

Vinul grecesc

Determinarea acizilor organici din vin

**Noua serie: Marele test al micului-dejun,
partea 1/3**

Cum vă plac ouăle?
Testarea durității folosind analizorul de textură
EZ-Test-X

**Exelență în ceea ce privește
viteza și sensibilitatea**

Noul LCMS-8050 triplu
cuadropol



APLICAȚIE

Îngrășământ pentru agricultură sau combustibil? - Analiza metalelor grele din nămolul de epurare 2

O provocare acidă - Determinarea TOC online din acid clorhidric concentrat 6

Modificări în farmacopeea americană <643> - Care este impactul determinării TOC pentru industria farmaceutică? 8

Secvențierea proteinelor N-terminale pentru dezvoltarea de medicamente - Secvențiatorul de proteine PPSQ-30 pentru peptide 10

Cum vă plac ouăle? - Marele test al micului-dejun folosind analizorul de textură EZ-Test-X 11

Sărurile de pământuri rare împotriva contrafacerii bancnotelor - Domeniul de înaltă rezoluție UV-VIS-NIR 12

Identificarea de diverse surse de contaminare - Aplicații care folosesc software-ul IRTracer-100 14

Vinul grecesc - Determinarea acizilor organici din vin 18

Analiza reziduurilor de pesticide - Analiza cromatografică a produselor organice 20

Economisirea de timp în analiza proteinelor - Digestia online a proteinelor cu Perfinity iDP 22

PRODUSE

Excelență în ceea ce privește viteza și sensibilitatea - Noul LCMS-8050 se adresează atât cercetării clinice și analizei alimentelor, cât și altor domenii 4

Cea mai bună tehnică pentru analiza elementală - Criterii de selectare 16

Software-ul Rapid Scan pentru IRTracer-100 24



Îngrășământ pentru agricultură sau combustibil?

Analiza metalelor grele din nămolul de epurare

În Germania, se generează anual 3,6 milioane de tone de nămol de epurare (substanță uscată). Datorită nivelului ridicat de azot și fosfați, acest deșeu al instalațiilor de epurare prezintă un interes deosebit

pentru agricultură. Dar înainte de a fi folosit ca îngrășământ, trebuie îndeplinite anumite condiții. De exemplu, conținutul de metale grele nu trebuie să depășească anumite limite. În cazul în care valorile limită

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Proba 1A	2,0	32	490	31	57	1100
Proba 1B	2,1	32	490	30	55	1100
Proba 2A	1,5	13	130	28	<NWG	730
Proba 2B	1,5	13	140	29	<NWG	770
Valoarea limită	10	900	800	200	900	2500

Tabelul 1: Rezultatele analizei unor probe necunoscute și valorile limită corespunzătoare, conform Ordonanței privind nămolul de epurare din Germania (AbfklärV, § 4, secțiunea 12). Toate datele se referă la substanța uscată din fiecare probă de nămol de epurare (mg/kg de substanță uscată).

prevăzute sunt depășite, nămolul de epurare poate fi folosit drept combustibil, apoi evacuat la groapa de gunoi. În Figura 1 sunt prezentate toate metodele de evacuare a nămolului de epurare, împreună cu procentele corespunzătoare.

Determinarea rapidă a metalelor grele din nămolul de epurare

Cum se poate efectua determinarea rapidă a conținutului de metale grele din nămolul de epurare? Cea mai adecvată metodă este cea a măsurării simultane, pentru aceasta putând fi folosit spectrometrul Shimadzu ICPE-9000 de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES). Datele privind toate elementele calibrate sunt disponibile după efectuarea unei singure măsurări, putând fi selectate peste 70 de elemente, în funcție de aplicație, în

(Pb), cadmiul (Cd), cromul (Cr), cuprul (Cu), nichelul (Ni) și zincul (Zn). Valorile limită pentru aceste elemente sunt prevăzute în Ordonanța privind nămolul de epurare din Germania (AbfklärV, § 4, secțiunea 12). În cazul în care valorile limită specificate sunt depășite, nămolul nu poate fi utilizat ca îngrășământ, trebuind folosit în alte scopuri (a se vedea Figura 1).

Prepararea probei și efectuarea măsurării

Prepararea probei se realizează în conformitate cu DIN ISO 11446. Astfel, se fierb sub reflux 2 g de probă uscată în 28 ml de apă regală, timp de două ore, la o temperatură de 150°C. Extractul obținut este filtrat (filtru membrană de 0,45 μm) și diluat la un volum de 100 ml. După încă o diluție de 1:5, probele sunt

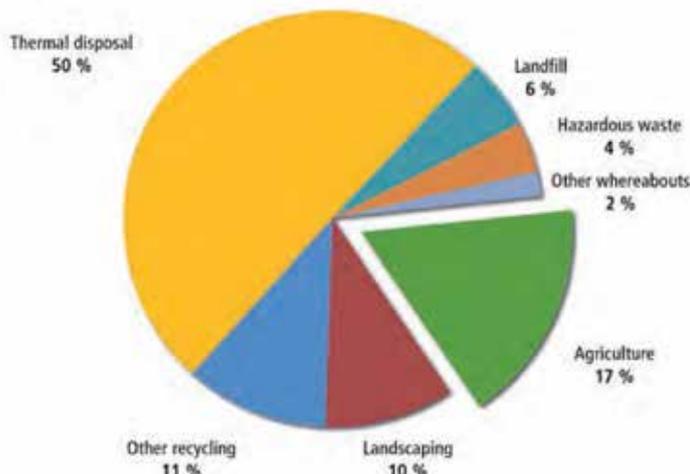


Figura 1: Metodele de evacuare a nămolului de epurare provenit de la instalațiile publice de tratare a apelor reziduale utilizate în Germania, în anul 2010 (sursa: Biroul Federal de Statistică din Germania, 08/2013)

cazul de față, determinarea metalelor grele. Această măsurare multielement este posibilă datorită cipului CCD mare de 1 inch², detecția realizându-se simultan pe întregul domeniu de lungime de undă cuprins între 167 nm și 800 nm. Este posibilă determinarea rapidă a concentrației multor elemente existente în nămolul de epurare, inclusiv a conținutului de fosfor, acesta reprezentând un criteriu de selectare a ICPE-9000 și nu a spectrometriei de absorbție atomică. La pagina 16 din acest număr puteți găsi informații suplimentare cu privire la selectarea metodei adecvate de analiză elementală.

În cadrul analizei conținutului de metale grele se determină plumbul

introduse împreună cu standardele de calibrare în autosampler-ul ASC-6100 pentru efectuarea măsurării complet automate.

Datorită unei funcții speciale, ICPE-9000 permite efectuarea de măsurări cu observarea plamei, radial ori axial, fără a fi necesară nicio modificare a aparatului. Trecerea complet automată de la o direcție de observație la alta este importantă mai ales în ceea ce privește elementele suplimentare, deoarece observația radială a plamei prezintă o sensibilitate mai scăzută, fiind astfel posibilă determinarea elementelor cu concentrație mare, fără a mai fi necesară diluarea în continuare a probei. În afară de faptul că astfel se economisește timp, utilizarea mini-torței contribuie

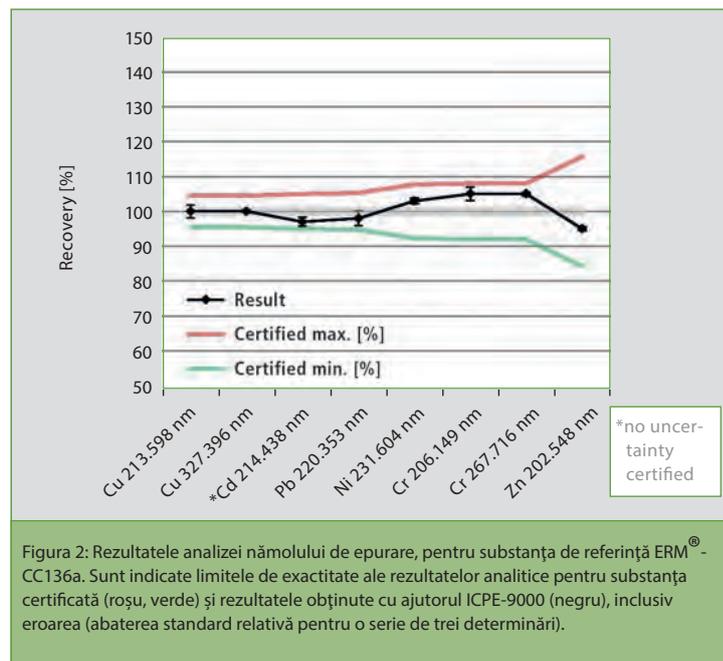


Figura 2: Rezultatele analizei nămolului de epurare, pentru substanța de referință ERM[®]-CC136a. Sunt indicate limitele de exactitate ale rezultatelor analitice pentru substanța certificată (roșu, verde) și rezultatele obținute cu ajutorul ICPE-9000 (negru), inclusiv eroarea (abaterea standard relativă pentru o serie de trei determinări).

în mod semnificativ la reducerea consumului de argon, ceea ce conduce la costuri de operare scăzute.

Rezultate

Înainte de măsurarea efectivă a probelor, pentru dezvoltarea metodei, a fost folosită o referință europeană certificată, ERM[®]-CC136a (nămol de epurare). Dacă se pot determina valorile certificate, acest lucru înseamnă că metoda este exactă, iar ICPE-9000 este aparatul adecvat pentru realizarea măsurării.

Toate elementele au putut fi determinate cu o bună rată de recuperare (a se vedea Figura 2), exactitatea rezultatelor (abaterea standard relativă a rezultatelor analizei) fiind în mod evident superioară toleranțelor acceptate pentru substanța de referință. Toleranțele pentru substanța de referință specificate în certificatul de analiză au la bază multiple determinări anterioare ale substanței de referință efectuate de mai multe laboratoare (teste circulare). Din acest motiv, există întotdeauna o dispersie a rezultatelor certificate.

În plus, s-au măsurat mai multe probe necunoscute folosindu-se metoda dezvoltată anterior (a se vedea Tabelul 1).

Rezumat

Rata bună de recuperare pentru substanța de referință certificată,

în conformitate cu certificatul de analiză, ca și buna rată de recuperare corespunzătoare rezultatelor analizei arată că ICPE-9000 este un aparat extrem de adecvat pentru analiza nămolului de epurare. În analiză au fost incluse și alte elemente (Ca, Co, Fe, K, Mn, Na, P), iar valorile determinate sunt conforme cu certificatul de analiză. Tehnica de măsurare simultană asigură obținerea rezultatelor într-un timp foarte scurt.

Toate rezultatele din Tabelul 1 se înscriu în valorile limită corespunzătoare. Alături de metalele grele analizate, toți ceilalți parametri trebuie să fie conformi cu specificațiile. De exemplu, astfel de specificații se referă la determinarea fracției organice prin pierderea la calcinare (LOI). Dacă se verifică toate punctele și acestea se încadrează în domeniile corespunzătoare, nămolul de epurare poate fi folosit în siguranță în agricultură, fiind o sursă valoroasă de substanțe nutritive.

Datele de bază folosite pentru tratarea temei referitoare la nămolul de epurare provin din următoarele surse:

- Raportul „Abwasserbehandlung – Klärschlamm – Ergebnisbericht 2010” al Biroului Federal de Statistică din Germania, 02-08-2013
- Site-ul web al Ministerului Federal al Mediului, Conservării Naturii și Securității Nucleare din Germania: www.bmu.de/P608/-1 și www.bmu.de/N39804/

Excelență în ceea ce privește viteza și sensibilitatea

Noul LCMS-8050 se adresează atât cercetării clinice și analizei alimentelor, cât și altor domenii



Figura 1: Noul spectrometru de masă triplu cuadrupol LCMS-8050

Cel mai nou membru al familiei Shimadzu de echipamente de spectrometrie de masă ultrarapidă (UFMS) continuă evoluția tehnologiei UF a companiei. Spectrometrul de masă triplu cuadrupol de înalt nivel LCMS-8050 are drept caracteristici cea mai mare viteză la achiziția de date, pe plan mondial, și cea mai mare sensibilitate din clasa sa, acestea permițând efectuarea simultană de analize cantitative și calitative.

Sensibilitate în condiții de mare viteză

LCMS-8050 a fost dezvoltat pornind de la modelele revoluționare LCMS-8030/8040, cu scopul de a răspunde cererii crescânde în ceea ce privește determinarea de substanțe la nivel de urme în domeniul cercetării clinice, analizei alimentelor și în alte domenii. Combinația dintre înalta sensibilitate și realizarea de analize de mare viteză se datorează celor două tehnologii optimizate: sursa încălzită ESI reproiectată și celula de coliziune avansată UFsweeper™ III, cu o eficiență sporită în ceea ce privește disocierea indusă prin coliziune (CID). Pentru o mai mare eficiență a desolvării, noua sondă ESI utilizează un gaz cu temperatură ridicată (gaz de

încălzire), în combinație cu un sistem de nebulizare-pulverizare (Figurile 2 și 3). Acest lucru facilitează ionizarea unei game largi de compuși și extinde domeniul aplicațiilor pentru LC-MS/MS.

Performanțe durabile în ceea ce privește înalta sensibilitate

Shimadzu optimizează permanent tehnologia exclusivă înregistrată UFsweeper™, prin îmbunătățirea presiunii gazului din celula de coliziune, ceea ce a condus la obținerea unei sensibilități de șase ori mai mari față de UFsweeper™ II de pe LCMS-8040. Celula UFsweeper™ III accelerează ieșirea ionilor din celula de coliziune, fără a se pierde momentul forței. Se obține o baleiere rapidă a celulei de coliziune în cadrul unor operații succesive, concomitent cu menținerea intensității semnalului și eliminarea încrucișării ionice, chiar și în cazul analizelor multi-componente de mare viteză, la un timp mort de 0,8 ms. Tranzițiile MRM de mare viteză de până la 555 de canale pe secundă sporesc eficiența laboratorului în cazul analizelor implicând măsurarea simultană a mai multor componente.

Aceste optimizări tehnologice, împreună cu optica ionică brevetată

de Shimadzu, asigură performanțe durabile în ceea ce privește înalta sensibilitate și o reproductibilitate excelentă, chiar și la nivel de attogram.

Tabelul 1 prezintă rezultatele cantitative de înaltă precizie obținute cu ajutorul LCMS-8050 în analiza verapamilului din plasma

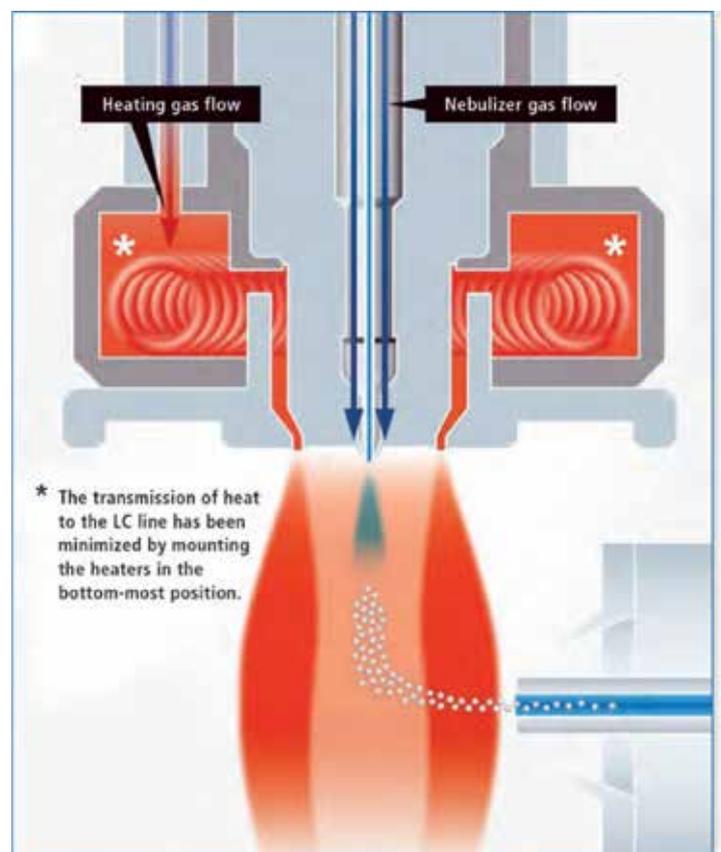


Figura 2: Ilustrarea sursei încălzite ESI nou dezvoltate

sanguină, la niveluri cuprinse între 500 ag și 50 pg.

