахаридов	47268-U
В индивидуальной упаковке, в указанных количествах:	
<ul style="list-style-type: none"> • Изомальтоза, смесь аномеров, 100 мг • α-Лактоза, 500 мг • Мальтоза, 500 мг • Сахароза, 500 мг 	
Набор олигосахаридов	47265
В индивидуальной упаковке по 100 мг:	
<ul style="list-style-type: none"> • Мальтогептоза, Dp7 • Мальтогексоза, Dp6 • Мальтопентоза, Dp5 • Мальтотетроза, Dp4 • Стахиоза, Dp4 • Мальтотриоза, Dp3 • D-(+)Мелицитоза, Dp3 • D-(+)Рафиноза, Dp3 • Изомальтотриоза, Dp3 	
Аналитические реагенты и растворители	
Гидроксид натрия, ч.д.а., ACS, ≥ 98,0%, гранулированный	71690
Фосфорная кислота, ACS, водный раствор, ≥ 85 % по массе	438081
Ацетонитрил для ЖХ-МС, LC/MS LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС, LC/MS OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156
Наборы реактивов для определения общего содержания пищевых волокон	
Набор стандартов для количественного анализа, 100 исследований	TDF100A-1KT
Набор реактивов для контрольного количественного анализа, 10 исследований	TDFC10-1KT

Жиры

(Жирные кислоты и триглицериды), стерины и пищевые масла

Жиры играют важную роль как в питании, так и в различных областях исследования пищевой химии. В список представляющих интерес классов соединений, типов образцов и аналитических методов входят:

- Летучие жирные кислоты с короткой длиной цепи обычно анализируют в форме кислоты методом ГХ
- Жирные кислоты с длиной цепи C8-C24+ обычно метилируют перед анализом методом ГХ
- Анализ методом ГХ
- Триглицериды анализируют методом ГХ
- Стерины анализируют методом ГХ
- Определение характеристик пищевых масел
- ИК-анализ, определение удельной плотности, ЯМР

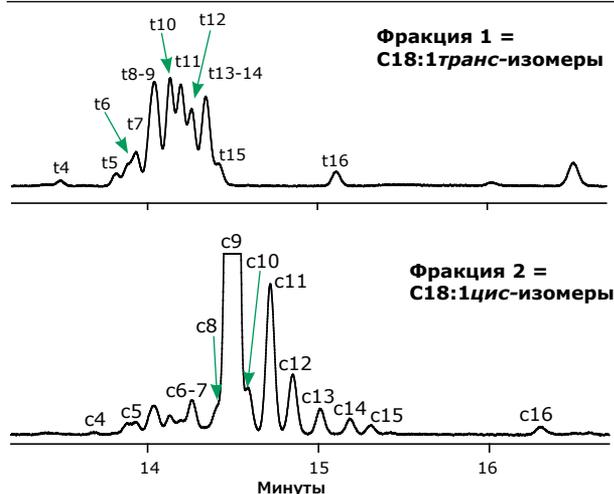
Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Транс-жиры

Методика, которую используют для определения содержания транс-жиров, включает в себя стадии экстракции, дериватизации, фракционирования и анализа методом ГХ. Сочетание методов кислотного озоления и щелочного гидролиза позволяет выделить жиры и масла из матрицы образца. Метилирование жирных кислот с образованием метиловых эфиров соответствующих кислот минимизирует влияние активных карбоксильных групп на межмолекулярные связи в анализируемых веществах, сводя их к дисперсионным и поляризационным взаимодействиям. Фракционирование с помощью ионов серебра применяют для разделения насыщенных метиловых эфиров жирных кислот и транс-моноеновых кислот с длиной цепи C18 во фракции 1, цис-моноеновых кислот во фракции 2 и диенов во фракции 3. Анализ методом ГХ проводят на специальной колонке, способной облегчить разделение цис- и транс-мононенасыщенных молекул в олеиновом диапазоне (C18:1). Хроматограммы, полученные для образца печени, приобретенного в магазине, представлены на рисунке 5. Пики идентифицируют по времени удерживания в сравнении со стандартами.

Рисунок 5. Анализ транс- жиров в печени методом ГХ

Матрица образца:	1 г печени, приобретенного в магазине, измельчают и подвергают кислотному озолению и щелочному гидролизу с последующим метилированием согласно официальной методике AOCS Ce 1k-09.
Картридж для ТФЭ:	Картриджи для ТФЭ Discovery® Ag-Ion, 750 мг/6 мл (54225-U)
Кондиционирование:	Отбирают 4 мл ацетона, по каплям пропускают растворитель через весь картридж; отбрасывают элюент; добавляют 4 мл гексана; по каплям пропускают растворитель через весь картридж; отбрасывают элюент
Добавление образца:	Отбирают 1 мл экстракта; отбрасывают всю порцию элюента, прошедшего через картридж
Элюирование:	Отбирают пробу фракции 1, добавляют 6 мл смеси гексан:ацетон (96:4); собирают элюент в чистый контейнер в условиях низкого вакуума; отбирают пробу фракции 2; добавляют 4 мл смеси гексан:ацетон (90:10); собирают элюент в чистый контейнер в условиях низкого вакуума; отбирают пробу фракции 3; добавляют 4 мл 100% ацетона; собирают элюент в чистый контейнер в условиях низкого вакуума;
Обработка элюата:	Выпаривают растворитель из каждой фракции при комнатной температуре с помощью азота, растворяют каждую фракцию в 1 мл гексана
Колонка:	SLB®-IL111, 100 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм (29647-U)
Термостат:	168°C
Температура инжектора:	250°C
Детектор:	ПИД, 250°C
Газ-носитель:	Водород, 1 мл/мин
Объем пробы:	1 мкл, деление потока 10:1
Лайнер:	Внутр.диам. 4 мм, с делением потока, с сужением FocusLiner™ (набивка стекловолокон)



Триглицериды

Поскольку триглицериды являются основной составляющей растительных масел и животных жиров, по их количеству можно рассчитать потребление жиров человеком. Большинство натуральных жиров содержат смесь отдельных триглицеридов.

Анализ таких крупных молекул может быть выполнен с помощью метода ГХ, но требует довольно высокой конечной температуры термостата для элюирования молекул за разумное время. Колонка MET-Biodiesel была разработана для определения свободного и общего содержания глицерина в биотопливе. Максимальная рабочая температура, равная 380°C (в режиме изотермы), и равная 430°C (при программируемом нагреве), в сочетании со способностью к разделению моно-, ди- и триглицеридов делает данную колонку особенно подходящей для анализа триглицеридов в пищевых продуктах. На **рисунке 6** представлена хроматограмма, полученная для экстракта из образца сливочного масла. Буква Т с числом обозначает общее количество атомов углерода в цепях триглицерида жирной кислоты. Например, Т54 может содержать как три остатка стеариновой кислоты (С18:0); так и комбинацию из двух остатков стеариновой кислоты (С18:0) и одного остатка олеиновой кислоты (С18:1).

Рисунок 6. Анализ триглицеридов в сливочном масле методом ГХ.

Хроматограмма любезно предоставлена доктором М. Поволо и доктором Дж. Контарини (CRA-FLC, Лоди, Италия).

Колонка:	MET-Biodiesel, 14 м x 0,53 мм внутр. диам., 0,16 мкм со встроенной предколонкой 2 м x 0,53 мм внутр. диам. (28668-U)
Термостат:	150°C, повышение температуры со скоростью 30°C/мин до 350°C (выдерживание в течение 15 мин)
Детектор:	ПИД, 400°C
Газ-носитель:	Гелий, 15 см/с
Объем пробы:	1 мкл, ввод через охладитель (cool on-column)
Образец:	Экстракт сливочного масла

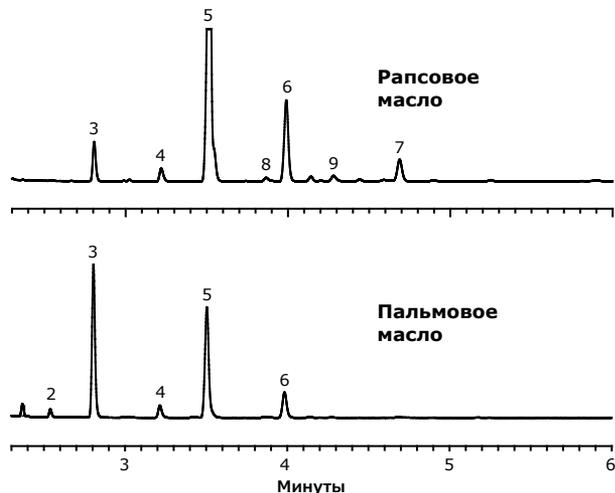
1. T26	5. T34	9. T42	13. T50
2. T28	6. T36	10. T44	14. T52
3. T30	7. T38	11. T46	15. T54
4. T32	8. T40	12. T48	

Пищевые масла

Доходы от производства пищевых масел насчитывают десятки миллионов долларов. В связи с этим велика вероятность мошеннических действий, направленных на увеличение дохода (добавление более дешевых второсортных масел для увеличения объема дорогостоящих масел высшего качества). Методика обзорных хроматограмм на основе газовой хроматографии может быть использована для контроля продукции на содержание балластного наполнителя, а также для идентификации источника масла в неизвестных образцах. Анализ методом ГХ проводят после дериватизации (метилования) жирных кислот. На **рисунке 7** приведены два примера хроматограмм. Быстрая методика обзорных хроматограмм позволяет идентифицировать тип масла и определять его чистоту путем сравнения соотношения содержания метиловых эфиров жирных кислот в исследуемых пробах и эталонах.

Рисунок 7. Анализ рапсового и пальмового масел методом ГХ

Колонка:	SLB®-IL111, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм (28927-U)
Термостат:	180°C
Температура инжектора:	250°C
Детектор:	ПИД, 260°C
Газ-носитель:	Гелий, 25 см/сек
Объем пробы:	1 мкл, деление потока 50:1
Лайнер:	Внутр.диам. 4 мм, с делением потока,
Образцы:	Образцы сравнения масел с известными характеристиками, метилированные с помощью BF ₃ в метаноле перед анализом



- | | |
|---|--|
| 1. Метиловый эфир лауриновой кислоты (C12:0) | 6. Метиловый эфир линолевой кислоты (C18:2n6c) |
| 2. Метиловый эфир миристиновой кислоты (C14:0) | 7. Метиловый эфир линоленовой кислоты (C18:3n3) |
| 3. Метиловый эфир пальмитиновой кислоты (C16:0) | 8. Метиловый эфир арахидиновой кислоты (C20:0) |
| 4. Метиловый эфир стеариновой кислоты (C18:0) | 9. Метиловый эфир цис-11-эйкозеновой кислоты (C20:1) |
| 5. Метиловый эфир олеиновой кислоты (C18:1n9c) | |

Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Картриджи для ТФЭ:	
Discovery® Ag-Ion, 750 мг/6 мл, 30 шт.	54225-U
Колонки для ГХ	
Omegawax®, 15 м x 0,10 мм внутр.диам., 0,10 мкм	23399-U
Omegawax®, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	24136
Omegawax®, 30 м x 0,53 мм внутр.диам., 0,50 мкм	25374
SP®-2560, 75 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,14 мкм	23348-U
SP®-2560, 100 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм	24056
SP®-2560, 100 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм на 5-дюймовом каркасе для соответствия ГХ Agilent 6850	23362-U
SLB®-IL111, 15 м x 0,10 мм внутр.диам., 0,08 мкм	28925-U
SLB®-IL111, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм	28927-U
SLB®-IL111, 60 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм	28928-U
SLB®-IL111, 100 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,20 мкм	29647-U
MET-Biodiesel - 14 м x 0,53 мм внутр.диам., 0,16 мкм со встроенной предколонкой 2 м x 0,53 мм внутр.диам.	28668-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
Phenyl Hexyl, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53336-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
C8, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50392-U
Phenyl Hexyl, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50483-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Аналитические стандарты	
Supelco® смесь из 37 метиловых эфиров жирных кислот – 37 аналитов (C4-C24), 10 мг/мл (общая масса) в метилхлориде, 1 мл. Список аналитов и их концентрации указаны на сайте SigmaAldrich.com/fame	47885-U
Рапсовое масло, стандартный образец с известными характеристиками, 1 г	46961
Пальмовое масло, стандартный образец с известными характеристиками, 1 г	46962
Аналитические реагенты и растворители	
BF ₃ -метанол, 10% (масс./масс.), 20 x 1 мл	33356
BCl ₃ -метанол 12% (масс./масс.), 20 x 2 мл	33089-U
Раствор соляной кислоты в метаноле, 3 н., 20 x 1 мл	33355
Хлорид натрия, ч.д.а., ACS, ≥ 99,5%	31434
Гидроксид натрия, ч.д.а., ACS, ≥ 98,0%, гранулированный	71690
Ацетон для ГХ с ДЭЗ или ПИД SupraSolv®, ≥ 99,8%	100012
Ацетон OmniSolv®, ≥ 99,5%	AX0116
н-Гексан для ГХ с ДЭЗ или ПИД SupraSolv®	104371
н-Гексан OmniSolv®, 95%	HX0295
Метанол для ГХ с ДЭЗ или ПИД SupraSolv®	106011
Метанол, чистый для анализа остаточных количеств пестицидов, OmniSolv®, ≥ 99,5%	MX0484

Белки

Белки (аминокислоты, пептиды, белки и содержание азота)

Белки являются главным источником энергии, получаемой из пищевых продуктов. Более того, они содержат незаменимые аминокислоты (такие как лизин, метионин и валин), которые не могут быть синтезированы в человеческом организме. Белки также являются основным структурным компонентом, определяющим консистенцию мяса и рыбы. В связи с этим, добавление белковых изолятов в пищевые продукты - это способ обеспечить необходимый внешний вид, консистенцию и стабильность. Представляющие интерес области исследования включают в себя:

- Определение отдельных аминокислот
- Состав пептидов
- Качественное и количественное определение белков с помощью методов ВЭЖХ или молекулярной спектроскопии (ИК и УФ)
- Содержание азота (метод Кьельдаля) как мера содержания белка

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Аминокислоты

Для определения аминокислотного состава белка образец подвергают гидролизу для расщепления на отдельные аминокислоты. Обычно анализ проводят методом ВЭЖХ. Иногда бывает полезным провести дериватизацию аминокислот для лучшего разделения и повышения чувствительности определения при низких концентрациях. Дабсилхлорид является эффективным реагентом для дериватизации аминокислот. На **рисунке 8** представлены результаты разделения дабсил-производных аминокислот методом ВЭЖХ.

Некоторые аминокислоты существуют в природе в форме энантиомеров, и для их эффективного разделения требуются особые колонки для ВЭЖХ. Колонки Astec® CHIROBIOTIC® TAG продемонстрировали высокую селективность и эффективное разделение энантиомеров нескольких недериватизированных аминокислот (таких как серин и изолейцин) с использованием простых подвижных фаз. На **рисунке 9** показано превосходное разделение энантиомеров серина с использованием очень простой, совместимой с методом ЖХ-МС, мобильной фазы.

Рисунок 8. Анализ дабсил-производных аминокислот методом ВЭЖХ

Колонка:	SUPELCOSIL™ LC-DABS, 15 см x 4,6 мм внутр.диам., размер частиц 3 мкм (59137)
Подвижная фаза:	A=25 ммоль/л раствора дигидрофосфата калия (рН 6,8), B=ацетонитрил:изопропанол (75:25)
Градиент:	0 мин: 20% B; 1 мин: 20% B; 4 мин: 23% B; 9 мин: 23% B; 10 мин: 27% B; 14 мин: 27% B; 19 мин: 35% B; 25 мин: 60% B; 26 мин: 70% B; 29 мин: 70% B; 29,1 мин: 20% B; 35,1 мин: 20% B
Скорость потока:	2 мл/мин
Детектор:	УФ 436 нм
Объем пробы:	5 мкл
Образец:	Дабсил-производные аминокислот

Идентификация пиков обозначена на хроматограмме

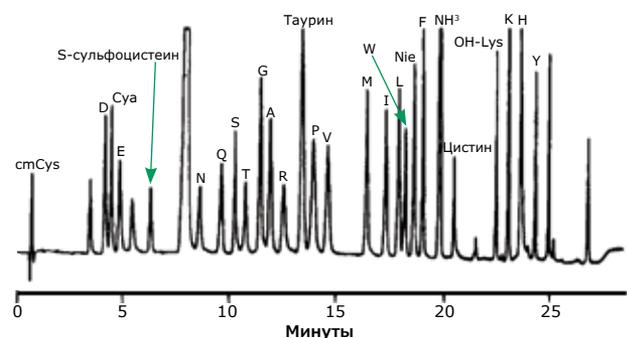
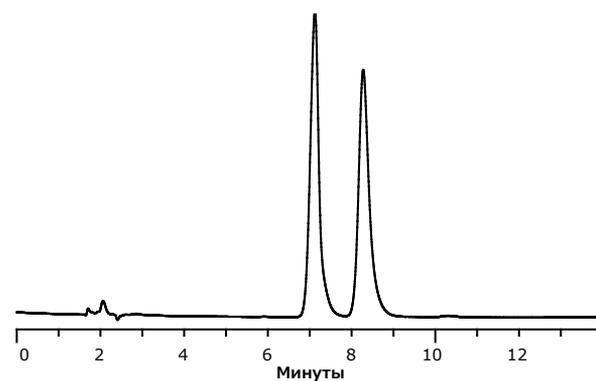


Рисунок 9. Анализ энантиомеров аминокислот методом ВЭЖХ

Колонка:	Astec® CHIROBIOTIC® TAG, 25 см x 4,6 мм внутр.диам., размер частиц 5 мкм (14024AST)
Подвижная фаза:	Вода:ацетонитрил (30:70)
Скорость потока:	1 мл/мин
Температура колонки:	Комнатная
Детектор:	УФ, 210 нм
Объем пробы:	5 мл
Образец:	Серин, 5 мг/мл в смеси вода:метанол (50:50)



Питательные вещества

(За исключением углеводов, жиров и белков)

Помимо таких основных питательных компонентов пищевых продуктов, как углеводы, жиры и белки, несколько второстепенных питательных компонентов также представляют значительный интерес для пищевых аналитиков. Представляющие интерес области исследования включают в себя:

- Нутрицевтики (антиоксиданты, полифенолы, катехины, флавоноиды, натуральные соединения, сапонины/гинзенозиды и фитостероиды)
- Витамины, кофакторы и ферменты
- Нуклеотиды и нуклеозиды
- Органические кислоты
- Микроэлементы (кальций, железо, натрий, калий и т.д.)
- Энергетическая ценность

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

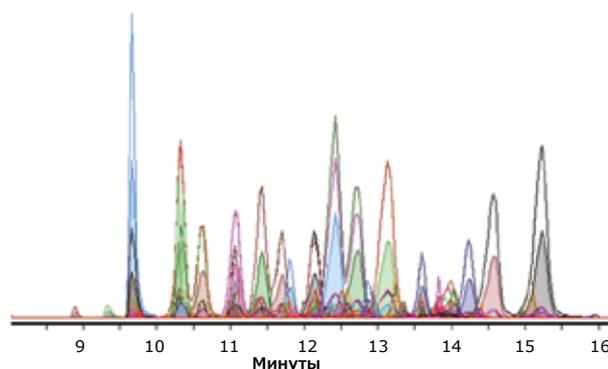
Полифенольные антиоксиданты

Гипотетическая польза полифенольных соединений растительного происхождения для здоровья является предметом интенсивного исследования в области пищевой химии. Методы ВЭЖХ и ЖХ-МС играют важную роль в исследовании экстрактов из растений, и оба данных метода получают дополнительные преимущества в чувствительности и разрешающей способности при использовании высокоэффективных колонок Ascentis® Express. Приведенный на рисунке 12 пример анализа антоцианов, содержащихся в чернике, проведенного с использованием колонок Ascentis® Express C18, демонстрирует применимость данного типа колонок для анализа полифенольных соединений. Показана высокая эффективность определения 26 антоциановых производных, содержащихся в спелых ягодах.

