

Заключение. Разработана и валидирована методика полуколичественной оценки содержания ДНК курицы в мясной продукции методом ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Использование в ПЦР хромосомных мишеней курицы позволяет снизить избыточную чувствительность метода, что избавит от ложных идентификаций продукции, содержащей яйца или меланж.

Методика утверждена в ФГБУ «ВГНКИ», ее можно использовать для исследования мясной продукции, в том числе подвергавшейся термической обработке, сырья для ее производства на всех этапах переработки, мясных полуфабрикатов, кулинарных мясных изделий. Однако, она не предназначена для качественного выявления видоспецифичной ДНК курицы. Настоящая методика выйдет в виде национального стандарта Российской Федерации, а разработанные нормативные документы к ней будут использованы в рамках программ государственного мониторинга качества и безопасности пищевых продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красюков Ю.Н. и др. Качественная видовая идентификация яиц в яичных продуктах методом полимеразной цепной реакции. Новое в технике и технологии переработки птицы и яиц. 2011; 51 – 83.
2. Минаев М.Ю., Солодовникова Г.И., Курбаков К.А. Выбор ДНК матрицы для обоснования порогового уровня технически неустраиваемых примесей мяса пти-

цы в готовой мясной продукции. Теория и практика переработки мяса. 2017; 2(1).

3. Синтол <http://www.syntol.ru/catalog/nabory-reagentov-dlya-ptsr-v-realnom-vremeni/dlya-identifikatsii-syrevogovostava-myasnoy-i-rybnoy-produktsii>

4. Солтынская И.В. и др. Секвенирование ДНК для определения видовой принадлежности мяса. Ветеринария. 2018; 1:55 – 61.

5. Фомина Т.А., Минаев М.Ю. Система идентификации для контроля халяльной мясной продукции. Мясная индустрия. 2011; 3:32 – 34.

6. Amaral J.S. et al. Quantitative detection of pork meat by EvaGreen real-time PCR to assess the authenticity of processed meat products. Food Control. 2017; 72:53 – 61.

7. Druml B. et al. A novel reference real-time PCR assay for the relative quantification of (game) meat species in raw and heat-processed food. Food Control. 2016; 70:392 – 400.

8. Floren C. et al. Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR). Food chemistry. 2015; 173:1054 – 1058.

9. Hossain M.A.M. et al. Targeting double genes in multiplex PCR for discriminating bovine, buffalo and porcine materials in food chain. Food Control. 2017; 73:175 – 184.

10. Iwobi A. et al. A multiplex real-time PCR method for the quantification of beef and pork fractions in minced meat. Food chemistry. 2015; 169:305 – 313.

11. López-Andreo M. et al. Detection and quantification of meat species by qPCR in heat-processed food containing highly fragmented DNA. Food Chemistry. 2012; 134(1):518 – 523.

12. PCR Primer Design Tool <http://eurofnsgenomics.eu/en/ecom/tools/pcr-primer-design>

13. R-biopharm <http://food.r-biopharm.com/analytes/food-adulteration/identification-of-animal-species>

14. RefSeq <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq>

15. Soares S. et al. A SYBR Green real-time PCR assay to detect and quantify pork meat in processed poultry meat products. Meat Science. 2013; 94(1):115 – 120.

16. Visel A. et al. VISTA Enhancer Browser – a database of tissue-specific human enhancers. Nucleic acids research. 2007; 35(suppl_1):D88 – D92.

17. Ye J. et al. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. BMC bioinformatics. 2012; 13(1):134.

УДК 619:61:543.544:614.9

МЕТОДИКА РАЗДЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ L- И D-ИЗОМЕРОВ КАРНИТИНА

Владимир Владимирович Захарычев, к.х.н., доцент, zakharychev@muctr.ru
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
(129047, Москва, Миусская пл., д. 9)

Арусяк Зурабовна Испирян, старший научный сотрудник
Ольга Игоревна Смелкова, старший научный сотрудник
Светлана Викторовна Сысуева, старший научный сотрудник
ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества
и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»
(ФГБУ «ВГНКИ»), (123022, Москва, Звенигородское шоссе, д. 5)

Разработана методика раздельного определения оптических изомеров L- и D-карнитина в кормах, кормовых добавках и ветеринарных препаратах в концентрации 0,1 – 50 %. Методика основана на дериватизации экстрактов матрицы 9-флуоренилметоксикарбонилхлоридом с последующим анализом при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонках с ионообменным и хиральным сорбентами с флуоресцентным детектированием. **Ключевые слова:** корма, кормовые добавки, хиральная высокоэффективная жидкостная хроматография, L-карнитин, D-карнитин.

