

## STANOVENIE MALÓNDIALDEHYDU V BRAVČOVOM MÄSE S POUŽITÍM EXTRAKCIE NA TUHEJ FÁZE A HPLC

SLAVOMÍR MARCINČÁK, JOZEF SOKOL,  
PETER TUREK, PETER POPELKA a JOZEF  
NAGY

*Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika  
marcincak@centrum.sk*

Došlo 21.1.05, prepracované 18.7.05, prijaté 22.12.05.

Kľúčové slová: malóndialdehyd, oxidácia lipidov, 2,4-dinitrofenylhydrazín, HPLC

### Úvod

Oxidácia tukov je autokatalytický proces prebiehajúci v potravinách a na biologických membránach buniek, ktorého výsledkom je výrazné zhoršenie kvality mäsa<sup>1</sup>. Oxidačné žltnutie tukov začína krátko po zabití zvieratá, keď prívod krvi a metabolické procesy sú zastavené. Oxidácia tukov prebieha na dvoch rozličných častiach: triacylglyceroloch a fosfolipidoch. Povaha, podiel a stupeň nenasýtenosti mastných kyselín prítomných v tukoch alebo v potravinách indikujú citlivosť daných potravín k oxidácii<sup>2,3</sup>. Všeobecne povedané, čím vyšší je podiel polyne nasýtených mastných kyselín (PNMK) v potravinách, tým viac je potravina citlivá na oxidačné procesy. Podľa obsahu PNMK sú jednotlivé mäsa náchylné na oxidáciu v tomto poradí: rybacie > hydínové > bravčové > hovädzie > jahňacie mäso<sup>4</sup>.

Reakciou kyslíka s PNMK vznikajú voľné radikály a hydroperoxydy mastných kyselín. Degradáciou hydroperoxidov vznikajú sekundárne produkty, ktorých prítomnosť vyvolá organoleptické zmeny s negatívnym dopadom na kvalitu mäsa a na jeho dĺžku skladovania. Z hľadiska konzumenta je však dôležité, že pri oxidácii tukov vznikajú látky, ktoré majú významné postavenie pri vzniku tzv. „civilizačných chorôb“. Výsledkom častej konzumácie oxidáciu poškodených tukov sú chronické formy rôznych chorôb, predovšetkým srdca a ciev (ateroskleróza, srdcová príhoda), poškodenia mozgu (Parkinsonova, Alzheimerova choroba), vznik rakoviny a tiež samotné starnutie buniek<sup>5</sup>.

Stanovenie tiobarbiturového (TBA) čísla je pre svoju jednoduchosť a rýchlosť stanovenia jednou z najfrekvencovanejších metód používaných na stanovenie oxidačných produktov v potravinách živočíšneho pôvodu. V súčasnosti je už známych veľa modifikácií stanovenia

TBA čísla, ktoré sa líšia úpravou vzorky, koncentráciou kyseliny, časom pôsobenia, výškou teploty, prítomnosťou alebo neprítomnosťou antioxidantov<sup>6–9</sup>. Malóndialdehyd (MDA), hlavný produkt oxidácie PNMK, je najdôležitejšou TBA reakčnou zložkou<sup>8</sup>. TBA metóda je založená na spektrofotometrickej kvantifikácii ružového komplexu tvoreného reakciou MDA s dvomi molekulami kyseliny tiobarbiturovej. Komplex je detekovaný pri 530–538 nm. Reakcia kyseliny tiobarbiturovej za vzniku farebných komplexov však prebieha aj s inými zložkami ako MDA. Ide predovšetkým o ďalšie produkty oxidatívnej degradácie lipidov (alkenaly, alkendienaly, hydroxyalkenaly), sacharidy a ich pyrolytické produkty, bielkoviny, rastlinné pigmenty, koreniny a tiež katióny kovov. Tieto látky nadhodnocujú výsledok stanovenia a tým znižujú špecifickosť stanovenia TBA čísla<sup>10</sup>.

