Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Применение масс-спектрометрии для анализа безопасности пищевых продуктов.

Владимир Капшуков.

Москва, октябрь 2007 г.

©2007 Waters Corporation

Области применения

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Пищевые продукты и напитки
  - Безопасность продуктов
    - Пестициды
    - Микотоксины
    - Остаточные количества вет.препаратов и др.
    - PAH
  - Производство продуктов
    - Качество продуктов
    - Происхождение и аутентичность

©2007 Waters Corporation

Waters – производитель решений

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- ВЭЖХ и UPLC
- Квадруполи (одиночные и тандемные)
- GC-MS/MS тандемные квадруполи
- GC MS высокого разрешения (TOF и магнитный сектор)
- TOF и Q-TOF
- Пробоподготовка (ТФЭ – Oasis)
- Специальное П/О для обработки данных в лаборатории

©2007 Waters Corporation

Законодательные акты о безопасности продуктов

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

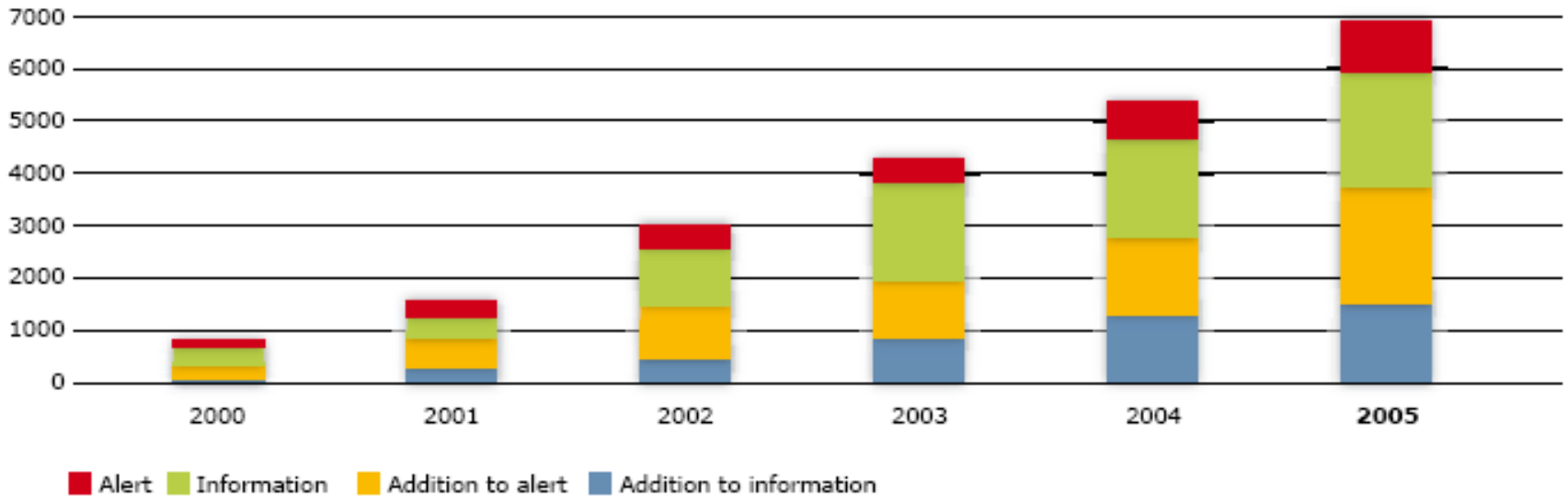
- Безопасность пищевой продукции в Европе регулируется очень жестко
- Большое количество известных токсинов – диоксины, нитрофураны, запрещенные красители, консерванты.
  - *Недавние пополнения:* никотин в яйцах, бензол в фруктовых напитках, вещества из упаковочных материалов
- Недостаточность публичной информации и уверенности в безопасности
- Очевидный конфликт между интересами производителя и потребителя.