Development of a method for differential quantitative determination of L-carnitine and D-carnitine

V.V. Zakharychev, PhD in Chemical Science, Assistant professor

D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9 Miusskaya pl., 125047 Moscow, Russian Federation)

A.Z. Ispiryayn, Older researcher

O.I. Smelkova, Older researcher

S.V. Sysueva, Older researcher

The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality

(5 Zvenigorodskoye shosse, 123022 Moscow, Russian Federation)

A method for the differential determination of the optical isomers of L- and D-carnitine in feed, feed supplements and veterinary drugs in the concentration range 0,1– 50 % was developed. The technique is based on derivatization of matrix extracts with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride followed by analysis using high performance liquid chromatography on columns with ion-exchange and chiral sorbents with fluorescence detection. **Key words:** feed, feed supplements, chiral high performance liquid chromatography, L-carnitine, D-carnitine.

DOI:10.30896/0042-4846.2021.24.8.59-64

L-карнитин [(3R)-3-гидрокси-4-(триметиламмоний)бутаноат] – витаминоподобное вещество, служащее важным коферментом для транспорта жирных кислот в матрикс митохондрий, где они подвергаются последующему окислению для производства энергии в клетке [16]. L-карнитин широко используется в качестве пищевой добавки и лекарственного средства [10, 13, 22]. При этом его синтетический D-энантиомер проявляет антагонизм с природным L-карнитином и вызывает разнообразные побочные эффекты, поэтому его содержание в добавках необходимо контролировать (рис. 1) [7, 21]. Фармакопеи Евросоюза [24] и США [25] не допускают содержание D-карнитина в лекарственных препаратах более 4 %, определяемое измерением оптического вращения. Такой же метод установлен стандартом Китая [20] для контроля L-карнитина в кормовых добавках. Однако он не обладает ни специфичностью, ни высокой чувствительностью.

В России определение массовой концентрации L-карнитина в биологически активных добавках и пищевых продуктах основано на применении высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с рефрактометрическим [2] и

спектрофотометрическим [6] детектированием, за рубежом – ВЭЖХ с кондуктометрическим [18] и масс-спектрометрическим детектированием [15, 19, 27]. Однако, все эти методы не позволяют дифференцировать оптические изомеры карнитина при их совместном присутствии. За рубежом предложено раздельное определение изомеров карнитина при помощи капиллярного электрофореза [23], ВЭЖХ [9], газовой хроматографии [8], а для их разделения используют дериватизацию оптически-активными реагентами [12, 17, 26].

В России по состоянию на декабрь 2020 г. зарегистрированы 58 кормовых добавок и 2 ветеринарных лекарственных препарата зарубежного и отечественного производства для сельскохозяйственных животных, в том числе птицы, собак и кошек, содержащих L-карнитин. На сегодняшний день в нашей стране отсутствует стандартизированная методика разделения и количественного определения L-карнитина и его D-изомера в кормах, комбикормах, кормовых добавках, лекарственных средствах для ветеринарного применения.

Материалы и методы. Для приготовления растворов использовали ацетонитрил для ВЭЖХ (Merck, Германия), натрия карбонат безводный ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich, США), натрия гидроокись ($\geq 99,0\%$, х.ч.), натрия гидрокарбонат ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich, США), уксусную кислоту ледяную ($\geq 99,8\%$, х.ч.), триэтиламин ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich, США), ортофосфорную кислоту ($\geq 87,0\%$, осч),

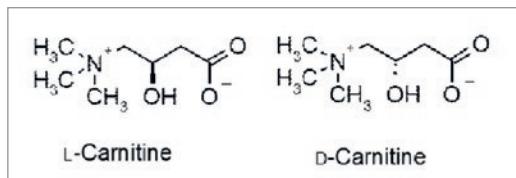


Рис. 1. Структурные формулы L-карнитина и D-карнитина

ацетон (ч.д.а.). Деионизованную воду готовили в системе водоподготовки Sartorius arium mini (Sartorius, Германия). Стандартами служили L-карнитин (99,0 %, AppliChem, Испания) и D-карнитин (95,0 %, TRC, Канада). Дериватизацию осуществляли при помощи 9-флуоренилметоксикарбонилхлорида (Fmoc-Cl, >99,0 %, Sigma-Aldrich, США), используя растворы 0,05 М карбонатного буфера, 0,05 М ацетатного буфера с pH 4,2 и раствор Fmoc-Cl с концентрацией 5 мг/мл. В качестве подвижной фазы применяли фосфатный буфер с триэтиламином pH 2,6 (фаза А) и ацетонитрил (фаза Б).