Z tohto dôvodu boli pre stanovenie voľného MDA vo vzorkách vyvinuté citlivejšie a špecifickejšie metódy HPLC, založené na derivatizácii s tiobarbiturovou kyselinou. Podľa Pilza a spol.<sup>11</sup> však MDA-TBA produkty sú tvorené aj z rôznych ďalších zložiek, v závislosti od reakčných podmienok. V takýchto podmienkach je využitie separácie na HPLC kolóne veľmi slabé. Fenaille a spol.<sup>12</sup> dodáva, že derivatizácia MDA s kyselinou tiobarbiturovou vyžaduje vyššie teploty (70 °C) a vysoké teploty zvyšujú tvorbu nadbytočného MDA aj napriek prítomnosti antioxidantov. Derivatizácia MDA musí byť vykonaná vhodným derivatizačným činidlom za takých podmienok, aby nedochádzalo k nadhodnoteniu výsledkov ďalšou tvorbou MDA počas derivatizácie. Derivatizácia MDA s 2,4-dinitrofenylhydrazínom (DNPH) produkuje DNPH deriváty s intenzívnou žltou farbou, ktoré sú rýchlo, jednoducho a hlavne kvantitatívne detekované s UV detektorom<sup>13</sup>.

Cieľom našej práce bolo vypracovať HPLC metódu na stanovenie MDA derivatizáciou s DNPH a extrakciou na tuhej fáze vo vzorkách bravčového mäsa. Výsledky HPLC stanovenia boli porovnané s výsledkami získanými metódou stanovenia TBA čísla.

### Experimentálna časť

#### Prístroje

Na stanovenie TBA čísla bol použitý spektrofotometer Helios  $\gamma$  v 4,6 (Thermospectronic, Veľká Británia) s UV detekciou pri vlnovej dĺžke 532 nm.

HPLC stanovenie bolo vykonané na kvapalinovom chromatografe HP 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Nemecko) pozostávajúceho z vysokotlakovej pumpy, automatického dávkovača, variabilného UV-VIS detektora a integrátora (model HP 3396 II). Po derivatizácii MDA s DNPH bola vykonaná extrakcia na tuhej fáze (SPE) pomocou 3 ml Supelclean LC-18 SPE kolóniek (Supelco, USA) na vakuovom zariadení pre SPE kolónky (Whatman, Anglicko). Na HPLC separáciu MDA-DNPH komplexu bola použitá kolóna Nucleosil C<sub>18</sub> reverzná fáza (125 × 3 mm, veľkosť častíc 3  $\mu$ m) s mobilnou fázou ace-

tonitril: voda : kyselina octová, 39 : 61 : 0,2 (v/v/v). Bola použitá izokratická elúcia pri objemovej prietokovej rýchlosti  $1 \text{ ml min}^{-1}$ . Detekcia sa vykonávala pri vlnovej dĺžke 307 nm. Dávkovaný objem bol 20  $\mu\text{l}$  pre jednotlivé stanovenie. Stanovenie bolo vykonávané pri laboratórnej teplote.

### Chemikálie

Hexán; 1,1,3,3-tetrametoxypropán (TMP), butylhydroxytoluén (BHT, 2-terc-butyl-4-metylphenol) a kyselina 2-tio-barbiturová boli zakúpené od firmy Sigma (Nemecko). Kyselina trichlóroctová, kyselina octová, kyselina chlorovodíková a EDTA boli zakúpené od firmy Lachema Brno (Česká republika). 2,4-Dinitrofenylhydrazín (DNPH) bol zakúpený od firmy Fluka (Švajčiarsko) a acetonitril od firmy Merck (Nemecko). Všetky roztoky použité pre HPLC analýzu boli HPLC alebo analytickej čistoty.

Zásobný roztok MDA sme pripravili kyslou hydrolyzou TMP (cit.<sup>14</sup>). Do 10-ml odmernej banky so zátkou sme pridali 10  $\mu\text{l}$  TMP a doplnili  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$  HCl. Po 5 minútovej inkubácii vo vriacej vode sme banku ochladili pod tečúcou vodou. 1 ml z takto pripraveného roztoku MDA sme napipetovali do 100 ml odmernej banky a doplnili  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$  HCl. Výsledný zásobný roztok MDA o koncentrácii  $4,37 \mu\text{g ml}^{-1}$  bol skladovaný pri teplote  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 1 týždňa. Zo zásobného roztoku MDA ( $4,37 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) sme ďalším riedením  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$  HCl pripravili pracovné roztoky MDA o koncentracii 4,37; 17,48; 43,7; 174,8; 437 a  $874 \text{ ng ml}^{-1}$ . Derivatizácia a úprava štandardov prebiehala rovnako ako u vzoriek. Pracovné roztoky MDA boli pripravované každý deň čerstvé.