©2007 Waters Corporation

Рост извещений о токсичности продуктов

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Evolution of the number of notifications since 1999



Year	Alert	Information	Addition to alert	Addition to information	Total
2000	133	340	253	98	**824**
2001	302	406	549	310	**1567**
2002	434	1092	1032	466	**3024**
2003	454	1856	1098	878	**4286**
2004	692	1897	1449	1329	**5367**
2005	**956**	**2202**	**2218**	**1521**	**6897**
2005 increase (%)	+ 38.2%	+ 16.1%	+ 53.1%	+ 14.4%	+ 28.5%

©2007 Waters Corporation

Food Safety

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- **Waters является хорошо известным производителем в области безопасности пищевых продуктов.**
  - **Разработаны методы для большинства классов вредных веществ.**
  - **Поддерживается кооперация со многими ключевыми лабораториями и организация**

- **Главные заказчики оборудования**
  - Правительственные агенства и министерства
    - Community Reference Laboratory, National Reference Laboratory, State Laboratory, Public Health Laboratory, Food Inspection Agency (Import / Export), Fisheries
  - Контрактные и исследовательскте лаборатории
  - Производители пищевых продуктов и напитков

©2007 Waters Corporation

Требования к оборудованию

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Достоверность результатов
- Чувствительность
  - Для многих веществ допустимые пределы концентраций очень малы
- Скорость анализа, большое количество исследуемых компонентов в образце
- Сложная пробоподготовка
- Недостаток опытных операторов

©2007 Waters Corporation

Масс-спектрометрия – ключевой метод

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

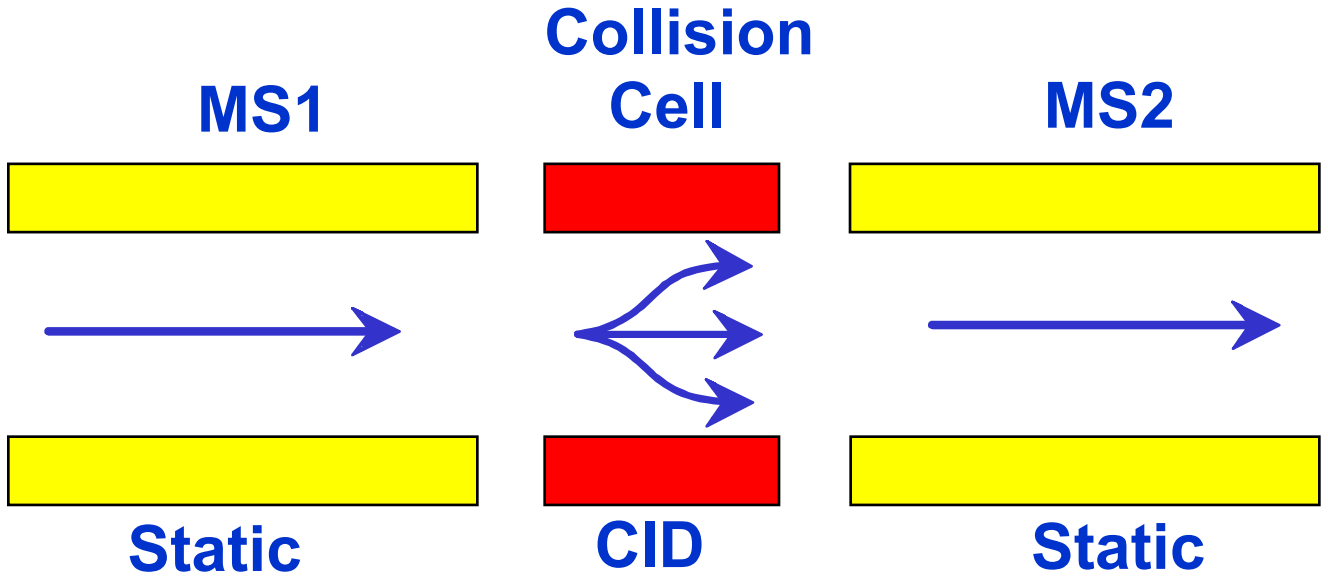
- ACQUITY + TQD
- ACQUITY UPLC + Xevo TQ

©2007 Waters Corporation

Почему масс-спектрометрия?