Comutare și scanare ultrarapide

Schimbarea rapidă a polarității este esențială atunci când se măsoară simultan ioni pozitivi și negativi. Având cel mai scurt timp de comutare din lume, de numai 5 ms, LCMS-8050 are capacitatea de a colecta suficiente puncte de date, chiar și în cazul picurilor obținute cu un UHPLC. În plus, viteza de 30.000 u/s – cea mai mare din lume – permite efectuarea extrem de rapidă a analizelor și obținerea de informații cantitative și calitative într-o singură măsurare, fără a fi afectate sensibilitatea și exactitatea masei moleculare.

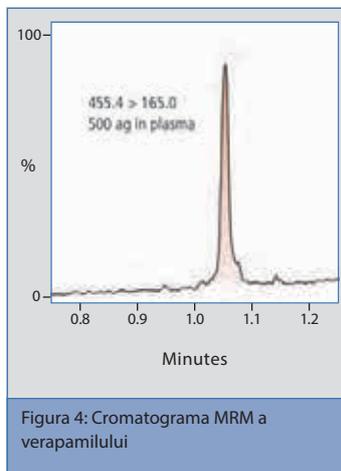


Figura 4: Cromatograma MRM a verapamilului

Întreținere ușoară

Noul design „plugin and play” (conectare și utilizare) al sursei de ionizare (Figura 5) oferă și un alt mare avantaj: carcasa sursei nu este prevăzută cu cabluri și tuburi, ceea ce facilitează demontarea și întreținerea. Sonda de ionizare este ușor de înlocuit: este necesar doar să se elibereze o manetă și să se ridice sonda. Nu sunt necesare niciun fel de instrumente pentru îndepărtarea acului de descărcare corona de pe sondele APCI sau DUIS.

La fel ca și la alte sisteme triplu cuadrupol Shimadzu, înlocuirea liniei de desolvatare (DL) și a coloanei capilare ESI se realizează rapid și ușor. Este posibilă înlocuirea liniei de desolvatare fără oprirea vacuumului, ceea ce are ca efect creșterea duratei de viață și de utilizare.

Ușor de utilizat

Software-ul LabSolutions LCMS versiunea 5.60 asigură o utilizare intuitivă și facilă. Acesta permite integrarea liniei de produse LC a Shimadzu (*Nexera* și *prominence*), ca și a sistemelor triplu cuadrupol LCMS-8030, LCMS-8040 și LCMS-8050.

Tranzițiile MRM, optimizate încă

automatizată a parametrilor sursei de ionizare. Acesta creează automat un fișier secvențial pentru efectuarea analizei și achiziția de date, la modificarea în interfață a temperaturii elementului de încălzire și debitului gazului. Astfel, pot fi stabilite condiții optime pentru compusul vizat, ceea ce asigură o mai mare sensibilitate a analizei. Acest software poate fi utilizat și pentru modelele LCMS-8030 și

Concentrația (ng/ml)	Concentrația calculată (ng/ml)	RSD % (n=6)	Exactitate % (n=6)
0,0005	0,000501	2,77	100,2
0,005	0,00496	3,98	99,2
0,05	0,0506	1,21	101,2
0,5	0,493	1,31	98,6
5,0	4,89	1,81	97,8
50,0	51,6	0,65	103,2

Tabelul 1: Rezultatele analizei cantitative pentru verapamil

de la modelele LCMS-8030/8040, pot fi utilizate și pentru LCMS-8050 deoarece parametrii pentru MRM, cum ar fi polarizarea pre-cuadrupolilor Q1 și Q3 sau energia de coliziune sunt identice la toate sistemele triplu cuadrupol. Prin urmare, pot fi utilizate toate pachetele de metode, cum ar fi sistemul de determinare toxicologică rapidă, sistemul de determinare a metaboliților primari sau sistemul de determinare a mediatorilor lipidici.

LCMS-8040.

Rezumat

Noul LCMS-8050 marchează o nouă etapă în tehnologia triplu cuadrupol, permițând efectuarea simultană de analize cantitative și calitative. Acesta are cei mai buni parametri la nivel mondial în ceea ce privește viteza și sensibilitatea, ceea ce asigură o calitate superioară a datelor. Sistemul răspunde cererii din ce în ce mai mari de determinare cantitativă a componentelor la nivel de urmă în domeniul cercetărilor chimice, al analizei alimentelor și din alte domenii.

Software-ul suplimentar de interfațare

Noul software opțional de interfațare este un instrument de optimizare

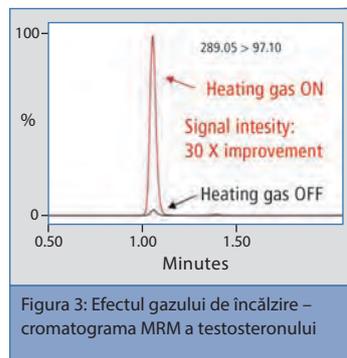


Figura 3: Efectul gazului de încălzire – cromatograma MRM a testosteronului

Pașul de scanare de 0,1 u asigură exactitatea măsurării cantitative, chiar și la viteză maximă, atunci când se efectuează simultan scanări MS/MS și măsurări MRM.



Figura 5: Fără cabluri și tuburi: un design nou al surselor pentru montare și demontare rapidă

O provocare acidă

Determinarea TOC online din acid clorhidric concentrat



Soluțiile de curățare și dezinfectanții, pesticidele, substanțele de uz farmaceutic sau masele plastice, precum PVC-ul, toate conțin compuși pe bază de clor și toate au devenit indispensabile. Clorul este una dintre substanțele chimice cele mai importante din industria chimică.

Au fost dezvoltate diverse procese de producere a clorului, precum electroliza soluției de clorură de

sodiu. Procesul de electroliză cu membrană este utilizat în aproape 2/3 din instalațiile comerciale deoarece produsele finale – clorul, hidrogenul și hidroxidul de sodiu (NaOH) – au aproape aceeași puritate ca în cazul utilizării procesului de electroliză a amalgamului de sodiu, necesarul de energie fiind însă substanțial mai mic. În afară de electroliza cu membrană, a fost dezvoltată și electroliza acidului clorhidric prin

procesul catodic de depolarizare de oxigen (ODC).

Acidul clorhidric este obținut ca produs secundar în cadrul a diverse procese, fiind, prin urmare, disponibil în cantități mari. Membranele utilizate sunt sensibile la anumiți contaminanți din acidul clorhidric, de exemplu, la compuși organici. Din acest motiv, înainte de utilizare, este important să se determine dacă acidul clorhidric conține contaminanți organici. Asigurarea calității are, de asemenea, un rol din ce în ce mai important în comercializarea acidului clorhidric.

TOC – parametrul-sumă

Parametrul-sumă TOC (carbon organic total) măsoară contaminarea cu compuși organici. Acesta indică cât din carbonul din probă provine din compuși organici.

Pentru determinarea acestui parametru se folosesc analizoare TOC speciale. Proba este acidificată în analizor pentru a se distruge compușii de carbon anorganici, precum carbonații și bicarbonații. Dioxidul de carbon rezultat este îndepărtat ulterior cu ajutorul unui gaz de barbotaj.

O fracție din proba pretratată este injectată într-un catalizator încălzit (680°C).

Compușii organici sunt transformați în CO₂ și măsurați cu ajutorul unui detector NDIR.

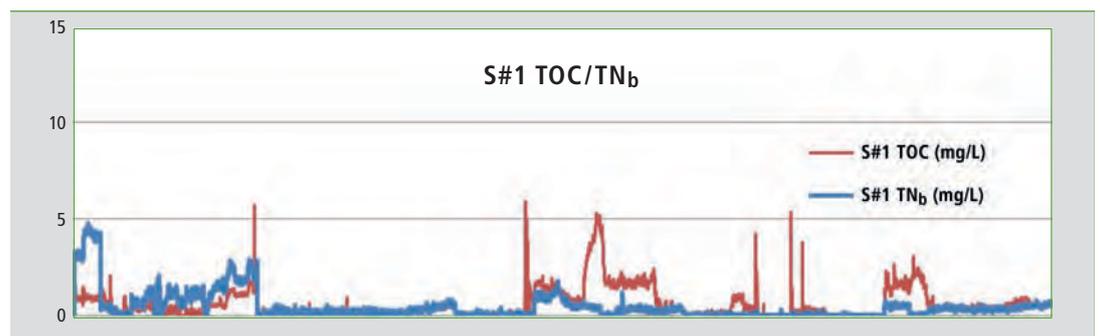


Figura 3: Grafic evolutiv: TOC și TN_b – rezultatele măsurate pe o perioadă de 4 luni



Figura 1: Acidul clorhidric concentrat este diluat la un raport de 1:3



Figura 2: TOC-4200 într-un dulap de protecție

Pe lângă analizele clasice de laborator, determinarea TOC se poate realiza în mod simplu și sigur și online. Analizoarele de proces funcționează automat în imediata apropiere a fluxului de probă analizat. În funcție de setările parametrilor, acestea prelevează automat o probă la fiecare câteva minute, pe care o prepară și o analizează, transmițând apoi rezultatele la o unitate de control sau emițând avertismente în momentul în care se înregistrează o depășire a unei valori limită.

TOC din acidul clorhidric concentrat

Aceste tipuri de analizoare de proces sunt utilizate în mod frecvent în diverse domenii, pentru aplicații precum monitorizarea apelor uzate. Cu toate acestea, monitorizarea online a TOC din acidul clorhidric concentrat reprezintă în continuare o provocare importantă.

Deoarece proba extrem de acidă nu conține niciun fel de bicarbonați, etapa de preparare a probei (acidificarea și barbotarea) poate fi omisă. Cu toate acestea, determinarea exactă a TOC din acidul clorhidric concentrat nu este un proces facil. În acest

sens, am derulat în colaborare cu departamentul de inginerie al unui client Shimadzu un proiect de determinare a TOC din acidul clorhidric.

Determinarea TN simultană

Unul din principalele avantaje ale oxidării prin combustie catalitică pentru determinarea TOC este reprezentat de posibilitatea de a detecta simultan cantitatea de compuși de azot. În timpul combustiei, compușii de azot sunt transformați în monoxid de azot (NO). Un detector de chemoluminescență (CLM) este conectat în serie după senzorul NDIR de detecție selectivă a CO₂. Monoxidul de azot (NO) este oxidat, obținându-se dioxid de azot (NO₂) folosindu-se ozon, iar fotonii emiși sunt detectați de detectorul CLM. Această combinație de detectori permite detectarea simultană a TOC și a compușilor cu azot.

Protecție și siguranță

Pentru a proteja analizorul împotriva emanațiilor agresive ale acidului clorhidric fumans, sunt necesare diverse sisteme de spălare cu gaz. Analizorul TOC-4200 de

la Shimadzu este prevăzut cu mai multe sisteme de spălare cu gaz care formează legături chimice cu gazul cloros coroziv.

Pentru această analiză trebuie, de asemenea, avut în vedere faptul că acidul clorhidric este un gaz eliberat dintr-o soluție concentrată. De aceea, înainte de a fi introdus în analizor, acidul clorhidric concentrat trebuie diluat. Pentru aceasta este necesar un aparat de diluție amplasat în afara analizorului (Figura 1) care diluează acidul clorhidric cu apă ultrapură la un raport de 1:3.

O altă problemă legată de siguranță este siguranța angajaților la locul de muncă. Aceștia nu trebuie să intre în contact cu vaporii agresivi. Din acest motiv, acest tip de analizor trebuie montat într-un dulap de protecție prevăzut cu senzori de acid clorhidric. La detectarea gazului HCl este generat un semnal de alarmă. În acest mod sunt protejați atât angajații, cât și dotările din laborator.

Pe baza acestor aspecte, a fost proiectat un sistem exact de determinare a compușilor organici din acidul clorhidric. Acest lucru a permis trecerea de la analiza clasică de laborator la o aplicație online.

În etapa de testare, acidul clorhidric concentrat a fost monitorizat pe o perioadă de 4 luni. Calibrarea TOC și TN_b s-a realizat pe un domeniu de 1-10 mg/l. TOC-4200 este prevăzut cu o funcție de diluție automată care permite obținerea unei calibrări multi-punct pe baza unei soluții standard. Deoarece pentru acizi nu mai este nevoie de etapa de acidificare (acidificare și barbotare), prepararea probei nu este necesară. Volumul de injecție este de 50 μl.



Modificări în farmacopeea americană <643>

Care este impactul determinării TOC pentru industria farmaceutică?

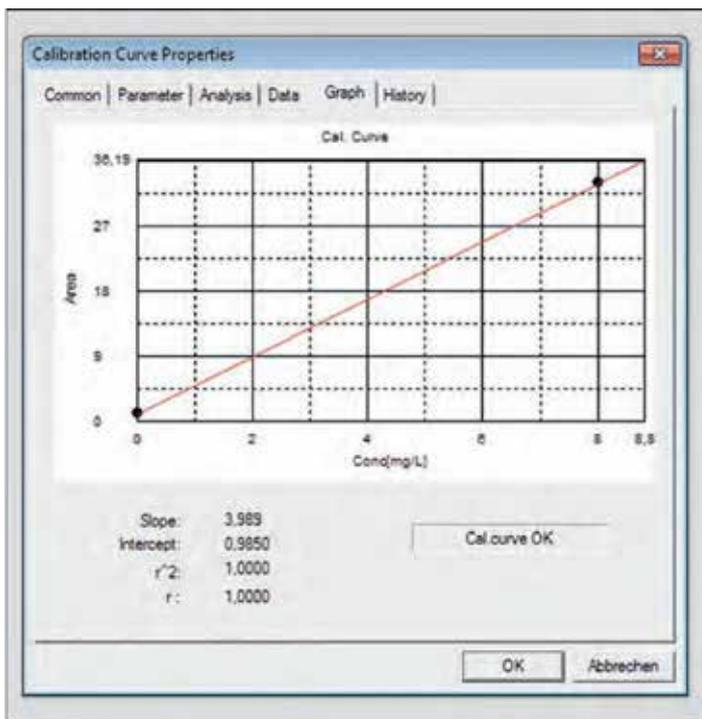


Figura 1: Curba de calibrare pentru sucroză, 8 mg/l

În 1996, în farmacopeea americană a fost introdus parametrul TOC pentru determinarea impurităților din apa purificată și din apa folosită pentru preparate injectabile. Pentru celelalte tipuri de apă utilizate în industria farmaceutică a continuat să fie folosit testul cu permanganat de potasiu în soluții apoase. Cu toate acestea, între timp determinarea TOC s-a dovedit atât de eficientă încât a înlocuit testul în soluție apoasă.

În versiunea curentă a USP <643> (USP 36-NF 31) se face distincție între „apa vrac” și „apa sterilizată”. În capitolul „Apa vrac” este inclusă apa purificată urmând să fie utilizată imediat ca apă purificată, apă pentru preparate injectabile, apă pentru

hemodializă și drept condensat de vapori puri. Pentru determinările TOC se aplică următoarele condiții cunoscute:

- Limita de detecție a sistemului TOC utilizat: < 0,05 mg/l C
- Apa vrac pentru prepararea standardelor, r_w : max. 0,1 mg/l C
- Soluția standard (sucroză), r_s : 0,5 mg/l C
- Soluția pentru validarea sistemului (benzochinonă), r_{ss} : 0,5 mg/l C
- Deviația permisă: 85-115%
- Răspunsul limită pentru apă, r_u : < ($r_s - r_w$)

Capitolul „Apa sterilă” este nou. Acesta include apa purificată sterilă, apa sterilă pentru preparatele injectabile, apa sterilă pentru irigare și apa sterilă pentru inhalatii. Apa sterilă poate fi depozitată în diverse tipuri de ambalaje.