Колонки для ВЭЖХ Ascentis® и Ascentis® Express, инструменты для пробоподготовки и аналитические стандарты были использованы для анализа других биологически активных веществ, включая ванилин, катехин, ресвератрол, витамин Е, гинзенозиды, таксолы, стероидные гликозиды, дигоксигенин, силимарин, фитодобавки, синтетические каннабиноиды, флавоноиды, катехолы, резорцины, алкалоиды эфедрина, зверобой, тамоксифен и др.

Рисунок 12. Анализ антиоксидантов в дикорастущей чернике методом ЖХ-МС

Матрица образца:	1,0 г ягод
Экстракция:	Ягоды измельчают в 1,0 мл 1% раствора муравьиной кислоты в смеси метанол вода (50:50), выдерживают на холоде в течение 2 часов, центрифугируют, собирают надосадочную жидкость в вialу автосэмплера ВЭЖХ
Колонка:	Ascentis® Express C18, 10 см x 2,1 мм внутр. диаметр, 2,7 мкм (53823-U) с предколонкой (53501-U)
Подвижная фаза:	(А) 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде; (В) 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в смеси ацетонитрил:вода (75:25)
Градиент:	2% фазы В в течение 2 минут; повышение содержания фазы В до 100% в течение 40 минут
Скорость потока:	0,2 мл/мин
Давление:	1590 psi
Температура колонки:	35°C
Детектор:	УФ, 250 нм
Объем пробы:	1 мкл



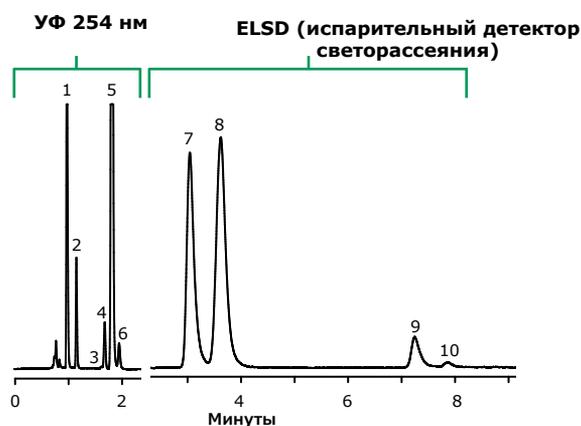
Пик	Время удерживания	m/z
Хлорогеновая кислота	9,650	163,0403
Дельфинидин-3-галактозид	10,327	465,1058
Дельфинидин-3-глюкозид	10,613	465,1058
Цианидин-3-галактозид	11,051	449,1106
Дельфинидин-3-арабинозид	11,048	435,0935
Цианидин-3-глюкозид	11,378	449,1106
Петунидин-3-галактозид	11,424	479,1192
Петунидин-3-глюкозид	11,707	479,1192
Цианидин-3-арабинозид	11,795	419,0979
Петунидин-3-арабинозид	12,117	449,1086
Пеонидин-3-галактозид	12,143	463,1244
Мальвинидин-3-галактозид	12,414	493,1354
Пеонидин-3-глюкозид	12,477	463,1244
Дельфинидин-3-ацилгалактозид	12,596	507,1143
Мальвинидин-3-глюкозид	12,675	493,1354
Пеонидин-3-арабинозид	12,881	433,1114
Мальвинидин-3-арабинозид	13,114	463,1244
Цианидин-3-ацилгалактозид	13,314	491,1213
Дельфинидин-3-ацилглюкозид	13,233	507,1143
Петунидин-3-ацилгалактозид	13,622	521,1323
Цианидин-3-ацилглюкозид	14,048	491,1213
Петунидин-3-ацилглюкозид	14,248	521,1323
Пеонидин-3-ацилгалактозид	14,348	505,137
Мальвинидин-3-ацилгалактозид	14,548	535,1481
Пеонидин-3-ацилглюкозид	15,082	505,137
Мальвинидин-3-ацилглюкозид	15,182	535,1481

Витамины и органические кислоты

Метод ВЭЖХ широко применяется для анализа низкомолекулярных, водорастворимых, термически нестабильных соединений, которые преобладают среди пищевых добавок. Идеальные колонки для ВЭЖХ в этой сфере исследований должны обладать четырьмя ключевыми характеристиками: широким выбором типов неподвижных фаз для разной селективности, высокой эффективностью, обеспечивающей требуемое соотношение сигнал/шум, совместимостью с различными системами подвижных фаз и способами детектирования, а также устойчивостью и стабильностью при анализе реальных сложных образцов. Колонки Ascentis® Express соответствуют всем этим требованиям. На **рисунке 13** представлены результаты анализа четырех разных классов добавок: витаминов, органических кислот, сахаров и кофеина, содержащихся в популярном энергетическом напитке, выполненного с применением колонки Ascentis® Express HILIC в одном эксперименте.

Рисунок 13. Определение витаминов, органических кислот, сахаров и кофеина в энергетическом напитке методом ВЭЖХ

Колонка:	Ascentis® Express HILIC, 10 см x 3,0 мм внутр. диаметр, 2,7 мкм (53970-U)
Подвижная фаза:	(A) 100 ммоль/л раствор ацетата аммония, pH 5,0; (B) вода; (C) ацетонитрил; (9:1:90 A:B:C)
Скорость потока:	0,6 мл/мин
Давление:	815 psi
Температура колонки:	35°C
Детектор:	УФ 254 нм или испарительный детектор светорассеяния (ELSD), 55°C, 3,5 бар, азот
Объем пробы:	2 мкл коммерческого энергетического напитка, смешанного с ацетонитрилом в соотношении 1:9



- | | |
|--|---|
| 1. Кофеин | 5. Сорбиновая кислота |
| 2. Никотинамид (Витамин B ₃) | 6. Рибофлавин (Витамин B ₂) |
| 3. Пиридоксина гидрохлорид (Витамин B ₆) | 7. Фруктоза |
| 4. Бензойная кислота | 8. Глюкоза |
| | 9. Сахароза |
| | 10. Таурин |

Анализ витаминов с применением нехроматографических методик

Мы предлагаем специальный набор реагентов для этих целей. Например, готовый к использованию набор тест-полосок Quantofix®, позволяющий провести быстрое (< 2 минут), полуквантитативное определение содержания витамина С (аскорбиновой кислоты). Наборы поставляются предварительно откалиброванными и содержат все необходимые инструменты и реагенты. Точные и прецизионные наборы включают в себя цветные шкалы, настроенные и проверенные с помощью сертифицированных стандартных растворов. Все растворы калиброваны непосредственно по первичным эталонам NIST.

Микроэлементы

Присутствие микроэлементов в низких концентрациях является необходимым требованием, предъявляемым к продуктам питания, однако при высоких концентрациях некоторые из микроэлементов могут быть токсичны. По этой причине необходимо анализировать и контролировать содержание микроэлементов в продуктах питания и напитках. Основными аналитическими методами, применяемыми для этой цели являются ионная хроматография (ИХ), атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС) и спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП).

Сертифицированные стандартные образцы (ССО) TraceCERT®, разработанные и выпущенные аккредитованной лабораторией, удовлетворяют требованиям ISO 17025 и ISO Guide 34. Все образцы откалиброваны не менее чем по двум независимым эталонам (например, NIST, BAM или SI) и снабжены исчерпывающей документацией. Изображение ССО TraceCERT® и сопутствующая документация представлены на **рисунке 14**.

Примеси, содержащиеся в реагентах, используемых для анализа следовых количеств металлов, могут повлиять на точность измерений. Вот почему наши неорганические реагенты Ultrapur™, OmniTrace Ultra™, Suprapur® и OmniTrace® для мокрого озоления тщательно исследуются на чистоту.

Рисунок 14. ССО TraceCERT® и документация



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
HILIC, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53939-U
HILIC, 10 см x 3,0 мм внутр.диам.	53970-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
C8, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50392-U
HILIC, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50289-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Аналитические стандарты витаминов	
Рибофлавин (Витамин В2), 1000 мг	47861
Никотинамид, амидное производное никотиновой кислоты (витамин В3), 1000 мг	47865-U
Пиридоксина гидрохлорид (Витамин В6), 1000 мг	47862
L-аскорбиновая кислота (Витамин С), 1000 мг	47863
Аналитические растворители	
Ацетонитрил для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156
Тест-полоски	
Тест-полоски Quantofix® для определения аскорбиновой кислоты (витамин С), упаковка 100 шт.	37203-1EA
Сертифицированные стандартные образцы TraceCERT® для ионной хроматографии	
Кальций, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	39865-100ML
Калий, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	53337-100ML
Натрий, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	43492-100ML
Элюенты для ионной хроматографии	
Гидрокарбонат натрия, 0,1M в воде, 1 л	36486-1L
Карбонат натрия, 0,1M в воде, 1 л	56169-1L
Сертифицированные стандартные образцы TraceCERT® для ААС и ИСП	
Кальций, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	19051-100ML
Железо, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	43149-100ML
Калий, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	06335-100ML
Натрий, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	00462-100ML
Неорганические кислоты	
Азотная кислота Ultrapur™, 60%	101518
Азотная кислота OmniTrace Ultra™, 67-70%	NX0408
Азотная кислота Suprapur®, 65%	100441
Азотная кислота OmniTrace®, 67-70%	NX0407

Непищевые ингредиенты и добавки

Некоторые материалы, не имеющие пищевой ценности, также добавляют в продукты питания и напитки. Такие ингредиенты и добавки используют, чтобы придать пищевым продуктам лучший запах, вкус, внешний вид, а также продлить срок хранения. Представляющие интерес области исследования включают в себя:

- Ароматизаторы и отдушки (сырье, ароматические вещества, вкусовые летучие соединения, эфирные масла, энантимеры; сюда же относится определение прогорклости масла по йодному или бромному числу)
- Искусственные подсластители
- Консерванты (отличные от антиоксидантов): сорбаты, бензоаты, парабены и нитраты
- Красители

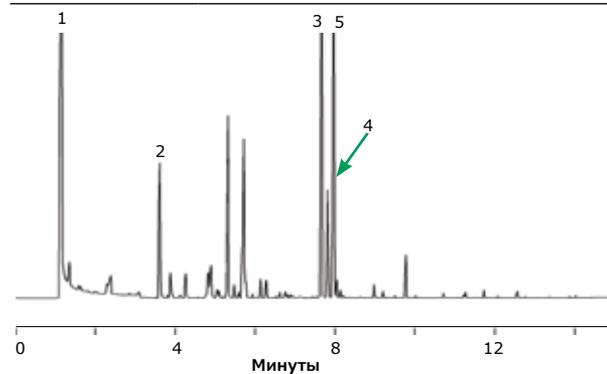
Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Анализ ароматизаторов и отдушек

Твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ) в парафазном режиме с последующим ГХ анализом является идеальным способом определения качества и состава компонентов ароматизаторов и отдушек. На **рисунке 15** представлены результаты определения мятного ароматизатора в шоколадном печенье. Ментол, основной компонент масла перечной мяты, эффективно адсорбируется на 100 мкм волокне для ТФМЭ, покрытом слоем полидиметилсилоксана (ПДМС). Несмотря на высокую температуру кипения ментола, он легко экстрагируется при 45°C за короткое время, что минимизирует влияние других компонентов шоколадного печенья. При использовании ТФМЭ в парафазном для количественного определения ментола можно легко рассчитать процентное содержание масла перечной мяты в шоколадном печенье с мятным ароматом.

Рисунок 15. Масло перечной мяты в шоколадном печенье

Матрица образца:	4 г мятного печенья
ТФМЭ волокно:	Кварцевое волокно, покрытое полидиметилсилоксаном (100 мкм) (57300-U)
Экстракция:	Парафазная, 45°C, 1 мин
Десорбция:	250°C, 5 мин
Колонка:	Equity®-5, 30 м x 0,25 мм внутр.диам. 0,25 мкм (28089-U)
Термостат:	60°C (1 мин), повышение температуры со скоростью 10°C/мин до 230°C
Температура инжектора:	250°C
Детектор:	ПИД, 250°C
Газ-носитель:	Гелий, 35 см/с
Ввод пробы:	Без деления потока (делитель потока закрыт в течение 3 минут)
Лайнер:	0,75 мм внутр. диам., для ТФМЭ, без сужения



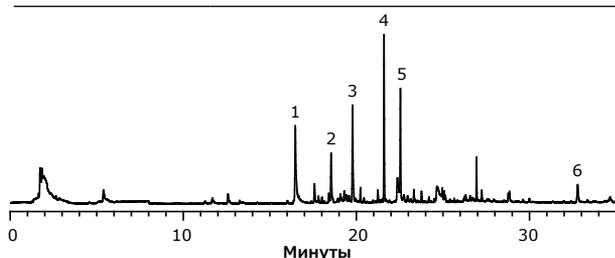
- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1. Растворитель | 4. <i>транс</i> -ментол |
| 2. Внутренний стандарт | 5. Ментол |
| 3. <i>цис</i> -ментол | |

Метод ТФМЭ может быть также использован в качестве методики «фингерпринтинга» летучих компонентов натуральных пищевых продуктов, например, меда, при установлении происхождения. На **рисунке 16** приведен пример полученной хроматограммы. Поскольку состав летучих компонентов и их соотношение зависят от типа медоносного растения, становится возможным установление происхождения меда.

Рисунок 16. Анализ летучих соединений в меде методом ГХ

Хроматограмма любезно предоставлена Федерикой Бианки и Мариленой Муск (Университет Пармы, Италия)

Матрица образца:	5 г меда и 5 мл бидистиллированной воды помещают в вialу объемом 20 мл, оставляют при 50°C на 15 минут при перемешивании магнитной мешалкой
Волокно для ТФМЭ:	2 см 50/30 мкм дивинилбензол/карбоксен на полидиметилсилоксане (57348-U)
Экстракция:	Парофазная, 50°C, 40 минут при перемешивании магнитной мешалкой
Десорбция:	250°C, 2 мин
Колонка:	SUPELCO WAX® 10, 30 м x 0,25 мм внутр.диам. 0,25 мкм (24079)
Термостат:	35°C (8 мин), повышение температуры со скоростью 6°C/мин до 60°C, повышение температуры со скоростью 4°C/мин до 160°C, повышение температуры со скоростью 20°C/мин до 200°C (выдерживание в течение 1 мин)
Детектор:	Масс-спектрометрический (температура переходной линии - 230°C) (m/z 35 -300)
Газ-носитель:	Гелий, 1 мл/мин
Лайнер:	0,75 мм внутр. диам., прямой тип (для ТФМЭ), без сужения



- | | |
|-----------------|----------------------|
| 1. Нонаналь | 4. Хотриенол |
| 2. Фурфурол | 5. Нонанол |
| 3. Бензальдегид | 6. Нонановая кислота |

Хиральные ароматизаторы и отдушки

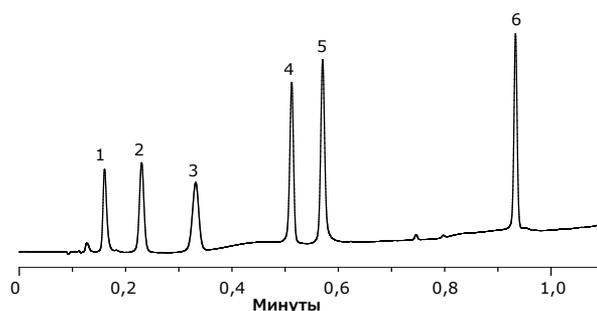
Хиральная хроматография часто используется для качественного и количественного определения энантиомерных соединений ароматизаторов и отдушек. Мы предлагаем обширный выбор колонок для хиральной ГХ в линейках продуктов Astec® и DEX™.

Искусственные подсластители и консерванты

Синтетические соединения, которые имитируют вкус сахара, но при этом имеют меньшую энергетическую ценность, часто добавляют в диетические продукты питания и напитки. Смысл заключается в том, чтобы сохранить сладкий вкус, но уменьшить калорийность. Чтобы достичь необходимой степени сладости, искусственные подсластители часто используют в особых сочетаниях, добиваясь вкуса, аналогичного натуральным сахарам. Другой тип соединений, имеющих способность подавлять рост микроорганизмов, добавляют для продления срока годности. Поскольку искусственные подсластители и консерванты считаются пищевыми добавками, их содержание и состав часто регламентируется нормативными документами. В связи с этим необходимо проводить качественное и количественное определение данных соединений. На **рисунке 17** показано разделение трех искусственных подсластителей (ацесульфам, аспартам и неотам), двух консервантов (бензойная кислота и сорбиновая кислота) и кофеина в образце диетического газированного напитка методом ВЭЖХ.

Рисунок 17. Анализ диетического газированного напитка методом ВЭЖХ

Колонка:	Ascentis® Express RP-Amide, 3 м x 4,6 мм внутр.диам., размер частиц 2,7 мкм (53921-U)
Подвижная фаза:	(А) 100 ммоль/л раствор ацетата аммония, pH 5,6, оттитрованный уксусной кислотой; (В) вода; (С) ацетонитрил
Градиент:	Поддержание уровня А на 20%; повышение уровня С с 5% до 60% в течение 1 минуты; поддержание уровня С на 60% в течение 0,1 минуты.
Скорость потока:	3 мл/мин
Температура колонки:	40°C
Детектор:	УФ, 214 нм
Объем пробы:	1 мкл
Образец:	Диетический газированный напиток, 100-500 мкг/мл в буферном растворе



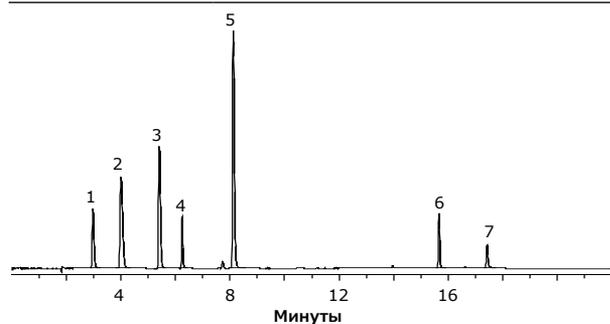
- | | |
|-----------------------|-------------|
| 1. Ацесульфам | 4. Кофеин |
| 2. Бензойная кислота | 5. Аспартам |
| 3. Сорбиновая кислота | 6. Неотам |

Пищевые красители

Чувствительный метод ВЭЖХ может быть использован для контроля качества красителей и для идентификации побочных продуктов. Колонки для ВЭЖХ Supelco® Ascentis® Express обеспечивают непревзойденную чувствительность и разрешающую способность для такого вида исследований. На рисунке 18 приведена хроматограмма, полученная для семи красителей после оптимизации разрешения, чувствительности и симметричности пиков для всех анализов. Для достижения лучшей формы пиков с минимальным размытием использовали органическую подвижную фазу, состоящую из смеси метанола и ацетонитрила (10:90). Конечный состав подвижной фазы при градиентном элюировании содержал 98% органической фазы.