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Тандемный квадруполь
- Высокая чувствительность
- Надежная идентификация молекул по массе целой молекулы и ее фрагментам
- Высокая линейность (5 порядков величины) для количественного обсчета
- Селективность и меньшее влияние матрицы образца



©2007 Waters Corporation

Группы исследуемых токсичных веществ

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Пестициды
- Ветеринарные препараты
- Химические загрязнители (ПАУ)
- Диоксины
- Влияние упаковочных материалов
- Происхождение/аутентичность
- Природные токсины (микотоксины)

©2007 Waters Corporation

Ключевые лаборатории в Европе

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

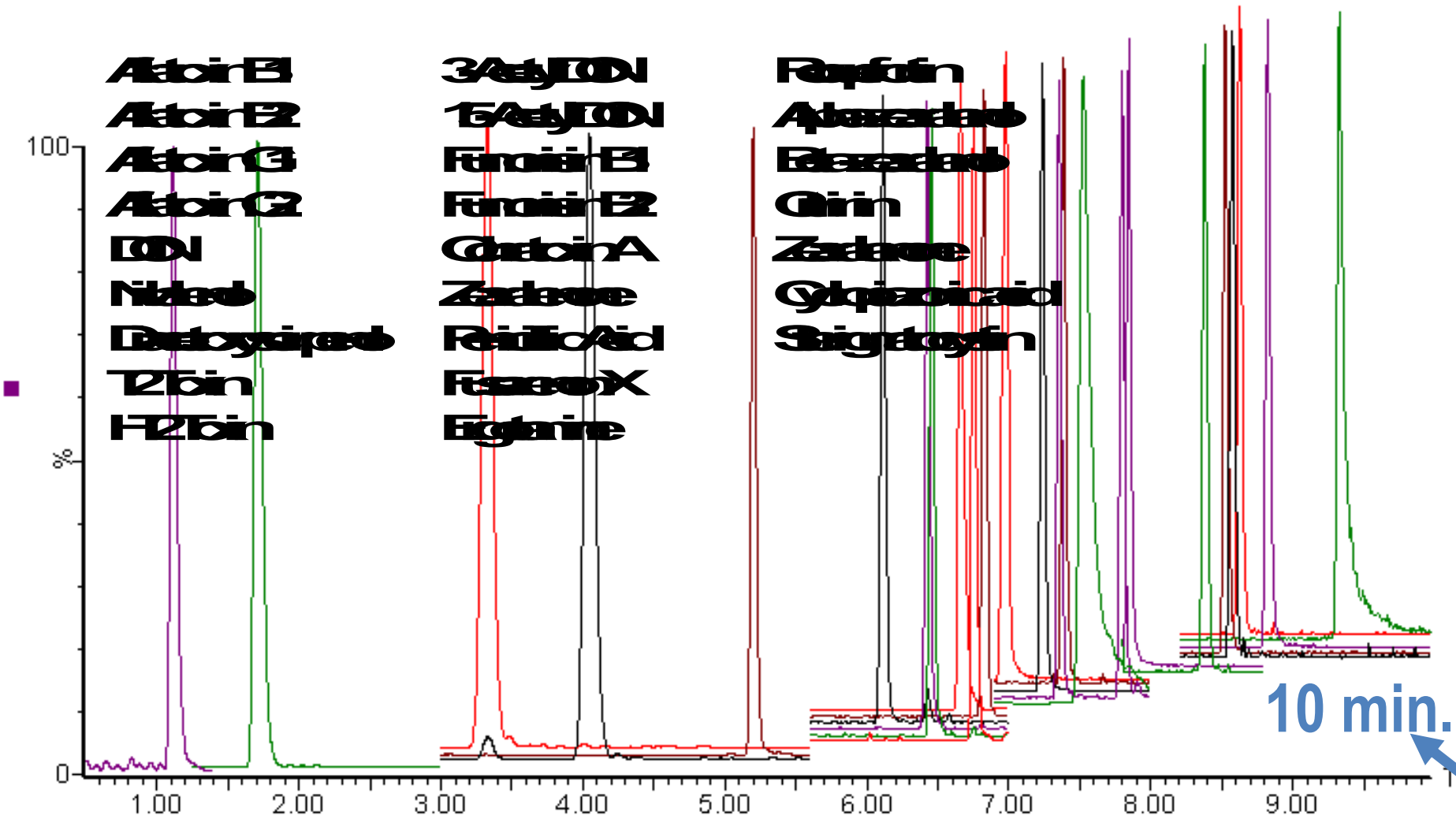
- VWA, Amsterdam, The Netherlands
  - 200 Pesticides on UPLC-QPXE
- KeyLab, Italy
  - 150 Pesticides on Alliance-Q Premier
- Service de Protection de la Consummation, Geneva, Switzerland
  - 250 compounds for routine screening and conformation on UPLC-Qmicro, two runs, 88 herbicides, 146 fungicides/insecticides
- Research institute for pesticides and water, Jaume, Spain
  - 53 Pesicides on HPLC- Qmicro
- CSL, York, UK
  - Pesticide Screening on UPLC-LCT
- Antwerpse Water Werken
  - Pesticides at trace level in drinking water