Cu toate acestea, în comparație cu apa vrac, pentru apa sterilă se aplică alte condiții pentru determinarea TOC:

- Limita de detecție a sistemului TOC utilizat: < 0,01 mg/l C
- Apa blank pentru prepararea standardelor, r_w : max. 0,1 mg/l C
- Soluția standard (sucroză), r_s : 8 mg/l C
- Soluția pentru validarea sistemului (benzochinonă), r_{ss} : 8 mg/l C
- Deviația permisă: 85-115%
- Răspunsul limită pentru apă, r_u : < ($r_s - r_w$)

Impactul noii determinări

Cerințele curente ale USP <643> (apa vrac) sunt conforme cu cerințele farmacopeii europene (limita de detecție, concentrația soluției standard (sucroză) și soluția pentru validarea sistemului (benzochinonă și răspuns)). De aceea, este suficientă validarea sistemului TOC pentru

ambele determinări. În conformitate cu noua USP <643>, este necesară implementarea unui test de validare a sistemului care utilizează concentrații mai mari. Pentru utilizatorii sistemelor TOC produse de Shimadzu, acest lucru înseamnă crearea unei curbe de calibrare suplimentare (sucroză, 8 mg/ml; a se vedea Figura 1) și folosirea unei probe de control (benzochinonă, 8 mg/ml; a se vedea Figura 2), ca și extinderea procesului de validare existent prin includerea acestor date. Nu sunt necesare modificări suplimentare ale sistemului TOC.

Determinarea TOC din apa ultrapură

La ora actuală pentru analiza TOC sunt utilizate două tehnici de oxidare: combustia catalitică și oxidarea în soluție apoasă. În cazul combustiei catalitice, compușii carbonici sunt transformați în CO_2 , la temperatură mare, folosindu-se un catalizator, această etapă fiind urmată de cea de detecție a dioxidului de carbon rezultat, cu ajutorul unui detector NDIR. Oxidarea în soluție apoasă utilizează o combinație între iradierea UV și oxidarea cu persulfat. Ambele metode pot fi utilizate pentru determinarea TOC din apa ultrapură.

Sistemul TOC de la Shimadzu

Shimadzu oferă două sisteme adecvate pentru determinarea TOC din apa ultrapură. Sistemul TOC-V_{WP/WS} utilizează oxidarea în soluție apoasă, iar sistemul TOC-I_{CPH} utilizează combustia catalitică la 680°C. Având un domeniu larg de măsurare cuprins între 0,5 mg/l și 30.000 mg/l, aparatele pot fi utilizate pentru orice aplicație, de la apa ultrapură (de exemplu, pentru

validarea curățării) până la apele foarte poluate (precum apele uzate).

Seria TOC-L – oxidare catalitică la 680°C

Modulul ISP (modulul integrat de pretratare a probei) pentru seria TOC-L reduce substanțial volumul de lucru al utilizatorului, aparatul efectuând diluarea, acidificarea și barbotarea. Prin diluția complet automată se extinde domeniul de măsurare de la 4 μg/l și până la 30.000 mg/l.

În plus, metoda combustiei poate fi utilizată în combinație cu modulul TNM-L, fiind necesară o singură injecție pentru determinarea simultană a azotului total legat (determinare simultană TOC/TN_b). Se efectuează o determinare conform EN prin detecția chemoluminescenței. Combustia catalitică are loc la 720°C. Determinarea simultană TOC/TN_b este foarte adecvată pentru validarea curățării deoarece permite realizarea unei determinări diferențiate între agentul de curățare și produs.

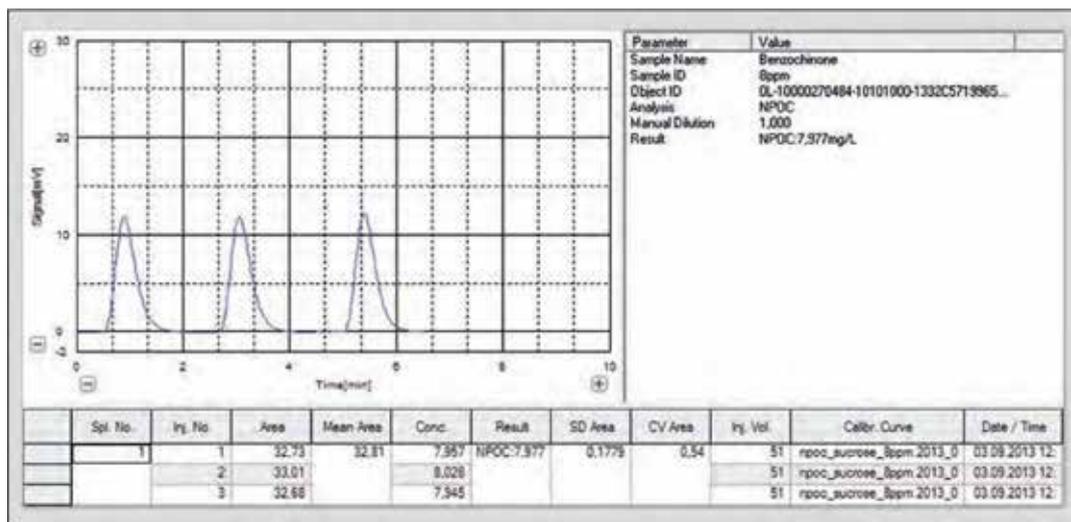


Figura 2: Reprezentarea grafică a picurilor benzochinonei, 8 mg/l

Seria TOC-V – oxidarea în soluție apoasă

Principala tehnică utilizată de seria TOC-V_{WP} constă în oxidarea puternică obținută prin combinația dintre persulfatul de sodiu și oxidarea UV la 80°C. Deoarece pentru determinare este utilizată o soluție de persulfat, este important ca aceasta

să nu conțină niciun fel de substanțe contaminante care ar putea afecta valorile reale ale măsurării.

TOC-V_{WP} este prevăzut cu o funcție automată de preparare a reactivului care elimină posibilitatea contaminanților din soluția de persulfat. Astfel, se asigură faptul că valoarea medie TOC provine din probă și nu din soluția de reactiv utilizată.

Volumul mare de injecție (până la 20,4 ml), în combinație cu detectorul NDIR de mare sensibilitate, asigură atingerea unei limite de detecție foarte scăzute și o reproductibilitate excelentă în domeniul ppb inferior. De aceea, TOC_{WP/WS} este foarte adecvat pentru determinarea TOC în domeniul ultraarmelor.

Concluzii

Ambele tipuri de aparate, cu metodele de oxidare specifice fiecăruia, pot fi utilizate pentru determinarea TOC, în conformitate cu noua farmacopee a Statelor Unite (USP <643>) și cu farmacopeea europeană (EP 2.2.44). Avantajul metodei combustiei este capacitatea ridicată de oxidare, mai ales pentru probele care conțin substanțe sub formă de particule. În plus, se pot efectua simultan măsurări TOC/TN_b, ceea ce permite obținerea de mai multe date de analiză. Avantajele oxidării în soluție apoasă sunt legate de volumul mare de injecție, care asigură o mai mare sensibilitate și măsurări de înaltă precizie în domeniul ppb inferior.



TOC-L_{CSH}

CASETA EDITORIALĂ

Shimadzu NEWS, Revista pentru clienți a Shimadzu Europa GmbH, Duisburg

Publicată de:
Shimadzu Europa GmbH
Albert-Hahn-Str. 6 - 10 - D-47269 Duisburg
Telefon: + 49-203-76 87-0
Fax: + 49-203-76 66 25
shimadzu@shimadzu.eu
www.shimadzu.eu

Echipe editoriale:
Uta Steeger
Telefon: + 49-203-76 87-410
Ralf Weber, Tobias Ohme

Design și producție:
m/e brand communication GmbH GWA
Düsseldorf

Tiraj
Germană: 6.270 - Engleză: 15.920

Copyright
Shimadzu Europa GmbH, Duisburg,
Germania – ianuarie 2014.

Windows este o marcă înregistrată aparținând
Microsoft Corporation. © 2014

Apple Inc. Toate drepturile rezervate.
Apple, sigla Apple, Mac, Mac OS și Macintosh sunt
mărci înregistrate aparținând Apple Inc.

Secvențierea proteinelor N-terminale pentru dezvoltarea de medicamente

Secvențiatorul de proteine PPSQ-30 pentru sferele conținând peptide izolate din bibliotecile de peptide



Figura 1: Principalii utilizatori ai PPSQ, Robert Cordfunke (stânga) și Huybert van de Stadt (dreapta), ambii de la LUMC Leiden, care au proiectat camera de reacție pentru analiza sferelor

Secvențierea proteinelor este o metodă simplă și robustă care se bazează pe degradarea Edman. Deoarece medicamentele folosesc din ce în ce mai multe proteine, este necesară realizarea unui control de calitate pentru determinarea capătului N-terminal. Aminoacizii N-terminali din proteinele sau peptidele imobilizate sunt îndepărtați, derivați și identificați cromatografic în funcție de timpul de retenție.

Reacția Edman este inițiată în camera de reacție în condiții controlate, prin adăugarea izotiocianatului de fenil (PITC) la aminoacidul N-terminal al peptidei/proteinei. Aminoacidul este detașat de peptidă/proteină printr-o reacție de conversie în prezența unui acid, fiind apoi transferat în recipientul de conversie. Apoi este convertit într-un aminoacid, fenilhidantoină (PTH-AA) și injectat într-o coloană cromatografică de fază inversă. Separarea izocratică permite identificarea PTH-AA în funcție de timpul de retenție calculat pe baza unui standard PTH-AA.

În timp ce conversia este în curs de desfășurare, în reactor începe următorul ciclu prin adăugarea PITC la următorul aminoacid al peptidei/proteinei. În acest mod poate fi determinată ordinea exactă a

aminoacizilor, adică secvența proteinei sau peptidei. Chiar și aminoacizii izobarici, precum izoleucina și leucina, care au aceeași masă, pot fi astfel separați și identificați.

Probele sunt de obicei deja imobilizate, de exemplu prin imunoamprență sau se află într-o soluție și sunt imobilizate pe o membrană înainte de analiză.

Grupul de cercetare al lui Jan Wouter Drijfhout de la Centrul Medical al Universității din Leiden (LUMC) din Olanda utilizează PPSQ pentru analiza probelor mai puțin comune. Aceștia sintetizează biblioteci de peptide pe baza unui protocol de mixare și separare (mix and split). În acest mod se generează milioane de peptide diferite atașate la mici sfere polimerice. Sferele au o mărime de circa 100 μm și sunt încărcate cu 50-100 pmol de peptidă. Fiecare sferă din bibliotecă conține o peptidă cu o secvență unică, bibliotecă de peptide având astfel o mare diversitate/complexitate.

Bibliotecă poate fi utilizată pentru a determina noi substanțe active. Mii de sfere conținând peptide sunt incubate într-o soluție împreună cu o moleculă care prezintă interes, de exemplu cu o moleculă de anticorp. Sferele care leagă anticorpul sunt vizualizate pentru

a se determina prezența anticorpului pe anumite sfere. Acestea conțin peptide care pot prezenta interes și a căror secvență nu este cunoscută în această etapă. Secvența peptidei este determinată prin secvențierea sferei care conține peptida.

Testarea peptidelor pentru determinarea proprietăților antibiotice

O altă aplicație este reprezentată de testarea peptidelor pentru identificarea proprietăților antibiotice. Sferele sunt sintetizate astfel încât o parte a peptidei poate fi desprinsă din sferă prin iradiere cu lumină UV. Sferele sunt răspândite în interiorul unei

reproiectare, acesta permite secvențierea sferelor care conțin peptidele.

Evaluarea datelor se realizează cu ajutorul software-ului de analiză. Analiza este simplificată prin facilitățile de utilizare, precum posibilitatea de reprocesare a cromatogramelor, generarea de rapoarte individuale și estimarea automată a secvenței de aminoacid. Controlul hardware-ului prin care unitatea de secvențiere poate funcționa împreună cu unitatea HPLC se realizează prin intermediul unei ferestre din soft.



Figura 2: Secvențiatorul de proteine PPSQ-30 este format din unitatea pentru reacția Edman și o unitate HPLC. Ambele unități sunt comandate printr-un software comun.

culturi bacteriene și sferele care conțin peptide bactericide sunt determinate prin identificarea unei zone de bacterii moarte în jurul sferei (un halou). La fel ca mai sus, secvența peptidei antibacteriene nu este cunoscută în această etapă, trebuind să fie determinată prin secvențierea sferei care conține peptida, folosind tehnica Edman.

Deoarece peptidele sunt sintetizate aleatoriu prin tehnica de mixare și separare (mix and split), nu se cunoaște secvența exactă a peptidelor care prezintă interes. În vederea secvențierii peptidelor în timp ce acestea sunt încă atașate la sferă, era necesar să se reproiecteze reactorul PPSQ. După

Secvențiatorul de proteine PPSQ-30 are următoarele caracteristici:

- Linie de bază stabilă și timpi de retenție reproductibili, datorită separării izocratice
- Înaltă sensibilitate
- Software și hardware ușor de utilizat
- Posibilitate de utilizare pentru capacități mici datorită inițializării facile
- Reducerea costurilor datorită consumului scăzut de solvent ca urmare a reciclării în faza mobilă

Cum vă plac ouăle?

Marele test al micului-dejun folosind analizorul de textură EZ-Test-X

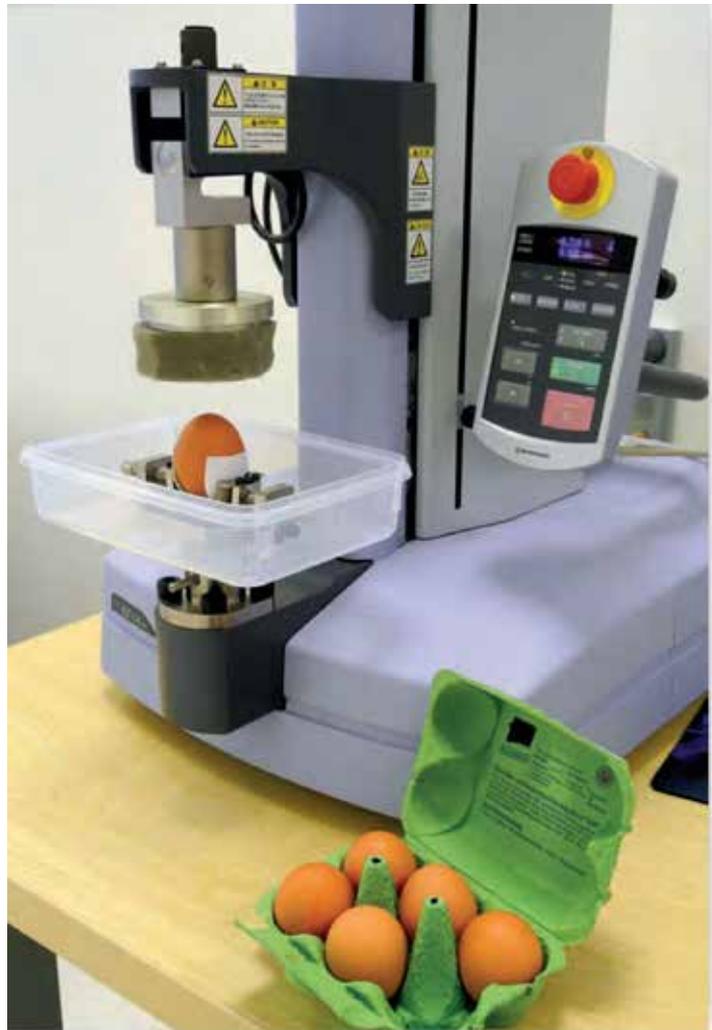


Figura 1: Analizorul de textură EZ-Test-LX cu dispozitiv de comprimare personalizat

Alimentele, o necesitate existențială pentru oameni, sunt supuse unor testări constante. Shimadzu News prezintă periodic informații privind noutățile în ceea ce privește capacitățile de analiză.

Pe lângă problema gustului și testările ingredientelor, sunt ridicate permanent întrebări cu privire la proprietățile fizice ale alimentelor pe care le consumăm. Cât de repede se învechește pâinea? Cât de crocanți sunt cârnăciorii? Care sunt diferențele între cojile de ouă provenind de la găini crescute prin metode diferite?... Acestea sunt întrebările la care vom răspunde în prezenta ediție și edițiile următoare ale Shimadzu News – referindu-ne la alimentele care

compun un mic-dejun continental.

Ouăle fac parte dintr-un mic-dejun bogat și sănătos, indiferent dacă sunt fierte, prăjite sau preparate ca omletă. Consumul mediu de ouă per capita pe an este de 218 ouă în Uniunea Europeană. În timp ce spaniolii mănâncă 285 de ouă pe persoană anual, un britanic consumă doar 176. Germania se apropie de media de 217 ouă pe persoană pe an.