Исследования проводили с помощью жидкостного хроматографа с флуоресцентным детектором Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, США). Кислотность подвижной фазы контролировали pH-метром HI (Hanna, Германия). Для подготовки проб и стандартных растворов пользовались весами электронными лабораторными DL-1200 (A&D Company, Япония) и Discovery DV-214C (Ohaus, США), аналитической мельницей A11 basic (IKA, Германия), встряхивателем Вортекс ReaxControl (Heidolph, Германия), центрифугой Multifuge 3S-R (Thermo Fisher Scientific, США), центрифугой Allegra X-15R (Beckman COULTER, США), ультразвуковой баней S30H (Elmasonic, Германия), одноканальными дозаторами переменного объема (Biohit, Финляндия), шприцевыми мембранными ПТФЭ фильтрующими насадками с размером пор 0,45 мкм OlimPeak (Teknokroma, Испания).

Калибровочные растворы готовили, взяв по 0,025 г навески L- и D-карнитина и растворив их в 5 мл деионизованной воды, получив таким образом исходный раствор с концентрацией 5000 мкг/мл. Затем его последовательно разбавляли до концентраций 12,5; 25; 50; 100; 150; 300 мкг/мл, по которым определяли линейность калибровочной зависимости по площадям пиков аналитов. При приготовлении экстрактов пробы в виде таблеток или гранул растирали в ступке;

корма и кормовые добавки измельчали в лабораторной мельнице; пастообразные, порошкообразные и жидкие формы тщательно перемешивали. В мерных колбах на 100 см³, 50 см³, 25 см³ или 5 см³ взвешивали от 0,500 до 1,000 г измеряемой пробы (в зависимости от предполагаемого содержания L- и D-карнитина), добавляли деионизованную воду до метки, помещали для экстракции на 10 мин в ультразвуковую баню. Экстракт переносили в микроцентрифужную пробирку 1,5 см³ и центрифугировали 5 мин при 15000 об/мин. Метрологические характеристики методики устанавливали перед экстракцией, готовя образцы четырех форм (раствор, эмульсия, паста, порошок) с добавкой 0,1; 10; 25 и 50 % L- и D-карнитина. Дериватизацию экстрактов и калибровочных растворов проводили при помощи Fmoc-Cl.

Для разделения энантиомеров L- и D-карнитина использовали последовательно соединенные коммерческие колонки: ионообменную SPHERISORB SCX (Waters, Ирландия) и хиральную AstecChirobiotic TAG (SPELCO, США). Длина обеих 250 мм, внутренние диаметры 4,60 мм, размеры зерна сорбента 5 мкм. Температура колонок 25 °С, объемная скорость потока подвижной фазы 0,6 мл/мин, объем вводимой пробы 20 мкл. Градиентный режим был следующим: 0 – 74,0 мин 20 % фазы А; 74,1 – 79 мин 2 % фазы А; 79,1 – 85 мин 20 % фазы А. Детектировали при помощи флуоресцентного детектора, длина волны возбуждения 260 нм, эмиссии – 310 нм.

Результаты исследований и обсуждение. Хиральная высокоэффективная жидкостная хроматография (ХВЭЖХ) – один из наиболее распространенных методов разделения энантиомеров. Мы пытались модернизировать методику ВЭЖХ с рефрактометрическим детектированием [2] для разъединения энантиомеров L- и D-карнитина, присоединив к хроматографической аналитической колонке на основе ковалентной сшивки аминсилана к поверхности силикагеля

(ZORBAX NH2 250×4.6 мм), хиральную колонку SUPELCO Astec Chirobiotic TAG. Однако таким способом разделить энантиомеры не удалось.

Изомеры L- и D-пропионилкарнитина было предложено разделять на хроматографической колонке с ионообменным сорбентом, последовательно соединенной с хиральной колонкой с УФ-детектированием при 205 нм [11]. Подвижной фазой служила смесь ацетонитрила с 0,01 М буфером NaH_2PO_4 в соотношении 65:35. Этим методом мы не смогли добиться разделения и идентификации изомеров L- и D-карнитина из-за их слабого поглощения в УФ области спектра.