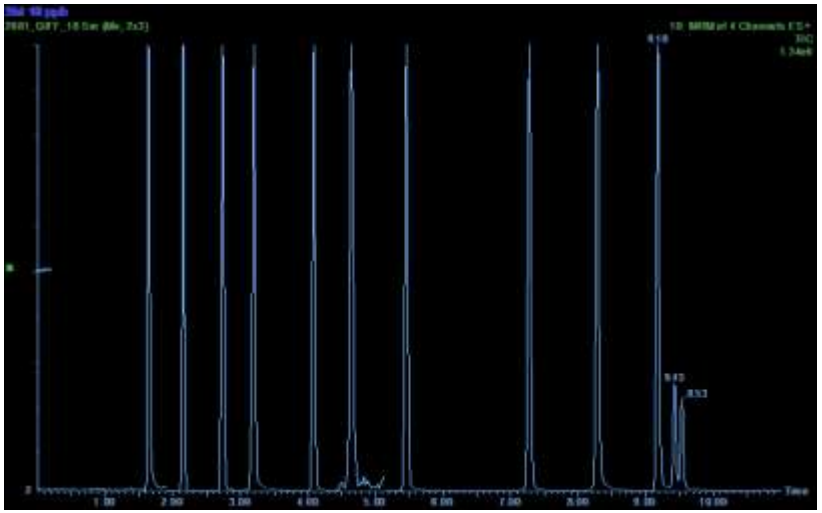
©2007 Waters Corporation

26 микотоксинов за 10 минут!

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Rapid Multi-Mycotoxin Analysis using ACQUITY UPLC™ and Quattro Premier XE 72000xxxxEN





TNO Quality of Life

быстрый UPLC-MS/MS метод для определения запрещенных красителей в пищевых продуктах

- 20 sudan dyes за 10 минутный анализ

©2007 Waters Corporation

Метод для определения 400 пестицидов (TQD и Xevo TQ)

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Высокая скорость сканирования – 10 000
- Минимальные dwell time – 20 mc
- Работа в паре с Acquity UPLC
- Простая пробоподготовка DisQuE (QUCHERS)

Все вместе позволяет с высокой достоверностью выполнить анализ 400 пестицидов за одну инжекцию.

©2007 Waters Corporation

QuEChERS

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Метод **QuEChERS** разработанный Anastassiades, Lehotey et al[1] at the USDA

- **Quick** – быстрый (один химик приготовит 10 GC/LC экстрактов менее чем за час)
- **Easy** - легкий (исключены многократные переносы пробы)
- **Cheap** - дешевый (даже с использованием криогенного измельчения - около €1)
- **Effective** – эффективный (дает хороший выход для широкого спектра пестицидов)
- **Rugged** – устойчивый (хорошо воспроизводится)
- **Safe** – безопасный (потребление растворителей сокращается более чем на 90%)

- Ref: [1] Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., and Schenck, F., Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce (QuEChERS method);

  J. AOAC Int., 86 (2003) 412-431.
- Further developments by

  Lehotay et al; JAOAC Int., 88 (2005).

©2007 Waters Corporation

QuEChERS

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

SAMPLE PREPARATION
Fruit & Vegetables Chopped & Frozen
Milled with Dry Ice

EXTRACTION/PARTITION
15 g Sample SHAKEN VIGOROUSLY for 1 minute by hand
with Acidified Acetonitrile, Salting Agent, Buffer & Internal standard
Centrifuge

CLEAN UP
Portion SHAKEN VIGOROUSLY for 20 seconds
with Drying Agent & PSA
Centrifuge

GC-MSMS

LC-MSMS

©2007 Waters Corporation

Пробоподготовка DisQuE

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 50 мл туба для экстракции, содержащая 1.5 г ацетата натрия и 6 г сульфата магния;
- 2-мл пробирка для очистки, содержащая 50 мг PSA (Primarily-Secondary Amine SPE Sorbent) и 150 мг безводного сульфата магния.