Рисунок 18. Анализ пищевых красителей методом ВЭЖХ

Колонка:	Ascentis® Express C8, 10 см x 4,6 мм внутр.диаметр, размер частиц 2,7 мкм (53837-U)
Подвижная фаза:	(А) 0,1% раствора муравьиной кислоты в воде, (В) смесь ацетонитрил: метанол (90:10)
Градиент:	25% В в течение 1,5 мин; переход к 98% В до 15й минуты; поддержание 98% В в диапазоне 15–22 мин; переход к 25% В до 25й минуты
Скорость потока:	0,8 мл/мин
Температура колонки:	55°C
Детектор:	УФ ДМД (диодно-матричный детектор), 200-950 нм
Объем пробы:	3 мкл
Образец:	7 красителей, растворенных в смеси метанола и ацетонитрила



- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1. Парафуксин | 5. Малахитовый зеленый |
| 2. Основной фуксин | 6. Судан III |
| 3. Метилфуксин | 7. Судан 410 |
| 4. Новый фуксин | |

Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Наборы волокна для ТФМЭ:	
2 см 50/30 мкм дивинилбензол/карбоксен на полидиметилсилоксане (3 шт.)	57348-U
Колонки для ГХ	
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм	28564-U
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм	28576-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
Equity®-5, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28089-U
SUPELCOWAX® 10, 15 м x 0,10 мм внутр.диам., 0,10 мкм	24343
SUPELCOWAX® 10, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	24079
SUPELCOWAX® 10, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	24284
Astec® CHIRALDEX® G-TA, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,12мкм	73033AST
β-DEX 120, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	24304
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
C8, 10 см x 4,6 мм внутр.диам.	53837-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
RP-Amide, 3 см x 4,6 мм внутр.диам.	53921-U
Phenyl Hexyl, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53336-U
HILIC, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53939-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
C8, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50392-U
Phenyl Hexyl, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50483-U
HILIC, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50289-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Аналитические стандарты	
Disperse Blue 35	17992
Disperse Orange 1	29173
Disperse Red 1	11074
Disperse Yellow 3	11344
Pararot	40446
Судан I	51383
Судан II	07937
Судан III	68562
Судан IV	67386
Судан красный G	91282
Аналитические реагенты и растворители	
Ацетат аммония для ЖХ-МС LiChropur®	533004
Ацетонитрил для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156

Содержание воды

Титрование по методу Карла Фишера является основным методом определения содержания воды в продуктах и напитках. Данный метод является быстрым, точным и селективным для количественного определения воды.

С помощью данного метода содержание воды в различных материалах может быть определено в широком диапазоне концентраций, от 10 мг/кг до 100%. В отличие от других методов, титрование по методу Карла Фишера основано на химической реакции с водой, поэтому анализ обладает абсолютной селективностью. Оно применяется для широкого спектра задач в разных областях исследований.

Ассортимент продуктов питания чрезвычайно разнообразен. В зависимости от типа исследуемого вещества (обогащенное углеводами, жирами или белками) варьируются и методики выполнения измерений. Для "сложных" проб, плохо растворяющихся в реагенте Карла Фишера, или в случаях, когда возможна только медленная экстракция воды, необходимо использовать растворяющий реагент. Кроме того, полезными приемами могут быть проведение титрования при нагревании и использование гомогенизатора для ускорения выделения воды.

Таким образом, титрование по методу Карла Фишера является важным методом определения точного количества воды, содержащейся в продуктах питания, напитках и сырье для их производства. Компания Merck KGaA (Дармштадт, Германия) имеет более 40 лет опыта в проведении титрования по методу Карла Фишера и в разработке реагентов, стандартов и методик. Aquastar® - наша продуктовая линейка со всем необходимым набором реагентов и стандартов подходит для быстрого, надежного и точного определения содержания воды.

Воспользуйтесь нашими профессиональными знаниями и посетите сайт SigmaAldrich.com/application-note, чтобы найти методические указания по применению, или отправьте вопрос нашим специалистам по адресу: mm.russia@merckgroup.com. Наши лаборатории в Дармштадте (Европа), Норвуде (США) и Сингапуре (Азия) окажут Вам поддержку круглосуточно.



Преимущества

- **Качество бренда** - Мы используем только высококачественное и проверенное сырье. Это обеспечивает постоянство качества от партии к партии и воспроизводимость результатов анализа.
- **Компетентность** - Вы получаете преимущество благодаря нашим высоким научным стандартам и обширному международному опыту.
- **Безопасность** - Мы делаем особый акцент на безопасности. По этой причине содержание токсичных компонентов сведено к минимуму или полному отсутствию.
- **Обслуживание** - Наша международная торговая сеть и местные офисы компании обеспечивают надежную и быструю доставку и обслуживание по всему миру.
- **Поддержка** - Когда бы Вам ни понадобилась помощь, наши лаборатории внедрения и разработок всегда готовы её предоставить. Мы можем предоставить Вам необходимые консультации, техническую поддержку и помощь в валидации по телефону или при встрече. Свяжитесь с нами!
- **Прозрачность** - Контроль качества проводится в аккредитованной по DIN EN ISO/IEC 17025 лаборатории, которая занимается титрованием по методу Карла Фишера в соответствии с самыми строгими стандартами. Это позволяет полученным результатам быть полностью прозрачными.

Содержание воды в растворимом кофе

Кофейные экстракты содержат очень прочно связанную воду. Экстракция воды метанолом происходит крайне неэффективно и медленно. При использовании волюмометрического титрования добавление формамида и салициловой кислоты ускоряет высвобождение воды. Салициловая кислота поддерживает pH раствора в нужном диапазоне. Кроме того, предпочтительно проводить титрования при 50°C и увеличить время перемешивания перед началом титрования до 180 секунд. Масса образца должна составлять от 0,3 до 0,5 г. В качестве альтернативного варианта возможно проведение кулонометрического титрования в сочетании с нагревом образца в термостате. Для высвобождения воды рекомендуется нагревать образец массой 0,1 г приблизительно до 105°C. Проведение прямого кулонометрического титрования не рекомендуется.

Вы можете ознакомиться с методиками на сайте SigmaAldrich.com/application-note

Содержание воды в рисе

Крахмалистые продукты, например, рис, пшеница, мука или макароны, содержат прочно связанную воду. Для полного извлечения воды в процессе титрования по методу Карла Фишера перед анализом образцы должны быть измельчены до порошкообразного состояния. Чтобы избежать влияния влажности окружающей среды рекомендуется быстро взвесить приблизительно 0,2 г образца и поместить в ячейку для титрования. Присутствие формамида в процессе прямого волюмометрического титрования повышает степень экстрагирования воды. В качестве альтернативного или дополнительного варианта титрование можно проводить при 50°C. Рекомендуется увеличить время перемешивания перед началом титрования до 180 секунд. После определения содержания воды необходимо тщательно очистить ячейку и индикаторный электрод. Кулонометрическое титрование можно проводить только при нагреве образца в термостате. Для высвобождения воды рекомендуется нагревание образца до 110°C.

Вы можете ознакомиться с методиками на сайте SigmaAldrich.com/application-note

Содержание воды в масле

В связи с низкой растворимостью масла в метаноле, необходимо добавлять специальные растворяющие реагенты (например, хлороформ) или использовать специальные растворители Карла Фишера для жиров, например, Aquastar® CombiSolvent для жиров. Кроме того, нагрев ячейки до 50°C также повышает растворимость. Вы также можете воспользоваться гомогенизатором. Из-за неравномерного распределения воды в масле и малых размеров пробы требуется тщательная гомогенизация продукта перед отбором пробы. В ячейку помещают 0,3 г образца с помощью шпателя или шприца объемом 1 мл без иглы. Для полного растворения образца рекомендуется проводить перемешивание в течение 180 секунд. Мы не рекомендуем проводить кулонометрическое титрование из-за высокого содержания воды и плохой растворимости образца.

Вы можете ознакомиться с методиками на сайте SigmaAldrich.com/application-note

Содержание воды в сухом молоке

Сухое молоко обладает крайне низкой растворимостью в метаноле. Однако при перемешивании в течение 3-5 минут удается полностью экстрагировать воду. Мы рекомендуем проводить титрование при 50°C, так как это способствует высвобождению воды. Благоприятное влияние оказывает непрерывное активное перемешивание или использование гомогенизатора. Из лодочки для взвешивания отбирают 0,2 - 0,3 г образца и начинают титрование после перемешивания в течение 180 секунд в нагретой ячейке.

Вы можете загрузить подробные указания по применению по адресу SigmaAldrich.com/application-note

Таблица 1. Реагенты для определения содержания воды в растворимом кофе

Методика	Раствор для титрования Aquastar®	Растворитель Aquastar®	Вспомогательные вещества и стандарты
Однокомпонентный метод			
Варианты	188005 CombiTitrant 5	188009 CombiSolvent	109684 Формамид 100635 Салициловая кислота 188052 Стандарт воды 1%
Двухкомпонентный метод			
Варианты	188010 Titrant 5	188015 Растворитель	109684 Формамид 100635 Салициловая кислота 188052 Стандарт воды 1%
Кулонометрическое титрование с нагревом в термостате			
Без мембраны	109257 CombiCoulomat без фритт		188051 стандарт воды 0,1%
с мембраной	109255 CombiCoulomat с фриттой		

Таблица 2. Реагенты для определения содержания воды в рисе

Методика	Раствор для титрования Aquastar®	Растворитель Aquastar®	Вспомогательные вещества
Однокомпонентный метод			
Варианты	188005 CombiTitrant 5	188009 CombiSolvent	109684 Формамид 188052 Стандарт воды 1%
Двухкомпонентный метод			
Варианты	188010 Titrant 5	188015 Растворитель	109684 Формамид 188052 Стандарт воды 1%
Кулонометрическое титрование с нагревом в термостате			
Без мембраны	109257 CombiCoulomat без фритт		188051 Стандарт воды 0,1%
с мембраной	109255 CombiCoulomat с фриттой		188051 Стандарт воды 0,1%

Таблица 3. Реагенты для определения содержания воды в масле

Методика	Раствор для титрования Aquastar®	Растворитель Aquastar®	Вспомогательные вещества
Однокомпонентный метод			
Варианты	188005 CombiTitrant 5	188021 CombiSolvent для жиров	
Двухкомпонентный метод			
Варианты	188010 Titrant 5	188015 Растворитель	102445 Формамид 188052 Стандарт воды 1%

Таблица 4. Реагенты для определения содержание воды в сухом молоке

Методика	Раствор для титрования Aquastar®	Растворитель Aquastar®	Вспомогательные вещества
Однокомпонентный метод			
Варианты	188005 CombiTitrant 5	188009 CombiSolvent	188052 Стандарт воды 1%
Двухкомпонентный метод			
Варианты	188010 Titrant 5	188015 Растворитель	188052 Стандарт воды 1%

Генетически модифицированные организмы

(ГМО)

Некоторые зерновые культуры подвергают генно-инженерной модификации для придания желаемых характеристик, например, повышения устойчивости к пестицидам и погодным условиям, увеличения срока хранения и обеспечения более высоких питательных показателей. В связи с опасениями, вызванными вопросами безопасности пищевых и кормовых продуктов, произведенных из генно-модифицированных растений, их использование в ряде стран строго регламентировано. Мы предлагаем широкий спектр сертифицированных стандартных образцов (ССО) для исследования наиболее широко используемых ГМО. Данные образцы производит Институт стандартных материалов и измерений (IRMM), который является частью объединенного исследовательского центра (JRC) Европейского Комитета. Некоторые из продуктов представлены на **рисунке 19**.

Доступные ССО для анализа ГМО включают в себя: хлопок, маис (кукурузу), картофель, рапс, сою и сахарную свеклу. ССО ГМО получают гравиметрическим методом, смешивая материал, содержащий ГМО, с материалом, не содержащим ГМО, в различных соотношениях, добываясь нужной концентрации. Ниже приведен пример анализа пищевых продуктов и напитков, характерный для данной области.

Рисунок 19. ССО для анализа ГМО



Фотография любезно предоставлена Томасом Линзингером (JRC, Европейский союз)

ССО генно-модифицированной сои

Внешний вид естественных и генно-модифицированных побегов сои (см. **рисунке 20**) может быть абсолютно идентичным. По этой причине для их различения необходимо использовать такие аналитические методики, как полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и гель-электрофорез. Происхождение растения (естественное или искусственное) можно определить, поскольку электрофоретический спектр, полученный для натурального образца, отличается от спектра, полученного для образца, содержащего ГМО. Кроме того, при наличии ССО с разными концентрациями можно определить соотношение натуральных и генно-модифицированных компонентов в образце. Например, CRM для сои 305423 доступны с четырьмя разными концентрациями. Это позволяет получить четыре точки, соответствующие концентрациям < 0,08%, 0,5%, 1% и 10%, и провести не только идентификацию, но и количественный анализ. Также стоит отметить, что для одного и того же вида растений может существовать более одного типа ГМО (например, соя 305423 и соя 356043 являются разными генно-модифицированными растениями).

Рисунок 20. Соевые побеги



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Хлопок GHB119	
Содержит 0% Хлопка GHB119, 1 г	ERMBF428A-1G
Содержит 1% Хлопка GHB119, 1 г	ERMBF428B-1G
Содержит 10% Хлопка GHB119, 1 г	ERMBF428C-1G
Маис	98140
Содержит 0% Кукурузы 98140, 1 г	ERMBF427A-1G
Содержит 0,5% Кукурузы 98140, 1 г	ERMBF427B-1G
Содержит 2% Кукурузы 98140, 1 г	ERMBF427C-1G
Содержит 10% Кукурузы 98140, 1 г	ERMBF427D-1G
Картофель	EH92-527-1
Содержит 0% Картофеля EH92-527-1, 1 г	ERMBF421A-1G
Содержит 100% Картофеля EH92-527-1, 1 г	ERMBF421B-0.5G
Соя	305423
Содержит <0,08% Сои 305423, 1 г	ERMBF426A-1G
Содержит <0,5% Сои 305423, 1 г	ERMBF426B-1G
Содержит <1% Сои 305423, 1 г	ERMBF426C-1G
Содержит <10% Сои 305423, 1 г	ERMBF426D-1G
Соя	356043
Содержит <0,05% Сои 356043, 1 г	ERMBF425A-1G
Содержит 0,1% Сои 356043, 1 г	ERMBF425B-1G
Содержит 1% Сои 356043, 1 г	ERMBF425C-1G
Содержит 10% Сои 356043, 1 г	ERMBF425D-1G
Сахарная свекла	H7-1
Содержит 0% Сахарной свеклы H7-1, 1 г	ERMBF419A-1G
Содержит 100% Сахарной свеклы H7-1, 1 г	ERMBF419B-1G

Физические характеристики

Измерение определенных физических свойств часто используется для идентификации вещества. Чтобы обеспечить точность таких измерений, необходимо регулярно проводить калибровку используемого оборудования с помощью точных аналитических стандартов с известными свойствами. Мы предлагаем широкий выбор стандартов для определения физических свойств для различных задач, важных в пищевой химии.

- Продукты, охватывающие широкий спектр физических свойств, таких как температура плавления, плотность, электропроводность, вязкость, мутность, размер частиц, цвет, теплопроводность, структурные, оптические и изотопные параметры.
- Число сертифицированных стандартных образцов (CRM), поставляемых такими лицензированными и аккредитованными лабораториями как Paragon, Whitehouse Scientific, H&D Fitzgerald и IRMM, непрерывно растёт.

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Стандарты для определения вязкости

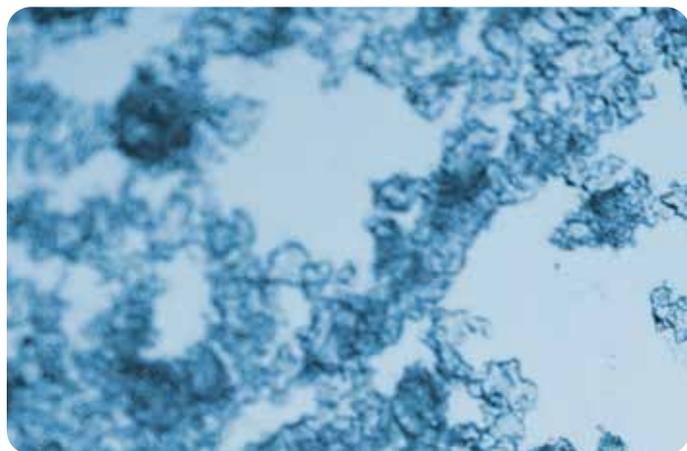
Наша широкая линейка сертифицированных стандартов для определения вязкости производится компанией Paragon Scientific (Великобритания) в сертифицированной согласно ISO 17025 лаборатории в строгом соответствии со стандартом ASTM D2162 (Стандартная методика основной калибровки образцовых вискозиметров и эталонов вязкости масла). Все стандарты калибруют по эталонам NIST и поставляют с сертификатом, в котором указаны значения вязкости и плотности при различных температурах, погрешности и срок хранения. Для всех значений температуры приведены данные о кинематической и динамической вязкости.

Стандарты для определения размеров частиц

Данные стандарты, калибруемые по эталонам NIST (Национальный институт по стандартизации и технологии, США) и NPL (Национальная физическая лаборатория, Великобритания), были одобрены Управлением по сертифицированным образцам (BCR) и проверены большой международной командой из 20 лабораторий, лучших в области анализа размера частиц. Для сертификации стеклянных частиц используют несколько надёжных первичных методов: микроскопию, ситовой анализ, седиментацию и счетчик Коултера. Стандарты поставляют в наборах по 10 виал в количествах, подходящих для любого метода анализа и не требующих дополнительного разделения на более мелкие части. Данные продукты производят и сертифицируют лицензированные специалисты компании Whitehouse Scientific.

Стандарты для определения температуры плавления

Определение температуры плавления используют для идентификации соединений и для оценки их чистоты. Мы предлагаем широкий набор стандартных образцов для определения температуры плавления, чтобы обеспечить надежную работу используемого оборудования. Параллельные измерения дают погрешность в диапазоне от +/- 0,3°C до +/- 0,5°C. Измерения проводят в термодинамическом режиме с использованием калибровки по первичным стандартам.



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Стандарты для определения температуры плавления	
79–81°C (Нафталин), 1 г	01422-1G
121-123°C (Бензойная кислота), 5 г	76170-5G
Стандарты для определения плотности	
1623 кг/м ³ , 10 мл	15889-10ML-F
692 кг/м ³ , 10 мл	44964-10ML-F
Стандарты для определения проводимости	
14,7 мС/м, 250 мл	60138-250ML
141 мС/м, 250 мл	60136-250ML
Стандарты для определения вязкости	
N2, кинематическая 2,216 мм ² /с (сСт), динамическая 1,770 мПа (сП), 500 мл	93835-500ML
N10, кинематическая 17,01 мм ² /с (сСт), динамическая 14,43 мПа (сП), 500 мл	63484-500ML
Стандарты для определения мутности	
1 НЕМ Формазин, Сертифицированный стандартный образец	TURB1
100 НЕМ Формазин, Сертифицированный стандартный образец	TURB100
Стандарты для определения размеров частиц	
1–10 мкм, 10 шт. x 0,1 г	42459-10X0.1G
10-100 мкм, 10 шт. x 0,25 г	80847-10X0.25G
Эталоны цвета	
Растворы BY, в соответствии с Евр.Ф. Набор из 7 ампул по 2 мл	86293-1SET-F
Растворы GY в соответствии с Евр.Ф. Набор из 7 ампул по 2 мл	82995-1SET-F
Стандарты для определения теплопроводности	
Пенополистирольная пластина, CCO NIST ® 1453	NIST1453
Пластина из стекловолокна, CCO NIST ® 150d	NIST1450D
Стандарты для определения механических свойств	
Порошкообразный известняк для испытаний на сдвиг, 3,2 кг	BCR116-3.2KG
Стандарты для определения структурных свойств	
Кварц, 14–90 мкм, для измерения диаметра по Стоксу, 10 г	BCR069-10G
Кварц, 50-220 мкм, для измерения среднего диаметра по объёму, 50 г	BCR130-50G
Микрокристаллическая целлюлоза, для измерения сорбции воды, 20 г	BCR302-20G
Стандарты для определения изотопного состава	
⁴¹ Ca/ ⁴⁰ Ca в 0,6 М HNO ₃ , для изотопного состава, 1 набор	ERMAE701-1SET
³⁷ Cl в воде, для определения содержания изотопа, 4 мл	ERMAE642-4ML

Микробиологический контроль качества

Пищевые продукты, загрязненные микроорганизмами (бактериями и дрожжами), вирусами и одноклеточными, могут вызывать у человека тяжелые заболевания. Существуют две категории заболеваний, связанных с продуктами питания. Первая - это пищевые отравления, вызванные наличием микробных токсинов, например, от *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* (обе бактерии производят эндотоксины, которые вызывают кишечные расстройства (диарею), и от *Clostridium botulinum* (ботулизм - самая серьезная болезнь среди пищевых отравлений).