Acest nivel ridicat de consum necesită un ritm de producție alert, care poate fi atins doar prin menținerea unei populații ridicate de găini ouătoare în fermele avicole. De la interzicerea bateriilor, a fost declanșată o schimbare a concepțiilor

cu privire la producția de ouă, iar numărul instalațiilor de producție pentru obținerea de ouă organice sau provenind de la găini crescute în aer liber este în creștere. Cum influențează metoda de creștere a găinilor ouătoare produsul în sine?

Coaja oului poate fi utilizată ca indicator al metodelor de creștere naturale, putându-se presupune că, datorită condițiilor mai bune asigurate animalelor, ouăle cresc mai lent, iar coaja poate absorbi mai mult calciu, fiind astfel mai rezistentă.

Centru dur, coajă dură?

A fost comparată rigiditatea ouălor provenind din diverse sisteme de creștere a găinilor ouătoare. Ouăle au fost obținute dintr-un supermarket aleatoriu și au fost supuse unui test de presiune utilizând analizorul de textură EZ-Test-X. Aceste ouă fuseseră produse de găini crescute la sol, în aer liber și organic, precum și de găini crescute în aer liber hrănite cu grăunțe speciale. Toate ouăle au fost prinse în aparatul de testare și comprimate cu o mișcare constantă până la spargere. Pentru a uniformiza posibilele denivelări naturale ale cojii, suprafața de sprijin de dedesubt, precum și partea inferioară a plăcii de presiune au fost acoperite cu un strat de 40 mm grosime de placă de spumă poliuretanică.

Toate măsurările au fost efectuate pe ouă crude, precum și pe ouă fierte tari timp de 10 minute.

Metodele de creștere a găinilor ouătoare și rezistența cojii ouălor

Tabelul 1 indică valori contradictorii. Deși au fost observate diferențe nesemnificative între valorile pentru ouăle provenind de la găini crescute la sol și găini crescute în aer liber fierte și crude, diferențele între valorile pentru ouăle crude și fierte organice și provenind de la găini hrănite cu grăunțe sunt considerabile.

De asemenea, profilele de rezistență comparate ale ouălor provenind din sisteme de creștere a găinilor ouătoare diferite nu s-au prezentat conform așteptărilor. Deși ouăle produse conform unor metode din ce în ce mai ecologice au coaja mai dură după fierbere, acest lucru nu este valabil și atunci când ouăle sunt crude. În mod surprinzător, ouăle organice au prezentat valori semnificativ mai mici decât ouăle provenind de la găini crescute în aer liber.

În consecință, nu se poate concluziona că metoda de creștere a găinilor ouătoare are o influență semnificativă asupra cojii oului. Cu toate acestea, este demn de reținut faptul că ouăle organice au prezentat cele mai scăzute fluctuații ale valorilor măsurate și cele mai uniforme modele de spargere.

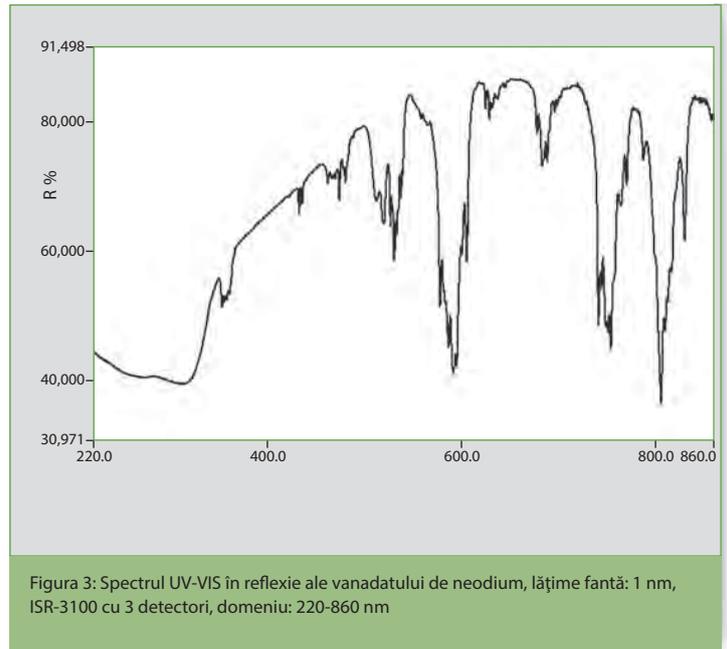
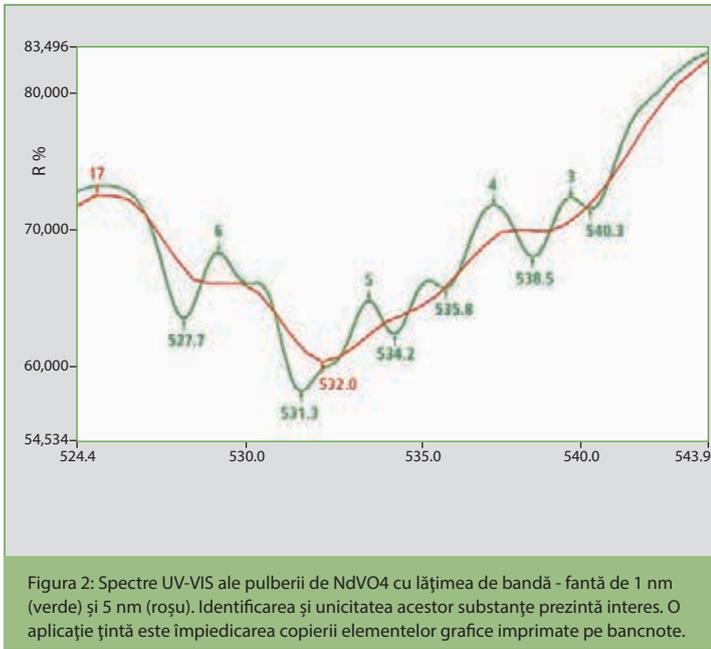
Va urma...*

*Pentru aceia dintre dvs. care nu pot aștepta următorul test al micului-dejun, întregul text poate fi descărcat anticipat. www.shimadzu.eu/breakfast-test

Metodă de creștere a găinilor ouătoare	Ouă crude [N]	Ouă fierte timp de 10 min [N]
Găini crescute la sol, Categoria A	142,74	135,39
Găini crescute în aer liber, Categoria A	181,27	172,26
Găini crescute în aer liber, hrănite cu grăunțe, Categoria A	162,79	193,30
Ouă organice, Categoria A	109,41	161,39

Tabelul 1: Măsurările ouălor crude și fierte





Sărurile de pământuri rare împotriva contrafacerii bancnotelor

Spectre de înaltă rezoluție în reflexia difuză pentru probe pulverulente măsurate cu sferă integratoare în domeniul UV-VIS-NIR

Elementele denumite pământuri rare se găsesc pretutindeni, însă cantitatea acestora este rareori considerabilă într-un singur loc; extracția acestora este costisitoare și necesită mult timp. Pământurile rare cuprind 17 elemente aparținând în principal grupei lantanidelor. Acestea sunt utilizate în diverse domenii industriale, precum mijloace de iluminat, magneți, ochelari, convertoare catalitice, lacuri și în metalurgie. O aproximare succintă este oferită într-un articol al BGR, 2009 [1]. Diagrama sectorială indică distribuția utilizării pământurilor rare în diverse domenii. În multe aplicații industriale, astfel de elemente sunt utilizate pentru a colora un obiect țintă în mod specific sau chiar pentru a-i conferi unicitate.

Figura 1 nu include piețele sau aplicațiile de nișă. O astfel de întrebare poate fi reprezentată de colorarea hârtiei, de ex. pentru

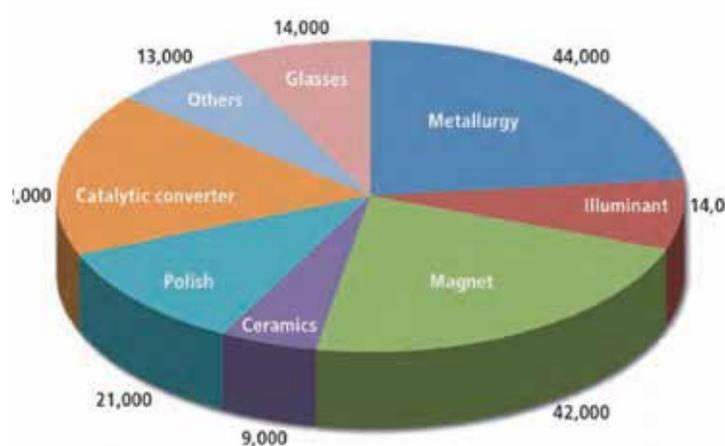


Figura 1: Consumul de metale pământuri rare în t (REO) în funcție de utilizarea comercială - 2012 (consum total aproximativ 189.000 t) [1], sursa Kingsnorth (2007)

producerea de bancnote. Bancnotele sunt falsificate foarte des. O tentativă de soluționare a acestor probleme constă în utilizarea de culori unice, dificil de preparat. Acest lucru se poate realiza folosind

săruri de pământuri rare. Structurile acestora au o culoare unică. Mici modificări ale configurației cristalelor conduc la schimbări ale aspectului. Această aplicație demonstrează efectul a diverse

săruri de neodim și samariu în spectroscopia UV-VIS.

Sărurile de pământuri rare sunt amprentele digitale ale unui produs

Sărurile provenind de la pământurile rare formează spectre UV-VIS care prezintă similarități cu așa-numitul domeniu al „amprentelor digitale” al spectrelor în infraroșu mediu. În mod normal, spectrul UV al lichidelor formează semnale largi cu rezoluție scăzută. Rezoluțiile înalte ale spectrelor UV-VIS sunt caracteristice spectrelor în fază gazoasă, precum faza gazoasă a benzenului sau pentru binecunoscutele lampi de mercur, deuteriu sau halogen. În acest caz, proba a fost în formă solidă, pulverulentă, presată de o fereastră de cuarț și diluată cu BaSO₄. Chiar și în aceste condiții, sărurile formează un spectru amprentă

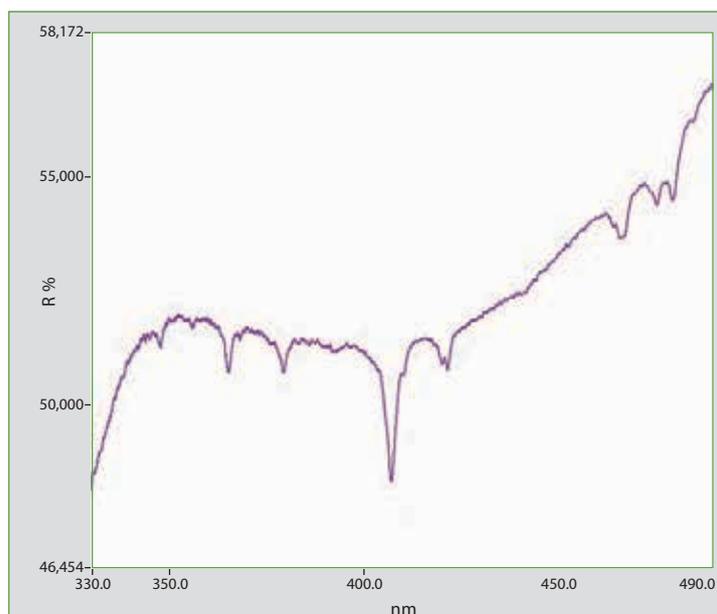


Figura 4: Spectru UV-VIS al vanadatului de samariu în condiții de reflexie difuză (SmVO_4)

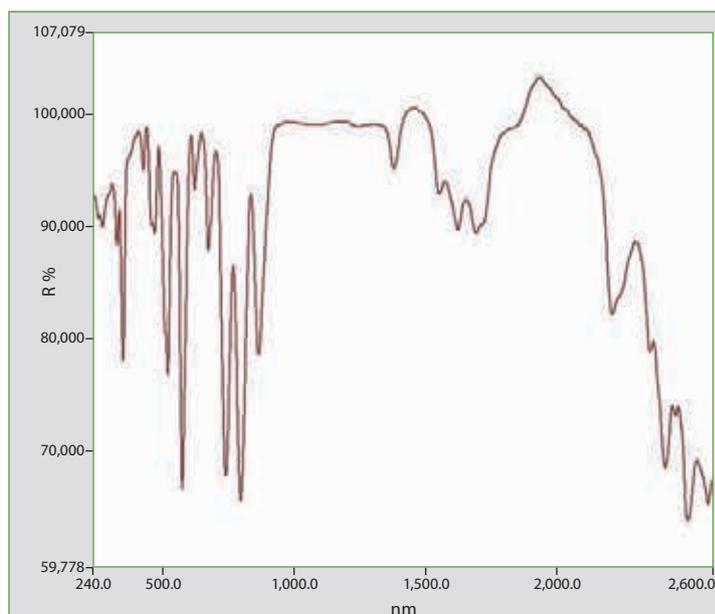


Figura 5: Spectru UV-VIS-NIR al fosfatului de neodim NdPO_4 , măsurare 5 nm în domeniul între 240 și 2.600 nm

digitală în domeniul UV-VIS. Semnalele reflectă nu numai culorile, ci și tranzițiile de transfer de energie de la pattern-ul sării. Modulurile de energie indicate sunt caracteristice pentru forma de rețea sau de cristal. Acestea au probabil un grad ridicat de unicitate încât este posibilă identificarea specifică.

Având în vedere suprafața dură a pulberii, pentru analiză a fost utilizată sfera integratoare ISR-3100. Sfera integratoare colectează lumina reflectată difuză de pe suprafața pulberii. Sfera are dimensiunea de 60 mm. Reflexia difuză poate fi măsurată.

În acest scop, proba este amplasată în poziția la 0 grade în sferă. Lumina reflectantă este astfel exclusă, fiind

măsurată doar reflexia difuză. În acest caz, posibilitatea de a obține un spectru reprezentativ la 1 nm depinde de răspunsul primit de la material. Domeniul 520-550 nm prezintă substructuri la rezoluție înaltă.

Figura 2 cuprinde două spectre la rezoluții diferite. Curbele colorate cu roșu și verde reprezintă spectrul de 5 nm și, respectiv, 1 nm. În cazul unui grup de semnale, poate fi indicată rezoluția.

Pentru sarea de neodim s-au obținut spectre cu multe grupuri de semnale. Sunt prezentate, drept referință, spectrele pentru NdPO_4 și (pentru familia lantanidelor) vanadat de samariu.

Probă omogenă în timp scurt

Pregătirea probei a fost finalizată în timp scurt. Sărurile au fost diluate în raport 1:10 volum la sută cu BaSO_4 . Amestecul de pulbere a fost transferat într-un recipient cu fereastră de cuarț. Recipientul a fost închis aplicându-se presiune manuală asupra probei în vederea generării unui strat omogen, cu distribuție uniformă a probei pe fereastra de cuarț.

Obiectivul a fost de a crea o suprafață omogenă a probei. Recipientul a fost amplasat în poziția probei în sfera integratoare. Drept referință a fost utilizat un recipient umplut doar cu BaSO_4 . Sfera integratoare ISR-3100 (cu trei detectori) a fost prevăzută cu detectori PM, InGaAs și PbS pentru întregul domeniu UV-VIS-NIR.

Avantajul sărurilor de pământuri rare este reprezentat de unicitatea rețelei de cristal care formează spectrul în domeniul vizibil în funcție de rețea. Tranzițiile de transfer de sarcină sunt măsurate în principal. Culoarea materialului depinde de toate aceste caracteristici, fiind astfel unică. Identificarea se poate realiza folosind spectroscopia UV-VIS-NIR.

Bibliografie

- [1] Seltene Erden; Maren Liedtke; Harald Elsner; http://www.bgr.bund.de/DE/Gemeinsames/Produkte/Downloads/Commodity_Top_News/Rohstoffwirtschaft/31_erden.pdf?__blob=publicationFile&v=2

Mulțumiri

Multe mulțumiri Prof. Dr. Robert Glaum (Departamentul de chimie anorganică al Universității din Bonn) pentru sărurile de neodim și samariu și discuțiile purtate pe această temă.

Proprietăți măsurare	
Domeniu lungime de undă (nm)	220 - 2.600
Viteză de scanare	Medie
Interval de eșantionare	0,01
Proprietăți aparat	
Tip aparat	Seria UV-3600
Mod măsurare	Reflexie
Lățime fantă	1,0 nm
Lungime de undă schimbare sursă de lumină	310,00 nm
Unitate detectare	Externă (3 detectori)
Lungime de undă schimbare detector	870 nm 1.650 nm
Lungime de undă schimbare grilaj	720 nm

Tabelul 1: Setările parametrilor pentru UV-3600

Identificarea de diverse surse de contaminare

Aplicații cu aparatul IRTracer-100 și software-ul „Contaminant Analysis”



IRTracer-100

(neuniforme, fisurate etc.). Contaminarea cauzată de compuși organici și anorganici poate fi prezentă în diverse medii, cum ar fi apa de la robinet. În cadrul prezentei aplicații sunt demonstrate metode concepute să ajute la identificarea contaminanților.

