

Полная методика количественного скрининга множества ветеринарных препаратов разных классов в мясе с помощью трехквадрупольной системы ВЭЖХ-МС Agilent 6470

Авторы

Siji Joseph (Сиджи Джозеф),
Aimei Zou (Аимей Зу), Chee
Sian Gan (Чи Сян Ган), Limian
Zhao (Лимян Чжао) и Patrick
Batoon (Патрик Батун)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

Нами была разработана полная методика целевого скрининга или количественного анализа остатков 210 ветеринарных препаратов в мышечной ткани животных, предназначенной для употребления в пищу человеком, с целью ускорить и упростить рутинный лабораторный анализ. Методика включает полный цикл анализа, от пробоподготовки, хроматографического разделения и МС-детектирования до обработки и анализа данных и подготовки отчета. Эффективность методики оценивалась с использованием трех проб мышечной ткани, курятины, свинины и говядины, на двух моделях трехквадрупольных систем ВЭЖХ-МС компании Agilent (Agilent 6470 и Agilent 6495C). Простой протокол пробоподготовки с использованием патронов Agilent Captiva EMR—Lipid позволил добиться эффективной очистки и удаления соединений матрицы. Общая хроматографическая методика продолжительностью 13 минут с использованием колонки Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 позволила добиться эффективного разделения и распределения пиков по всей длине хроматограммы, что повышает надежность МС-детектирования и анализа данных.

Эффективность методики оценивалась по показателям предела детектирования (LOD), нижнего предела количественного определения (LOQ), линейности калибровочной кривой, точности и разброса результатов, а также степени обнаружения искомых соединений на пробах матрицы с добавкой исследуемых пестицидов в концентрации от 0,1 до 100 мкг/л. Калибровочные кривые для всех определяемых веществ в диапазоне от предела количественного определения до 100 мкг/л показали линейность $R^2 > 0,99$. Точность результатов находилась в диапазоне от 73 до 113%. Относительное стандартное отклонение (СОС) откликов и времен удерживания целевых веществ было $\leq 19\%$ и $\leq 0,28\%$ соответственно. Для валидации пригодности методики для надежного постоянного скрининга на наличие ветеринарных препаратов использовались степень обнаружения и воспроизводимость результатов для образцов контроля качества с добавкой определяемых веществ: 1, 10 и 25 мкг/кг в мясе. Повторяемость (внутри серии аналогичных проб) и воспроизводимость (между сериями аналогичных проб) значений степени извлечения рассчитывались по результатам анализа проб контроля качества и были в приемлемых пределах 20% и 32% соответственно¹. Параметры эффективности методики для курятины, свинины и говядины показали хорошее совпадение, подтверждающее применимость методики для постоянного многокомпонентного скрининга различных видов мяса.

Введение

Ветеринарные препараты часто применяются для улучшения роста и здоровья сельскохозяйственных животных. Неправильное применение ветеринарных препаратов в животноводстве может привести к их накоплению в продуктах питания животного происхождения и вызвать негативные последствия для их потребителей. Для защиты здоровья населения международные нормативы устанавливают предельные содержания ветеринарных препаратов в продуктах питания животного происхождения. Для определения содержания этих препаратов обычно применяется золотой стандарт количественного анализа – трехкратный ВЭЖХ-МС (ВЭЖХ-МС-МС) – широко признанный метод для анализа такого типа. Однако обычно вещества разных классов определяются по отдельным методикам с соответствующей классу соединения методикой пробоподготовки. Для загруженных лабораторий такой подход может быть не очень эффективным и приводить к сокращению производительности и повышению операционных расходов. Для повышения скорости определения ветеринарных препаратов мы разработали полную методику точного и надежного определения более 200 ветеринарных препаратов различных классов в различных видах продуктов питания животного происхождения методом ВЭЖХ-МС-МС. Эта методика включает в себя экстракцию пробы, очистку ее от соединений матрицы, хроматографическое разделение, МС-детектирование, количественный анализ определяемых соединений и шаблоны для подготовки отчетов. В табл. 1 перечислены классы ветеринарных препаратов, определяемых по данной методике.