Вторая категория заболеваний характеризуется ростом микроорганизмов в теле человека после попадания зараженной еды, например, при заражении *Salmonella spp.* (вызывает сальмонеллез) и *Campylobacter jejuni* (вызывает высокую температуру, колики). Большое количество патогенов передается через фекально зараженную воду, наиболее важными возбудителями заболеваний являются *Salmonella typhi* (брюшной тиф) и *Vibrio cholerae* (холера).

Методики микробиологических исследований для анализа продуктов питания и напитков были стандартизованы и регламентированы, однако практически в каждой стране существуют собственные нормативы. Большинство питательных сред, добавок, красителей и индикаторов, предлагаемых компанией Sigma-Aldrich®, соответствуют нормативам Швейцарии, а также другим нормам, например, утвержденным Международной организацией по стандартизации (ISO).

Линейка продукции включает в себя:

- Питательные среды и основные ингредиенты
- Хромогенные среды для дифференциации микробов по окраске колонии
- Наборы для исследований (для биохимических, иммунологических и молекулярно-биологических методов) для обнаружения болезнетворных микроорганизмов, их идентификации и подтверждения присутствия
- Сертифицированные стандартные микроорганизмы Vitroids™ для исследования эффективности микробиологических анализов

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Хромогенные питательные среды

Для простого и быстрого обнаружения бактерий необходимо использовать хромогенные субстраты Salmon-GAL, X-Gal и X-glucuronide. Ферменты, производимые некоторыми бактериями, расщепляют субстраты, что приводит к разному окрашиванию определенных колоний бактерий. Это позволяет микробиологам отчетливо видеть присутствие целевых микроорганизмов. На **рисунке 21** показано отчетливое изменение цвета, связанное с ростом бактерий. Большинство хромогенных сред применяются для определения патогенных бактерий, как, например, предлагаемая нами питательная среда для определения *Clostridium perfringens*, первая в своем роде.

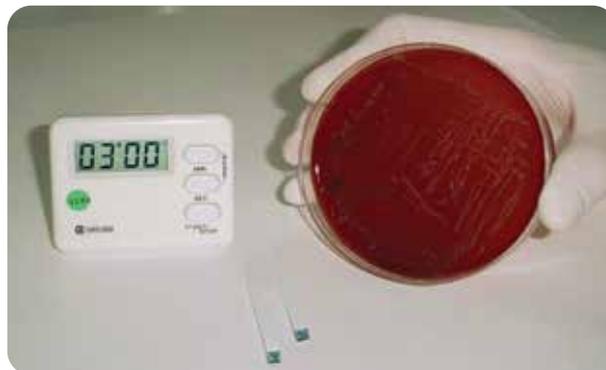
Рисунок 21. Рост колонии на хромогенной среде



Наборы для классических биохимических методов

Удобные в использовании диски и полоски (см. **Рисунок 22**) могут применяться для идентификации и подтверждения присутствия микроорганизмов. Поскольку их применение основано на принципах быстрых методов скрининга, таких как определение ферментов с помощью хромогенных субстратов и индикаторов, или на проведении сложных реакций, они быстрее и проще в использовании по сравнению с традиционными методиками обнаружения. Кроме того, для идентификации организмов может быть использована их чувствительность к определенным ингибирующим веществам. Индикаторные полоски для определения стерильности используют для проверки результатов стерилизации, что важно для контроля процесса.

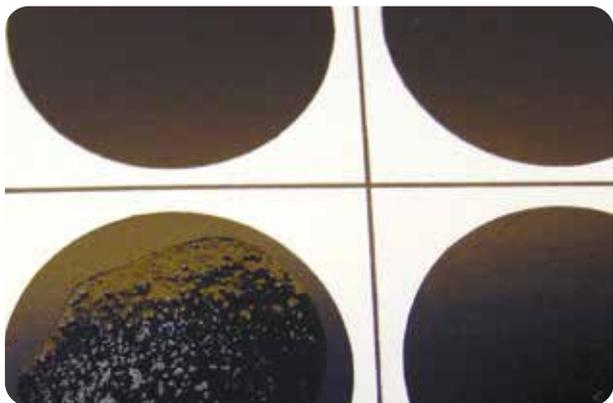
Рисунок 22. Диски и полоски для быстрых классических биохимических испытаний



Наборы для передовых иммунологических методов

Простой в использовании набор Staphylo Monotec Test Kit Plus позволяет быстро провести реакцию агглютинации для распознавания *Staphylococcus aureus* среди других видов стафилококков. С помощью этого набора можно определить три характерных параметра для *S. aureus* (коагулазу, протеин А и капсульный полисахарид серотипа 5) в одну стадию с высокой надежностью. Это приводит к повышению чувствительности и селективности обнаружения *Staphylococcus aureus*, устойчивого к метициллину. Результаты применения набора Staphylo Monotec Test Kit Plus представлены на **рисунке 23**.

Рисунок 23. Положительная реакция агглютинации

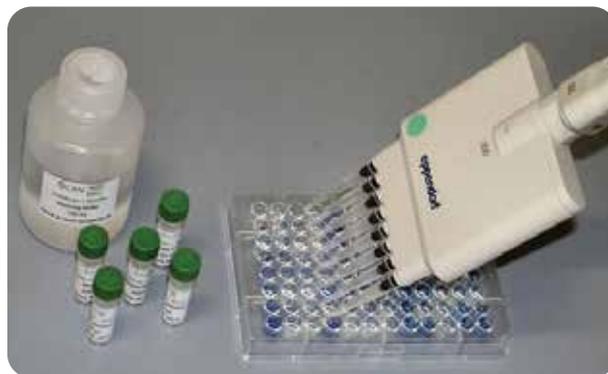


Наборы для передовых молекулярно-биологических методов

Наборы для проведения быстрых исследований HybriScan™ основаны на системе сэндвич-гибридизации р-РНК, которая является более дешевым и робастным методом по сравнению с методами полимеразной цепной реакции (ПЦР). С помощью этих наборов можно получать более точные (благодаря регистрации только живых клеток) и быстрые (экономия времени достигает 10 дней по сравнению с анализами, основанными на культивировании клеточного материала) результаты на стандартном лабораторном оборудовании. На **рисунке 24** показано использование набора HybriScan™ для анализа. Данные наборы могут быть использованы для качественного и количественного определения микробиологического загрязнения и болезнетворных микроорганизмов в пищевых продуктах и напитках. Наборы идеально подходят для всестороннего и надежного рутинного контроля качества сырья и концентратов на любой стадии производства, вплоть до анализа готовых продуктов.

Один из таких наборов - HybriScan™ D Beer kit - позволяет обнаружить все загрязняющие пиво микроорганизмы в рамках одного анализа продолжительностью 2 часа. Уже через два часа (при необходимости проводят предварительное обогащение клеток в течение 24 часов) пивоваренная компания сможет получить первые надежные результаты. Робастность анализа с использованием HybriScan™ позволяет обнаружить бактериальные загрязнения в пивных дрожжах, используемых на производстве, что, в свою очередь, позволяет более эффективно расходовать этот ценный ресурс. Все бактерии, не только связанные с загрязнением пива, могут быть обнаружены и количественно определены с помощью этой передовой высокоскоростной системы.

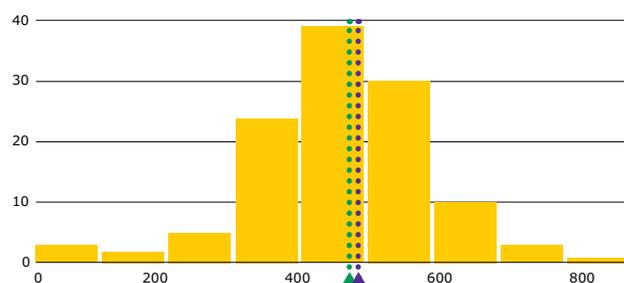
Рисунок 24. Окрашивание, полученное помощью набора HybriScan™ перед проведением количественного фотометрического анализа



Диски Vitroids™ с сертифицированными стандартными образцами микроорганизмов

Диски Vitroids™ и LENTICULE® содержат стандартные образцы микроорганизмов с сертифицированным значением КОЕ. Данные сертифицированные стандартные образцы (ССО) и стандартные образцы (СО), производимые аккредитованными в соответствии с ISO/IEC 17025 и ISO Guide 34 лабораториями, калибруют по валидированному набору штаммов клеточных культур. В каждом продукте находится чистая бактерия или грибок в твердой водорастворимой матрице, которая может быть регидратирована всего за 10 минут. Наша уникальная технология консервации обеспечивает стабильность образцов в течение 3 лет.

Рисунок 25. Распределение КОЕ для дисков Vitroids™ (480 КОЕ/100 мл; погрешность 7,56; сертифицированная погрешность 22,5)



Для растворения диска достаточно всего 100 мкл. Другим вариантом использования является размещение диска непосредственно на поверхности чашки Петри с питательной средой. На **рисунке 26** представлены диски Vitroids™ в контейнере и в чашке Петри. Непосредственно после растворения стандарт готов к использованию без дополнительных стадий извлечения и инкубации.

Диски Vitroids™, содержащие точно определенное количество микроорганизмов, могут быть включены в методики любой микробиологической лаборатории и практически не требуют изменений процедуры. Использование дисков является экономичным способом оценки эффективности и ограничений применяемых микробиологических методик.

Рисунок 26. Диски Vitroids™ до регидратации в растворе (слева) и на чашке Петри (справа)



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Питательные среды и основные ингредиенты	
Трипказо-соевый агар (TSA)	22091
Трипказо-соевый бульон (TSB)	22092
Агар с сердечно-мозговой вытяжкой (BHI Agar)	70138
Бульон с сердечно-мозговой вытяжкой (BHI Broth)	53286
Забуференная пептонная вода (BPW)	77187
Картофельный глюкозный агар (PDA)	70139
Агар	05040
Желатин, полученный из свиной кожи	48722
Дрожжевой экстракт	70161
Сухое обезжиренное молоко*	70166
Триптон	95039
Гидролизат казеина	22090
Мясной экстракт	70164
Солодовый экстракт	70167
Хромогенные питательные среды	
Агар CP™ ChromoSelect для <i>Clostridium perfringens</i>	12398
Агар HiCrome™ ECC для <i>Escherichia coli</i> и бактерий группы кишечной палочки	73009
Агар HiCrome™ Coliform для <i>Escherichia coli</i> и бактерий группы кишечной палочки	81938
Наборы для исследований	
Тест на каталазу (пероксид водорода, 3%)	88597
Диски для определения бета-галактозидазной активности энтеробактерий	49940
Тест-полоски на оксидазу	40560
Staphylo Monotec Test Kit Plus	50448
HybriScan™ D Beer	62533
HybriScan™ D Drinks	68301
HybriScan™ D Total Bacterial Count	02349
HybriScan™ D Yeast	61397
Диски Vitroids™ с сертифицированными стандартными штаммами	
<i>Clostridium perfringens</i> , штамм NCTC 10240, 500 КОЕ	RQC20106
<i>Clostridium sporogenes</i> WDCM 00008 Vitroids™, 50-80 КОЕ, Сертифицированный стандартный образец	VT000082
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00090 Vitroids™, 130-270 КОЕ, Сертифицированный стандартный образец	VT000904
<i>Legionella pneumophila</i> WDCM 00107 Vitroids™, 50,000-150,000 КОЕ, Сертифицированный стандартный образец	VT001077
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a WDCM 00109 Vitroids™, 80-120 КОЕ, Сертифицированный стандартный образец	VT001093
<i>Salmonella enterica</i> subsp. Enterica serovar Typhimurium WDCM 00031 Vitroids™, 50-80 КОЕ, Сертифицированный стандартный образец	VT000312
<i>Salmonella goldcoast</i> , штамм NCTC 13175, 30 КОЕ	RQC02301
<i>Staphylococcus aureus</i> суспензия Aureus WDCM 00032 Vitroids™, 50-80 КОЕ, Сертифицированный стандартный образец	VT000322

* Не доступно на территории США

Остаточные количества пестицидов и их метаболитов

Анализ остаточного содержания пестицидов в продуктах питания и напитках очень важен не только для снижения воздействия на потребителя, но и для минимизации проблем, связанных с международной торговлей. В настоящее время известно более 1000 пестицидов и их метаболитов, имеющих отношение к продовольственным сельскохозяйственным культурам, используемых сейчас или применявшихся в прошлом.

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Быстрая и простая очистка образцов продуктов питания перед хроматографическим анализом



Особенности и преимущества

- Эффективная и экономичная очистка образца
- Готовые навески сорбентов и солей сокращают затраты времени и усилий при подготовке
- Реагенты высокой чистоты
- Удобные, надёжные и готовые к использованию пробирки для центрифуги объёмом 2 мл, 12 мл и 15 мл

Результатом использования насыпных солей для экстракции и сорбентов для очистки в сочетании со встряхиванием и центрифугированием является осуществление Быстрой (Quick), Простой (Easy), Дешёвой (Cheap), Эффективной (Effective), Устойчивой (Rugged) и Безопасной (Safe) методики очистки образцов ("QuEChERS"). Методика "QuEChERS" стала популярной методикой пробоподготовки для определения остаточных количеств пестицидов в пищевых и сельскохозяйственных продуктах и была официально включена в стандарт EN15662:2008 и методику Ассоциации химиков-аналитиков AOAC 2007.01.¹⁻² Некоторое время назад её применение было расширено на области, включающие в себя анализ ПАУ (полициклических ароматических углеводородов), ПХД (полихлорированных дифенилов), ПБДЭ (полибромированных дифенилэфиров) и антипиренов.³

Флаконы и пробирки для центрифугирования линейки Supel™ QuE содержат заданные количества солей и сорбентов для ТФЭ, соответствующие требованиям большинства существующих методик QuEChERS. Сорбенты и области их применения перечислены в Таблице 5.

Таблица 5. Сорбенты для очистки по методике QuEChERS и области их применения

Сорбент	Удаляемые соединения
Диоксид циркония на силикагеле	Пигменты и липиды или жиры
Полизамещенный амин на силикагеле	Сахара, органические кислоты, жирные кислоты и полярные пигменты
C18 на силикагеле	Липиды или жиры
Углерод	Пигменты

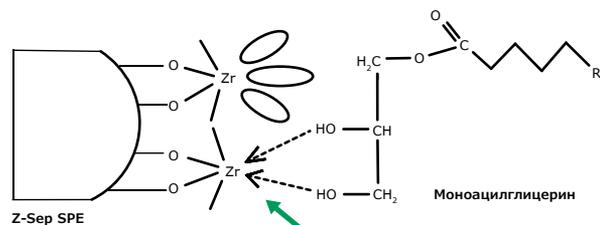
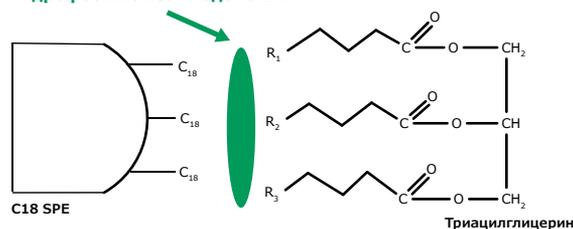
Сорбенты Z-Sep: Удаление жиров и пигментов из сложных в работе матриц

- Существенное снижение мешающего влияния жирной матрицы и окрашенных соединений.
- Повышение робастности методик анализа с использованием ЖХ-МС и ГХ-МС благодаря удалению примесей, связанных с природой матрицы
- Возможность использования в качестве замены для фаз C18 и PSA без дополнительной доработки методики

Частицы силикагеля с покрытием из диоксида циркония (ожидается выдача патента) сорбентов Supel™ QuE Z-Sep селективно удаляют больше жиров и окрашенных соединений из исследуемых экстрактов, чем традиционно используемые в методиках QuEChERS твёрдые фазы. Удерживание жиров основано на двух взаимоусиливающих взаимодействиях, что показано на рисунке 27. Состав и области применения каждого сорбента перечислены в Таблице 6.

Рисунок 27. Механизм удерживания жиров на сорбентах Supel™ QuE Z-Sep

Гидрофобные взаимодействия



Льюисовское кислотно-основное взаимодействие

Таблица 6. Сорбенты Supel™ QuE Z-Sep, их состав и области применения

Сорбент	Состав	Области применения:
Z-Sep	Диоксид циркония, связанный с силикагелем	Высокогидрофобные аналиты, например, ПАУ и ПХД
Z-Sep/C18	Сочетание частиц Z-Sep и Discovery® DSC-18	Образцы с содержанием жиров менее 15%
Z-Sep+	Диоксид циркония и C18, связанные с силикагелем	Образцы с содержанием жиров более 15%

Ссылки

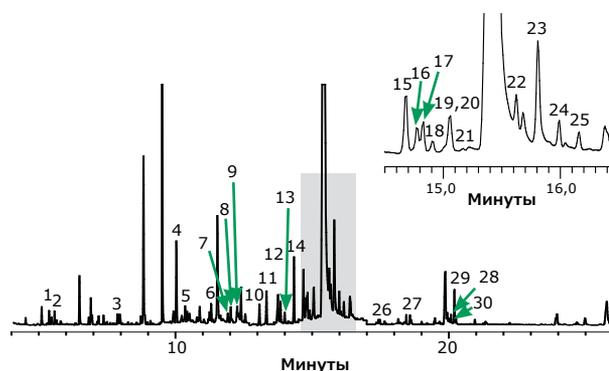
1. EN15662:2008, Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE - QuEChERS-method
2. AOAC Official Method 2007.01, Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate
3. Sapozhnikova, Y.; Lehotay, S.J. Multi-class, multi-residue analysis of pesticides, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and novel flame retardants in fish using fast, low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 2013, 758, 80-92.

Экстракция/очистка методом QuEChERS перед анализом пестицидов в апельсинах

Метод QuEChERS (Quick-Easy-Cheap-Effective-Rugged-Safe - Быстрый-Простой-Дешевый-Эффективный-Устойчивый-Безопасный) значительно упрощает стадии пробоподготовки, необходимые для экстракции пестицидов из пищевых продуктов растительного происхождения. Экстракцию проводят с помощью растворителя (например, ацетонитрила) и предварительно взвешенных количеств солей для экстракции/приготовления буферных растворов. После стадии центрифугирования экстракт очищают с помощью насыпных материалов для ТФЭ и вспомогательных солей. На **рисунке 28** приведена хроматограмма, полученная методом ГХ-МС при анализе образца апельсина, к которому были добавлены пестициды до проведения экстракции. При проведении анализа, результаты которого показаны на **рисунке 28**, очистку проводили с помощью сорбента Supel™ QuE PSA. На **рисунке 29** приведены хроматограммы, полученные методом ЖХ-МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций для экстракта из образца апельсина с добавленными пестицидами. При проведении анализа, результаты которого показаны на **рисунке 29**, очистку проводили с помощью сорбента Supel™ QuE Z-Sep/C18, инновационного материала, более эффективного для удаления пигмента из образца апельсина по сравнению с традиционным материалом PSA/C18.

