



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Praktické cvičení

Příprava vzorků z potravinové matrice a stanovení endogenních cizorodých látek chromatografickými metodami.

Vypracoval: RNDr. Ivana Borkovcová, Ph.D.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Příprava vzorků z potravinové matric a stanovení endogenních cizorodých látek chromatografickými metodami.

Biogenní aminy

Nízkomolekulární organické báze, endogenní cizorodé látky
Vznik dekarboxylací aminokyselin příslušnými dekarboxylázami
Fermentační procesy, fermentované salámy, zrající sýry, kvašené zelí, pivo, víno
Kažení potravin (histamin). 100 ppm v mořských rybách a výrobcích z nich

Metody stanovení:

Tenká vrstva
Iontová chromatografie
RP-HPLC s post- nebo pre- kolonovou derivatizací

Derivatizační činidla: OPA, dansylchlorid

Experimentální část:

Roztoky:

- 10% TCA
- nasycený roztok hydrogenuhličitanu Na
- derivatizační činidlo: 5 mg dansylchloridu/1 ml acetonu, vždy čerstvý, chráněn proti světlu
- roztoky standardů BA
- 10 mg každého BA/25 ml odměrné baňky, doplnit 0,1M HCl
- 0,02M kyselina octová (2,3 ml/1L vody)

Mobilní fáze

A: 100 ml AcCN + 900 ml 0,02M kyseliny octové
B: 100 ml 0,02M kyseliny octové + 450 ml AcCN + 450 ml MetOH

Pracovní postup:

- 5 g vzorku navážit do 100 ml kádinky
- 45 ml 10% kyseliny trichloroctové
- homogenizátor (ultra-turrax), 3 minuty
- filtrace, 45 um nylonový filtr
- 1 ml filtrátu + 1 ml nasyc. roztoku uhličitanu + 1 ml roztoku dansylchloridu do zkumavky
- zazátkovat, obalit alobalem, inkubace 40°C/60 min.
- přidat 50 ul amoniaku a ponechat v temnu 30 min.
- extrakce 3x 1 ml petroletheru
- spojené extrakty odpařit



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- rozpustit v 1 ml mobilní fáze
- přefiltrovat do vialky (45 um nylonový filtr)
- RP-HPLC analýza

Parametry HPLC stanovení:

Chromatografická kolona: Zorbax Elipse XDB C18; 1,6 x 150 mm, 4,6 um

Detekce: FLR 330/500 nm

Teplota kolony 35 °C

Nástřik 10 ul

Gradientová eluce

Vyhodnocení metodou ESTD