Экспериментальная часть

Стандарты и реактивы

Стандарты ветеринарных препаратов были приобретены в компании Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури, США), Toronto Research Chemicals (Онтарио, Канада) и Alta Scientific

Таблица 1. Деление 210 ветеринарных препаратов на функциональные и химические классы и число целевых соединений в каждом из классов.

№	Функциональный/химический класс	Число соединений
1	Анестетики	1
2	Антигельминтики	16
3	Антигельминтики/авермектины	3
4	Антигельминтики/бензимидазолы	14
5	Антигельминтики/нитромидазолы	5
6	Препараты для защиты от травоядных	1
7	Противовоспалительные	2
8	Антибиотики	7
9	Антибиотики/аминогликозиды	5
10	Антибиотики/амфениколы	3
11	Антибиотики/бета-лактамы	16
12	Антибиотики/макролиды	10
13	Антибиотики/хинолоны	10
14	Антибиотики/сульфонамиды	27
15	Антибиотики/тетрациклины	6
16	Противорвотные	1
17	Антимикробные препараты	6
18	Антимикробные препараты/фураны	1
19	Кокцидиостатические препараты	14
20	Агонисты дофаминовых рецепторов	1
21	Фунгициды и красители	3
22	Стимуляторы роста/анаболические стероиды	3
23	Стимуляторы роста/бета-агонисты	4
24	Стимуляторы роста/кортикостероиды	4
25	Гормоны	9
26	Инсектициды	15
27	Нестероидные противовоспалительные препараты	14
28	Хинокалины	1
29	Транквилизаторы	8

(Тяньцзинь, Китай). В исследовании использовались ацетонитрил, метанол и вода чистоты ВЭЖХ-МС компании Agilent. Все остальные растворители имели чистоту для ВЭЖХ и были приобретены в компании Sigma-Aldrich. Добавки для подвижной фазы ВЭЖХ-МС также были приобретены в компании Sigma-Aldrich. Сток-растворы отдельных стандартов ветеринарных препаратов концентрацией 1 000 или 2 000 мкг/мл готовились из порошкообразных или жидких стандартов в соответствующем растворителе (метанол, диметилсульфоксид, ацетонитрил или вода, по отдельности или в смеси). Некоторые смеси стандартов были приобретены в готовом виде с концентрацией 100 мкг/мл у вышеперечисленных поставщиков.

Использовавшаяся в эксперименте смесь всех стандартов с концентрацией 1 мкг/мл каждого из веществ в смеси ацетонитрила с водой 50/50 готовилась из сток-растворов отдельных стандартов.

Пробоподготовка

Для оценки влияния матрицы использовались пробы курятины, говядины и свинины. Свежая курятина (без антибиотиков), говядина и свинина были приобретены в местном бакалейном магазине. Пробы гомогенизировались с помощью бытового блендера. Навеска гомогенизированного мяса массой $2 \pm 0,1$ г взвешивалась в конической полипропиленовой пробирке емкостью 50 мл. Не анализировавшиеся сразу пробы гомогенизированного мяса хранились при температуре -20 °С.

Для подготовки к анализу пробы мяса экстрагировались растворителем, после чего экстракт очищался с помощью патрона для ТФЭ Agilent Captiva EMR—Lipid (p/n 5190-1003). Чтобы ускорить прохождение экстракта через колонку, применялась вакуумная установка для пробоподготовки Agilent PPM-48 (p/n 5191-4101).

Для приготовления проб контроля качества (матрица с добавкой) перед экстракцией непосредственно в гомогенизированное мясо добавлялся раствор соответствующего стандарта ветеринарного препарата. Готовились три пробы контроля качества со следующими концентрациями препарата в мясе: 1 мкг/кг (проба КК низкой концентрации), 10 мкг/кг (проба КК средней концентрации) и 25 мкг/кг

(проба КК высокой концентрации). Пробы КК низкой и высокой концентрации, в которые раствор стандарта добавлялся до экстракции, использовались для оценки степени обнаружения и воспроизводимости методики. После добавки стандарта в гомогенизированное мясо пробы перемешивались на вортексе в течение 30 с и выдерживались 15–20 минут для достижения равновесия. Это делалось для того, чтобы введенные стандарты пропитали мясо и их концентрация сделалась одинаковой по всему объему.