ПРОЦЕДУРА ПРОБОПОДГОТОВКИ.

- Добавьте 15 г гомогенизированного образца в тубу 1.
- Добавьте 15 мл раствора 1% уксусной кислоты в ацетонитриле.
- Добавьте внутренний пре-экстракционный стандарт.
- Взбалтывайте 1 минуту, а затем процентрифугируйте в течении 1 минуты при 1500 об.
- Перенесите 1 мл экстракта в пробирку 2.
- Взбалтывайте 1 минуту, а затем процентрифугируйте в течении 1 минуты при 1500 об.
- Перенесите 250 мкл в пробирку автоинжектора.
- Добавьте пост-экстракционный внутренний стандарт.
- Если необходимо, разведите.

Приготовленный таким образом образец анализируйте например методом Waters, позволяющим качественно и количественно определить до 400 пестицидов за одну инжекцию на уровне концентраций сотые доли пкг/мкл.

©2007 Waters Corporation

Анализ PAHs на GC-MS/MS

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

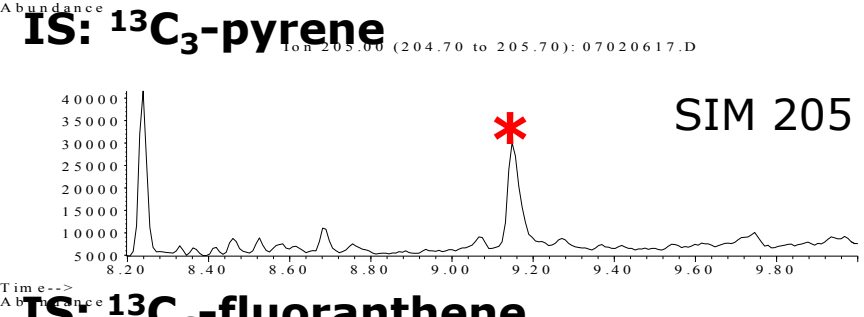
- PAHs occur in the food chain largely by two routes
  - PAHs are lipophilic and will bio-accumulate in adipose tissue
  - Processing such as smoking, grilling and smoke-drying can produce form PAHs in processed food
- Analysis of PAHs in foodstuffs has various challenges
  - Efficient separation of the target list compounds
  - Achieving required sensitivity for some compounds
  - Meeting legislative limits in complex food matrices
- **Waters Application Note 720001899EN**
  - **The use of tandem quadrupole GC/MS/MS for the determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in foodstuffs**