### Vzorky

Na stanovenie sme použili bravčové stehno, ktoré bolo 24 h po jatočnom opracovaní zmrazené pri  $-21 \text{ }^\circ\text{C}$  a skladované 1 mesiac. Zmrazené mäso sme posekali na sekačke zmrazeného mäsa a pomleli na mlynčeku ( $\varnothing 4,5 \text{ mm}$ ). Vzorky sme zabalili do polyetylénových sáčkov a skladovali v chladničke pri  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  počas 96 h. Prvú analýzu sme vykonali hneď po kúrovaní. Ďalšie stanovenia boli vykonané po 24, 48, 72 a 96 h skladovania. V každej skupine bolo vyšetovaných minimálne 6 vzoriek.

### Extrakcia MDA

Extraktiu MDA zo vzoriek pre obidve analýzy sme vykonali podľa Graua a spol.<sup>7</sup> Do 50-ml centrifugačnej skúmavky sme navážili 1,5 g pomletej vzorky, pridali sme 1 ml 0,3% EDTA, mierne premiešali, pridali 5 ml 0,8% BHT v hexáne a obsah skúmavky opäť mierne premiešali. Tesne pred homogenizáciou sme pridali 8 ml ľadovo vychladenej 5% TCA a homogenizovali 30 s pri maximálnych otáčkach. Po homogenizácii sme nechali vzorku

10 min stáť a potom centrifugovali 5 min ( $3500 \text{ g}$ ,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Po centrifugácii sme odstránili vrchnú hexánovú vrstvu a vzorku prefiltrovali (Whatman 4). Prefiltrovanú vzorku sme v odmernej banke doplnili do 10 ml 5% TCA.

### Stanovenie TBA čísla

Na stanovenie tiobarbiturového čísla bola použitá metóda opísaná Grauem a spol.<sup>7</sup> K 3 ml vzorky sme do skúmavky pridali 2 ml 0,8% TBA. Vzorky a štandardné roztoky MDA sme inkubovali vo vodnom kúpeli 30 min pri teplote  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ . Po ochladení v ľadovom kúpeli a temperovaní vzoriek pri izbovej teplote po dobu 45 min, sme merali absorbanciu vzoriek na UV-spektrofotometri pri vlnovej dĺžke 532 nm.

### HPLC stanovenie

#### Derivatizácia a SPE extrakcia

Derivatizačné činidlo pre HPLC analýzu sme pripravili rozpustením 31 mg DNPH v  $2 \text{ mol l}^{-1}$  HCl v 10-ml odmernej banke<sup>13</sup>. Na derivatizáciu vzorky sme k 2 ml vzorky, štandardu, alebo 5% TCA (slepá vzorka) v 12 ml skúmavke pridali 100  $\mu\text{l}$  DNPH-reagentu (derivatizačné činidlo). Po miernom premiešaní sa zmes inkubovala 30 min pri izbovej teplote na tmavom mieste.

Trojmililitrové Supelclean LC-18 SPE-kolónky (extrakcia na tuhej fáze) boli aktivované premytím 2 ml acetonitrilu a 2 ml vody v extrakčnom vákuovom zariadení. Následne boli na kolónky nanesené vzorky a pomaly ( $2 \text{ ml min}^{-1}$ ) za vákuu prepustené cez kolónky. Po premytí kolóniek redistilovanou vodou (2 ml) bol MDA-DNPH komplex eluovaný 1 ml acetonitrilu. 20  $\mu\text{l}$  eluátu sme použili na samotné HPLC stanovenie.