Схема процесса пробоподготовки показана на рис. 1. В подробностях эта процедура описана в руководстве к методике, включенной в полный пакет документации по определению ветеринарных препаратов методом dMRM (G5368AA).

Калибровочные стандарты

Бланки пробы матрицы готовились из чистого мяса без добавки стандартов. Калибровочные стандарты в целевой матрице готовились путем добавления соответствующих стандартных растворов в бланки пробы матрицы. Калибровочные стандарты готовились таким образом, чтобы концентрация определяемых веществ в них соответствовала концентрации этих веществ в исходном мясе, равной 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0 и 100,0 мкг/кг. Учитывая десятикратное разбавление в ходе пробоподготовки, реальная концентрация определяемых веществ в калибровочных стандартах была равна 0,01; 0,025; 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 1,0; 2,5; 5,0 и 10,0 мкг/л.



Рис. 1. Диаграмма протокола экстракции мяса и очистки экстракта с помощью патрона для ТФЭ Agilent Captiva EMR—Lipid (размер изображений не в масштабе).

Для оценки влияния матрицы отклик веществ в калибровочных стандартах в целевой матрице сравнивался с их откликом в исходных растворах стандартов, разбавленных чистой смесью ацетонитрила с водой 50/50 до концентрации 0,1; 1,0 и 2,5 мкг/л.

Оборудование

Хроматографическое разделение выполнялось на колонке Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (p/n 695575-302), установленной на ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II LC. Система ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II LC состояла из следующих модулей:

- высокоскоростной насос Agilent 1290 Infinity II (G4220A);
- автосамплер Agilent 1290 Infinity (G4226A);
- колоночный термостат Agilent 1290 Infinity (G1316C).

ВЭЖХ был оборудован петлевым дозатором объемом 20 мкл с функцией многократной промывки. В качестве подвижной фазы А использовался раствор 4,5 ммоль/л формиата аммония, 0,5 ммоль/л фторида аммония и 0,1% муравьиной кислоты в воде. В качестве подвижной фазы В – раствор 4,5 ммоль/л формиата аммония, 0,5 ммоль/л фторида аммония и 0,1% муравьиной кислоты в смеси ацетонитрил/метанол 50/50.

Трехкврупольный ВЭЖХ-МС Agilent 6470 с источником ионизации Agilent Jet Stream (AJS) использовался в режиме динамического MRM (dMRM). Его автоматическая настройка выполнялась в режиме единичного разрешения с включенным режимом показа ионов с $m/z < 100$. Сбор и обработка данных осуществлялись с помощью пакета Agilent MassHunter версии 10.0. Больше информации о лабораторном оборудовании и расходных материалах других производителей, которые использовались в этой работе, можно найти в руководстве к методике, включенном в полный пакет документации по определению ветеринарных препаратов методом dMRM (G5368AA). В этот пакет документации включены также методики сбора данных для трехкврупольных ВЭЖХ-МС Agilent 6470 и Agilent 6495C, которые можно скопировать и использовать непосредственно.

Использование методики для скрининга на наличие ветеринарных препаратов

Предельно допустимые концентрации ветеринарных препаратов в шаблонах отчетов взяты из нормативной документации различных регулирующих органов, которые занимаются контролем содержания ветеринарных препаратов в продуктах питания. В зависимости от типа продукта и регулирующего органа эти предельно допустимые концентрации могут различаться. 210 целевых ветеринарных препаратов были выбраны по результатам обобщающего исследования списков мониторинга ветеринарных препаратов рекомендованных FDA США², FSIS США³, Евросоюзом⁴ и АОАС⁵. Диаграмма Венна, которая показывает количество препаратов, контролируемых каждым из регулирующих органов, показана на рис. 2. Из 210 целевых веществ для 168 рекомендации и регламенты АОАС, ЕС и США устанавливают предельно допустимые концентрации (ПДК) в использованных в данном исследовании видах мяса. Остальные 42 целевых препарата, для которых ПДК не установлены, упоминаются в категории подлежащих мониторингу в мясе в соответствии с требованиями этих рекомендаций и регламентов. Пригодность данной методики для постоянного скрининга в соответствии с требованиями отдельных рекомендаций и регламентов была показана путем оценки аналитических характеристик методики при анализе проб КК с добавкой соответствующего препарата.