©2007 Waters Corporation

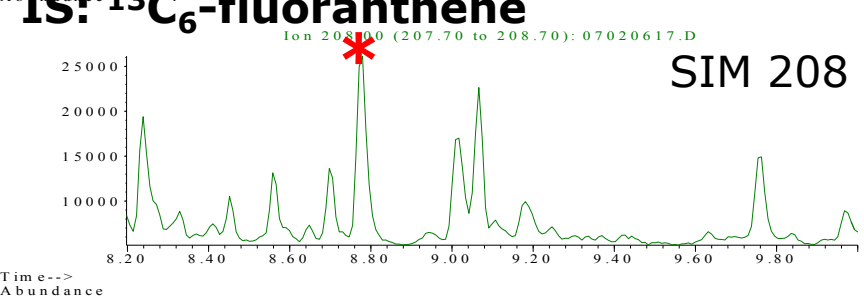
Традиционный GC/MS Analysis

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

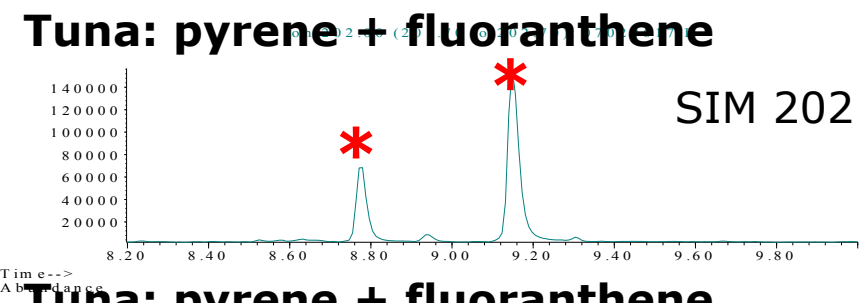
IS: $^{13}C_3$-pyrene



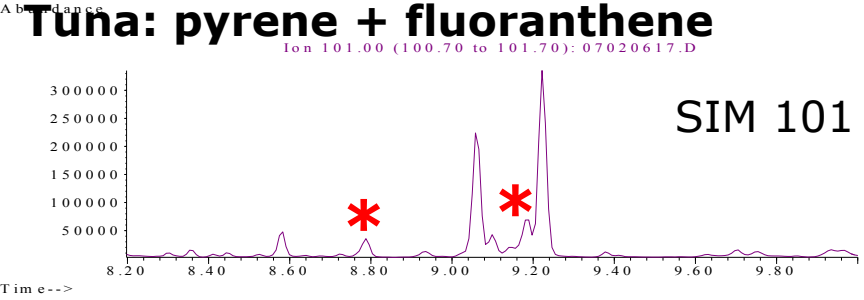
IS: $^{13}C_6$-fluoranthene



Tuna: pyrene + fluoranthene



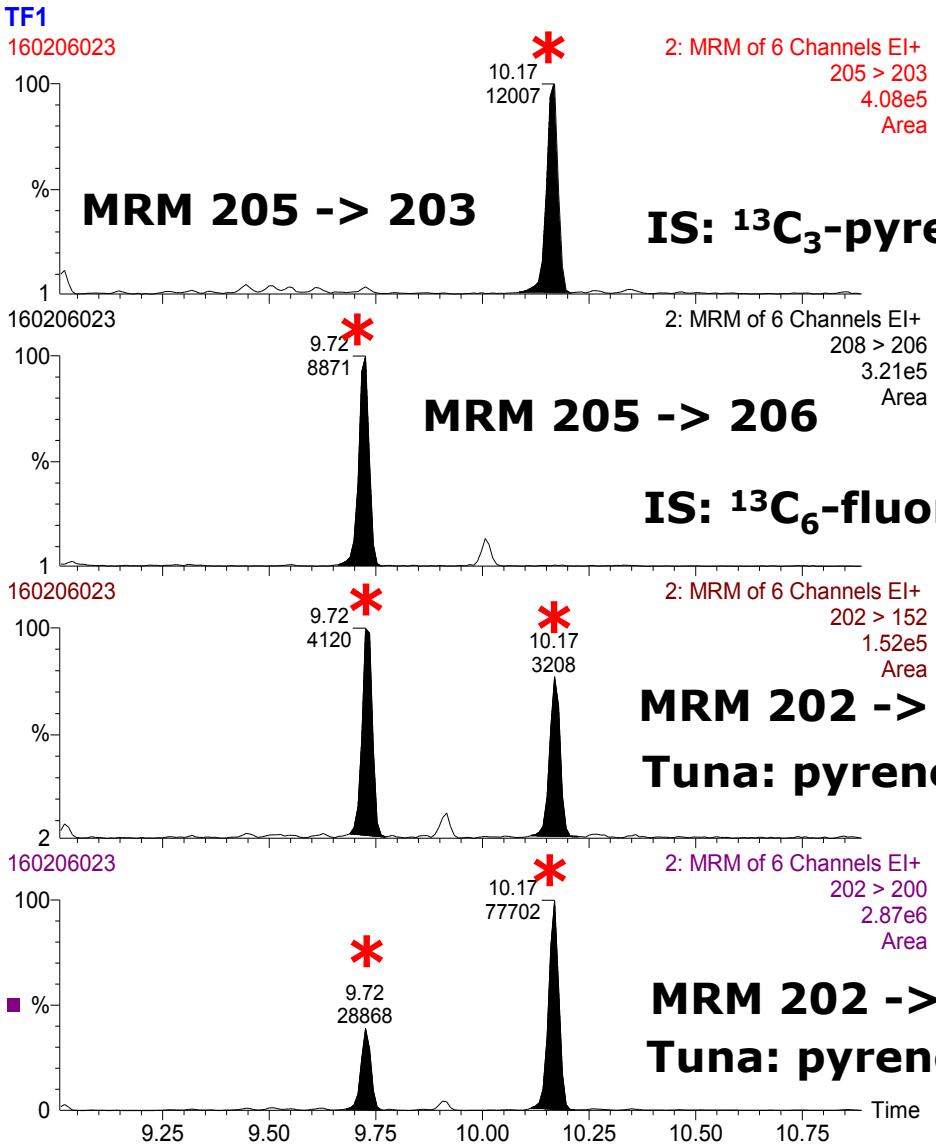
Tuna: pyrene + fluoranthene



- Ионизация электронным ударом PAHs обычно дает молекулярные ионы, практически без фрагменов.
- Идентификация затруднена
- Отклик слабый и может маскироваться материалом матрицы.
- The m/z 208 and 101 traces show potential interferences
- MS/MS фрагментируя молекулы …
- Уменьшает влияние фона
- Производит специфичные и интенсывные фрагменты