Рисунок 28. Анализ образца апельсина с введенными примесями пестицидов методом ГХ

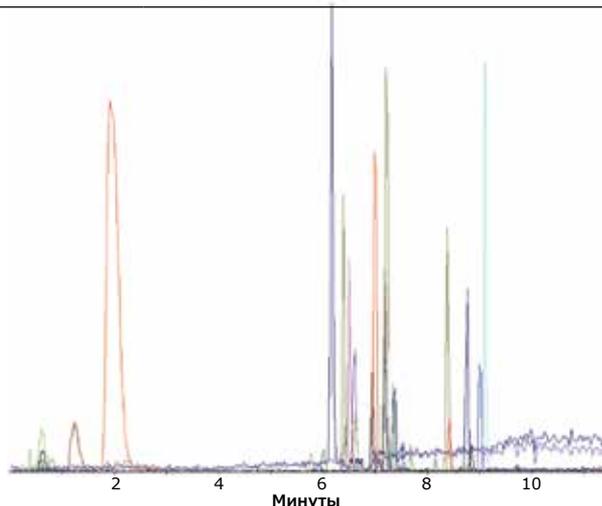
Матрица образца:	15 г измельченного апельсина с добавлением 29 пестицидов и 1 внутреннего стандарта
Экстракция:	Добавляют 15 мл 1% раствора уксусной кислоты в ацетонитриле; добавляют содержимое пробирки Supel™ QuE Acetate (55234-U); встряхивают вручную в течение 1 минуты; центрифугируют при 3300 об./мин. в течение 2 минут, отбирают аликвоту объемом 2 мл; добавляют содержимое двух пробирок Supel™ QuE PSA (55287-U); центрифугируют при 3300 об./мин. в течение 2 минут, отбирают аликвоту объемом 1 мл; выпаривают растворитель до объема 0,1 мл; доводят объем до 1 мл толуолом.
Колонка:	SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр. диам., 0,25 мкм (28471-U)
Термостат:	100°C (1 мин), повышение температуры со скоростью 10°C/мин до 300°C (выдерживание в течение 5 мин)
Температура инжектора:	250°C
Детектор:	Масс-спектрометрический, 300°C, в режиме контроля заданных ионов (SIM), 7 отслеживаемых групп
Газ-носитель:	Гелий, 1 мл/мин, постоянный поток
Ввод пробы:	1 мкл, импульсный (20 psi до 0,20 мин), без деления потока (1,0 мин)
Лайнер:	Внутр.диам. 4 мм, без деления потока, с сужением



- | | |
|------------------------------|--------------------------|
| 1. Метамидофос | 16. Пенконазол |
| 2. Дихлофос | 17. Толилфлуанид |
| 3. Ацефат | 18. Гептахлорэпоксид |
| 4. Пропоксур | 19. Каптан |
| 5. Этопрофос (внутр. станд.) | 20. Тиабендазол |
| 6. Гексахлорбензол | 21. Фолпет |
| 7. γ-гексахлоран (ВНС) | 22. цис-хлордан |
| 8. Диазинон | 23. Имазалил |
| 9. Хлорталонил | 24. 4,4'-ДДЕ |
| 10. Метилхлорпирифос | 25. Диедрин |
| 11. Карбарил | 26. Эндосульфана сульфат |
| 12. Дихлофлуанид | 27. Дикофол |
| 13. Хлорпирифос | 28. цис-перметрин |
| 14. пара-дихлоробензофенон | 29. транс-перметрин |
| 15. Ципродинил | 30. Кумафос |

Рисунок 29. Хроматограммы, полученные методом ЖХ-МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций для экстракта из образца апельсина с добавленными пестицидами.

Матрица образца:	10 г измельченных апельсинов (вместе с кожурой) с добавлением пестицидов с концентрацией 50 мкг/кг (добавляют 16,75 мкл специальной смеси пестицидов, с концентрацией каждого аналита, равной 30 мкг/мл)
Экстракция:	Добавляют 10 мл ацетонитрила; встряхивают в течение 1 минуты; добавляют содержимое пробирки с цитратами натрия Supel™ QuE citrate (55227-U); сразу же встряхивают в течение 1 минуты; центрифугируют при 3200 об./мин. в течение 5 минут; переносят 0,7 мл слоя ацетонитрила в пробирку для очистки Supel™ QuE Z-Sep/C18 (55284-U); встряхивают в течение 1 минуты; центрифугируют при 5000 об./мин. в течение 5 минут; переносят 0,2 мл надосадочной жидкости в пустую пробирку для центрифугирования объемом 1,5 мл; добавляют 0,2 мл воды; центрифугируют при 5000 об./мин. в течение 2 минут
Колонка:	Ascentis® Express C18, 5 см x 2,1 мм внутр. диаметр, размер частиц 2,7 мкм (53822-U)
Подвижная фаза:	(А) 10 ммоль/л ацетата аммония в воде; (В) 10 ммоль/л ацетата аммония в ацетонитриле
Градиент:	Поддержание уровня В на 30% в течение 1 минуты; повышение уровня В от 30% до 80% в течение 2 минут; поддержание уровня В на 80% в течение 4 минут; поддержание уровня В на 100% в течение 3 минут.
Скорость потока:	0,3 мл/мин
Давление:	2730 psi
Температура колонки:	30°C
Детектор:	МС/МС, электрораспылительная ионизация в режиме сканирования положительных ионов



1. Метомил (0,60 мин)	20. Хиналфос (7,23 мин)
2. Трихлорфон (1,22 мин)	21. Эдифенфос (7,28 мин)
3. Карбендазим (1,94 мин)	22. Этримфос (7,33 мин)
4. Алдикарб (2,70 мин)	23. Фентион (7,34 мин)
5. Паратион-метил (5,87 мин)	24. Фенитротрион (7,36 мин)
6. Метабентиазулон (6,16 мин)	25. Диазинон (7,37 мин)
7. Налед (6,37 мин)	26. Толклофос (7,52 мин)
8. Метидатион (6,38 мин)	27. Форат (7,53 мин)
9. Клетодиим (6,42 мин)	28. Хлорпирифос-метил (7,67 мин)
10. Фосмет (6,50 мин)	29. EPN (О-этил-О-((4-нитрофенил)-фенил)-монотиофосфонат) (7,68 мин)
11. Аметрин (6,58 мин)	30. Тербуфос (8,14 мин)
12. Сетоксидим (6,61 мин)	31. Этион (8,36 мин)
13. Анилазин (6,78 мин)	32. Луфенурон (8,40 мин)
14. Фенгексамид (6,94 мин)	33. Спиромезифен (8,74 мин)
15. Мекарбам (7,00 мин)	34. Октилинон (8,74 мин)
16. Оризалин (7,06 мин)	35. Пираклостробин (8,75 мин)
17. Дифлубензулон (7,18 мин)	36. Карбофенотион (8,83 мин)
18. Феноксикарб (7,19 мин)	37. Флуфеноксурон (9,02 мин)
19. Ипробенфос (7,21 мин)	38. Фенпироксимат (9,02 мин)

Очистка с помощью двухслойных картриджей для ТФЭ и анализ пестицидов в шпинате методом ГХ

Продукты, содержащие большое количество пигмента, такие как шпинат, требуют предварительной очистки перед анализом остаточных количеств пестицидов. С этой целью часто применяют двухслойные картриджи для ТФЭ, содержащие графитизированный углерод и силикагель с аминопропильными группами (NH₂).

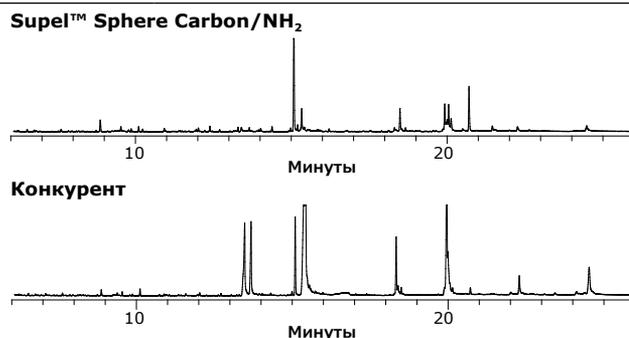
- Углерод удаляет хлорофилловые пигменты и стеринны
- Наполнитель NH₂ удаляет органические кислоты, полярные пигменты, органические кислоты и сахара

Удаление этих соединений из матрицы уменьшает шумы, вызванные матричными эффектами, которые могут приводить к подавлению ионов при анализе методом ЖХ-МС, загрязняя вход в колонку при анализе методом ГХ-МС и загрязняя колонку в обоих методах.

После проведения экстракции из образца шпината проводят очистку, используя либо картриджи для ТФЭ Supel™ Sphere (сорбенты со специальными частицами сферической формы), либо традиционные картриджи для ТФЭ (гранулированные сорбенты). Картриджи со сферическими частицами сорбента обеспечивают быстрый, более равномерный поток, по сравнению с картриджами, содержащими гранулированный материал. Полученная хроматограмма представлена на рисунке 30. Результаты анализа показали, что сорбенты со сферическими частицами удаляют столько же нежелательных соединений, сколько и сорбенты с частицами неправильной формы.

Рисунок 30. Экстракты из шпината с примесями пестицидов (режим полного сканирования, одинаковые оси Y)

Матрица образца:	10 г гомогенизированного шпината в пробирке для центрифугирования объемом 50 мл (55248-U)
Экстракция:	Добавляют 10 мл 1% ацетонитрила; встряхивают в течение 1 минуты; добавляют содержимое пробирки с ацетатом натрия Supel™ QuE Acetate (55234-U); встряхивают в течение 1 минуты; центрифугируют при 3200 об./мин. в течение 5 минут; переносят надосадочную жидкость в пробирку объемом 12 мл, содержащую 1 г безводного сульфата магния; встряхивают в течение 1 минуты; центрифугируют при 3200 об./мин. в течение 5 минут; переносят 5 мл надосадочной жидкости в стеклянную пробирку и выпаривают растворитель при 40°C до объема 1 мл; добавляют 250 мкл толуола.
Картридж для ТФЭ:	Картридж Supel Sphere Carbon/NH ₂ (54283-U)
Кондиционирование:	10 мл смеси ацетонитрил:толуол (75:25)
Добавление образца:	После экстракции, описанной выше
Элюирование:	20 мл смеси ацетонитрил:толуол (75:25)
Колонка:	SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм (28576-U)
Термостат:	70°C (2 мин), повышение температуры со скоростью 15°C/мин до 325°C (выдерживание в течение 5 мин)
Температура инжектора:	Программируемая, 60°C (0,28 мин), повышение температуры со скоростью 600°C/мин до 325°C (выдерживание в течение 5 мин)
Детектор:	МС в режиме мониторинга заданных ионов (SIM)
Газ-носитель:	Гелий, 1 мл/мин, постоянный поток
Ввод пробы:	10 мкл в режиме ввода больших объемов, предварительное удаление растворителя в режиме программируемой температуры испарителя, быстрое введение пробы, скорость потока газа-разбавителя: 100 мл/мин (5 psi/34,5 кПа) до 0,28 мин, снижение до 60 мл/мин к 2,78 мин
Лайнер:	Внутр.диам. 4 мм, с делением потока, с сужением FocusLiner™ (набивка волокном)



Экстракция/очистка и анализ пестицидов в различных типах продуктов методом ГХ

В некоторых случаях обнаружение фосфорорганических (ФО) пестицидов лучше проводить с использованием селективного азот-фосфорного детектора (АФД, NPD) вместо масс-спектрометрического детектора. В несколько типов продуктов была введена смесь из 63 ФО пестицидов с концентрацией 10 нг/г. Экстракцию проводили, добавляя к каждому образцу 10 мл ацетонитрила и смесь сухих солей (4 г сульфата магния и 1 г хлорида натрия). Перед анализом методом ГХ-АФД (GC-NPD) проводили очистку экстрактов с помощью двухслойных картриджей Supelclean™ ENVI-Carb™-II/PSA. Данные о степени извлечения некоторых типичных пестицидов представлены в Таблице 7.

Таблица 7. % Степень извлечения (отн.станд.отклонение, %) некоторых ФО пестицидов

Пестицид	Капуста	Лук	Грибы	Яблоко
Метамидофос	76% (10%)	70% (45%)	70% (5%)	58% (3%)
Дихлофос	экранирован	57% (8%)	89% (7%)	76% (6%)
Этопрофос	63% (9%)	66% (11%)	77% (9%)	75% (7%)
Метил паратион	65% (2%)	66% (11%)	81% (7%)	77% (6%)
Профенфос	71% (3%)	77% (11%)	92% (7%)	82% (6%)
Кумафос	78% (8%)	69% (8%)	94% (12%)	88% (6%)

Использованные материалы

Описание продукта	Номер для заказа
Продукты Supel™ QuE для методики QuEChERS	
Пробирки с ацетатом натрия, 12 мл, 50 шт.	55234-U
Пробирки с цитратами натрия, 12 мл, 50 шт.	55227-U
Пробирка для очистки Z-Sep+, 12 мл, 50 шт.	55296-U
Пробирка для очистки Z-Sep/C18, 2 мл, 100 шт.	55284-U
Пробирка с полизамещенным амином (PSA), 12 мл, 50 шт.	55228-U
Пробирка PSA/C18, 12 мл, 50 шт.	55229-U
Пробирка PSA/C18/ENVI-Carb™, 12 мл, 50 шт.	55286-U
Пробирка PSA/ENVI-Carb™, 1 мл, 12 мл, 50 шт.	55230-U
Пустые пробирки, 50 мл, 50 шт.	55248-U
Картриджи для ТФЭ	
Supel™ Sphere Carbon/NH ₂ , 6 мл, 30 шт.	54283-U
Supelclean™ ENVI-Carb™-II/PSA, 500 мг/300 мг/6 мг, 30 шт.	55119-U
Supelclean™ ENVI-Carb™/NH ₂ , 500 мг/500 мг/6 мл, 30 шт.	54035-U
Supelclean™ ENVI-Carb™, 500 мг/6 мл, 30 шт.	57094
Supelclean™ PSA, 500 мг/6 мл, 30 шт.	52579-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 5 см x 2,1 мм внутр.диам.	53822-U
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ГХ	
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм	28564-U
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм	28576-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
Аналитические реагенты и растворители	
Ацетат аммония для ЖХ-МС, LiChropur®	533004
Ацетонитрил для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156

Остаточные количества лекарственных средств ветеринарного назначения

В процессе разведения сельскохозяйственных животных и рыбы возможно применение некоторых ветеринарных лекарственных препаратов. Существует вероятность, что остаточные количества данных веществ могут сохраняться в конечных продуктах питания и напитках даже после всех стадий производства. Поскольку повышенное содержание некоторых из этих лекарств может оказывать разрушительное воздействие на здоровье человека (включая канцерогенный эффект и аллергические реакции), важно контролировать этот параметр. Типы контролируемых соединений включают:

- Антибиотики (аминогликозиды, хлорамфеникол, фторхинолоны, краситель малахитовый зеленый и др.), применяемые для предотвращения роста микроорганизмов
- Добавки к кормам (гормоны и стероиды), используемые для ускорения роста

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Экстракция/очистка и анализ фторхинолонов в бычьей почке методом ВЭЖХ

Одной из проблем при анализе лекарственных препаратов в сложных матрицах является попадание в пробу большого количества нецелевых соединений вместе с искомым аналитом при пробоподготовке. Это может приводить к подавлению ионов при анализе методом ЖХ-МС. Необходимо тщательно выбирать стадии очистки, которые позволят удалить мешающие соединения из экстрактов, сохранив при этом требуемые аналиты. Одним из подходов является использование смешанного материала для ТФЭ, например, Discovery® DSC-MCAX. В данном гидрофобном катионообменном материале присутствуют два связанных с ним лиганда: С8 (обеспечивающий взаимодействие в обращенно-фазовом режиме) и бензолсульфоновая кислота (обеспечивающая сильное катионообменное взаимодействие). Это уникальное сочетание лигандов позволяет интенсифицировать процесс очистки и удалить мешающие соединения без потери целевых аналитов.

В образцы бычьей почки были добавлены шесть фторхинолонов с разной концентрацией, затем была проведена экстракция, очистка и анализ. Полученные значения степени извлечения для трех добавленных концентраций приведены на **рисунке 31**. Для пяти из шести соединений были получены приемлемые значения степени извлечения. Степень извлечения ципрофлоксацина оказалась ниже ожидаемой из-за наблюдаемых эффектов подавления ионов.

Экстракция/очистка и определение хлорамфеникола в молоке методом ВЭЖХ

Другим подходом к удалению мешающих соединений без потери требуемых аналитов является использование материалов на основе молекулярного отпечатка. Это полимерные материалы с высокой степенью шивки, способные к распознаванию молекул. Их первостепенной характеристикой является возможность создания особой структуры, обладающей высокой селективностью по отношению к соединениям схожего строения. Преимуществом таких материалов является повышенное сродство к соединениям, для которых они были разработаны, и пониженное - ко всем остальным веществам.

Для подтверждения наличия хлорамфеникола используют ЖХ-МС, поскольку данный аналитический метод обладает требуемой чувствительностью (0,3 мкг/кг) и возможностью дополнительной идентификации аналитов. На **рисунке 32** представлены хроматограммы экстрактов, полученных из проб молока после введения примесей и очистки с использованием хлорамфеникол-специфического картриджа и обычного полимерного материала. На **рисунке 33** показаны масс-спектры (m/z 100-650) элюата в диапазоне времен удерживания 3,65-4,00 мин, соответствующих хлорамфениколу. В данном случае обе хроматограммы и масс-спектры свидетельствуют о том, что использование сорбентов на основе молекулярного отпечатка позволяет удалить значительно большее количество примесей по сравнению с обычными полимерными материалами.

Рисунок 31. Значения степени извлечения фторхинолонов из бычьей почки при трех добавленных концентрациях

Матрица образца:	К 2 г образца бычьей почки добавляю 6 фторхинолонов; гомогенизируют с 30 мл 50 ммоль/л раствора гидрофосфата натрия (pH 7,4); центрифугируют при 5000 об./мин. в течение 10 минут; фильтруют; доводят pH до значения 3 фосфорной кислотой
Картридж для ТФЭ:	Discovery® DSC-MCAX, 50 мг/1 мл (52781-U)
Кондиционирование:	1 мл метанола; 1 мл фосфатного буфера с pH 3
Добавление образца:	1 мл экстракта из почки
Промывание:	1 мл 50 ммоль/л фосфатного буфера с pH 3; 1 мл метанола; сушка пробирки в вакууме в течение 2 минут
Элюирование:	1 мл 5% NH ₃ в метаноле
Обработка элюата:	Выпаривание при температуре 35°C в среде азота; добавление 150 мкл смеси 50% ацетонитрила и 0,1% муравьиной кислоты
Колонка:	Ascentis® C18, 5 см x 2,1 мм внутр. диаметр, размер частиц 3 мкм (581300-U)
Подвижная фаза:	А) 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде, В) ацетонитрил
Градиент:	0 мин: 5% В; 7 мин: 15% В; 7,2 мин: 80% В; 8,2 мин: 5% В; 11,2 мин: 5% В
Скорость потока:	0,5 мл/мин
Температура колонки:	25°C
Детектор:	МС/МС, ионизация электрораспылением (+)
Объем пробы:	3 мкл

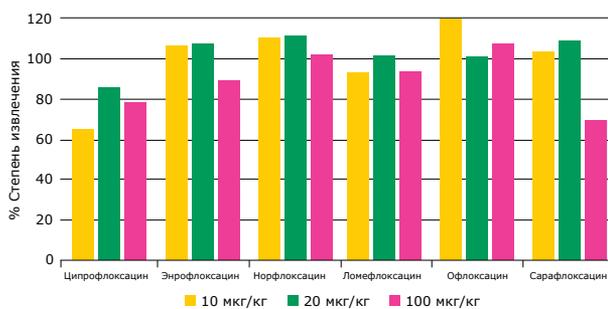
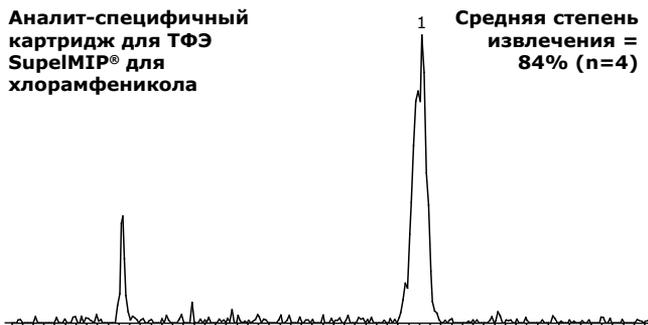


Рисунок 32. Сравнение хроматограмм, полученных после очистки двумя разными методами