Результаты и их обсуждение

Простая методика скрининга на наличие ветеринарных препаратов различных классов

Простая и надежная методика определения ветеринарных препаратов позволяет выполнять постоянный скрининг в соответствии с требованиями различных регулирующих органов. Пригодность этой новой методики для рутинного анализа в соответствии с нормативными требованиями была продемонстрирована путем скрининга пробы куриного мяса на содержание ветеринарных препаратов, входящих в список рекомендуемых определяемых соединений АОАС. Из 168 соединений 86 специально указаны в требованиях для скрининга курятины. Аналитические характеристики методики для этих 168 соединений сведены в табл. 2 (в конце этого документа). Чувствительность методики была установлена анализом калибровочных стандартов с добавлением стандарта после экстракции, а ее пригодность для постоянного скрининга была продемонстрирована путем оценки степени обнаружения в трех пробах КК с добавлением раствора стандарта до экстракции с концентрациями 1 мкг/кг (низкая), 10 мкг/кг (средняя) и 25 мкг/кг (высокая концентрация). В зависимости от ПДК целевого соединения для демонстрации пригодности методики для скрининга выбиралась одна из проб



Рис. 2. Диаграмма Венна, которая показывает количество препаратов, контролируемых различными регулируемыми органами.

КК с подходящей концентрацией. ПДК в курятине для большинства целевых соединений (85 из 86) согласно рекомендациям АОАС составляет ≥ 10 мкг/кг, поэтому для всех этих соединений степень обнаружения оценивалась по пробе КК средней концентрации (10 мкг/кг). Для преднизона ПДК в курятине составляет порядка 1 мкг/кг, поэтому для него аналитические характеристики методики, такие как степень обнаружения, повторяемость и воспроизводимость, оценивались по пробе КК низкой концентрации (1 мкг/кг). Для цефалексина же ПДК составляет 200 мкг/кг, поэтому для него для оценки аналитических характеристик применялась проба КК высокой концентрации. В целом, предложенная методика может успешно использоваться для скрининга на содержание всех 86 препаратов в курятине в соответствии с рекомендациями АОАС. Результаты повторяемости в пределах одного дня и воспроизводимости в пределах разных дней степеней обнаружения подтверждают постоянство и воспроизводимость результатов, необходимые для надежного ежедневного скрининга.

Разработка методики ВЭЖХ-МС-МС и оценка ее эффективности

Параметры методики для каждого конкретного вещества, включающие в себя родительский ион, наиболее интенсивный дочерний ион и энергию соударений, оптимизировались с помощью модуля MRM Optimizer пакета MassHunter. Чтобы удовлетворить нормативным требованиям к идентификации и подтверждению идентификации при анализе методом ВЭЖХ-МС/МС, для каждого соединения были выбраны два или три характерных MRM-перехода. Методика, включенная в полный пакет документации по определению ветеринарных препаратов методом dMRM, включает в себя MRM-переходы для каждого соединения и все соответствующие параметры МС.

Хроматографическое разделение на колонке InfinityLab Poroshell EC-C18 позволило добиться хорошего разделения и распределения времен удерживания 210 ветеринарных препаратов по всей длине 13-минутного градиента. Скорость потока, равная 0,5 мл/мин, создает условия для хорошей десольватации ионов определяемых веществ в ионизаторе АJS. Добавление

фторида аммония к подвижной фазе помогает повысить чувствительность в режиме отрицательной ионизации и уменьшить образование аддуктов. Для анализа применялся режим dMRM с временем цикла 750 мс и выдержкой от 7 до 370 мс. Ширина типичного хроматографического пика была от 8 до 12 секунд. На рис. 3 показана типичная хроматограмма MRM всех определяемых ветеринарных препаратов, введенных в экстракт курятины после экстракции в концентрации 2,5 мкг/л.

Выходящие в начале хроматограммы полярные соединения, такие как пиперазин, ампролиум и никотин, демонстрируют приемлемую форму пиков. Однако некоторые мектины, такие как эмамектин и моксидектин, выходят ближе к концу хроматограммы. Пики некоторых соединений, таких как 2,4,6-триаминопиримидин-5-карбонитрил, амоксициллин, баквипоприм, цефапирин, котинин, деацетилцефапирин, диклосациллин, дицикланил, диминазен, рактопамин, сальбутамол (альбутерол), сульфатуанидин, тилмикозин и зилпатерол, были раздвоены. Эту проблему можно устранить, разбавив готовую к вводу пробу водой.