Software de analiză a surselor de contaminare pentru provocări complexe

Noul sistem IRTracer-100 cu noua platformă software LabSolutions IR permite realizarea de analize complete conform aplicației, adică analize ale agenților de contaminare. În astfel de cazuri, contaminarea este cauzată adeseori de un amestec de mai multe substanțe. Rezultatele cercetărilor tradiționale prezintă doar una din componentele

Spectroscopia în infraroșu ca metodă clasică de analiză a reprezentat o tehnică importantă pentru identificarea de materiale solide folosind tehnici de pastilare cu KBr și celule pentru probe lichide. În prezent, sunt din ce în ce mai utilizate alte metode de măsurare a reflexiei. Utilizatorii au nevoie de o nouă viziune asupra spectrelor, deoarece rezultatele măsurărilor nu includ doar aerul din atmosferă, ci și semnale adiționale provenite de la accesorii, cum ar fi profilul diamantului. În fine, spectrul este contaminat de absorbția sau reflexia accesoriului. O altă clasă de substanțe contaminante poate fi reprezentată de particulele din materiale, care, fiind impurități, limitează calitatea folosirii acestor materiale

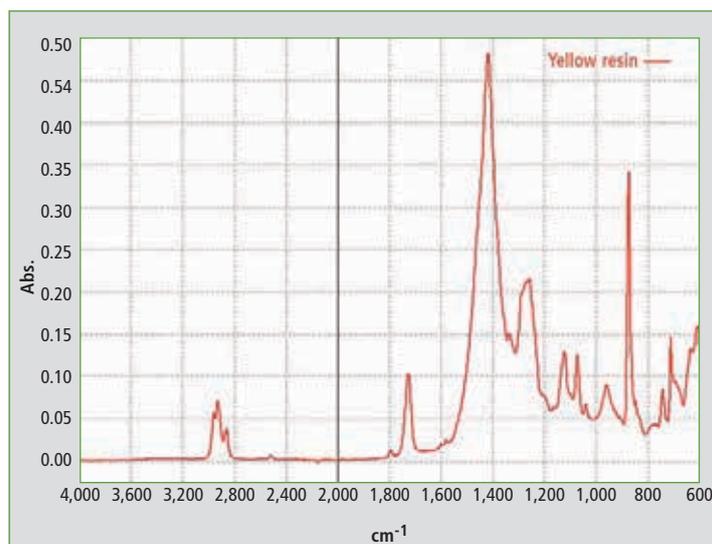


Figura 1: Spectru ATR al unei rășini PVC măsurat cu o unitate de reflexie cu diamant

principale, fiind necesare competențe suplimentare pentru identificarea restului de substanțe necunoscute.

Software-ul „Contaminant Analysis” efectuează această identificare complexă.

Programul LabSolutions IR oferă două domenii principale de aplicații, modurile Transmission și ATR (Attenuated Total Reflection). Bibliotecile specifice ale acestuia conțin 533 de spectre (contaminanți tipici) care sunt folosite pentru

Agenții de contaminare în apa de la robinet

O abordare diferită a identificării materialelor necunoscute constă în analiza agenților de contaminare anorganici și organici din apa de la robinet. Aceștia pot proveni din diverse surse, precum materialele sistemului de apă potabilă, minerale sau microorganisme. Printre sursele considerabile de contaminare se numără componentele de cauciuc și metalice rezultate din degradarea sistemului de alimentare cu apă.

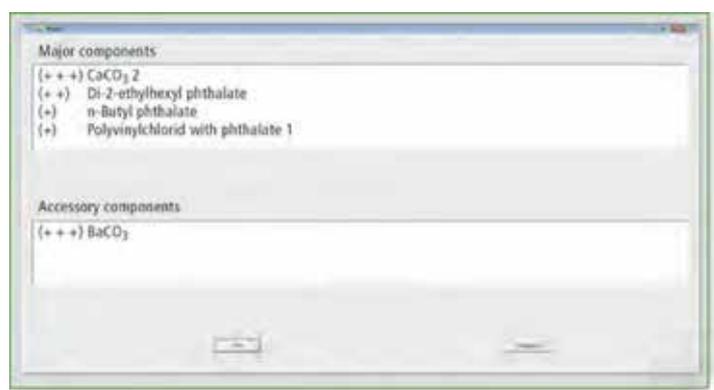


Figura 2: Rezultatele analizei folosind software-ul de analiză a agenților de contaminare, prezentate cu niveluri de estimare

efectuarea de căutări complexe. Algoritmii de căutare a fost îmbunătățit pentru a permite, de asemenea, reidentificarea precisă a materialelor anorganice. Drept exemplu a fost selectată o rășină.

Mai multe spectre în infraroșu pentru rășina policlorvinilică

Rășinilor li se adaugă mai multe tipuri de aditivi în vederea îmbunătățirii proprietăților acestora. Fiecare din aditivi are propriul spectru în infraroșu care se suprapune peste spectrul materialului principal. În continuare sunt prezentate rezultatele corespunzând rășinii policlorvinilice. Proba a fost pregătită cu o unitate de reflexie unică, cu diamant – DuraSamplIR și analizată cu programul de analiză a agenților de contaminare folosind tehnica de măsurare ATR. Rezultatul analizei indică prezența de ester ftalic în PVC și carbonat de calciu (a se vedea Figurile 2 și 3). Acești aditivi sunt utilizați în general ca plastifianți, respectiv agenți de umplere, în produsele PVC.

Programul de analiză al apei de la robinet include două baze de date pentru analiza FTIR și EDX. Imediat ce se inițializează o analiză, sistemul identifică spectrul IR și oferă informații suplimentare în baza analizei EDX a diverselor materiale.

Un exemplu de analiză este prezentat în partea dreaptă (Figura 4).

Concluzie

Cu ajutorul bazelor de cunoștințe dedicate, precum bibliotecii sau baze de date, analiza contaminanților este simplificată. Amestecurile, de ex. polimerii, sunt ușor de identificate. Software-ul poate fi adaptat pentru analiza agenților de contaminare în domeniile mediului înconjurător, petrochimic și alimentar.

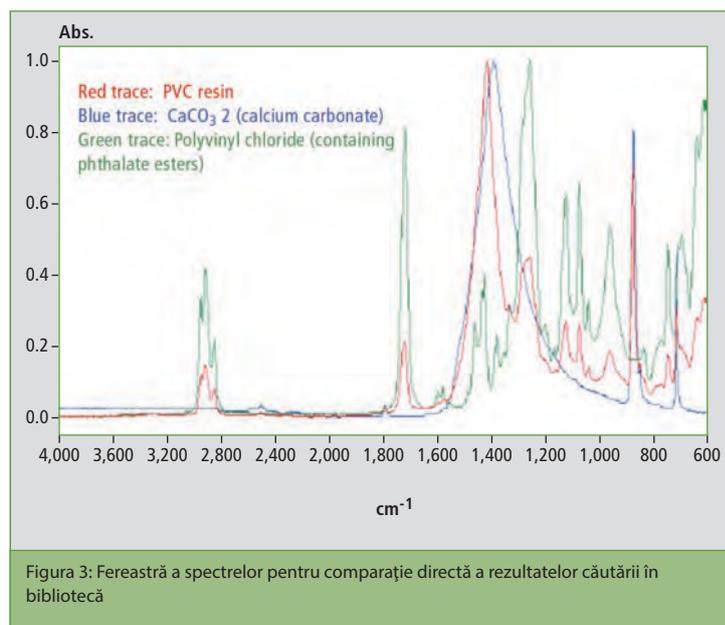


Figura 3: Fereastră a spectrelor pentru comparație directă a rezultatelor căutării în bibliotecă

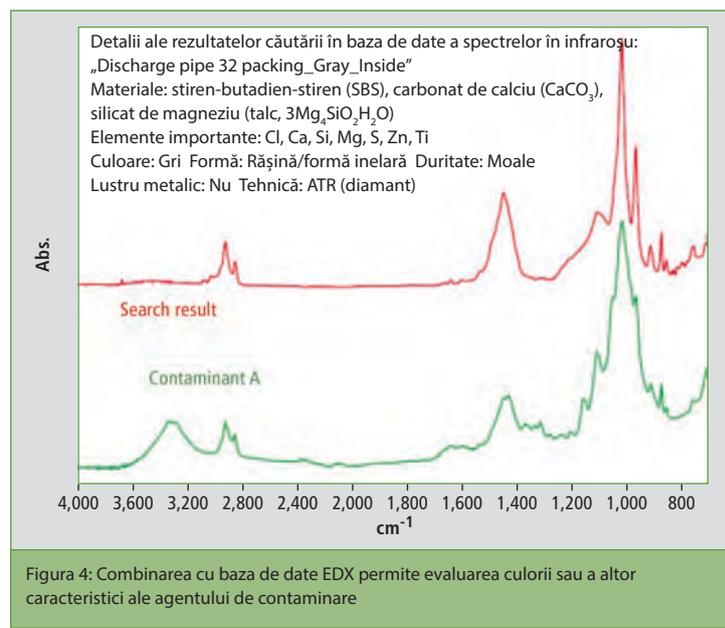


Figura 4: Combinarea cu baza de date EDX permite evaluarea culorii sau a altor caracteristici ale agentului de contaminare

Cea mai bună tehnică pentru analiza elementală

Criteria de selectare



Figura 1: Spectrometrul de absorbție atomică AA-7000, complet automat

Spectroscopia atomică include o varietate de tehnologii concepute în principal în vederea determinării compoziției pe elemente a probelor din diverse domenii, precum mediul înconjurător, geochimie, metalurgie, farmaceutică, alimentație, agricultură și multe altele. Printre aceste tehnici, cele mai populare pentru aplicațiile de rutină sunt spectroscopia de absorbție atomică (AAS), spectroscopia cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES) și spectrofluorimetria de raze X (XRF).

Care dintre aceste tehnici pentru determinarea calitativă și cantitativă a concentrațiilor elementelor este potrivită pentru rezolvarea unei anumite probleme de analiză? Luând în considerare punctele forte și avantajele specifice fiecărei tehnici, precum și limitările și dezavantajele acestora, este posibil ca soluția optimă să nu fie întotdeauna evidentă. Pentru alegerea tehnicii corecte este necesară analizarea unei varietăți de criterii importante, precum limitele de detecție, domeniul de măsurare, cantitatea de probe, interferențele, ușurința operării și bugetul de investiții necesar. Acest articol prezintă cele mai importante tehnici și oferă informațiile necesare pentru a vă ajuta să alegeți cea mai bună

soluție pentru o anumită problemă de analiză.

Spectroscopia de absorbție atomică

AAS determină concentrația elementelor în vapori, atunci când un atom în stare fundamentală absoarbe lumina de o anumită lungime de undă și este adus în stare excitată. Cantitatea de lumină absorbită la această lungime de undă este mărită atunci când se mărește numărul de atomi ai elementului selectat în calea luminii. Relația dintre cantitatea de lumină absorbită și concentrația elementului prezentă în soluții standard cunoscute poate fi utilizată pentru a determina concentrații necunoscute ale probelor măsurând cantitatea de lumină pe care acestea o absorb.

Analiza cantitativă a elementelor este, de obicei, efectuată folosind spectrometre de absorbție atomică, ca de exemplu sistemul Shimadzu AA-7000, compus dintr-o sursă de lumină principală pentru elementul țintă, o unitate de atomizare, un monocromator pentru setarea lungimii de undă specifice a luminii care va fi măsurată, un detector fotomultipliator pentru măsurarea

luminii și sistem electronic pentru procesarea datelor și, de asemenea, transmiterea rezultatelor. Sursa de lumină este o lampă cu catod cavitat și conține elementul care trebuie determinat. Unitatea de atomizare este fie un arzător pentru atomizarea în flacără, fie un cuptor de grafit pentru atomizarea electrotermică.

Sistemul tipic cu flacără funcționează cu un arzător de titaniu, producându-se o flacără aer/acetilenă sau oxid nitros/acetilenă. Proba este introdusă ca aerosol în flacără prin sistemul de introducere a probei format dintr-un nebulizator cu capilară Pt/Ir și o cameră de pulverizare inertă la solvenți apoși și organici. Arzătorul este aliniat astfel încât fasciculul de lumină să treacă prin flacără, unde lumina este absorbită. Din păcate, metoda de introducere a probei care utilizează un nebulizator și o cameră de pulverizare nu este foarte eficientă, astfel că doar o mică parte din probă ajunge la flacără, limitând precizia sistemului.

Pentru a îmbunătăți precizia spectrometrelor de absorbție atomică, este necesară o altă unitate de atomizare, compusă dintr-un cuptor de grafit de înaltă precizie,

precum GFA-7000, în care proba este introdusă direct într-un tub de grafit înainte de a fi încălzită într-o secvență programată pentru înlăturarea solvențului și a matricei și atomizarea elementului analizat. Analitul este atomizat în întregime, iar timpul de rămânere a atomilor în tub este prelungit, rezultând o precizie ridicată și limite de detecție considerabil îmbunătățite comparativ cu atomizarea în flacără.

Diferența cheie între atomizarea electrotermică și cea în flacără este timpul de analiză, care este mult mai lung în cazul utilizării sistemului cu cuptor de grafit. Pe de altă parte, precizia crescută a cuptorului de grafit, care este în general între 100 și 1.000 de ori mai bună decât a metodei în flacără, face ca acesta să reprezinte soluția ideală pentru analiza concentrațiilor foarte mici. Figura 1 prezintă aparatul AA-7000, un sistem de atomizare dual, dublu fascicul, combinat cu cuptorul de grafit GFA-7000 cu comenzi digitale și unitatea de pregătire a probelor ASC-7000.

AA-7000 în versiunea sistem de atomizare dual include atât unitatea de atomizare în flacără, cât și cuptor de grafit, permițând

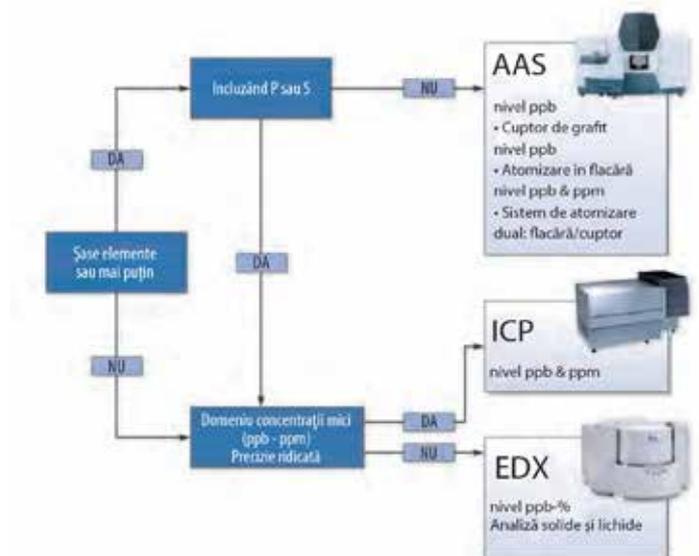


Figura 2: Îndrumări pentru alegerea tehnicii potrivite

Tehnică	Avantaje	Limitări	Aplicații	Sistem
AAS flacără – Spectroscopie de absorbție atomică în flacără	Foarte ușor de utilizat	Precizie scăzută	Ideală pentru laboratoare care analizează multe probe de maxim șase elemente și pentru determinarea concentrațiilor la nivel ppm	AA-7000F
	Acceptată la nivel general	Analiză secvențială		
	Metodă de referință în multe domenii	Utilizare gaz inflamabil		
	Gamă largă de aplicații			
GFAAS – Spectroscopie de absorbție atomică cu cuptor de grafit	Necostisitoare	Domeniu de măsurare limitat	Ideală pentru laboratoare care analizează multe probe de maxim șase elemente la limite de detecție scăzute cu concentrații tipice la nivel ppb	AA-7000G + GFA-7000
	Limite de detecție scăzute	Cantitate de probe limitată comparativ cu sistemele AAS flacără sau ICP-OES		
	Gamă largă de aplicații			
	Operare nesupravegheată			
ICP-OES – Spectroscopie de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv	Viteză mare de analiză	Investiție inițială mai ridicată	Ideală pentru laboratoare care efectuează analize multi-element pe un număr ridicat de probe, la nivel ppm până la ppb	ICPE-9000
	Analiză multi-element simultană			
	Cea mai mare cantitate de probe			
	Cel mai extins domeniu de analiză			
	Documentare corespunzătoare			
	Gamă largă de aplicații			
	Operare nesupravegheată			
	Analiză calitativă și cantitativă			
ED-XRF – Spectrofluorimetrie de raze X cu dispersie de energie	Ușor de utilizat	Precizie redusă la niveluri de concentrație mici	Ideală pentru laboratoare care efectuează analize rapide, la nivel superior ppm până la %, fără pregătire a probelor	EDX-720P/800P
	Analiză nedestructivă			
	Rapidă			
	Fără pre-tratare a probei			

Tabelul 1: Prezentare generală a avantajelor și limitărilor

comutarea complet automată de la modul flacără la modul cuptor de grafit și optimizarea în funcție de element a poziției atomizorului. Sistemul include două metode de corecție de background pentru determinarea concentrațiilor elementelor în probe cu matrice complexe. Corecția de background cu lampă de deuteriu este utilă pentru compensarea interferențelor spectrale generate de absorbția moleculară și dispersia cauzată de particule. În plus, tehnica de mare viteză Self-Reversal (tehnică cu impulsuri mari de curent) compensează interferențele cauzate de linia de absorbție suprapuse și background structurat.