Использование в качестве дериватизирующего реагента оптически-активного (+)-[1-(9-флуоренил)этил]хлорформата – (+)-FLEC [14] позволяет получать диастереомерные производные энантиомеров карнитина, которые можно разделить на обычной обращеннофазовой колонке. Однако (+)-FLEC слишком дорогой реагент для рутинного анализа. Поэтому в качестве дериватизирующего агента мы взяли более доступный 9-флуоренилметоксикарбонил хлорид (Fmoc-Cl). При взаимодействии его с карнитином образуются энантиомерные Fmoc-эфиры, обладающие флуоресценцией и большей гидрофобностью, что позволяет анализировать их в дальнейшем с помощью ХВЭЖХ. Для выделения энантиомеров Fmoc-производных L- и D-карнитина мы применили метод ионообменной хроматографии с колонкой Waters SPHERISORB SCX и сорбентом на основе силикагеля с привитой бензолсульфокислотой. Последовательное присоединение хиральной колонки SUPELCO Astec Chirobiotic TAG, содержащей в качестве хирального селектора агликон тейкопланина, позволило добиться удовлетворительного разделения энантиомеров Fmoc-эфиров L- и D-карнитина.

Значение pH 2,6 буфера триэтиламинортофосфорная кислота позволяет поддерживать примерно 50%-ное содержание протонированной формы неподвиж-

ной фазы (для бензолсульфокислоты pK_a 2,55), в то время как Fmoc-карнитин в этих условиях протонирован практически полностью (для карнитина pK_a 3,5) и существует в виде катиона, а не цвиттер-иона. Параметры, подходящие для разделения стереоизомеров FLEC-карнитина [14], не дали нам необходимого разрешения пиков энантиомеров Fmoc-производных, поэтому мы оптимизировали условия, увеличив содержание буфера с 73 до 80 % и снизив скорость потока подвижной фазы с 0,8 до 0,6 $\text{см}^3/\text{мин}$. Такие условия увеличивают время удерживания аналитов (для L- и D-карнитина соответственно 58,4 и 60,8 мин) и дают удовлетворительное разрешение их сигналов. При оптимизации процесса разделения оптических изомеров мы варьировали градиентный режим подвижной фазы, концентрацию фосфатного буфера и скорость потока подвижной фазы. В результате экспериментов установили наилучшие условия градиентного элюирования (табл. 1).

Дериватизацию растворов смеси L- и D-карнитина проводили 1 ч при 45 °С. Стабильность полученных Fmoc-derivатов изучали, анализируя образцы с содержанием L- и D-карнитина 0,1; 10,0; 25,0; 50,0 % непосредственно после дериватизации и спустя 24 ч. Значительного изменения площади пиков дериватов не наблюдали, следовательно, Fmoc-производные L- и D-карнитина оставались стабильными в течение суток после их образования (табл. 2).

Для установления метрологических характеристик методики измерений определяли массовые доли L- и D-карнитина в четырех типах образцов (жидкость,

Таблица 1
Режим градиентного элюирования

Время, мин	Фаза А, %	Фаза Б, %	Скорость подачи элюента, $\text{см}^3/\text{мин}$
0,00	80	20	0,6
74,00	80	20	0,6
74,01	2	98	0,6
79,00	2	98	0,6
79,01	80	20	0,6
85,00	80	20	0,6

Таблица 2

**Сравнение площадей пиков, полученных в результате хроматографических измерений
дериватов L- и D-карнитина свежеприготовленных и спустя 24 ч**

Содержание смеси L- и D-карнитина в разных типах матриц, %	Площадь пиков свежеприготовленных дериватов L-карнитина, мЕА*s	Площадь пиков свежеприготовленных дериватов D-карнитина, мЕА*s	Площадь пиков дериватов L-карнитина через 24 ч, мЕА*s	Площадь пиков дериватов D-карнитина через 24 ч, мЕА*s
Порошок				
0,1	132,95	101,32	123,70	104,82
10	279,22	242,78	290,88	266,47
25	284,62	237,52	258,18	241,31
50	1363,5	1191,0	1311,5	1233,1
Жидкость				
0,1	102,6	98,8	94,3	104,1
10	233,20	239,2	257,0	216,2
25	226,0	237,0	262,1	208,9
50	1302,1	1226,2	1448,5	1159,0