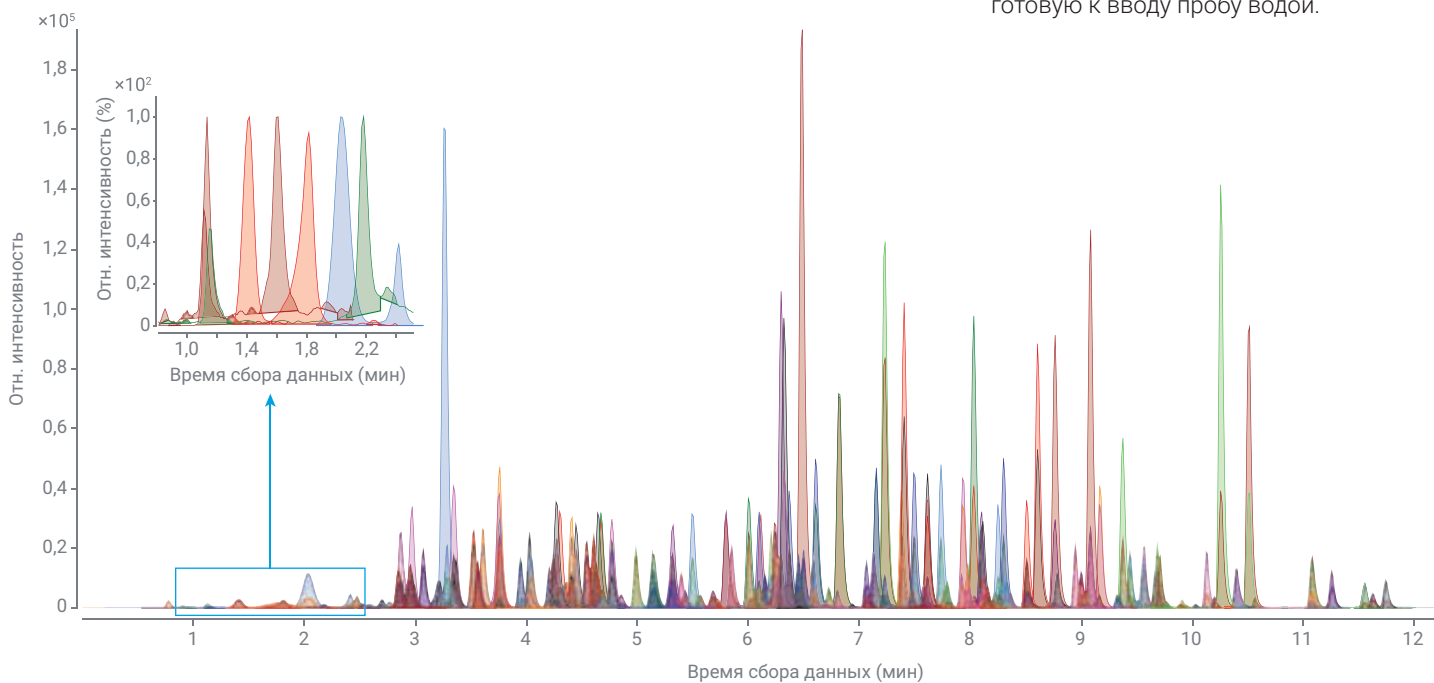


Рис. 3. Хроматограмма MRM 210 определяемых ветеринарных препаратов, введенных в экстракт курятины после экстракции в концентрации 2,5 мкг/л. Учитывая десятикратное разбавление в ходе пробоподготовки, концентрация 2,5 мкг/л соответствует концентрации 25 мкг/кг в исходной курятине. Симметричные острые пики демонстрируют эффективность хроматографического разделения определяемых соединений в пределах диапазона времен удерживания. На врезке показана увеличенная часть хроматограммы с нормированными пиками шести соединений, выходящих в начале хроматограммы.