ICP-OES: spectroscopia de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv

Spectroscopia de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES) reprezintă măsurarea luminii emise de toate elementele prezente într-o probă introdusă într-o sursă ICP. Intensitățile de emisie măsurate sunt apoi comparate cu intensitățile probelor standard cu concentrații cunoscute pentru a obține concentrațiile elementelor în probele necunoscute. Plasma de argon este generată de un câmp RF și gazul argon ionizat. Avantajul plasmă în comparație cu ale surse de energie

este temperatura înaltă de 10.000 K, care permite atomizarea completă a elementelor dintr-o probă cu un minim de interferențe.

ICPE-9000 utilizează o mini-torță cu consum redus de argon, montată în poziție verticală. Această configurație permite vizualizarea luminii emise de torță în două moduri. În cazul configurației ICP-OES tipice, lumina prin plasmă este vizualizată axial din partea de sus, rezultând o precizie maximă. În vederea radială din lateral, precizia este redusă cu un factor între 5 și 10. Cel mai eficient mod de funcționare permite vizualizarea plasmă din ambele direcții în cadrul unei analize, oferind cele mai bune capacități de detecție și cel mai mare domeniu de măsurare, așa-numitul mod de vizualizare duală.

Sistemul optic vidat al ICPE-9000 constă dintr-un spectrometru prevăzut cu o rețea de difracție și o prismă pentru separarea lungimilor de undă individuale ale luminii și focalizarea pe suprafața detectorului CCD. Această configurație permite analiza multi-element simultană cu cel mai ridicat număr de probe. Pe lângă măsurările cantitative cu comparație cu curbele de calibrare ale probelor standard, sistemul permite și realizarea de analize

calitative.

Spectrofluorimetria de raze X (XRF)

Metoda XRF permite analiza compoziției pe elemente a probelor într-o mare varietate de aplicații. Utilizând această tehnică se pot realiza măsurări nedestructive și rapide ale probelor în stare lichidă și solidă. XRF se pretează în special la analiza domeniului de elemente de la sodiu/carbon până la uraniu, care acoperă majoritatea elementelor metalice.

În cazul unui spectrometru XRF cu dispersie de energie, precum EDX-720P/800P, tubul direcționează razele X pe probă, ejectând electronii de pe straturile inferioare ale atomilor. Atunci când electronii exteriori ocupă golurile lăsate de electronii ejectați, este emisă energie sub formă de raze X, care este măsurată de detectorul spectrometrului XRF. Intensitatea semnalului provenit de la fiecare element indică concentrația relativă a acestuia în probă. Spectrometrele XRF cu dispersie de energie, precum EDX-720P/800P, sunt aparate multifuncționale pentru analiză cantitativă ce utilizează probe standard pentru calibrare de înaltă precizie, precum și metoda fără standard de calibrare atunci când

nu sunt disponibile probe standard. Analiza simultană pe domeniul de la sodiu/carbon la uraniu este, de asemenea, posibilă.

Shimadzu este unul din producătorii de top de aparate de analiză la nivel internațional, stabilind de peste 40 de ani repere importante în domeniul spectroscopiei atomice. Oferind o gamă de produse de ultimă oră, ce aplică tehnici variind de la absorbția atomică în flacără și absorbția atomică de înaltă performanță cu cuptor de grafit, până la ICP-OES și spectrofluorimetria de raze X, Shimadzu pune la dispoziție soluții complete hardware și software pentru determinarea concentrațiilor elementelor în orice tip de probă.

Vinul grecesc

Determinarea acizilor organici din vin

Acizii organici contribuie în mod considerabil la calitățile de compoziție, stabilitate și organoleptice ale vinului, în special ale celui alb. Proprietățile de conservare ale acestora sporesc stabilitatea microbiologică. Astfel, vinurile albe seci care nu sunt supuse fermentației malo-lactice sunt mai stabile în ceea ce privește precipitarea tartratului acid de potasiu și a tartratului de calciu. Vinurile roșii sunt stabile la niveluri scăzute de aciditate datorită prezenței fenolilor.

Deoarece compoziția acizilor organici influențează în mod direct aroma și culoarea vinului, aceasta trebuie controlată cu atenție pentru a asigura derularea corespunzătoare a fermentației și a evita alterarea vinului (Tabelul 1).

Uniunea Cooperativelor Agricole din Peza, Grecia, are sediul la prefectura din Heraklion, Creta. Principalele produse oferite de aceasta sunt vinul și uleiul de măsline. Strângând materie primă de înaltă calitate de la producătorii locali, Uniunea Cooperativelor Agricole din Peza, Creta, asigură calitatea excelentă a acestor produse tradiționale pentru clienții săi. Vinurile roșii au statutul P.D.O. Peza (denumire de origine protejată Peza) din 1971, în timp ce

Acid organic	Motivul importanței pentru vin
Acetic	Monitorizat pentru evitarea alterării
Citric	Monitorizat pentru limite la export
Fumaric	Adăugat pentru a evita fermentația malo-lactică și a regla aciditatea
Malic	Determinat pentru a măsura derularea fermentației malo-lactice
Tartaric	Concentrația este utilă pentru dezacidificare și poate fi aplicată la testarea stabilității la rece

Tabelul 1: Motivele importanței acizilor organici din vin

vinurile albe au acest statut din 1982.

În colaborare cu N. Asteriadis S.A., Uniunea din Peza a dezvoltat în laboratorul său de control al calității o metodă HPLC rapidă și ecologică pentru determinarea acizilor organici din vin în baza cercetărilor Universității din Calabria [1]. Această metodă nu necesită solvenți organici periculoși. În plus, nu sunt utilizate substanțe-tampon, eliminându-se astfel nevoia de timp suplimentar pentru curățarea sistemului HPLC.

Experimental

Analizele au fost efectuate pe un sistem HPLC Shimadzu dotat cu un detector PDA (SPD-M20A). Separarea cromatografică a fost realizată pe o coloană Phenomenex Synergi Hydro-RP, 250 mm x 4,6 mm, 4 μm (Tabelul 2). Condițiile

detaiate de analiză sunt prezentate în paragraful următor:

Condițiile de analiză

Mod de analiză: Izocratic
 Fază mobilă: acid formic 0,1% în apă
 Debit fază mobilă: 0,5 ml/min
 Coloană: Phenomenex Synergi Hydro-RP, 250 mm x 4,6 mm, 4 μm
 Temperatură coloană: 35°C
 Detector: PDA SPD-M20A
 Lungime de undă detecție: 210 nm
 Timp total analiză: 20 min
 Volum injecție: 20 μl

Alegerea coloanei

Scopul a fost să se aleagă o coloană care poate funcționa în condiții apoase 100% fără a fi necesară adăugarea de sistem tampon fosforic. Utilizarea apei ca fază mobilă face ca echilibrarea inițială să fie mai rapidă și scurtează

timpul total al analizelor cotidiene, întrucât este eliminat timpul suplimentar necesar pentru curățarea sistemului de săruri nedorite. În plus, o fază mobilă compatibilă cu un detector LCMS și o sondă ESI a fost testată, având în vedere că acest aparat face parte din planurile de viitor ale Uniunii. Acidul formic a fost ales datorită proprietăților sale. Au fost testate două concentrații diferite (acid formic 0,1% și 0,5%) și cea mai bună separare a fost obținută la 0,1%. Aceste rezultate sunt în conformitate cu un studiu anterior efectuat de Gamoh et al [2].

Analizii polari nu sunt reținuți întotdeauna și adeseori nu se separă la un factor de capacitate satisfăcător pe coloanele C18. Synergi Hydro-RP este o fază chimic legată C18 complet inertizată (fază staționară „end-capped”) cu o grupare polară pentru o reținere extremă atât a compușilor hidrofobi, cât și a celor polari în condiții apoase 100%. Aria mare a suprafeței silice de 4 μm (475 m²/g), combinată cu o acoperire densă a fazei legate, permite o interacțiune considerabilă între analit și faza legată. Rezultă o fază C18 cu capacitate mare de reținere, care se pretează separării acizilor organici.

Prin trecerea unei faze mobile apoase 100% printr-o coloană C18 se poate obține o reținere îmbunătățită a compușilor polari.

Cu toate acestea, fazele C18 convenționale sunt slab umectate de fazele mobile apoase, astfel că liganzii C18 se vor aduna pe suprafața silice,

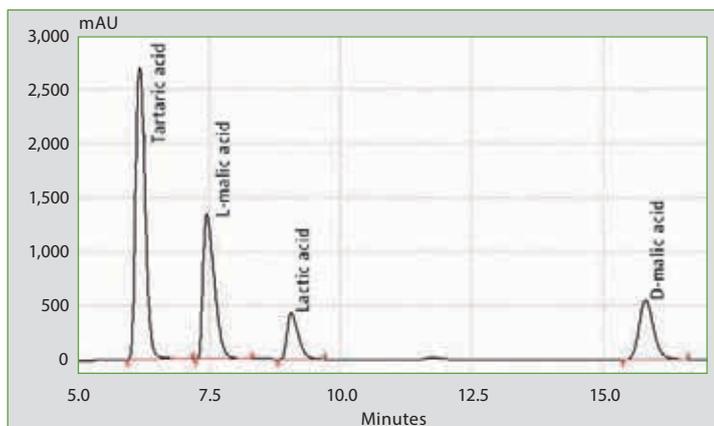


Figura 1: Cromatograma unei soluții mixte standard de acid D-malic 5 g/l, acid L-malic 5 g/l, acid lactic 5 g/l și acid tartaric 10 g/l

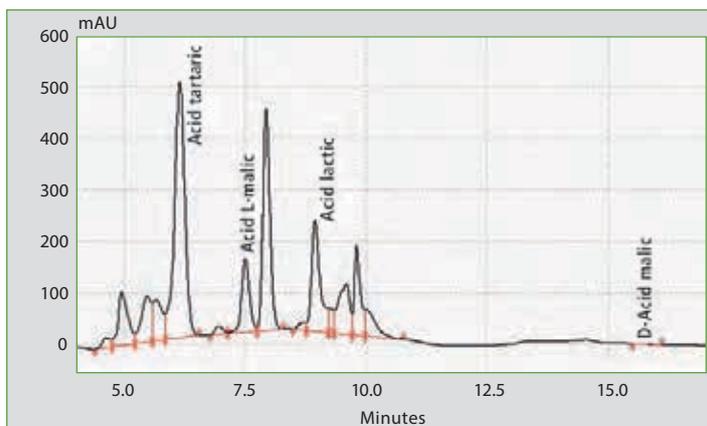


Figura 3: Cromatograma tipică a unei probe de vin

acest fapt având drept consecință pierderea completă a timpilor de retenție în timp. Adeseori, acizii organici sunt dificil de separat, întrucât polaritatea acestora afectează interacțiunea cu liganzii C18 convenționali, însă s-a observat că acest lucru este realizabil cu ajutorul Synergi Hydro-RP în condiții apoase 100%.

Procedura

Soluțiile standard de acid D-malic, L-malic, lactic și tartaric au fost preparate în apă ultrapură. Concentrațiile acidului D-malic, L-malic și lactic în soluțiile standard au fost de 0,5, 1, 2 și 5 g/l. Concentrațiile acidului tartaric în soluțiile standard au fost de 1, 2, 4 și 10 g/l. În Figura 1 este prezentată o cromatogramă a unei soluții mixte standard de acid D-malic 5 g/l, acid L-malic 5 g/l, acid lactic 5 g/l și acid tartaric 10 g/l. Crearea curbei de calibrare și cuantificarea s-au realizat automat utilizând software-ul LC.

Coefficienții de corelație și parametrii de controlul calității pentru toți acizii organici sunt prezentați în Tabelul 3. Coeficienții de corelație pentru toate

curbele de calibrare au fost excelente, după cum se poate observa în Figura 2.

Probele de vin au fost diluate 1:10 cu apă ultrapură și filtrate prin pori de 0,45 μm înainte de analiză. Din cauza diluării, a fost utilizat un factor de diluare 10 în vederea cuantificării. În Figura 3 este reprezentată o cromatogramă tipică a unei probe de vin.

Rezultatele cantitative și parametrii de controlul calității pentru produse tipice de vin sunt indicate în tabelul 4.

Concluzii

Metoda descrisă mai sus a fost dezvoltată și implementată cu succes în laboratorul de control al calității al Uniunii. Aceasta s-a dovedit a fi rapidă și precisă, fără a necesita solvenți organici sau intervale mari de timp pentru echilibrare și curățare. Linearitatea curbelor de calibrare pentru toți acizii organici a fost excelentă în domeniul măsurărilor, oferind o bază solidă pentru determinarea acizilor organici în vin.

Utilizarea unei coloane Phenomenex Synergi Hydro-RP cu dimensiunea particulelor de 4 μm s-a dovedit o

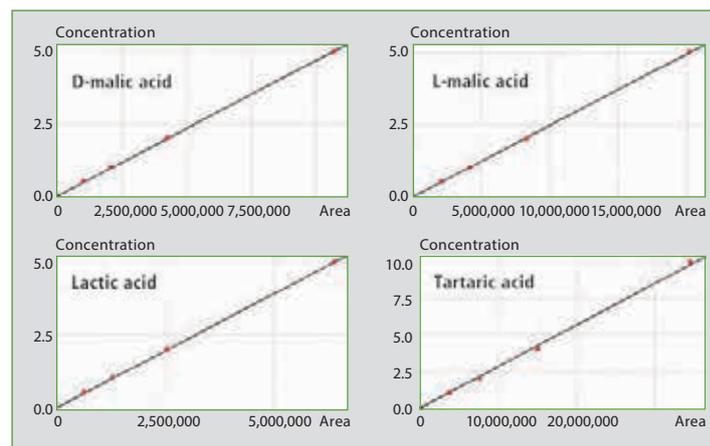


Figura 2: Curbele de calibrare pentru acizii D-malic, L-malic, lactic și tartaric

alegere foarte bună pentru acest tip de analiză. Această metodă, deși a fost dezvoltată folosind detecția UV, se pretează și sistemelor LC/MS. În viitor, cu ajutorul unui astfel de sistem, Uniunea își propune să obțină valori și mai bune pentru LOD* și LOQ**.