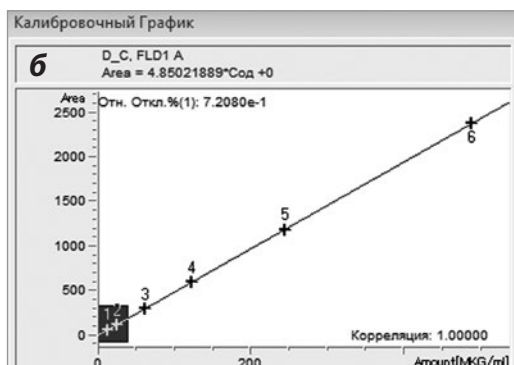
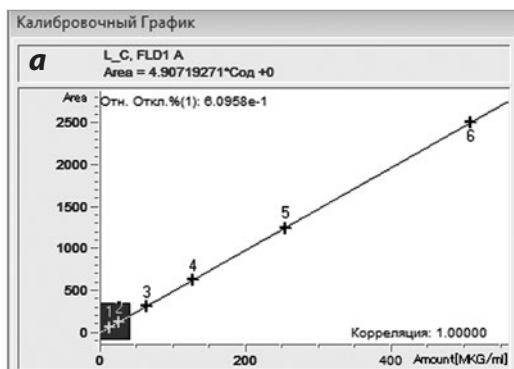


Рис. 2. Пример градуировочной зависимости L-карнитина (а) и D-карнитина (б) в диапазоне концентраций от 12,5 мкг/см³ до 500 мкг/см³

эмульсия, паста, порошок) с добавкой 0,1; 10,0; 25,0; 50,0 % аналитов. Коэффициенты корреляции градуировочной зависимости L- и D-карнитина превосходили 0,998 (рис. 2).

Восстановление D-карнитина находилось в пределах 96 – 99 %, а L-карнитина – 98 – 104 %. Оценку метрологических характеристик методики измерений проводили согласно ГОСТ и РМГ [1, 3, 5], ее аттестацию – в соответствии с ГОСТ [4]. В таблице 3 приведены рассчитанные значения расширенной неопределенности (U) при коэффициенте охвата $k=2$, повторяемости (r) и внутрилабораторной прецизионности (R_p) при $P=0,95$ в диапазонах концентраций аналитов 0,1 – 10 % и 10 – 50 %.

Заключение. Разработана оригинальная методика одновременного совместного определения содержания L-карнитина и D-карнитина в ветеринарных препаратах, кормовых добавках и кормах для животных в диапазоне 0,1 – 50 %. Подобраны хроматографические условия, позволяющие

Таблица 3

Метрологические характеристики метода

Аналит	Диапазон измерений массовой доли, %	Расширенная неопределенность (U), %	Предел повторяемости (r), %	Предел внутрилабораторной прецизионности (R_p), %
L-карнитин	0,1 – 10	35	14	44
	10 – 50	12	11	14
D-карнитин	0,1 – 10	14	5,5	17
	10 – 50	10	5,5	11

селективно устанавливать уровень энантиомеров карнитина при их одновременном содержании в смесях.

Настоящая «Методика измерения массовой доли L-карнитина и D-карнитина в кормах, комбикормах, кормовых добавках и лекарственных средствах для животных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием МУ А-1/068» аттестована ФГБУ «ВГНКИ» (регистрационный код в Федеральном информационном фонде измерений ФР.1.31.2020.36518) и может быть использована для проведения лабораторных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008 Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения. М.: Стандартинформ, 2019; 112 с.
2. ГОСТ Р 53185 – 2008. Напитки безалкогольные и слабоалкогольные тонирующие. Методы испытания. М.: Стандартинформ, 2010; 45 с.
3. ГОСТ Р ИСО 5725-6 – 2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике. М.: Стандартинформ, 2009; 88 с.
4. ГОСТ Р 8.563 – 2009 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Методики (методы) измерений. М.: Стандартинформ, 2019; 29 с.
5. РМГ 61 – 2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.: Стандартинформ, 2013; 59 с.
6. Р 4.1.1672 – 03 Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004; 122, 123.
7. Спасов А.А., Иежица И.Н. Стереофармакологические особенности карнитина. Русский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2005; 12:1469 – 1480.
8. Albrecht A., Zupančič B., Vovk I. A novel derivatization procedure and chiral gas chromatographic method for enantiomeric purity screening of L-carnitine. Acta Chim. Slov. 2014; 61(4):889 – 893.
9. de Andrés F., Castañeda G., Ríos A. Achiral liquid chromatography with circular dichroism detection for the determination of carnitine enantiomers in dietary supplements and pharmaceutical formulations. J. Pharm. Biomed. Anal. 2010; 51(2):478 – 483.
10. Balashov V., Balykova L., Khutorskaya I., Bystrova E., Shaymardanova G., Ivynskiy S., Krasnopolskaya A., Kotlyarov A. Potential for L-carnitine application in sports practice. Procedia Computer Science. 2020; 169:821 – 828.
11. D'Acquarica I., Gasparrini F., Giannoli B., Badaloni E., Galletti B., Giorgi F., Tinti M. O., Vigevani A. Enantio- and chemo-selective HPLC separations by chiral-achiral tandem-columns approach: The combination of