©2007 Waters Corporation

GC-MS/MS Analysis



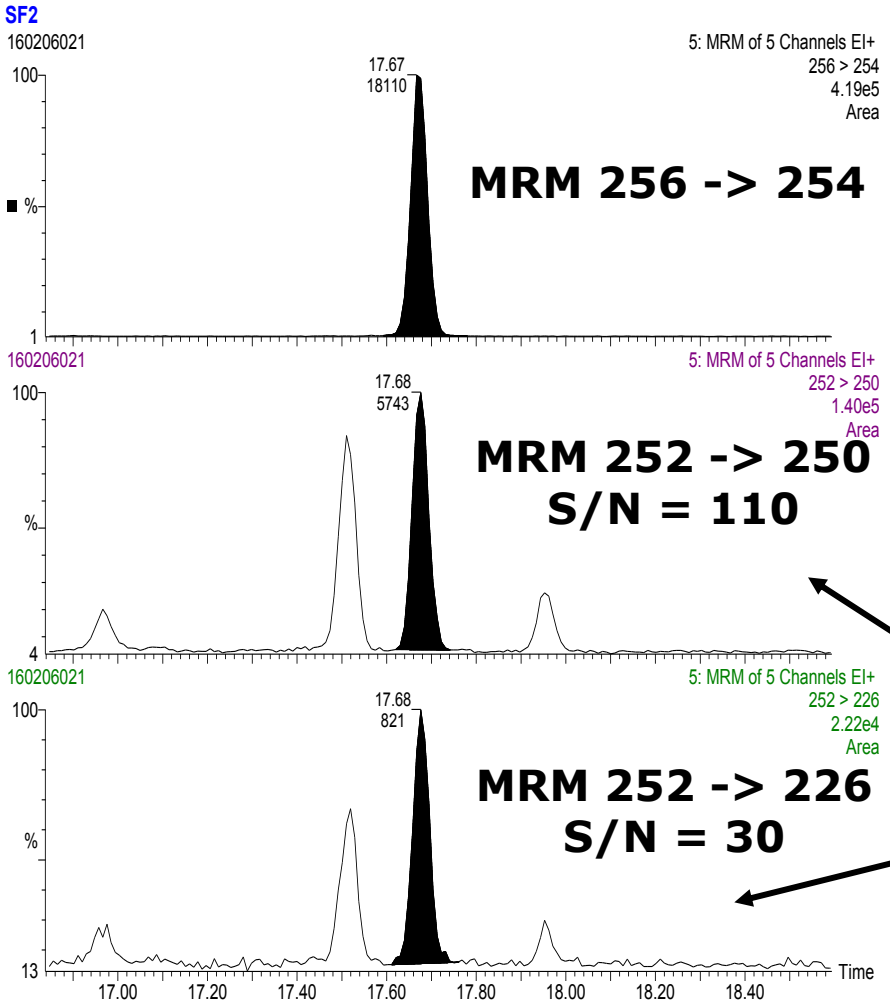
- MRM traces show significant improvement
  - Better S/N
  - Clearer presence/absence of diagnostic ions
  - No interferences

©2007 Waters Corporation

Limits of Detection (LOD) Benzo[*a*]pyrene

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

IS: $^{13}C_4$-Benzo[*a*]pyrene



- Копченый лосось с B[a]P at 0.04 mg/kg
- S/N значителен даже при такой концентрации
- Использованы 2 MRM (Quant + Conf)
- Пределы детекции на уровне ppt

Smoked Salmon samples:
Benzo[*a*]pyrene

©2007 Waters Corporation

Identification Criteria

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Высокая стабильность молекул PAHs делает затруднительной фрагментацию даже электронным ударом. Наличие удобных для идентификации ионов ограничено.