Эффективность методики оценивалась по следующим параметрам: чувствительность, линейность, точность, разброс, степень обнаружения, повторяемость и воспроизводимость. Для оценки эффективности выполнялись пять серий анализов трех видов мяса (три серии для курятины и по одной серии для говядины и свинины). Эффективность методики проверялась на двух типичных трехквартупольных ВЭЖХ-МС — Agilent 6470 и Agilent 6495C. Результаты дополнительно сравнивались с результатами, полученными на двух других приборах аналогичных моделей. Серия анализов для каждого вида мяса включала в себя бланк растворителя, бланк матрицы, калибровочные стандарты в целевой матрице, а также пробы КК с добавлением раствора стандарта до экстракции. Калибровочные стандарты анализировались трижды, а пробы КК — дважды. Для оценки влияния матрицы были также проанализированы пробы КК в чистом растворителе.

Пределы детектирования и количественного определения и линейность калибровочных кривых

Пределы детектирования и количественного определения определялись по нескольким калибровочным стандартам низкой концентрации с добавлением раствора стандарта после экстракции. Для каждого из соединений пределом детектирования считалась концентрация с соотношением сигнал-шум, равным 3, а пределом количественного определения — концентрация с соотношением сигнал-шум, равным 10. Соотношение сигнал-шум рассчитывалось исходя из высоты пика с помощью алгоритма автоматического расчета СКО программы количественного анализа пакета Agilent MassHunter. При расчете предела количественного определения учитывались также такие параметры, как селективность определяемого вещества в пробе матрицы и воспроизводимость отклика этого вещества. Расчет пределов детектирования и количественного определения только на основе соотношения сигнал-шум может быть неточным из-за наличия некоторых

из определяемых соединений в исходном мясе. Для таких соединений предел детектирования рассчитывался как концентрация, для которой площадь пика в три раза больше, а предел количественного определения — в пять раз больше площади пика этого вещества в исходном мясе. Воспроизводимость отклика, рассчитанная по результатам трех повторных анализов — это другой важный параметр при расчете предела количественного определения, поэтому требования к ОСО были жестче обычного критерия пригодности в 25%. Учитывая нормативные требования к ПДК большинства ветеринарных препаратов, минимальная концентрация калибровочного стандарта с добавлением раствора стандарта после экстракции была принята равной 0,01 мкг/л, что соответствовало концентрации 0,1 мкг/кг исходного мяса. Однако, учитывая интенсивность пиков на сигнале MRM, для многих из определяемых соединений пределы детектирования и количественного определения потенциально могут быть ниже.

Калибровочная кривая для каждого из определяемых соединений строилась по результатам анализа калибровочных стандартов с добавлением раствора стандарта после экстракции в диапазоне от найденного предела количественного определения до максимальной концентрации калибровочного стандарта. Например, для соединения с пределом детектирования 0,1 мкг/кг калибровочная кривая строилась от 0,25 до 100 мкг/кг, для соединения с пределом обнаружения 1 мкг/кг — от 2,5 до 100 мкг/кг, для соединения с пределом обнаружения 10 мкг/кг — от 25 до 100 мкг/кг. Чтобы определить оптимальную аппроксимирующую функцию, мы оценили несколько регрессионных моделей. Лучшее показала себя следующая: тип: *линейная*, точка начала координат: *игнорировать*, весовой коэффициент: $1/x$. Для всех определяемых соединений линейность калибровочной кривой была не ниже требуемой $R^2 > 0,99$. В табл. 2 приведены пределы детектирования и количественного определения, а также параметры калибровочных кривых для всех соединений, определяемых в курятине.

Точность и разброс результатов приборной методики

Средняя точность для каждого калибровочного стандарта в целевой матрице с добавлением раствора стандарта после экстракции рассчитывалась по результатам трех повторных анализов. Полученные значения точности для всех определяемых соединений во всем диапазоне калибровки без проблем попадали в диапазон от 70 до 120%.

Разброс результатов определялся как относительное стандартное отклонение (ОСО) отклика и времени удерживания (ВУ) определяемого соединения по результатам трех повторных анализов каждого калибровочного стандарта с добавлением раствора стандарта после экстракции. Эксперимент продемонстрировал хорошие значения разброса ВУ и отклика для всех определяемых соединений во всех матрицах. ОСО отклика для всех определяемых соединений в курятине было ниже 20%, а ОСО времени удерживания — ниже 0,5%. Результаты расчета разброса подтверждают воспроизводимость градиента и МС-детектирования. Для определяемых соединений с пределом количественного определения 25 мкг/кг воспроизводимости ВУ и площади пиков рассчитывались при концентрации 25 мкг/л.