#### Identifikácia a kvantifikácia MDA

K identifikácii MDA-DNPH komplexu vo vzorke sme použili porovnanie retenčných časov rôznych koncentrácií štandardu a prítomného komplexu vo vzorke. Kvantitatívne vyhodnotenie výsledkov bolo vykonané pomocou kalibračnej krivky pripravenej so známymi koncentracií štandardných roztokov. Kalibračná krivka vykazovala lineárnu závislosť medzi plochou MDA-DNPH pík a koncentraciou štandardných roztokov v rozpätí od 4,37 do  $874 \text{ ng ml}^{-1}$  ( $r = 0,9989$ ).

### Štatistické spracovanie výsledkov

Štatistické spracovanie výsledkov bolo vykonané štatistickým programom Graph Pad Prism verzia 3,0 (GraphPad Software, 1999). Výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer ( $\bar{x}$ ) a štandardná odchýlka (sd). Jednotlivé metódy stanovenia malónaldehydu boli štatisticky vyhodnotené Studentovým  $t$ -testom ( $P < 0,05$ ). Bol tiež hodnotený variačný koeficient.

## Výsledky a diskusia

### Extrakcia MDA zo vzoriek

MDA sa veľmi ľahko viaže na  $-SH$  a  $-NH_2$  skupiny makromolekúl, napr. na proteíny a nukleové kyseliny<sup>11,15</sup> a podobne ako pri stanovení TBA čísla k presnému stanoveniu je potrebné uvoľniť MDA z týchto väzieb. Metóda extrakcie MDA zo vzoriek výrazne ovplyvňuje výsledok stanovenia MDA. Draper a spol.<sup>6</sup> udávajú, že vyššie hodnoty MDA získané extrakciou pomocou TCA zahriatím na bod varu dávajú dôkaz, že väčšina MDA v živočíšnych tkanivách je viazaná a musí byť uvoľnená kyslou hydrolyzou vyžadujúcou vyššie teploty (95 °C). Raharjo a spol.<sup>9</sup> však udáva, že použitie vysokých teplôt napomáha ďalšej oxidácii PNMK, rozkladu hydroperoxidov a tak vedie k tvorbe nadbytočného MDA a ďalších TBA reakčných produktov. K tomuto názoru sa prikláňajú aj ďalší autori<sup>7,9</sup>. Podľa nich na uvoľnenie MDA z väzieb a na extrakciu MDA zo vzorky je postačujúca kyslá hydrolyza (pH 1–3) bez použitia vysokých teplôt.

Studenú extrakciu MDA zo vzoriek sme vykonali podľa Graua a spol.<sup>7</sup>. MDA bol zo vzoriek extrahovaný ľadovo vychladenou 5% TCA. Táto metóda extrakcie vhodne brzdí oxidačné procesy a tým tvorbu nadbytočného MDA počas spracovania vzoriek. Pridanie antioxidantu (0,8% BHT v hexáne) a komplexotvorného činidla (0,3% EDTA) ihneď po navážení vzoriek eliminuje oxidačné procesy prítomných lipidových zložiek, uvoľnených k oxidácii po rozomletí vzorky. Použitie ľadovo vychladenej 5% TCA zabráni zvýšeniu teplôt vzorky počas homogenizácie a možnej oxidácii prítomných lipidových zložiek. Významná je tiež hexánová vrstva, ktorá počas homogenizácie bráni prístupu kyslíka ku vzorkám. V hexánovej vrstve, ktorá je po centrifugácii odstránená, sa rozpustia aj všetky lipidové zložky, ktoré sú tak oddelené a tým sa znižuje riziko vzniku nadbytočného MDA a tiež dôjde k odstráneniu určitej časti zložiek, ktoré vytvárajú interferujúce piky.

### Derivatizácia a SPE extrakcia

Derivatizácia MDA s DNPH prebieha veľmi dobre aj pri izbových teplotách. Čas potrebný na derivatizáciu MDA je u viacerých autorov rozdielny. Pohybuje sa od 10 min (cit.<sup>11</sup>) cez 30 min (cit.<sup>16–18</sup>) až do 1 h (cit.<sup>12</sup>). Tridsaťminútová inkubácia sa v našich pokusoch ukázala ako dostačujúca na kvantitatívnu derivatizáciu MDA.