*LOD: limite de detecție
**LOQ: limite de cuantificare

Referințe

- [1] RT-OR5-ALTRO-CHIM/2, Rapporto Technico: Verifica Delle Metodiche Analitiche E Loro Applicazione A Vini Calabresi DOC, Progetto: LOGICA, Laboratorio Tecnologico Della Logistica In Calabria, Laboratorio Di Cosenza, R&D.LOG, Italia
- [2] K. Gamoh, H. Saitoh, H. Wada, Rapid Commun. Mass Spectrom. 17 (2003) 685-689
- [3] A. Rodriguez-Bernaldo de Quirós, M.A. Lage-Yusty, J. López-Hernández, Talanta 78 (2009) 643-646

Emmanouil G. Barbounis*, Konstantinos Tampouris*, Kleanthi Garefalaki, Georgios Koumantakis****

* Departamentul de Aplicații N. Asteriadis S.A.
** Uniunea Cooperativelor Agricole din Peza, Creta

Material umplutură	Dimensiune particule (μm)	Dimensiune pori (Å)	Volum pori (ml/g)	Aria suprafeței (m ² /g)	Încărcarea cu carbon (%)	Acoperire fază legată calculată (μmol/m ²)	End capping
Synergi Hydro-RP	4	80	1,05	475	19	2,45	hidrofilă

Tabelul 2: Specificațiile tehnice ale coloanei

Acid organic	Pantă (a)	R ²	Rezoluție	k'	Plăci teoretice	LOD (g/l)	LOQ (g/l)
D-malic	4,6697 x 10 ⁻⁷	0,99997	15,8	2,410	16500	0,05	0,14
L-malic	2,4624 x 10 ⁻⁷	0,99991	4,0	0,621	7000	0,08	0,23
Lactic	7,8443 x 10 ⁻⁷	0,99999	4,5	0,964	10000	0,03	0,09
Tartaric	2,8536 x 10 ⁻⁷	0,999	—	0,333	6300	0,55	1,68

Tabelul 3: Pantele curbelor de calibrare ([Acid organic] = a x Arie), coeficienții de corelație și parametrii de controlul calității pentru acizii organici. Limitele de detecție și cuantificarea sunt calculate prin înmulțirea deviațiilor standard reziduale ale curbelor de calibrare (Sy/x) cu 3,3, respectiv 10.

Vin	[Acid D-malic] (g/l)	[Acid L-malic] (g/l)	[Acid lactic] (g/l)	[Acid tartaric] (g/l)
Retsina	0,53	4,85	13,35	21,52
TTV	0,08	4,03	20,88	21,15
3-150	2,85	7,67	8,34	56,64
Parametrii controlul calității				
Rezoluție medie	7	1,6	1,0	0,9
k' mediu	2,5	0,7	1,0	0,35

Tabelul 4: Rezultatele cantitative și parametrii de controlul calității pentru câteva probe de vin

O abordare nouă pentru analiza reziduurilor de pesticide

Analiză cromatografică științifică și economică a reziduurilor de pesticide în produse organice cu matrice dificile

Produsele organice diferă de alte produse convenționale prin faptul că sunt produse și procesate respectând regulile agriculturii organice. Aceste reguli, printre altele, interzic utilizarea de pesticide. Conform Regulamentului CE nr. 889/2008, prezența cuantificabilă a unor resturi de pesticide într-un produs organic (rezultat pozitiv al analizei) conduce la o „suspiciune justificată”.

Diversele autorități de control în domeniu au opinii diferite cu privire la cantitatea maximă permisă în mg/kg de reziduuri de pesticide în produse organice, în timp ce „prezența cuantificabilă” (probabil corespunzând limitei de cuantificare) diferă, de asemenea, pentru pesticide. Întrucât limita de cuantificare (LOQ) pentru majoritatea pesticidelor este în prezent în jur de 0,010 mg/kg, în general autoritățile de control iau această valoare drept determinant pentru stabilirea apartenenței unui produs la clasa BIO. Una din cele mai mari asociații de procesatori organici – Bundesverband Naturkost Naturwaren (BNN)



Figura 1: Flacoane cu diferite matrice de legume și fructe

e.V., din Germania – a introdus următoarele principii pentru luarea deciziilor în legătură cu reziduurile de pesticide descoperite în produsele agricole: „... Valoarea orientativă pentru fiecare substanță (ingredient activ) este 0,010 mg/kg și se aplică pentru produsul neprocesat inițial... Nu este permisă prezența a mai mult de două pesticide în total...”

Specii de plante cu compoziție chimică foarte complexă

Este binecunoscut faptul că anumite specii de plante au compoziții chimice complexe, care conduc la matrice de probe foarte dificile la o preparare a probelor QuEChERS în timpul analizei cromatografice

a reziduurilor de pesticide. Astfel, se poate produce o supra/sub-estimare considerabilă a cantității de reziduuri de pesticide descoperite în astfel de probe de plante la analiza gaz și/sau lichid cromatografică dacă nu sunt utilizate curbe de calibrare ale unor matrice asemănătoare. Acest lucru este evidențiat în raportul emis de Laboratorul de referință al Uniunii Europene pentru Reziduuri de Pesticide: Analiza pesticidelor în plante de ceai și mușețel folosind spectrometria de masă în tandem cu lichid cromatografia și gaz cromatografia. Datele de validare a 86 de pesticide utilizând o metodă multi-reziduuri LC-MS/MS și GC-MS/MS pentru ceaiul verde, ceaiul roșu, ceaiul negru și mușețel au arătat că răspunsul GC pentru aceste pesticide a fost până la 9 ori mai ridicat în matrice decât în solventul pur, în timp ce răspunsul LC a fost de până la 4 ori mai scăzut în matrice decât în solventul pur. De asemenea, este binecunoscut faptul că metodele multi-reziduuri utilizate în prezent pentru analiza reziduurilor de pesticide

în alimente au fost dezvoltate datorită nevoii de a investiga prezența unui număr mare de pesticide la un preț rezonabil. În plus, utilizarea unei calibrări cu matrice similară corespunzătoare nu este întâlnită foarte des în practica obișnuită a laboratoarelor deoarece ar conduce la costuri ridicate dacă s-ar achiziționa probe martor (blank) corespunzătoare pentru fiecare măsurare. Cu toate acestea, Documentul nr. SANCO/12495/2011 prevede în mod strict utilizarea calibrării exacte cu matrice similară pentru matricele dificile.

Cuantificare incorectă posibilă

Toate aspectele menționate până acum pot conduce la cuantificarea incorectă a reziduurilor de pesticide dacă sunt utilizate metode multi-reziduuri și curbe de calibrare non matrice similare sau chiar de solvent, pentru analiza plantelor cu matrice dificile, în timp ce, pe de altă parte, autoritățile de certificare organică pot, în cazul unei minime încălcări a limitei maxime de reziduuri (MRL,

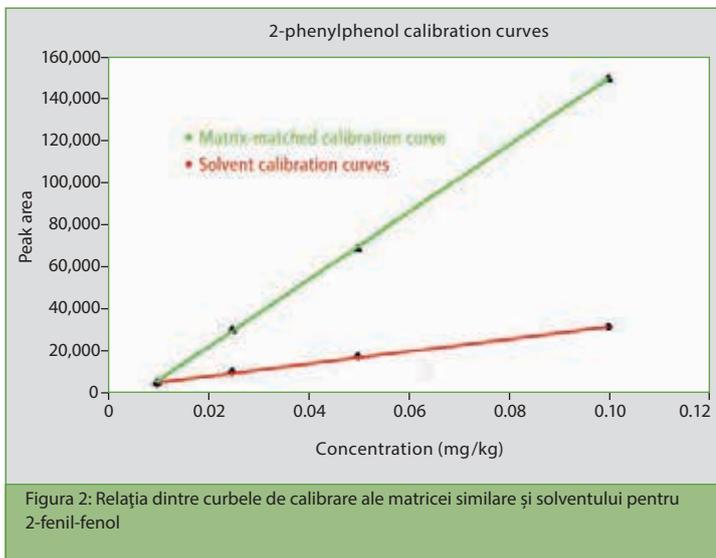


Figura 2: Relația dintre curbele de calibrare ale matricei similare și solventului pentru 2-fenil-fenol

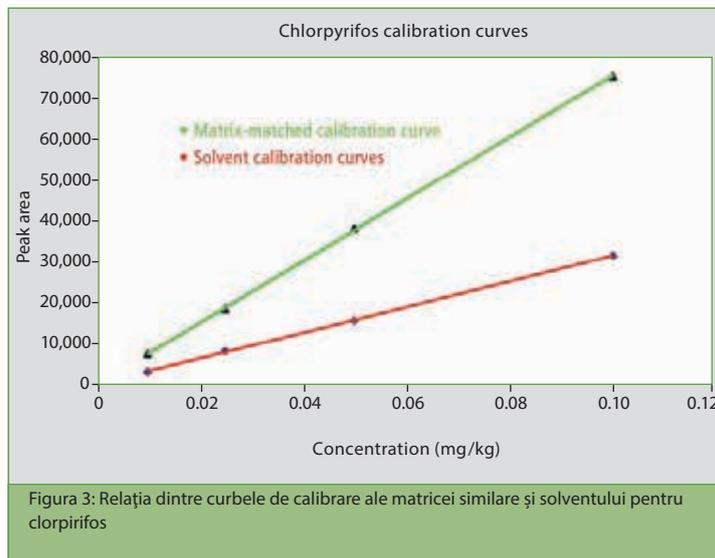


Figura 3: Relația dintre curbele de calibrare ale matricei similare și solventului pentru clorpirifos

0,011 mg/kg în loc de valoarea permisă de 0,010 mg/kg), să oprească vânzarea bunului în care au fost descoperite reziduuri excesive și să organizeze inspecții de contestare.

Luând în considerare că plantele medicinale și de ceai (produse care adeseori prezintă matrice complexe) sunt obținute în principal în urma culegerii din zone unde nu sunt folosite pesticide, dar unde acestea se pot regăsi în cantități mari în

cantități de reziduuri de pesticide situate în mod clar sub limitele maxime de reziduuri (în acest caz nefiind necesare analize suplimentare).

- Recalcularea cantităților de reziduuri descoperite utilizând metoda multi-reziduuri, folosind factorii care indică diferența de reacție a pesticidelor respective din matrice în comparație cu cele din solventul pur (acești

diverse concentrații ale unor soluții standard de pesticide, la 0,010, 0,025, 0,050 și 0,100 mg/kg, acestea fiind denumite „efectul matrice” (matrix effect, ME).

Metodă nouă în practică: analiza părăluței

Pentru a demonstra propunerea, autorii au efectuat analiza unei probe de *Bellis Perennis* (părăluță). Această analiză a fost realizată

Etapa 4

Pentru confirmarea acestor rezultate, ulterior s-a efectuat metoda adității de standard pentru aceste două pesticide. Extractul de probă de *Bellis Perennis* a fost împărțit în trei părți egale, după care au fost adăugate volume din ce în ce mai mari de soluții standard de pesticid în cele trei fragmente ale unei probe necunoscute, obținându-se trei concentrații diferite ale pesticidelor adăugate, 0,010, 0,025, respectiv 0,050 mg/kg.

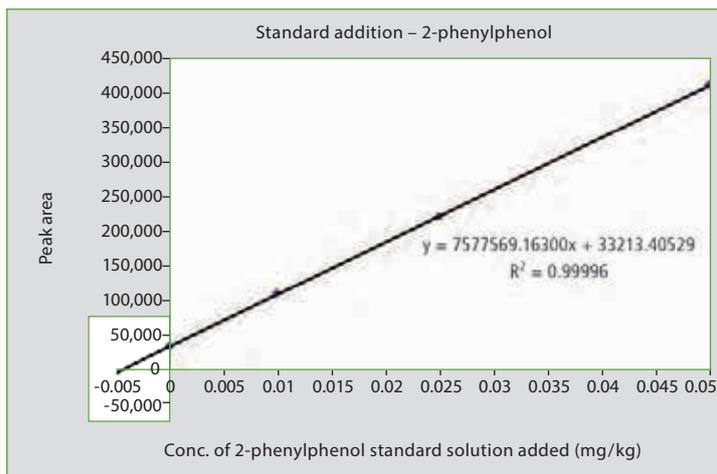


Figura 4: Rezultatele metodei de aditie de standard pentru 2-fenil-fenol

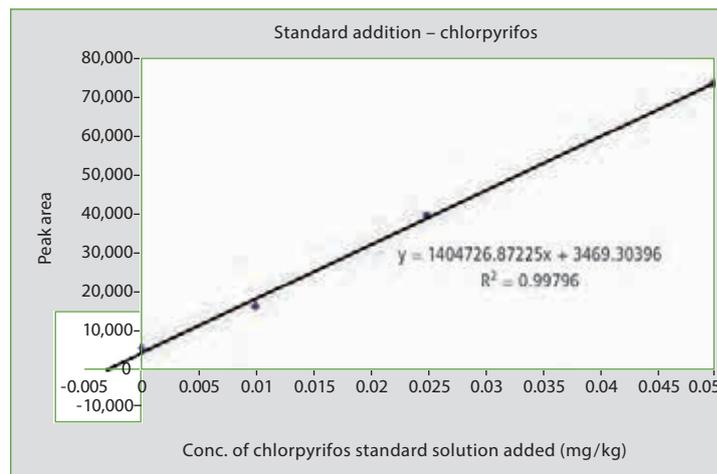


Figura 5: Rezultatele metodei de aditie de standard pentru clorpirifos

cazul unei poluări neașteptate din împrejurimi prin aer sau apă sau în cazul unor condiții atmosferice nefavorabile, este clar că există un risc mai mare de descoperire a unor cantități mari de reziduuri de pesticide, aproape de limita maximă de reziduuri, în aceste produse.

În aceste cazuri trebuie să se utilizeze metode mai precise decât cele multi-reziduuri pentru determinarea cantității de reziduuri de pesticide.

Nouă abordare în patru etape

Pentru analiza reziduurilor de pesticide în produsele organice cu matrice dificile, autorii sugerează adoptarea următoarei abordări științifice și economice – o analiză constând în mai multe etape în raport cu rezultatele obținute:

- Utilizarea metodelor multi-reziduuri pentru analiza produselor organice și posibila identificare a reziduurilor de pesticide.
- Estimare aproximativă cu privire la faptul că proba analizată este prea viciată sau înregistrează

factori pot fi obținuți în urma unor experimente interne sau identificați în literatura de specialitate).

- Dacă valorile recalculate indică, pentru unul sau două reziduuri de pesticide, cantități în jurul valorii 0,010 mg/kg (instrucțiunile BNN), efectuarea metodei adității de standard pentru determinarea cu cea mai ridicată precizie a cantității pesticidelor descoperite.

În vederea aplicării celei de-a treia etape a abordării propuse, laboratorul autorului a obținut curbe de calibrare ale unor matrice similare pentru matricele dificile, în special plantele de ceai. Ca matrice blank a fost utilizat un amestec din 13 plante, fructe, flori și rădăcini blank, pentru calibrarea cu matrice similară. Aceste produse au fost confirmate drept probe blank de laboratorul propriu și laboratoare externe. Au fost obținute rapoarte ale concentrațiilor calculate cu curbă de calibrare cu matrice similară și ale concentrațiilor calculate cu curbe de calibrare solvent pentru

folosind GCMS-TQ8030 Shimadzu cu un injector Optic 4, utilizând o metodă multi-reziduuri pentru determinarea a 124 de pesticide (incluzând izomeri). Proba a fost pregătită utilizând metoda europeană QuEChERS.

Etapa 1

Analiza multi-reziduuri a probei cercetate a condus la identificarea pozitivă a două pesticide în concentrații mai mari de 0,010 mg/kg, calculate conform calibrării cu solvent, și anume 2-fenil-fenol la 0,011 mg/kg și clorpirifos la 0,012 mg/kg.

Etapa 2

Eliminarea analizelor suplimentare nu se aplică.

Etapa 3

Autorii au obținut următorii factori ME pentru pesticidele identificate la 0,010 mg/kg: 2-fenil-fenol: 1,22 și clorpirifos: 2,39. Ambele concentrații ar fi așadar inferioare valorii de 0,010 mg/kg după împărțirea rezultatelor la factorii ME.

După ce analiza soluțiilor preparate a fost încheiată și s-au efectuat calculele, rezultatele au confirmat (după cum se poate vedea în graficele 2 și 3) că, de fapt, cantitățile reale ale reziduurilor de pesticide descoperite în proba de *Bellis Perennis* erau mai mici decât cantitatea maximă permisă de 0,010 mg/kg. Valorile corectate au fost 0,0044 mg/kg pentru 2-fenil-fenol și 0,0025 mg/kg pentru clorpirifos.

Abordarea propusă a arătat că un produs care nu ar fi putut fi comercializat drept organic în urma analizelor folosind metoda multi-reziduuri și calibrarea externă (în baza identificării pozitive a două pesticide având cantitățile > 0,010 mg/kg), satisface totuși regula produselor organice. Acest lucru a putut fi stabilit prin investiții moderat mai ridicate la nivel analitic pentru obținerea unor rezultate mult mai precise.