Условия (хлорамфеникол-специфичный МИП материал)	
Матрица образца:	Центрифугируют пастеризованное молоко (приобретенное в местном супермаркете) при 5000 об./мин. в течение 15 минут; собирают нижний водный слой; добавляют хлорамфеникол
Картридж для ТФЭ:	SupelMIP® ТФЭ-хлорамфеникол, 25 мг/10 мл, картридж высокой емкости (53210-U)
Кондиционирование:	1 мл метанола; 1 мл деионизованной воды
Добавление образца:	1 мл предварительно обработанного образца молока
Промывание:	2 x 1 мл воды для МС; 1 мл 5% ацетонитрила в 0,5% уксусной кислоте; 2 x 1 мл воды для МС; 1 мл 20% ацетонитрила в 1% растворе гидроксида аммония; сушат в течение 15 минут в слабом вакууме; 3 x 1 мл дихлорметана; сушат в течение 1 минуты в слабом вакууме
Элюирование:	2 x 1 мл смеси метанол:уксусная кислота:вода для МС (89:1:10 по объёму); объединяют элюат
Обработка элюата:	Выпаривание досуха при температуре 50°C в среде азота; добавление 150 мкл смеси 100 ммоль/л раствор ацетата аммония:вода:ацетонитрил (10:60:30)
Колонка:	Ascentis® C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диаметр, размер частиц 3 мкм (581301-U)
Подвижная фаза:	100 ммоль/л раствор ацетата аммония:вода:ацетонитрил; (10:60:30)
Скорость потока:	0,2 мл/мин
Температура колонки:	35°C
Детектор:	Ионизация методом электрораспыления (ESI) (-) (m/z 320 - 323)
Объем пробы:	5 мкл

Условия (неспецифичный гидрофильный полимерный материал)	
Матрица образца:	К 5 мл молока добавляют 40 нг хлорамфеникола; добавляют 15 мл 10% трихлоруксусной кислоты, чтобы осадить белки; встряхивают; нагревают при 65°C в течение 1 часа; охлаждают до комнатной температуры; центрифугируют при 3000 об./мин. в течение 15 минут; фильтруют надосадочную жидкость через стекловолноко (промывают фильтр 10 мл деионизованной воды); доводят pH до значения 5 раствором ацетата натрия (0,1M)
Картридж для ТФЭ:	Традиционный гидрофильный полимер для ТФЭ 500 мг/12 мл
Кондиционирование:	3 мл метанола; 4 мл деионизованной воды; 4 мл 10 ммоль/л раствора хлороводородной кислоты
Добавление образца:	Весь предварительно обработанный экстракт
Промывание:	4 мл воды для МС; 2 мл 5% метанола; 2 мл 50% метанола
Элюирование:	2 мл метанола
Обработка элюата:	Элюат полностью выпаривают при температуре 50°C в среде азота; добавляют 0,4 мл деионизованной воды; проводят жидкость-жидкостную экстракцию с помощью 0,6 мл смеси ацетонитрила и дихлорметана (4:1 по объёму); центрифугируют при 7000 об./мин в течение 5 минут; переносят верхний органический слой в чистую пробирку; повторяют процедуру жидкость-жидкостной экстракции еще два раза для нижнего водного слоя; объединяют полученные органические слои; выпаривают досуха при температуре 60°C в среде азота; добавляют 2 мл смеси 100 ммоль/л раствора ацетата аммония, воды и ацетонитрила (10:60:30); фильтруют через полиамидный фильтр с размером пор 0,2 мкм
Колонка:	Ascentis® C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диаметр, размер частиц 3 мкм (581301-U)
Подвижная фаза:	100 ммоль/л раствор ацетата аммония:вода:ацетонитрил (10:60:30)
Скорость потока:	0,2 мл/мин
Температура колонки:	35°C
Детектор:	Ионизация методом электрораспыления (ESI) (-) (m/z 320 - 323)
Ввод пробы:	5 мкл

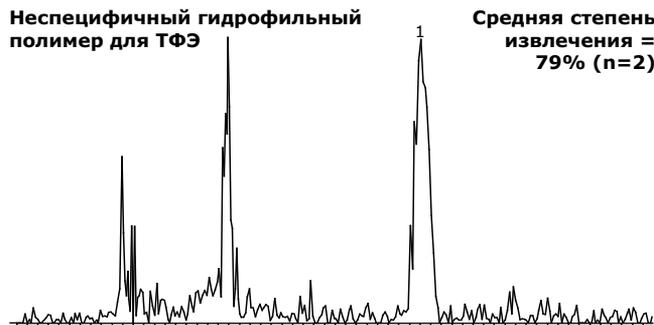
Аналит-специфичный картридж для ТФЭ SupelMIP® для хлорамфеникола



1. Хлорамфеникол

Средняя степень извлечения = 84% (n=4)

Неспецифичный гидрофильный полимер для ТФЭ

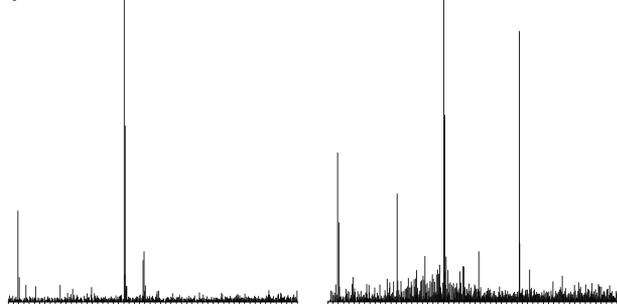


1. Хлорамфеникол

Средняя степень извлечения = 79% (n=2)

Рисунок 33. Сравнение масс-спектров, полученных после очистки двумя методами

Аналит-специфичный картридж для ТФЭ SupelMIP® для хлорамфеникола Неспецифичный гидрофильный полимер для ТФЭ



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Продукты Supel™ QuE для методики QuEChERS	
Пробирки с ацетатом натрия, 12 мл, 50 шт.	55234-U
Пробирки с цитратами натрия, 12 мл, 50 шт.	55227-U
Пробирки для очистки Z-Sep+, 12 мл, 50 шт.	55296-U
Пробирки для очистки Z-Sep/C18, 2 мл, 100 шт.	55284-U
Пробирки с полизамещенным амином (PSA), 12 мл, 50 шт.	55228-U
Пробирки PSA/C18, 12 мл, 50 шт.	55229-U
Пробирки PSA/C18/ENVI-Carb™, 12 мл, 50 шт.	55286-U
Пробирки PSA/ENVI-Carb™, 1 мл, 12 мл, 50 шт.	55230-U
Пустые пробирки, 50 мл, 50 шт.	55248-U
Картриджи для ТФЭ:	
Discovery® DSC-MCAX, 50 мг/1 мл, 108 шт.	52781-U
Discovery® DSC-MCAX, 100 мг/3 мл, 54 шт.	52783-U
Discovery® DSC-MCAX, 300 мг/6 мл, 30 шт.	52786-U
Supelclean™ ENVI-Carb™, 400 мг/1 мл, реверсивные, 30 шт.	54812-U
Supelclean™ ENVI-Carb™-II/PSA, 500 мг/300 мг/6 мг, 30 шт.	55119-U
Supelclean™ ENVI-Carb™/NH ₂ , 500 мг/500 мг/6 мл, 30 шт.	54035-U
Supelclean™ ENVI-Carb™, 500 мг/6 мл, 30 шт.	57094
Supelclean™ PSA, 500 мг/6 мл, 30 шт.	52579-U
SupelMIP® ТФЭ-хлорамфеникол, 25 мг/10 мл LRC, 50 шт.	53210-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
Phenyl Hexyl, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53336-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ГХ	
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм	28564-U
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм	28576-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
Аналитические реагенты и растворители	
Ацетат аммония для ЖХ-МС, LiChrosolv®	533004
Ацетонитрил для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156

ТОКСИНЫ

(отличные от пестицидов/остаточных лекарственных средств)

Многие государственные органы власти требуют проведения проверки пищевых продуктов и напитков на наличие токсинов, оказывающих вредное воздействие на здоровье потребителя. Токсины могут мигрировать в сельскохозяйственные культуры, из загрязненного воздуха или воды. Другим источником токсинов могут быть сопутствующие живые организмы. Определенные виды грибов, бактерий и водорослей выделяют токсины, загрязняющие сельскохозяйственные культуры. Токсины могут быть обнаружены и в мясных/молочных продуктах, если животные/птицы получали загрязненный корм. Большинство подобных токсинов остаются активными даже после приготовления/упаковки пищи и сохраняются в готовой продукции. В список перспективных областей исследования входят:

- Микотоксины/афлатоксины (из плесени и грибов в хлебе, сыре, зерне, масличных культурах и орехах)
- Аллергены (особенно в молочных продуктах, яйцах, арахисе, орехах, рыбе, морепродуктах, сое и пшенице)
- Диоксины/фураны/ПХД (в сельскохозяйственных культурах; в мясе/молочной продукции/птице из-за использования загрязненного корма)
- Перхлораты (попадающие в сельскохозяйственные культуры из загрязненных грунтовых вод или в мясо/молочную продукцию/птицу из-за использования загрязненного корма)
- Фикотоксины (попадающие в морепродукты из водорослей)
- Фитохимические соединения, например, фуранокумарины (в сельскохозяйственных культурах)
- Тяжёлые металлы, например, ртуть, свинец, кадмий, мышьяк, медь и никель, накапливающиеся в рыбе из-за загрязнения воды

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Микотоксины

Микотоксины относятся к широкой группе вторичных продуктов жизнедеятельности грибковых организмов, включающей в себя сотни наименований. Некоторые из них обладают токсичностью для человека. Загрязнение продуктов питания микотоксинами встречается повсеместно и может происходить на всех стадиях процесса: выращивание культуры, сбор урожая, перевозка, переработка и хранение. Отбраковка загрязненных продуктов является основным методом минимизации вредного воздействия на организм человека. Для идентификации загрязненных продуктов чрезвычайно важно иметь чувствительный и точный метод определения этих соединений в самых низких концентрациях.

Картриджи Supel™ Тох для ТФЭ разработаны специально для быстрой и простой очистки микотоксинов. Снижение числа технологических операций позволяет уменьшить разброс результатов анализа. На рисунке 34 показано сравнение процедур очистки с использованием картриджа Supel™ Тох для ТФЭ и иммуноаффинных картриджей для ТФЭ по степени извлечения и воспроизводимости результатов для четырёх афлатоксинов, содержащихся в пробах арахисовой пасты. Результаты анализа пробы зерновых хлопьев, содержащего 14 микотоксинов, методом ЖХ-МС приведены на рисунке 35.

Рисунок 34. Очистка пробы перед определением афлатоксинов в пасте из тертого арахиса:

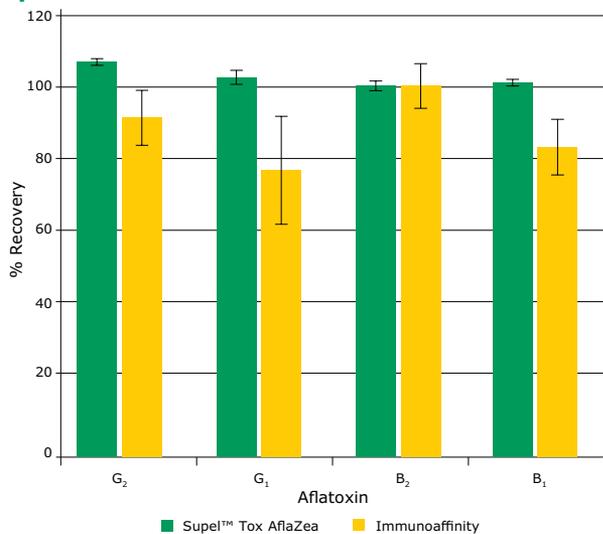


Рисунок 35. Анализ микотоксинов в зерновых хлопьях методом ЖХ-МС.

Хроматограммы любезно предоставлены Энио Белотти (All. Water and Life Lab s.r.l., Энтратико, Бергамо, Италия)

Матрица образца: 5 г зерновых хлопьев с добавлением 14 эталонов микотоксинов; экстракция в 20 мл смеси ацетонитрила и водного раствора муравьиной кислоты (75:25); встряхивание в течение 1 минуты, центрифугирование; фильтрование через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Колонка: Ascentis®Express F5, 10 см x 2,1 мм внутр. диам., размер частиц 2,7 мкм (53569-U)

Подвижная фаза: (A) 1 ммоль/л ацетата аммония, 0,5% раствор уксусной кислоты в воде; (B) 1 ммоль/л ацетата аммония, 0,5% раствор уксусной кислоты в метаноле

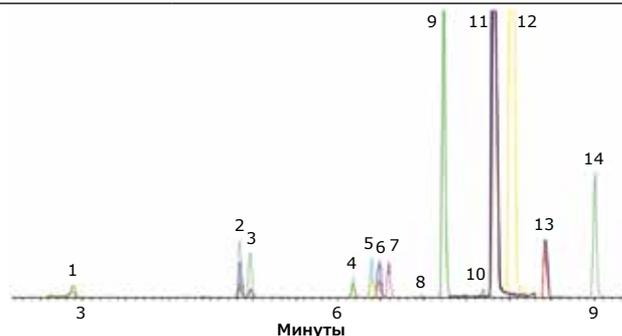
Градиент: 0 мин: 5% B; 0,5 мин: 10% B; 12 мин: 95% B; 15 мин: 95% B

Скорость потока: 400 мкл/мин

Температура колонки: 40°C

Детектор: МС/МС, ионизация методом электрораспыления ESI (+) и ESI (-)

Объем пробы: 2 мкл



- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| 1. Деоксиниваленол | 8. Афлатоксин В ₁ |
| 2. 15-ацетилдеоксиниваленол | 9. Токсин Т-2 |
| 3. 3-ацетилдеоксиниваленол | 10. Окра毒素 А |
| 4. Афлатоксин G ₂ | 11. TFF |
| 5. Афлатоксин G ₁ | 12. Стеригматоцистин |
| 6. Атразин D ₅ | 13. Фумонизин В ₁ |
| 7. Афлатоксин В ₂ | 14. Фумонизин В ₂ |

Фуранокумарины

В качестве защиты от млекопитающих и насекомых некоторые растения производят фуранокумарины (особый класс фитохимических соединений, содержащих фурановое кольцо, конденсированное с бензольным циклом кумаринового ядра). Фуранокумарины способны изменять метаболизм некоторых лекарственных препаратов в организме человека. Наиболее часто встречающимися фуранокумарины являются схожие по структуре ангелицин и псорален. Результаты анализа данных веществ методом ВЭЖХ представлены на рисунке 36.

Рисунок 36. Анализ ангелицина и псоралена методом ВЭЖХ

Колонка: Ascentis® Express F5, 10 см x 4,6 мм внутр. диам., размер частиц 2,7 мкм (53590-U)

Подвижная фаза: Вода:метанол (40:60)

Скорость потока: 2,0 мл/мин

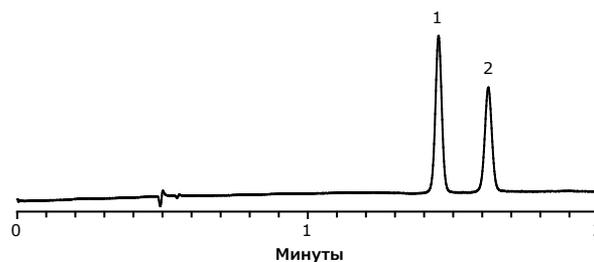
Давление: 360 бар

Температура колонки: 40°C

Детектор: УФ, 254 нм

Объем пробы: 2 мкл

Образец: Водно-метанольный (90:10) раствор каждого аналита с концентрацией 25 мкг/мл



1. Ангелицин

2. Псорален

Тяжелые металлы

Сброс сточных вод промышленных предприятий может приводить к загрязнению водных систем тяжёлыми металлами. В дальнейшем соединения металлов могут мигрировать в организмы растений или животных, потребляющих загрязнённую воду. По понятным причинам, рыбы и другие водные организмы подвергаются наибольшему воздействию. Из-за отсутствия способности к распаду тяжёлые металлы склонны накапливаться в организмах, находящихся на верхних уровнях пищевой цепочки. Основными аналитическими методами, применяемыми для качественного и количественного определения тяжёлых металлов в пищевых продуктах являются атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) и спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП). Наша компания поставляет сертифицированные стандартные образцы (CRM), а также высококачественные реактивы (кислоты, основания и соли) для калибровки оборудования и проведения исследований методами ААС и ИСП.

Сертифицированные стандартные образцы (CRM) *TraceCERT*[®], разработанные и выпущенные аккредитованной лабораторией, удовлетворяют требованиям ISO 17025 и ISO Guide 34. Все образцы калиброваны не менее чем по двум независимым эталонам (например, NIST, BAM или SI с использованием килограммов в качестве единиц измерения) и снабжены полной документацией. Изображение CRM *TraceCERT*[®] и сопутствующая документация представлены на рисунке 37.

Примеси, содержащиеся в реагентах, используемых для анализа следовых количеств металлов, могут повлиять на точность измерений. Вот почему мы тщательно проверяем чистоту наших неорганических реагентов *Ultrapur*[™], *Suprapur*[®] и *OmniTrace*[®] для мокрого озоления.