SPE pracuje na princípe kvapalinovo-kvapalinovej extrakcie a preto má väčšinu rovnakých princípov ako vysokoúčinná kvapalinová chromatografia. V poslednej dobe je SPE považovaná za jednu z najúčinnějších techník na rýchlu a selektívnu úpravu vzoriek<sup>19</sup>. Použitie kroku extrakcie na tuhej fáze pri úprave vzorky je účinným krokom zvýšenia citlivosti metódy, zníženia opotrebovania kolóny a zníženia času potrebného na analýzu vzorky<sup>16</sup>.

Na elúciu MDA-DNPH komplexu z SPE kolóniek autori<sup>8,16</sup> vo svojich prácach odporúčajú použiť 600  $\mu$ l

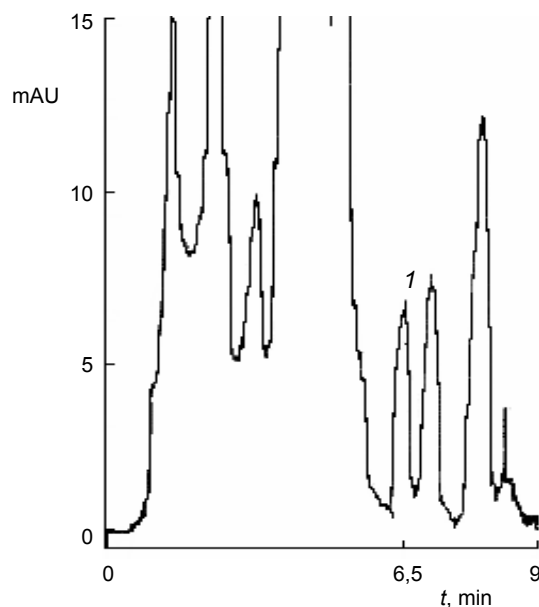
až 2 ml acetonitrilu. Účinnosť elúcie MDA-DNPH komplexu z SPE kolóniek sme sledovali stanovením množstva MDA po elúcii s 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; a 2,0 ml acetonitrilu. Pre maximálnu elúciu MDA-DNPH komplexu z SPE kolóniek je potrebný 1 ml acetonitrilu.

### HPLC stanovenie

MDA-DNPH komplex bol stanovený izokratickou elúciou s použitím mobilnej fázy acetonitril : voda : kyselina octová (39 : 61 : 0,2) pri objemovej prietokovej rýchlosti 1 ml  $\text{min}^{-1}$ . Fotometrický UV-VIS detektor pri 307 nm detekoval MDA-DNPH komplex pri elučnom čase 6,5 min (obr. 1). Pomer mobilnej fázy 39 : 61 : 0,2 vhodne oddeľoval pík analytu od ostatných zložiek detekovaných pri danej vlnovej dĺžke.

Cordis a spol.<sup>17</sup> udávajú, že podiel acetonitrilu má byť v rozmedzí 34–40 %. Vyššie ako aj nižšie percentuálne podiely vytvárajú artefakty, ktoré znižujú presnosť stanovenia. UV absorpčné maximum MDA-DNPH komplexu je v rozmedzí vlnových dĺžok 307–310 nm (cit.<sup>11</sup>).

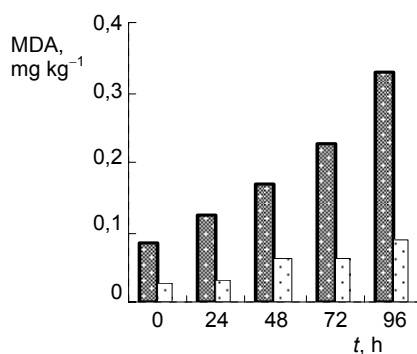
Výtťažnosť metódy (hodnotená z mäsových vzoriek fortifikovaných 116,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  MDA štandardu) bola 94,7 %. Opakovateľnosť opísanej HPLC metódy vyjadrenej ako relatívna štandardná odchýlka (RSD) u vzoriek fortifikovaných 116,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  MDA štandardu bola 1,8 %. Detekčný limit metódy bol 0,06 ng v 20  $\mu$ l použitých na analýzu. Kvantifikačný limit (LOQ) danej metódy bol 3,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  mäsovej vzorky.