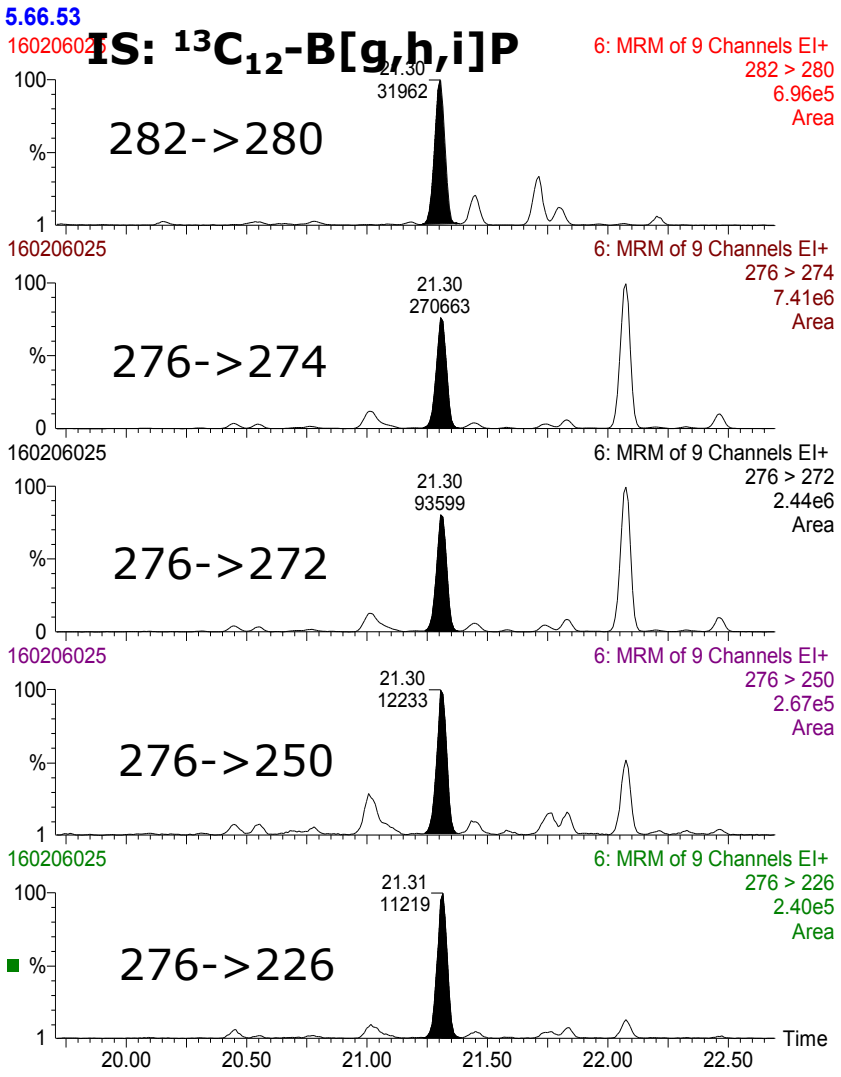
- Это делает затруднительным определение искомых аналитов, особенно в соответствии с директивой 2002/657/EC

- При использовании MS/MS, по крайней мере 2 характерных фрагмента получаются для каждого из аналитов .

©2007 Waters Corporation

Identification Criteria
Benzo[g,h,i]perylene

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



- Data shown are for a cockle sample containing Benzo[g,h,i]perylene at 9.9 mg/kg
- Four transitions are monitored with good sensitivity
- Typically, at least 7 IPs could be obtained for each PAH

©2007 Waters Corporation

Summary

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- This application demonstrates that GC-MS/MS offers significant advantages for PAHs analysis in food products compared to classical GC-MS approaches. Several benefits can be achieved including:

  (1) Good sensitivity (down to ppt levels) in complex matrices using MRM

  (2) Confident confirmatory analysis using multiple MRMs (up to 7 identification points per congener)

©2007 Waters Corporation

- Спасибо за внимание

- По всем вопросам обращаться в ООО «Химмед»

- 115230, г.Москва, Каширское шоссе, д.9, корп. 3

- Тел.: (495) 728-4192, 742-8265/66, (499) 613-2964,
  Факс: (495) 742-8341
- **www.chimmed.ru**

©2007 Waters Corporation