Рисунок 37. ССО *TraceCERT*[®] и документация



Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Картриджи для ТФЭ Supel[™] Tox	
AflaZea, 6 мл, 30 шт.	55314-U
DON, 6 мл, 30 шт.	55316-U
Tricho, 6 мл, 30 шт.	55308-U
TrichoBind, LRC, 25 шт.	55307-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis[®] Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
Phenyl Hexyl, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53336-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	53590-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis[®] Express (размер частиц 5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
C8, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50392-U
Phenyl Hexyl, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50483-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Колонки для ГХ	
SLB [®] -5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм	28564-U
SLB [®] -5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм	28576-U
SLB [®] -5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB [®] -5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
Стандарты микотоксинов для калибровки	
Смесь афлатоксинов (4 аналита) в метаноле, 5 мл:	CRM46303
<ul style="list-style-type: none"> • Афлатоксин B₁, 1 мкг/мл • Афлатоксин G₁, 1 мкг/мл • Афлатоксин B₂, 0,3 мкг/мл • Афлатоксин G₂, 0,3 мкг/мл 	
Афлатоксин B ₂ - ¹³ C ₁₇ , 0,5 мкг/мл в ацетонитриле, 1 мл	32771-1ML
3-Ацетилдеоксиниваленол, 100 мкг/мл в ацетонитриле, 2 мл	34132-2ML
15-Ацетилдеоксиниваленол, 100 мкг/мл в ацетонитриле, 2 мл	34133-2ML
Деоксиниваленол, 100 мкг/мл в ацетонитриле, 2 мл	34124-2ML
Деоксиниваленол- ¹³ C ₁₅ , 25 мкг/мл в ацетонитриле, 1 мл	34128-1ML
Фумонизин B ₁ , 50 мкг/мл в смеси ацетонитрил:вода, 2 мл	34139-2ML
Фумонизин B ₂ , 50 мкг/мл в ацетонитриле, 2 мл	34142-2ML
Фумонизин B ₃ , 50 мкг/мл в смеси ацетонитрил:вода, 1 мл	32606-1ML
Ниваленол, 100 мкг/мл в ацетонитриле, 2 мл	34131-2ML
Охратоксин А, 10 мкг/мл в ацетонитриле, 2 мл	34037-2ML
Патулин, 100 мкг/мл в хлороформе, 1 мл	46914-U
Зеараленон, 50 мкг/мл в ацетонитриле, 1 мл	46916-U
Аналитические реагенты и растворители	
Ацетат аммония для ЖХ-МС, LiChropur [®]	533004
Ацетонитрил для ЖХ-МС, LC/MS LiChrosolv [®] , ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv [®] , ≥ 99,9%	AX0156
Метанол для ЖХ-МС LiChrosolv [®] , ≥ 99,9%	106035
Метанол для ЖХ-МС OmniSolv [®] , ≥ 99,9%	MX0486
Сертифицированные стандартные образцы <i>TraceCERT</i>[®] для ААС и ИСП	
Мышьяк, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	01969-100ML
Кадмий, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	36379-100ML
Медь, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	68921-100ML
Свинец, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	41318-100ML
Ртуть, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	28941-100ML
Никель, 1000 мг/л в азотной кислоте, 100 мл	28944-100ML
Неорганические кислоты	
Азотная кислота, <i>Ultrapur</i> [™] , 60%	101518
Азотная кислота, <i>OmniTrace Ultra</i> [™] , 67-70%	NX0408
Азотная кислота, <i>Suprapur</i> [®] , 65%	100441
Азотная кислота, <i>OmniTrace</i> [®] , 67-70%	NX0407

Загрязняющие вещества, появляющиеся в процессе производства/упаковки

Химические реакции, протекающие при переработке пищевых продуктов, могут приводить к появлению нежелательных соединений. Контаминанты могут также мигрировать в продукты питания и напитки из упаковочных материалов. Как следствие, аналитики, работающие в пищевой промышленности, должны осуществлять регулярный контроль качества готовой продукции, чтобы концентрации загрязняющих веществ не превышали нормативных значений. Представляющие интерес области исследования включают в себя:

- Фталаты и адипинаты, мигрирующие из пластиковых упаковок
- Бисфенол А, ДГЭБА, ДГЭБФ, глицидиловый эфир новолака, мигрирующие из эпоксидных лаков, которыми покрывают внутренние поверхности металлических банок, и из жёстких пластиковых бутылок для напитков
- Перфтороктановая кислота (ПФОА) и перфтороктансульфонат (ПФОС), мигрирующие из пакетов для попкорна, обёрток для фастфуда или конфет, покрытий для коробок для пиццы
- Семикарбазид, мигрирующий из мягких пластиковых уплотнений закручивающихся металлических крышек для стеклянных контейнеров, в которые упаковывают джемы, мёд, соусы, кетчуп, детское питание, фруктовые соки, майонез, горчицу, соленья и пр.
- Бензол, образующийся при декарбоксилировании бензоатов калия или натрия в присутствии аскорбиновой кислоты под действием тепла или света
- Нитрозамины, образующиеся в мясе при разложении нитрита натрия за счёт перегрева, в рыбе - при протекании реакции нитрита натрия и диметиламина или вносимые с кормом
- Фураны, образующиеся при разложении аминокислот, сахаров, витамина С и полиненасыщенных жирных кислот при термической обработке продуктов питания в бутылках, стеклянных и металлических банках
- ПАУ, образующиеся при копчении/термообработке мяса; сохраняющиеся в жирах/маслах благодаря высокой липофильности
- Акриламиды, образующиеся при глубокой прожарке продуктов
- 3-МХПД, содержащийся в рафинированном растительном масле и продуктах, приготовленных с использованием рафинированного масла
- Остаточные количества дезинфектантов и растворителей, используемых при чистке оборудования
- Побочные продукты облучения, образующиеся при лучевой стерилизации

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Фталаты

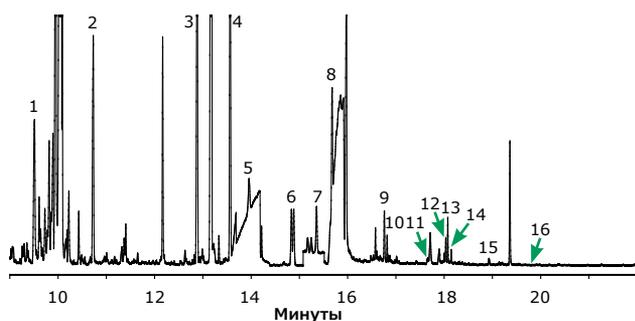
Продукты питания и напитки, упакованные в пластиковые контейнеры, могут содержать следовые количества эфиров фталевой кислоты - веществ, используемых при производстве пластика. Для некоторых матриц может потребоваться очистка экстракта от жиров и масел перед проведением анализа методом ГХ-МС. Для ускорения процесса следует использовать методики экстракции, характеризующиеся высокой селективностью по отношению к фталатам и низкой - к жирам и маслам. Для экстракции эфиров фталевой кислоты из жирных пищевых продуктов можно использовать метод высокотемпературной твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) из паровой фазы. Для снижения влияния матрицы (характерного для некоторых типов масел) необходимо использовать калибровочные и внутренние стандарты с

правильно подобранным типом матрицы. Хроматограмма эфиров фталевой кислоты, экстрагированных из ароматизированного масла с примесью эталонных веществ из набора для приготовления лапши рамен с куриным вкусом, представлена на **рисунке 38**.

Содержание фталатов (мкг/кг) в образцах с примесями и без примесей рассчитывали, используя значения коэффициентов чувствительности, скорректированные по внутренним стандартам. Для образцов также были рассчитаны значения степени извлечения (%), средние значения степени извлечения (%) и относительное стандартное отклонение (%). Обобщенные результаты представлены в **таблице 8**. Некоторые фталаты были обнаружены в образце без примесей, что, по всей видимости, связано с миграцией из пластиковой упаковки.

Рисунок 38. Фталаты в ароматизированном масле с куриным вкусом.

Матрица образца:	Аналиты и внутренние стандарты помещают в виалу объемом 15 мл; перемешивают, выпаривают гексан, добавляют к остатку 1 г масла из упаковки лапши рамен, перемешивают на вихревом встряхивателе в течение 2 минут и нагревают до 90°C для испарения аналитов.
Волокно для ТФМЭ:	Волокно, покрытое слоем полидиметилсилоксана (100 мкм) (57300-U)
Экстракция:	Парофазная при температуре 90°C (измерение в газовой фазе) в течение 30 минут
Десорбция:	260°C, 4 мин
Колонка:	SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм (28564-U)
Термостат:	60°C (1 мин), повышение температуры со скоростью 10°C/мин до 330°C (выдерживание в течение 10 мин)
Детектор:	Масс-спектрометрический (температура переходной линии - 330°C, режим мониторинга заданного иона)
Газ-носитель:	Гелий, 0,6 мл/мин, постоянный поток
Лайнер:	0,75 мм внутр. диам., для ТФМЭ, без сужения (2637501)



1. Диметилфталат (DMP)	9. Дигексилфталат (DHP)
2. Диэтилфталат (DEP)	10. Бутилбензилфталат (BBP)
3. Диизобутилфталат (DIBP)	11. Бис(2-н-бутоксипропил)фталат (DBEP)
4. Дибутилфталат (DBP)	12. Дидецилфталат (DDHP)
5. Бис-(2-метоксиэтил)фталат (DMEP)	13. Бис-(2-этилгексил)фталат (DEHP)
6. Бис-(4-метил-2-пентил)фталат (BMPP)	14. Дифенилфталат
7. Бис-(2-этоксипропил)фталат (DEEP)	15. Диоктилфталат (DNOP)
8. Дипентилфталат (DPP)	16. Динонилфталат (DNP)

Таблица 8. Степень извлечения и воспроизводимость: Масло с куриным вкусом (с примесями стандартов в концентрации 500 мкг/кг)

Аналит	Концентрация в образце без примеси (мкг/кг)	Средняя степень извлечения для трёх образцов с примесями	Относительное стандартное отклонение (%)
Диметилфталат	0	102%	1
Диэтилфталат	0	96%	1
Диизобутилфталат	253	98%	2
Дибутилфталат	328	95%	4
Бис-(2-метоксиэтил)фталат	0	62%	5
Бис-(4-метил-2-пентил)фталат изомер 1	0	74%	2
Бис-(4-метил-2-пентил)фталат изомер 2	0	72%	1
Бис-(2-метоксиэтил)фталат	0	64%	4
Дипентилфталат	0	105%	3
Дигексилфталат	0	94%	2
Бутилбензилфталат	63	71%	4
Бис-(2-н-бутоксипропил)фталат	0	128%	6
Дидецилфталат	0	91%	5
Бис-(2-этилгексил)фталат	986	79%	26
Дифенилфталат	0	103%	10
Диоктилфталат	0	91%	12
Динонилфталат	0	101%	20

Акриламид

Образование акриламида является последствием приготовления пищи с высоким содержанием углеводов и низким содержанием белка при высокой температуре (жарка, гриль, запекание). В основе процесса, предположительно, лежит реакция между аспарагином и карбонильными соединениями. Механизм реакции включает в себя образование основания Шиффа, декарбоксилирование и отщепление аммиака или замещенного имина. Температура оказывает существенное влияние на ход процесса.

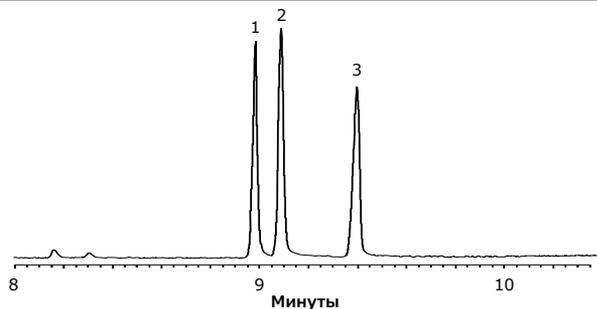
В методике, разработанной Гробом с соавторами (Mitt. Lebensm Hyg. 2002; 93; 638-652), описан способ экстракции и определения акриламида в пищевых продуктах методом ГХ. На **рисунке 39** приведено краткое описание методики. Результаты анализа трёхкомпонентной смеси, содержащей акриламид, представлены на **рисунке 40**.

Рисунок 39. Краткое описание методики Гроба



Рисунок 40. Определение акриламидов методом ГХ-МС

Колонка:	SUPELCO WAX® 10, 30 м x 0,25 мм внутр. диам. 0,25 мкм (24079)
Термостат:	70°C (1 мин), повышение температуры со скоростью 15°C/мин до 220°C (выдерживание в течение 2 мин)
Газ-носитель:	Гелий, 20 см/с
Детектор:	МС
Ввод пробы:	1 мкл, в колонку



1. Метилакриламид
2. Бутирамид
3. Акриламид

Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Наборы волокон для ТФМЭ:	
Волокно с полидиметилсилоксановым покрытием 100 мкм для ручного держателя, размер иглы 24G, 3 шт	57300-U
Волокно с полидиметилсилоксановым покрытием 100 мкм для держателя автосэмплера, размер иглы 24G, 3 шт	57301
Волокно с полидиметилсилоксановым покрытием 100 мкм для держателя автосэмплера, размер иглы 23G, 3 шт	57341-U
Волокно с полидиметилсилоксановым покрытием 100 мкм для ручного держателя, размер иглы 23G, 3 шт	57342-U
Колонки для ГХ	
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм	28564-U
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм	28576-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
SUPELCO WAX® 10, 15 м x 0,10 мм внутр.диам. 0,10 мкм	24343
SUPELCO WAX® 10, 30 м x 0,25 мм внутр.диам. 0,25 мкм	24079
SUPELCO WAX® 10, 30 м x 0,25 мм внутр.диам. 0,50 мкм	24284
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
Phenyl Hexyl, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53336-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
C8, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50392-U
Phenyl Hexyl, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50483-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Стандарты фталатов	
Бутилбензилфталат, 250 мг	36927
Дибтилфталат, PESTANAL®, 1 г	36736
Дициклогексилфталат, PESTANAL®, 250 мг	36908
Диэтилфталат, PESTANAL®, 5 мл	53008
Диметилфталат, PESTANAL®	41320
Диоктилфталат, PESTANAL®, 250 мг	31301
Дипентилфталат, 1000 мг	442867
Бис-(2-этилгексил)фталат, PESTANAL®, 1 г	36735
Бис-(2-метоксиэтил)фталат, PESTANAL®, 250 мг	36934
Дейтерированные аналоги фталатов	
Дибтилфталат-3,4,5,6-d ₄ , 25 мг	34169
Дициклогексилфталат-3,4,5,6-d ₄ , 25 мг	34186
Диэтилфталат-3,4,5,6-d ₄ , 25 мг	34185
Дигексилфталат-3,4,5,6-d ₄ , 25 мг	34167
Диизобутилфталат-3,4,5,6-d ₄ , 25 мг	34204
Дипентилфталат-3,4,5,6-d ₄ , 25 мг	34194

Балластные наполнители

Непреднамеренное загрязнение пищевых продуктов и напитков может произойти на любом этапе производственного процесса: при выращивании культур/животных, переработке, упаковке и хранении. К сожалению, существует также вероятность умышленного введения контаминантов для получения выгоды или нанесения вреда.

В настоящее время в перечень представляющих интерес областей исследования входят:

- Меламин: примесь для повышения белковой ценности
- Мёд: разбавление менее ценными продуктами для увеличения объёма
- Эфирные масла: разбавление менее ценными продуктами для увеличения объёма
- Специи: введение пигментов и красителей для достижения заданного цвета

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Меламин

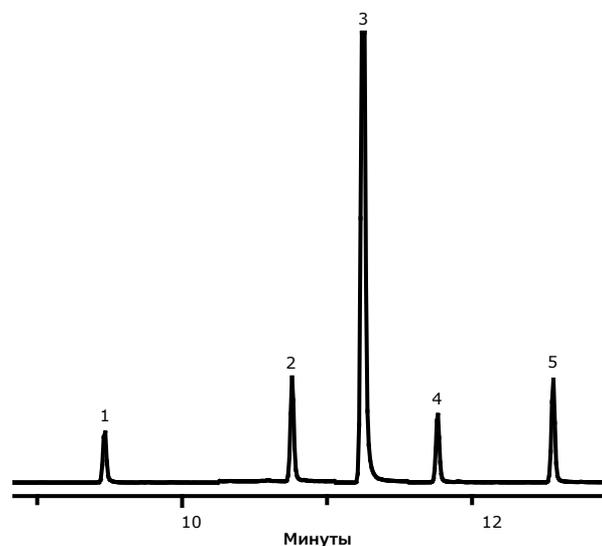
В 2008 году было обнаружено, что некоторые марки кормов для животных, детского питания и молочных продуктов содержат примеси меламина и сопутствующих веществ, представляющих опасность для человека и млекопитающих.

Проведённое расследование показало, что меламин был умышленно добавлен в сырьё для производства продуктов питания, таких как глютен и рисовый белок, для увеличения содержания азота, которое зачастую является единственной количественной характеристикой, определяющей содержание белка. За счёт завышения содержания белка стало возможным повышение цены на сырьё.

Результаты анализа собачьего корма с примесями представлены на **рисунке 41**. Там же приведены детальное описание условий экстракции и значения степени извлечения, выраженные как разность концентраций, измеренных для образцов с примесями и без них. На **рисунке 42** показаны результаты определения меламина методом ЖХ-МС/МС в молоке - матрице, которая требует тщательной пробоподготовки для получения достоверных результатов. Использование **сильнокислотного катионита** при экстракции позволило добиться степени извлечения, равной 85%.

Рисунок 41. Определение меламина и сопутствующих соединений методом ГХ

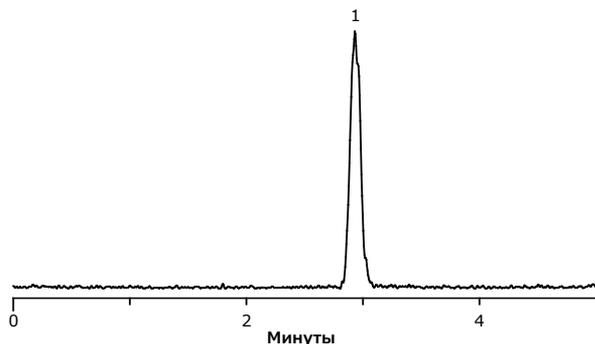
Матрица образца:	К пробе корма для собак массой 0,5 г добавляют 4 аналита в количестве 10 мкг/г; тщательно перемешивают с 20 мл смеси диэтиламина, воды и ацетонитрила (10:40:50); обрабатывают ультразвуком в течение 30 минут; центрифугируют в течение 10 минут; фильтруют; выпаривают досуха; добавляют Sylon™ BFT и пиридин; добавляют внутренний стандарт в концентрации 1000 нг/мл; инкубируют при 70°C в течение 45 минут для образования триметилсилильных производных.
Колонка:	SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр. диам., 0,25 мкм (28471-U)
Термостат:	115°C (3 мин), повышение температуры со скоростью 10°C/мин до 325°C (выдерживание в течение 6 мин)
Температура инжектора:	250°C
Детектор:	Масс-спектрометрический (температура переходной линии - 325°C, режим мониторинга заданного иона)
Газ-носитель:	Гелий, 1 мл/мин
Ввод пробы:	1 мкл, без деления потока
Лайнер:	Внутр.диам. 4 мм, без деления потока, с сужением



1. Циануровая кислота (97%)
2. Амелид (105%)
3. 2,6-Диамино-4-хлорпиримидин (внутренний стандарт)
4. Амелин (77%)
5. Меламин (73%)

Рисунок 42. Определение меламина в молоке методом ЖХ-МС/МС.

Матрица образца:	К пробе молока объёмом 5 мл добавляют меламина в концентрации 100 нг/мл; прибавляют 5 мл фосфатного буфера (100 ммоль/л, pH 2,5) и 1 мл ацетонитрила; помещают в ультразвуковую ванну на 5 минут; центрифугируют при 3500 об/мин в течение 10 минут; отбирают пробу из среднего слоя надосадочного раствора
Картридж для ТФЭ:	Discovery® DSC-SCX, 500 мг/6 мл (52688-U)
Кондиционирование:	3 мл метанола; 3 мл фосфатного буфера (100 ммоль/л, pH 2,5)
Добавление образца:	2,2 мл экстракта образца
Промывание:	3 мл фосфатного буфера (100 ммоль/л, pH 3); 3 мл метанола
Элюирование:	4 мл 5% раствора аммиака в метаноле
Обработка элюата:	Выпаривание досуха при температуре 50°C в среде азота (5 psi, 34,5 кПа); добавление 1 мл раствора формиата аммония (10 ммоль/л) в смеси ацетонитрил: вода (90:10)
Колонка:	Ascentis® Express HILIC, 10 см x 2,1 мм внутр.диам., размер частиц 2,7 мкм (53939-U)
Подвижная фаза:	(A) 10 ммоль/л формиата аммония в смеси ацетонитрил:вода (90:10); (B) 10 ммоль/л формиата аммония в смеси ацетонитрил:вода (70:30)
Градиент:	0 мин: 0% B; 15 мин: 100% B; 15 мин: 0% B; 15 мин: 0% B
Скорость потока:	0 мин: 200 мкл/мин; 5 минут 400 мкл/мин; 10 минут 400 мкл/мин; 15 минут 200 мкл/мин
Температура колонки:	30°C
Детектор:	МС/МС, режим мониторинга множественных реакций, сканирование при m/z 127/85 и 127/68
Ввод пробы:	2 мкл



1. Меламин (85%)

Разбавление эфирных масел

Цитрусовые эфирные масла используют при производстве продуктов питания и напитков для придания вкуса и аромата. Эти вещества являются смесями, состоящими из более чем 200 компонентов. Важной особенностью цитрусовых эфирных масел является сходство их качественного состава. Основное отличие состоит в соотношении компонентов.

Метод ГХ можно применять для выявления фактов разбавления более дорогого лимонного эфирного масла дешёвым сырьём, получаемым из апельсина. В основе метода лежит определение соотношения концентраций δ -3-карена и камфена. Обоснование:

- Эфирное масло апельсина содержит 0,1% δ -3-карена по массе и практически не содержит камфена.
- Эфирное масло лимона содержит следовые количества δ -3-карена и примерно 0,06% камфена.

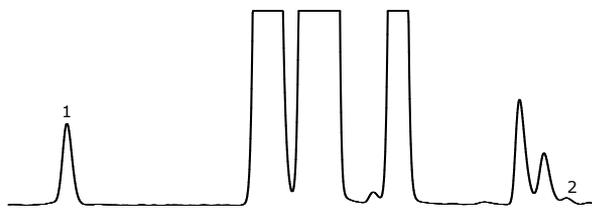
Для чистого лимонного эфирного масла соотношение концентраций δ -3-карена и камфена не должно превышать 0,140. На **рисунке 43** показаны результаты анализа чистых эфирных масел лимона и апельсина, а также образца эфирного масла лимона с добавлением 5% эфирного масла апельсина. В последнем случае измеренное соотношение концентраций δ -3-карена и камфена составило 0,275, что свидетельствует о разбавлении лимонного эфирного масла.