Economisirea de timp în analiza proteinelor

Digestia online a proteinelor cu Perfinity iDP



Figura 1: Sistemul Perfinity iDP

Analiza proteinelor este complexă și necesită mult timp. Majoritatea proteinelor care trebuie să fie analizate sunt molecule relativ mari, care necesită o pretratare. Clivajul enzimatic în fragmente mai mici reprezintă o procedură comună. Pe lângă metodele chimice și, prin urmare, relativ drastice, reacțiile enzimatică sunt utilizate la scară largă în laboratoarele biochimice și au dovedit că oferă rezultate reproductibile. Problema este că, adeseori, procesele de clivaj enzimatic

consumă mult timp, întrucât necesită incubarea proteinei cu o enzimă specifică. Clivajul selectiv al unei proteine, fără denaturarea acesteia, poate dura 24 de ore sau mai mult.

Digestia triptică este utilizată frecvent. Denumirea acesteia este derivată de la tripsină, o endopeptidază care clivează proteinele în locuri specifice ale moleculei. Reacții similare au

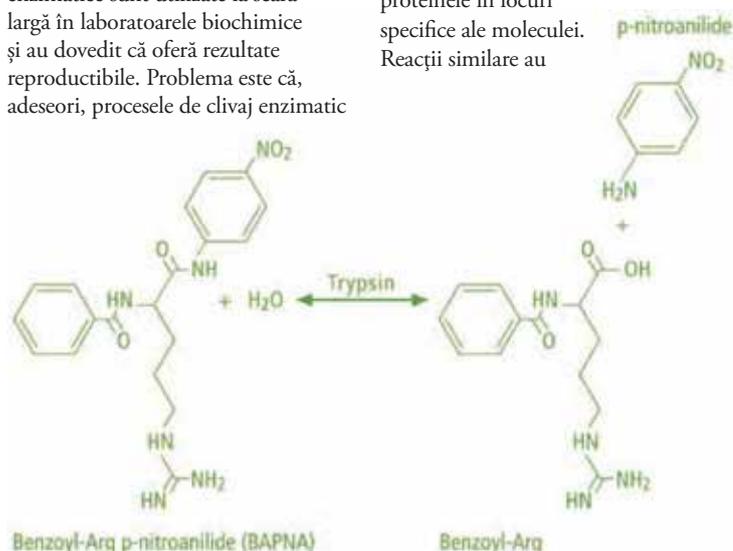


Figura 2: Ecuția reacției testării activității tripsinei de către BAPNA

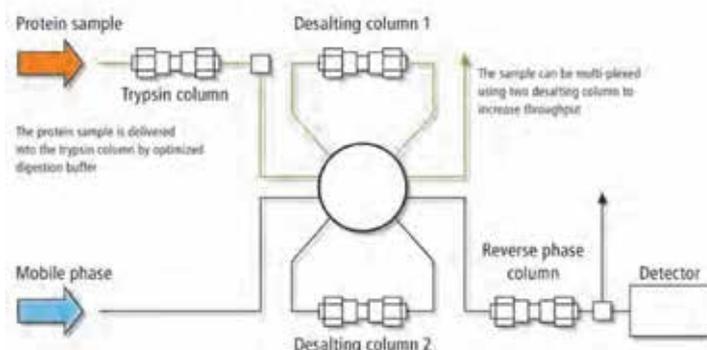


Figura 3: Schema structurii sistemului Perfinity iDP

Funcția endopeptidazelor

Endopeptidazele sunt substanțe importante în secvențierea analitică chimică a proteinelor. Proteinele clivate (denaturate) sunt hidrolizate cu ușurință și se leagă de moleculele de apă. În tractul intestinal, tripsina clivează selectiv legăturile peptidice în aminoacizii esențiali lizină, arginină, precum și cisteină modificată.

loc în tractul intestinal uman în timpul digestiei proteinelor. Acestea sunt binecunoscute sub aspectul mecanismului și funcționării. Din experiență însă, este mult mai dificil de anticipat cu exactitate sau de descris astfel de procese pentru proteine necunoscute și de efectuat reacțiile în eprubete. De asemenea,

nu se pot anticipa reproductibilitatea sau chiar datele statistice pentru astfel de reacții.

Coloană specială pentru digestia triptică online a proteinelor

Experimentele pentru accelerarea digestiei enzimelor sau pentru derularea acesteia în fază staționară nu sunt o noutate. Însă, mulțumită progreselor referitoare la fazele staționare HPLC, în prezent este posibil să se producă o coloană specializată pentru digestia triptică online a proteinelor.

De la ideea inițială a unei coloane fixe cu tripsină, până la dezvoltarea

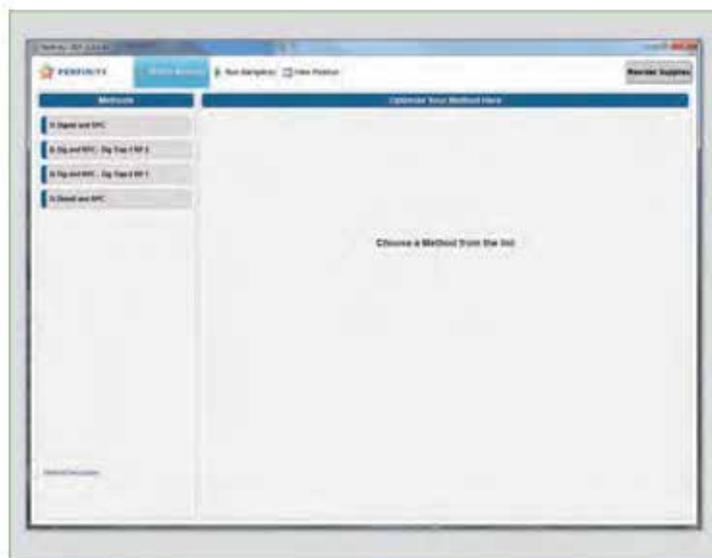


Figura 4: Primul ecran al software-ului Perfinity iDP

sistemului Perfinity iDP™ (Perfinity iDP – *integrated Digestion Platform*) descris în prezentul articol, s-a parcurs o cale lungă, ce rămâne deschisă: timpii de digestie în coloană trebuie optimizați pentru proteine individuale. Printre problemele ce se pun în acest context se numără: Cât timp trebuie să rămână proteina în coloană pentru a fi digerat complet? Care este timpul optim de digestie și ce concentrații pot fi suportate? Câte cicluri de digestie pot fi efectuate folosind o coloană? Cum se poate realiza testarea metodei și ce implică controlul calității?

Hardware, software, kit de aplicație

Nu ar trebui să încercăm să răspundem la toate aceste întrebări în cadrul prezentului experiment, însă sistemul Perfinity iDP oferă o combinație de hardware HPLC, coloane, amestecuri tampon și o interfață software intuitivă care simplifică o parte importantă a analizei proteinelor: pregătirea probelor pentru analiza MS/MS sau controlul calității pentru producția biotehnologică a proteinelor.

Pe lângă elementele hardware menționate aici, sistemul include și un kit de aplicație, format din coloana cu tripsină și amestecurile



Figura 5: Detaliile metodei preconfigurate standard

și o altă fază mobilă sunt utilizate pentru transferul fragmentelor de proteină digerată printr-o valvă suplimentară și o coloană de desalinizare din partea inferioară a sistemului, în coloana de separare propriu-zisă. Separarea se produce într-un amestec acetonitril/tampon adecvat pentru LCMS/MS. În plus față de detectorul UV care face parte din sistem, se poate conecta cu mare ușurință un spectrometru de masă. Acesta este, cu siguranță, detectorul preferat pentru detectarea și identificarea unui număr cât mai mare de peptide.

Interfață simplă pentru LabSolutions

Întrucât majoritatea analiștilor de proteine consideră că elementele complexe și controlul unui sistem HPLC prezintă doar un interes limitat, interfețele simple, lipsite de toți parametrii neesențiali, reprezintă o cerință absolută pentru utilizarea sistemului în analize de rutină.

Ecranul de pornire al software-ului Perfinity iDP îndeplinește aceste cerințe (figura 4).

Software-ul prezintă o interfață special adaptată pentru software-ul LabSolutions LC Workstation.

Pentru orice persoană interesată de HPLC, este evident că setările pot fi completate, de asemenea, în software-ul LabSolutions. Posibilitatea de a porni analiza folosind metode preconfigurate este de mare ajutor pentru începătorii în acest domeniu de aplicații analitice și nu ar trebui să fie subestimată. Pe lângă meniul principal, se pot adapta

efectiv. Reproducibilitatea se referă, de asemenea, la rezultate obținute în diverse zile neconsecutive pentru aceeași probă. Acest fapt ilustrează calitatea acestei metode.

Cu toate acestea, detectorul UV nu indică numeroasele produse de digestie mai mici care pot fi detectate ulterior folosind un MS/MS foarte precis. De cealaltă parte, complexitatea limitată a fost avantajoasă în timpul primelor experimente folosind sistemul (și cu siguranță acest lucru este valabil și în alte cazuri).

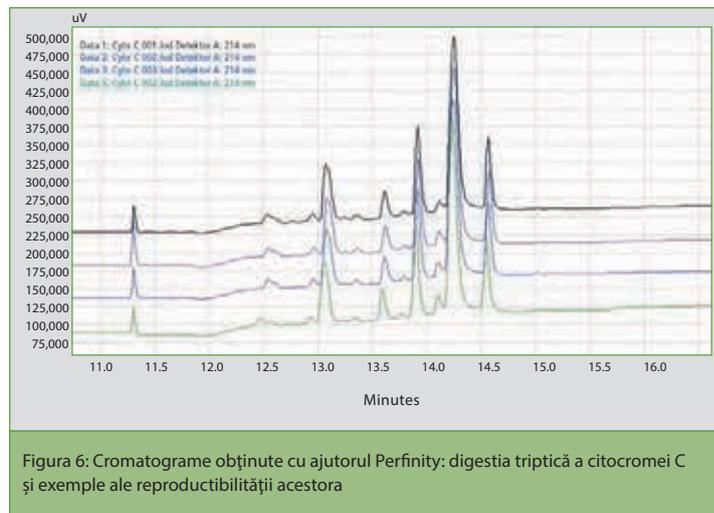


Figura 6: Cromatograme obținute cu ajutorul Perfinity: digestia triptică a citocromei C și exemple ale reproducibilității acestora

parametri individuali și salva metode create de utilizatori.

La fel ca metodele preconfigurate standard, aceste metode create de utilizatori sunt disponibile ulterior în caseta combo. Posibilitatea de adaptare a timpilor de digestie, în special, poate oferi rezultate interesante care pot permite evaluarea valorii adevărate a sistemului pentru analiza proteinelor.

Rezultate rapide

Utilizând metoda preconfigurată standard pot fi obținute rezultate pentru diverse proteine. Următoarea cromatogramă indică digestia triptică a citocromei C. Pe lângă o economisire considerabilă de timp (timp de digestie de 8 minute în coloană, comparativ cu 20 de ore la 37°C folosind abordarea convențională), reproducibilitatea metodei este remarcabilă. Ne putem întreba dacă analiștii de proteine experimentați pot obține astfel de rezultate cu o abordare manuală și cât de des se întâmplă acest lucru

Utilizarea tripsinei și a digestiei triptice reprezintă doar una din abordările posibile în domeniul analizei proteinelor, concepută în vederea simplificării acestui domeniu complex de aplicații. Bineînțeles, în practică sunt utilizate diverse enzime pentru digestia proteinelor.

Mulțumiri

Shimadzu Europa mulțumește sincer colegilor de la Shimadzu Scientific Instrument (Maryland, SUA), precum și Perfinity Biosystems (Universitatea Purdue, Indiana, SUA) pentru dezvoltarea sistemului.

Perfinity iDP™ este o marcă înregistrată a Perfinity Biosystems.

Software-ul Rapid Scan pentru IRTracer-100

Noul spectrofotometru FTIR IRTracer-100 este un aparat multifuncțional în combinație cu noul software LabSolutions IR. Combinând viteza ridicată, precizia și rezoluția cu o capacitate optimizată pentru upgrade și un software ușor de utilizat, IRTracer-100 obține rapid

Utilizând software-ul suplimentar „Rapid Scan”, IRTracer-100 își demonstrează avantajele în analizele cinetice rapide. Sunt înregistrate până la 20 de spectre pe secundă iar acestea sunt evaluate sub aspectul intensității, al ariei semnalului, al raportului dintre două picuri fie în baza intensității fie a ariei, precum și al TAC (curba absorbției totale). Aceste valori sunt cerințe de bază pentru analizele cinetice.

Rezoluția, numărul de măsurări și viteza oglinzii sunt parametrii care influențează viteza de măsurare. O rezoluție de 16 cm^{-1} și o viteză a

oglinzii de 40 mm/s conduc la un timp de achiziție de 0,05 secunde per spectru.

„Rapid Scan” se pretează măsurărilor în infraroșu îndepărtat (FIR),

și ușor date de înaltă calitate pentru probe în domenii precum cel farmaceutic, alimentar, chimic și electronic.

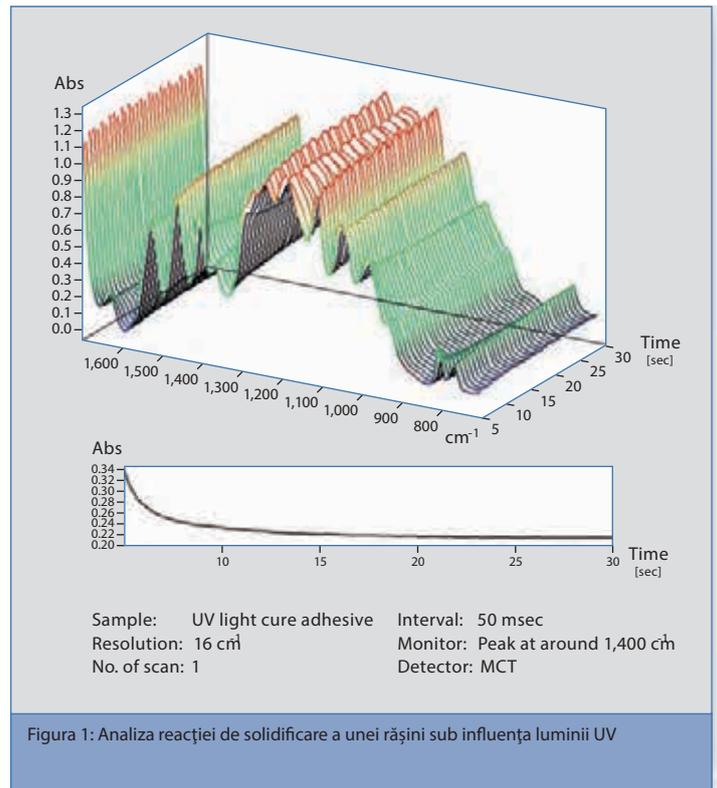


Figura 1: Analiza reacției de solidificare a unei rășini sub influența luminii UV

infraroșu mediu (MIR) și infraroșu apropiat (NIR). În infraroșu apropiat, domeniul valorilor măsurate influențează viteza de măsurare.

Figura 1 ilustrează cinetica rapidă a modificărilor unei rășini sub influența luminii UV. Spectrele sunt înregistrate la intervale de 50 ms. Mai jos este prezentată

analiza semnalelor la 1.400 cm^{-1} și profilul de absorbție în timp – 30 de secunde în cazul prezent. Software-ul „Rapid Scan” este așadar recomandat pentru analiza de cinetică rapidă într-un interval de timp mai mic de o secundă.

Shimadzu live

HTC-13 & HTSP-3

29.01-31.01.2014
Bruges, Belgia
htc-conference.org

JEC Composites

11.03-13.03.2014
Paris, Franța
jecomposites.com

Nordic Proteomics Conference (NPC)

11.03-13.03.2014
Turku, Finlanda
nordicproteomics2014.org

ESAS & CSSC

16.03-21.03.2014
Praga, Republica Cehă
esas-cssc2014.spektroskopie.cz

analytica 2014

01.04-04.04.2014
München, Germania
analytica.de

Dacă doriți să primiți Shimadzu News periodic, vă rugăm să ne trimiteți adresa dvs. poștală la adresa electronică: shimadzu-news@shimadzu.eu

Puteți, de asemenea, să vă abonați la newsletter-ul nostru la www.shimadzu.eu/newsletter