Obr. 1. HPLC chromatogram malondialdehydu (MDA-DNPH) zo vzorky bravčového mäsa; 1 - MDA-DNPH

### Porovnanie HPLC metódy s metódou stanovenia TBA čísla

V pokuse sme porovnali nami vypracovanú HPLC metódu so studenou extrakciou MDA zo vzoriek s použitím SPE kolóniek a klasickú TBA metódu stanovenia MDA. Pri porovnaní metód navzájom sme zistili výrazne rozdiely (obr. 2). S časom skladovania vzoriek rástol aj rozdiel medzi výsledkami jednotlivých metód. Najvýraznejšie rozdiely vo výsledkoch obidvoch metód boli po 24, 72 a 96 h skladovania vzoriek v chladničke pri 4 °C ( $P < 0,05$ ). Výsledky získané HPLC metódou boli po 24 h v priemere 2,5, po 72 h 3,46 a po 96 h až 3,69 krát nižšie ako tie získané stanovením TBA metódou. Tieto rozdiely vo výsledkoch svedčia o vyššej presnosti MDA stanovenia HPLC metódou. Draper a spol.<sup>6</sup> udáva, že pri stanovení MDA u tých istých vzoriek pečene TBA spektrofotometrickými metódami boli výsledky 2,11–4,5 násobne vyššie ako tie získané HPLC metódami detekujúcimi MDA-TBA komplex. Podľa nich rozdiely v hodnotení MDA získaného z rovnakých vzoriek spektrofotometrickými TBA metódami a HPLC metódami detekujúcimi TBA-MDA komplex potvrdzujú vo vzorkách prítomnosť iných zložiek ako MDA, ktoré tvoria s kyselinou tiobarbiturovou reakčné produkty s absorbným maximom pri 532 nm a tak nadhodnocujú výsledok stanovenia MDA. Podľa Pilza a spol.<sup>11</sup> jednou z hlavných príčin variability výsledkov hodnotenia MDA sú rozdielne spôsoby extrakcie MDA zo vzoriek. Produkcia nadbytočného MDA počas zahrievania vzoriek pri derivatizácii s kyselinou tiobarbiturovou môže byť zdrojom variability výsledkov<sup>12</sup>.



Obr. 2. Porovnanie výsledkov stanovenia MDA vo vzorkách kurovaného bravčového mäsa skladovaného pri 4 °C; plné stĺpce – TBA metóda, prázdne stĺpce – HPLC metóda

### Záver

Výsledky získané klasickou TBA metódou boli až 3,46 násobne vyššie ako výsledky získané HPLC stanove-

ním. To potvrdzuje názor, že počas spracovania a derivatizácie vzoriek pri stanovení tiobarbiturového čísla dochádza k tvorbe malondialdehydu, alebo TBA reakčných zložiek, ktoré nadhodnocujú výsledky stanovenia.

Vypracovaná HPLC metóda stanovenia malondialdehydu po derivatizácii 2,4-dinitrofenylhydrazínom a extrakcii MDA-DNPH komplexu na SPE-kolónkach je rýchlou, presnou a finančne nenáročnou metódou stanovenia rozkladných produktov oxidácie lipidov. To ju predurčuje na využitie pre stanovenie stupňa oxidačných procesov v potravinách živočíšneho pôvodu.

*Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore z grantovej úlohy VEGA SR č. 1/2395/05.*