Рисунок 43. Сравнение чистых и фальсифицированных эфирных масел

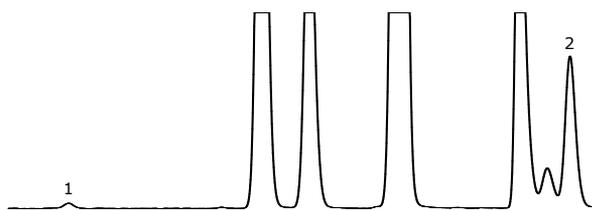
Хроматограммы любезно предоставлены профессором Луиджи Монделло (Университет г. Мессина, Италия)

Колонка:	SLB®-5ms, 10 м x 0,10 мм внутр.диам., 0,10 мкм (28465-U)
Термостат:	40°C, повышение температуры со скоростью 30°C/мин до 85°C, повышение температуры со скоростью 80°C/мин до 320°C
Температура инжектора:	320°C
Детектор:	ПИД, 320°C
Газ-носитель:	Водород, 70 см/с
Ввод пробы:	0,4 мкл, деление потока 300:1
Приготовление образца:	Согласно описанию, растворитель - гексан

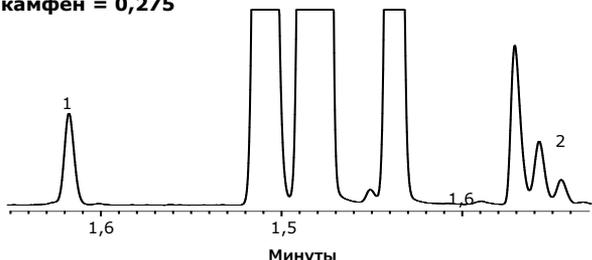
Чистое эфирное масло лимона



Чистое эфирное масло апельсина сладкого



Эфирное масло лимона с добавкой 5% эфирного масла апельсина сладкого, соотношение δ -3-карен/камфен = 0,275



1. Камфен
2. δ -3-карен

Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Картриджи для ТФЭ:	
Discovery® DSC-SCX, 500 мг/6 мл, 30 шт.	52688-U
Discovery® DSC-SCX, 1 г/6 мл, 30 шт.	52689-U
Колонки для ГХ	
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,18 мкм	28564-U
SLB®-5ms, 20 м x 0,18 мм внутр.диам., 0,36 мкм	28576-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
C8, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53832-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
Phenyl Hexyl, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53336-U
HILIC, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53939-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
C8, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50392-U
Phenyl Hexyl, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50483-U
HILIC, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50289-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Аналитические стандарты	
Меламин, > 99,0%, 250 мг	52549-250MG
Аммелин, PESTANAL®, 250 мг	45613-250MG
Циануровая кислота, > 98,0%, 250 мг	16614-250MG
2,6-Диамино-4-хлорпиримидин, 98%, 5 г	C33204-5G
Аналитические реагенты и растворители	
N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид (BSTFA)+хлортриметилсилан (TCMS), 99:1	15238
Формиат аммония для ЖХ-МС, ≥ 99,0%	70221
Ацетонитрил для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156
Метанол для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	106035
Метанол для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	MX0486

Исследование напитков

Пищевые продукты представляют собой твёрдые или полутвёрдые субстанции, требующие проведения определенных манипуляций перед экстракцией. Кроме того, может быть необходима дополнительная очистка экстрактов перед анализом. Поскольку напитки находятся в жидком состоянии, пробоподготовка становится гораздо проще. Обычно применяют методы прямого ввода, твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ), твердофазной экстракции (ТФЭ) или жидкостной экстракции (ЖЭ). Представляющие интерес области исследования включают в себя:

- Общий состав напитков
- Содержание алкоголя или кофеина
- Биологически активные добавки, антиоксиданты, сапонины/гинзенозиды
- Витамины, подсластители
- Ароматизаторы, соединения серы, посторонние запахи
- Примеси

Ниже приведены примеры исследований, характерных для данной области.

Определение ресвератрола в красном вине

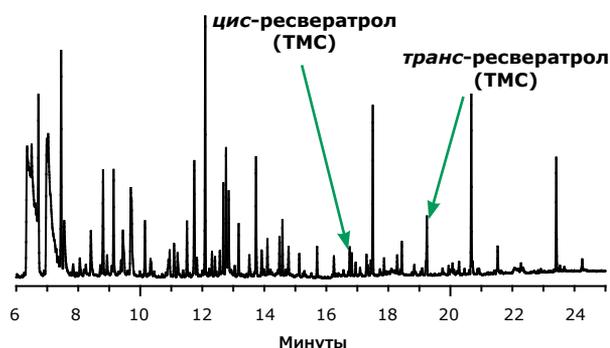
Ресвератрол представляет собой флавоноид, который образуется в винограде и других растениях для увеличения сопротивляемости грибковым инфекциям. По неподтвержденным данным, употребление ресвератрола человеком может снизить риск заболевания определенными типами рака, предотвращать заболевания сердца и другие возрастные заболевания. Было обнаружено, что красное вино, производимое путем сбраживания виноградного сока после отжима, содержит больше ресвератрола, чем белое, которое производят путем сбраживания чистого сока. Поскольку ресвератрол содержит три гидроксильные группы, перед проведением анализа методом ГХ необходимо осуществить его дериватизацию.

Высококочувствительная, простая в работе процедура, характеризующаяся количественным выходом, включает в себя проведение ТФМЭ и дериватизацию на волокне. Экстракцию проводят путем выдерживания волокна для ТФМЭ в пробе. Для дериватизации исследуемого вещества волокно после экстракции подвергают воздействию силирующего реагента. Затем проводят анализ методом ГХ.

На **рисунке 44** показаны результаты исследования калифорнийского мерло без добавления стандартов методом ГХ. Содержание транс-ресвератрола составляет 22,6 мкг/л для образца без введения стандарта и 134,7 мкг/л для образца с добавлением стандарта (хроматограмма не приведена). Расчёт показывает, что степень обнаружения составляет 110%.

Рисунок 44. Определение ресвератрола в красном вине методом ГХ

Матрица образца:	3 мл красного вина (мерло, Калифорния), смешанное 3:1 с водным раствором этанола (12%).
Волокно для ТФМЭ:	Полиакрилат, 85 мкм
Экстракция:	Волокно погружают в среду при комнатной температуре и перемешивании со скоростью 400 об/мин. Дериватизацию проводят путем помещения волокна в вialу ёмкостью 4 мл, содержащую 5 мкл Sylon™-BFT, и выдерживания в течение 20 минут.
Десорбция:	280°C, 2 мин
Колонка:	SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм (28471-U)
Термостат:	100°C (1 мин), повышение температуры со скоростью 10°C/мин до 325°C (выдерживание в течение 3 мин)
Детектор:	Масс-спектрометрический (температура переходной линии - 325°C) (m/z 40-450)
Газ-носитель:	Гелий, 1 мл/мин
Лайнер:	0,75 мм внутр. диам., прямой тип (для ТФМЭ), без сужения



1. цис-ресвератрол (ТМС)
2. транс-ресвератрол (ТМС)

Бисфенол А в бутилированной воде

Бисфенол А является сырьём для получения поликарбонатов и эпоксидных лаков. Данные материалы применяют при изготовлении контейнеров для пищевых продуктов и напитков:

- Поликарбонат используют при производстве многоразовых жёстких контейнеров, бутылок для воды, бутылочек для кормления, пластиковых кружек, бутылей большой ёмкости и контейнеров для хранения.
- Эпоксидные лаки применяют в качестве покрытия внутренних поверхностей металлических банок, предотвращающего контакт пищевых продуктов и напитков с металлом.

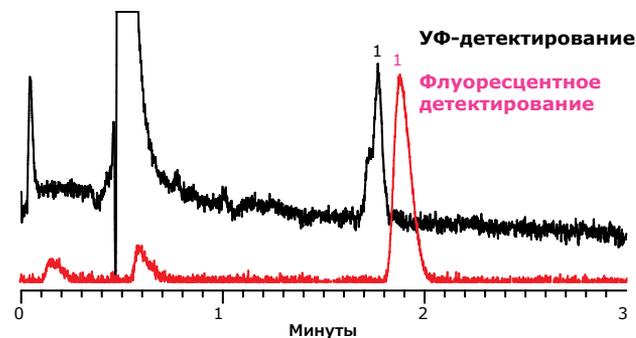
Небольшие количества бисфенола А могут мигрировать в пищу и напитки, находящиеся в вышеупомянутых контейнерах, особенно если они подвергаются воздействию тепла, например, при подогреве детских бутылочек или при заполнении металлических банок горячим содержимым.

Процедура экстракции бисфенола А из проб питьевой воды методом ТФЭ относительно проста. Однако для получения результата чрезвычайно важно использовать подходящее оборудование, например, стеклянные колонки с фриттой из ПТФЭ. Данный тип оборудования позволяет минимизировать возможность появления в пробе посторонних соединений, способных мигрировать в растворитель при использовании альтернативных комплекующих (полипропиленовые колонки с полиэтиленовыми фриттами). Использование метода ТФЭ позволяет одновременно осуществлять экстракцию и концентрирование бисфенола А, тем самым повышая чувствительность аналитической методики по сравнению с испарением или прямым вводом. Процедура ТФЭ, схематически описанная на **рисунке 39**, пригодна для определения концентрации в пять раз меньшей, чем позволяют другие методы.

Предпочтительным методом определения бисфенола А является ВЭЖХ. Причина выбора кроется в необходимости дериватизации бисфенола А при анализе методом ГХ. На **рисунке 45** показаны результаты анализа пробы воды с добавлением стандарта, методом ВЭЖХ с применением двух последовательных детекторов: ультрафиолетового (УФ) и флуоресцентного (FL). Флуоресцентный детектор позволяет увеличить соотношение сигнал-шум. Также следует отметить незначительное увеличение времени удерживания и ширины пика, наблюдаемое при анализе хроматограммы, регистрируемой флуоресцентным детектором. Это происходит из-за увеличения объёма системы, вызванного прохождением пробы через УФ-детектор и ячейку, а также через трубки, соединяющие детекторы. Для устранения описанных явлений следует удалить УФ-детектор и использовать более короткую трубку для соединения колонки и флуоресцентного детектора. Степень извлечения, равную 88%, рассчитали путем сравнения результатов с пробой без добавок.

Рисунок 45. Определение бисфенола А в воде методом ВЭЖХ.

Матрица образца:	Питьевая вода с введенной примесью бисфенола А в концентрации 0,2 мкг/мл.
Колонка ТФЭ:	Supelclean™ ENVI™-18, 500 мг, стеклянная колонка ёмкостью 6 мл, фритта из ПТФЭ (54331-U)
Условия анализа:	1 мл 1% раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле, 1 мл деионизованной воды
Добавление образца:	5 мл воды с добавлением стандарта
Элюирование:	2 мл 1% раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле
Обработка элюата:	Выпаривание пробы объёмом 1 мл и восстановление ацетонитрилом до объёма 0,5 мл.
Колонка:	Ascentis® Express C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам., 2,7 мкм (53823-U)
Подвижная фаза:	Вода:ацетонитрил (60:40)
Скорость потока:	0,4 мл/мин
Давление:	3268 psi (225 бар)
Температура колонки:	35°C
Детектор:	УФ (230 нм); флуоресцентный (Ex 225 нм, Em 310 нм)
Ввод пробы:	1 мкл



1. Бисфенол А

Запах плесени в белом вине

Запах плесени в вине связан с проявлениями пробковой болезни и вызван наличием примесей 2,4,6-трихлоранизола (ТХА). Предположительно, появление ТХА в вине связано с метилированием присутствующих в нём хлорфенолов грибковыми микроорганизмами. Хотя сам ТХА обладает относительно низкой реакционной способностью, его прекурсоры содержат активные гидроксильные группы, поэтому для получения наилучших результатов анализа необходимо провести их дериватизацию. Быстрая в реализации процедура обнаружения ТХА и его возможных прекурсоров включает в себя проведение дериватизации в матрице, ТФМЭ и последующий анализ методом ГХ. Краткое описание процедуры:

- Проводят дериватизацию хлорфенолов в матрице с применением уксусного ангидрида
- Ацилированные производные экстрагируют из паровой фазы методом ТФМЭ
- ТХА, не подвергающийся дериватизации, экстрагируют одновременно с хлорфенолами

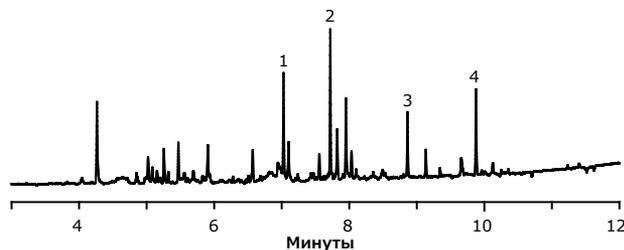
Хроматограмма, полученная для образца с добавлением стандарта, представлена на **рисунке 46**. Степень извлечения (%) рассчитывали путем сравнения результатов, полученных для образцов с добавлением стандартов и без. В **таблице 9** представлены полные данные.

Таблица 9. Результаты анализа красного вина (содержащего примеси аналитов в количестве 100 нг/л)

Аналит	Без добавления стандарта (нг/л)	С добавлением стандарта (нг/л)	Степень извлечения (%)
2,4,6-трихлоранизол	Не обнаружено	60,7	61
2,4,6-трихлорфенол	22,7	96,3	74
2,3,4,6-тетрахлорфенол	Не обнаружено	55,7	56
Пентахлорфенол	3,3	33,5	30

Рисунок 46. Анализ образца красного вина, содержащего стандарты ТХА и прекурсоров, методом ГХ

Матрица образца:	1,5 мл красного вина, содержащего стандарты каждого из аналитов в концентрации 100 нг/л + 600 мкл 5% раствора карбоната калия (K ₂ CO ₃) + 240 мг хлорида натрия (NaCl) + 60 мкл уксусного ангидрида
Волокно для ТФМЭ:	Металлическое волокно с полидиметилсилоксановым покрытием толщиной 100 мкм (57928-U)
Экстракция:	Парофазная, 50°C, 30 минут при перемешивании
Десорбция:	250°C, 3 мин
Колонка:	SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр. диам., 0,25 мкм (28471-U)
Термостат:	50°C (1 мин), повышение температуры со скоростью 25°C/мин до 280°C
Детектор:	ДЭЗ, 290°C
Газ-носитель:	Гелий, 1,5 мл/мин
Лайнер:	0,75 мм внутр. диам., прямой тип (для ТФМЭ), без сужения (2637501)



1. 2,4,6-трихлоранизол
2. 2,4,6-Трихлорфенол (ацилированный)
3. 2,3,4,6-Тетрахлорфенол (ацилированный)
4. Пентахлорфенол (ацилированный)

Использованные материалы

Описание продукта	Кат. №
Наборы волокон для ТФМЭ:	
Полиакрилатное волокно 85 мкм для ручного держателя, размер иглы 24G, 3 шт	57304
Полиакрилатное волокно 85 мкм для держателя автосэмплера, размер иглы 24G, 3 шт	57305
Полиакрилатное волокно 85 мкм для держателя автосэмплера, размер иглы 23G, 3 шт	57294-U
Металлическое волокно с полидиметилсилоксановым покрытием 100 мкм для держателя автосэмплера, размер иглы 23G, 3 шт	57928-U
Картриджи для ТФЭ:	
Supelclean™ ENVI™-18, 500 мг, стеклянная колонка ёмкостью 6 мл, фритта из ПТФЭ, 30 шт.	54331-U
Колонки для ГХ	
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,25 мкм	28471-U
SLB®-5ms, 30 м x 0,25 мм внутр.диам., 0,50 мкм	28473-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 2,7 мкм)	
C18, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53823-U
RP-Amide, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53913-U
HILIC, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53939-U
F5, 10 см x 2,1 мм внутр.диам.	53569-U
Колонки для ВЭЖХ Ascentis® Express (размер частиц 5 мкм)	
C18, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50537-U
HILIC, 15 см x 4,6мм внутр.диам.	50289-U
F5, 15 см x 4,6 мм внутр.диам.	50631-U
Аналитические стандарты	
Ресвератрол, 100 мг	R5010
Бисфенол А, >99%, 50 г	239658-50G
2,4,6-Трихлоранизол, 100 мкг/мл в метаноле, 1 мл	47526-U
2,4,6-Трихлорфенол, 5000 мкг/мл в метаноле, 1 мл	40019
2,3,4,6-Тетрахлорфенол, 5000 мкг/мл в метаноле, 1 мл	48264
Пентахлорфенол, 5000 мкг/мл в метаноле, 1 мл	40062
Аналитические реагенты и растворители	
N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид (BSTFA)+хлортриметилсилан (TCMS), 99:1	15238
Уксусный ангидрид, 10 x 2 мл	33085
Ацетонитрил для ЖХ-МС LiChrosolv®, ≥ 99,9%	100029
Ацетонитрил для ЖХ-МС OmniSolv®, ≥ 99,9%	AX0156

Ссылки

Книги

1. Fennema's Food Chemistry, Fourth Edition (Химия пищевых продуктов Феннема, четвёртое издание), edited by Srinivasan Damodaran, Kirk L. Parkin and Owen R. Fennema, CRC Press, 2008.
2. Food Analysis, Fourth Edition (Анализ пищевых продуктов, четвертое издание), edited by S. Suzanne Nielsen, Springer, 2010.
3. Food Flavorings, Second Edition (Пищевые ароматизаторы, второе издание), edited by P.R. Ashurst, Blackie Academic & Professional, 1995.
4. Handbook of Alcoholic Beverages; Technical, Analytical and Nutritional Aspects (Справочник по алкогольным напиткам: Технические, аналитические и питательные характеристики), edited by Alan J. Burglass, Wiley, 2011.
5. Techniques for Analyzing Food Aroma (Методики анализа пищевых ароматизаторов), edited by Ray Marsili, Marcel Dekker, Inc., 1997.

Правительственные организации

6. Веб-сайт Ассоциации производителей специальных пищевых добавок и смесей ЕС (EU Association of Specialty Feed Ingredients and their Mixtures, FEFANA) (www.fefana.org).
7. Веб-сайт Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Authority, EFSA) (www.efsa.europa.eu).
8. Веб-сайт Организации ООН по продовольствию и сельскому хозяйству (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) (www.fao.org).
9. Веб-сайт Департамента сельского хозяйства США (United States Department of Agriculture, USDA) (www.usda.gov).
10. Веб-сайт Управления по контролю за продуктами питания и лекарствами США (United States Food & Drug Administration, FDA) (www.fda.gov/food).

Негосударственные организации

11. Веб-сайт Американской ассоциации специалистов по биохимии зерна (American Association of Cereal Chemists, AACCC) (www.aaccnet.org).
12. Веб-сайт Американского общества олеохимии (American Oil Chemists' Society, AOCS) (www.aocs.org).
13. Веб-сайт Американского общества микробиологии (American Society for Microbiology, ASM) (www.asm.org).
14. Веб-сайт Ассоциации химиков-аналитиков, состоящих на государственной службе (Association of Official Analytical Chemists, AOAC) (www.aoac.org).
15. Веб-сайт Ассоциации производителей продовольственных товаров (Grocery Manufacturers Association, GMA) (www.gmaonline.org).
16. Веб-сайт Библиотеки липидов (Lipid Library) (lipidlibrary.aocs.org).

Merck Life Science
115054, г. Москва, ул. Валовая, д. 35
Тел.: +7 (495) 937-33-04
Email: ruorder@merckgroup.com