CHIROBIOTIC TAG and SCX columns for the analysis of propionyl carnitine and related impurities. J. Chromatogr. A. 2004; 1061(2):167 – 173.

12. De Witt P., Deias R., Muck S., Galletti B., Meloni D., Celletti P., Marzo A. High-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis of L- and D-carnitine by precolumn diastereomeric derivatization. J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. 1994; 657(1):67 – 73.
13. Flanagan J.L., Simmons P.A., Vehige J., Willcox M.D.P., Garrett Q. Role of carnitine in disease. Nutr. Metab. 2010; 7(1):30.
14. Freimüller S., Altörfer H. A chiral HPLC method for the determination of low amounts of D-carnitine in L-carnitine after derivatization with (+)-FLEC. J. Pharm. Biomed. Anal. 2002; 30(2):209 – 218.
15. Isao N., Emi H., Chihiro T., Tasuku S., Shinichi F., Takashi A., Koichi I., Yutaka Y., Toshimasa T. Quantitative determination of total L-carnitine in infant formula, follow-up formula, and raw materials by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Anal. Sci. 2014; 30(8):839 – 844.
16. Jogl G., Hsiao Y.S., Tong L. Structure and function of carnitine acyltransferases. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 2004; 1033:17 – 29.
17. Kagawa M., Machida Y., Nishi H. Enantiomeric purity determination of acetyl-L-carnitine by reversed-phase high-performance liquid chromatography using chiral derivatization. J. Chromatogr. A. 1999; 857(1 – 2):127 – 135.
18. Kakou A., Megoulas N.C., Koupparis M.A. Determination of L-carnitine in food supplement formulations using ion-pair chromatography with indirect conductimetric detection. J. Chromatogr. A. 2005; 1069(2):209 – 215.
19. Liu Ya., Xue X., Liu G., Ren X., Hu M., Zhu J. Determination of L-carnitine in milk and dairy products by hydrophilic liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chin. J. Chromatogr. 2015; 33(9):943 – 945.
20. National Standard of the People's Republic of China GB 34461 – 2017. Feed additive – L-carnitine. The Standardization Administration of the People's Republic of China. 2017; 3 p.
21. Preedy V.R., Watson R.R. (Eds.). Reviews in Food and Nutrition Toxicity. Ed. Boca Raton [et al.]: CRC Press, 2005; 3:170 – 174.
22. Rebouche C.J. Carnitine. In: Shils M.E., Olson J.A., Shike M., Ross A.C. (Eds.). Modern Nutrition in Health and Disease. New York: Lippincott Williams and Wilkins, 1999; 505 – 512.
23. Sánchez-Hernández L., García-Ruiz C., Crego A.L., Marina M.L. Sensitive determination of D-carnitine as enantiomeric impurity of levo-carnitine in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis – tandem mass spectrometry. J. Pharm. Biomed. Anal. 2010; 53(3):1217 – 1223.
24. The European Pharmacopoeia. 9.0. Strasbourg: Council of Europe. 2017; 2890 – 2892.
25. The United States Pharmacopeia (USP 30). Rockville: USPC. 2012; 3665, 3666.
26. Vogt C., Georgi A., Werner G. Enantiomeric separation of D/L-carnitine using HPLC and CZE after derivatization. Chromatographia. 1995; 40(3):287 – 295.
27. Wang H., Xie S. Identification of L-carnitine and its impurities in food supplement formulations by online column-switching liquid chromatography coupled with linear ion trap mass spectrometry. J. Separation Sci. 2017; 40(2):431 – 441.