### LITERATÚRA

- Bystrický P., Pleva J., Máté D.: *Cesk. Hyg.* 38, 42 (1993).
- Bystrický P., Dičáková Z.: *Slov. Vet. J., Supplementum* 1, 23, 6 (1998).
- Wagner B. A., Buettner G. R., Burns C. P.: *Biochemistry* 33, 4449 (1994).
- Pearson A. M., Love J. D., Shorland F. B.: *Adv. Food Res.* 23, 1 (1977).
- Arouma O. I.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 199 (1998).
- Draper H. H., Squires E. J., Mahmoodi H., Wu J., Agarwal S., Hadley M.: *Free Radical Biol. Med.* 15, 353 (1993).
- Grau A., Guardiola F., Boatella M., Barroeta A., Codony R.: *J. Agric. Food Chem.* 48, 1155 (2000).
- Piette G., Raymond Y.: *Fleischwirtschaft Int.* 3, 36 (1999).
- Raharjo S., Sofos J. N.: *Meat Sci.* 35, 145 (1993).
- Lykkesfeldt J.: *Clin. Chem.* 47, 1725 (2001).
- Pilz J., Meinke I., Gleiter Ch. H.: *J. Chromatogr., B* 742, 315 (2000).
- Fenaille F., Mottier P., Turesky R.J., Ali S., Guy P.A.: *J. Chromatogr., A* 921, 237 (2001).
- Cordis G. A., Maulik N.: *J. Chromatogr.* 632, 97 (1993).
- Squires E. J.: *Poultry Sci.* 69, 1371 (1990).
- Esterbauer H., Schauer R. J., Zollner H.: *Free Radical Biol. Med.* 11, 81 (1991).
- Bakalova R., Mileva M., Kotsev Ch., Bardarov V., Ribarov S. T.: *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 22, 267 (2000).
- Cordis G. A., Das K. D., Riedel W.: *J. Chromatogr., A* 798, 117 (1998).
- Cordis G. A., Maulik N., Das D. K.: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 27, 1645 (1995).
- Ruiz-Gutierrez V., Perez-Camino M. C.: *J. Chromatogr., A* 885, 321 (2000).
- Marcinčák S., Sokol J., Turek P., Rožanska H., Dičáková Z., Máté D., Popelka P., Korim P.: *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 47, 491 (2003).

**S. Marcinčák, J. Sokol, P. Turek, P. Popelka, and J. Nagy** (*Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic*): **Determination of Malondialdehyde in Pork Meat Using Solid Phase Extraction and HPLC**

An HPLC method of malondialdehyde (MDA) determination in pork meat was described. MDA was extracted from samples using ice-cold 5 % trichloroacetic acid. After derivatisation with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), the MDA-DNPH compound was separated on SPE C<sub>18</sub>

column and eluted with 1 ml of acetonitrile. The compound was determined on a Nucleosil C<sub>18</sub> reverse-phase column, with acetonitrile – water – acetic acid (39:61:0.2) as mobile phase and isocratic elution. Detection was performed using a UV-VIS detector at 307 nm, at a retention time of 6.5 min. The results were compared with the thiobarbituric acid (TBA) method applied to cut pork meat within 96 h of storage at 4 °C. The HPLC determination was more accurate than the TBA method, which gives higher values.

## Česká společnost chemická

a

### Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha

pořádají

#### **konferenci „Polysacharidy II: Struktura a biologické účinky polysacharidů a jejich derivátů“**

*10.11.2006, 8,30 až 16,00 h na Novotného lávce 5, Praha 1*

#### *Program*

1. Zahájení: Jana Čopíková
2. Hlavní přednášky:
  - Zdenka Hromádková: Biologicky aktivní polysacharidy z léčivých bylin a jiných rostlin
  - Miroslav Novák: β-Glukan, historie a současnost
  - Grigorij Kogan: Antioxidačné, antimutagénne a antigenotoxické vlastnosti polysacharidov bunkových stien kvasiniek
  - Andriy Synytsya: Využití spektroskopických metod při určování struktury polysacharidů
3. Po hlavních přednáškách budou následovat krátká sdělení a posterová sekce.

Konferenční poplatek 500 Kč pro členy ČSCH a 600 Kč pro nečleny zahrnuje CD s plnými texty přednášek, občerstvení a organizační náklady. Abstrakta budou publikována v Chemických listech č. 9/2006. Je možné zajistit ubytování na kolejích na Jižním městě. Předpokládá se i zájem pasivních účastníků bez odborného příspěvku.

**Uzávěrka přihlášek a zaslání abstraktů příspěvků je 30. června 2006.**

Bližší informace na adrese <http://www.csch.cz>.

Kontaktní adresa: Česká společnost chemická, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1, tel.: 221 082 370, tel/fax: 222 220 184, e-mail: [chem.listy@csvts.cz](mailto:chem.listy@csvts.cz), [chem.spol@csvts.cz](mailto:chem.spol@csvts.cz)