Степень извлечения / эффективность экстракции определяемых соединений

В данном эксперименте оценивалось влияние пробоподготовки на степень извлечения определяемых веществ. Для этого применялись три пробы КК (низкой, средней и высокой концентрации) с добавлением раствора стандарта до экстракции. Степень извлечения рассчитывалась как отношение отклика соединения в пробе КК с добавлением раствора стандарта до экстракции и отклика этого же соединения на калибровочной кривой, построенной по результатам анализа калибровочных стандартов с добавлением раствора стандарта после экстракции. На рис. 4 показаны наложенные друг на друга хроматограммы MRM трех соединений, триметоприма, оксипендазола и фебантела, для проб с добавлением раствора стандарта после экстракции (черная линия) и до экстракции (голубая линия) с концентрацией, соответствующей содержанию 1 мкг/кг этих веществ в курятине. Сравнение этих двух откликов демонстрирует хорошую степень обнаружения ($106 \pm 1\%$) для всех этих соединений. Для проб КК низкой и средней концентрации средние степени обнаружения рассчитывались по результатам двух повторных анализов трех разных аналогичных проб, а для пробы КК высокой концентрации — двух повторных анализов одной пробы. Для более чем 97% процентов определяемых соединений значение

степени обнаружения находилось в приемлемом диапазоне от 60 до 120%. Для таких соединений, как ампролиум, цефапирин, эритромицин, малахитовый зеленый, наразин и никотин, степень обнаружения была в диапазоне от 30 до 60%. Однако эти результаты были воспроизводимы на протяжении трех разных серий анализов этого исследования. Степень обнаружения для всех определяемых соединений приведена в табл. 2.

Внутрисерийная повторяемость методики

В данном исследовании мы также оценили разброс степени обнаружения для аналогичных проб КК в пределах одной серии анализов. Мерой повторяемости степени обнаружения считалось ОСО степеней обнаружения для аналогичных проб КК курятины с одинаковой концентрацией, приготовленных в течение одного дня. Условия пробоподготовки поддерживались как можно более одинаковыми. Готовились по три пробы КК низкой (1 мкг/кг) и средней (10 мкг/кг) концентрации, каждая из которых отдельно пропусклась через патрон Captiva EMR–Lipid. Каждая из этих проб затем анализировалась два раза. Затем для каждой из концентраций рассчитывалось ОСО, которое и считалось выражением повторяемости методики. Как правило, для концентрации 10 млрд д. приемлемым пределом повторяемости степени обнаружения считается 21%, а для 1 млрд д. — 30%¹. Значения ОСО степеней обнаружения

всех определяемых веществ лежали в приемлемых пределах и приведены в табл. 2. Хотя для некоторых соединений степень обнаружения была ниже 60%, ее повторяемость для этих соединений была не хуже 10% ОСО, что показывает хорошее постоянство результатов для каждой аналогичной пробы. Эти результаты подтверждают повторяемость процесса пробоподготовки с использованием патронов для ТФЭ Captiva EMR–Lipid.

Воспроизводимость методики между сериями

В данном исследовании оценивался разброс степеней обнаружения для трех разных серий проб курятины, подготовленных к анализу в разных условиях. Потенциальные переменные факторы в ходе пробоподготовки и анализа поддерживались настолько разными, насколько это было возможно. В том числе использовались разные партии курятины, разные приборы, пробы готовились в разные дни разными лаборантами, а климатические условия в лаборатории различались. Воспроизводимость степеней обнаружения определяемых соединений определялась для всех трех проб КК с добавлением раствора стандарта до экстракции разных концентраций, низкой (1 мкг/кг), средней (10 мкг/кг) и высокой (25 мкг/кг). Каждая подготовленная по отдельности аналогичная проба анализировалась два раза, а мерой воспроизводимости считалось ОСО рассчитанных концентраций для проб, подготовленных в разных условиях.

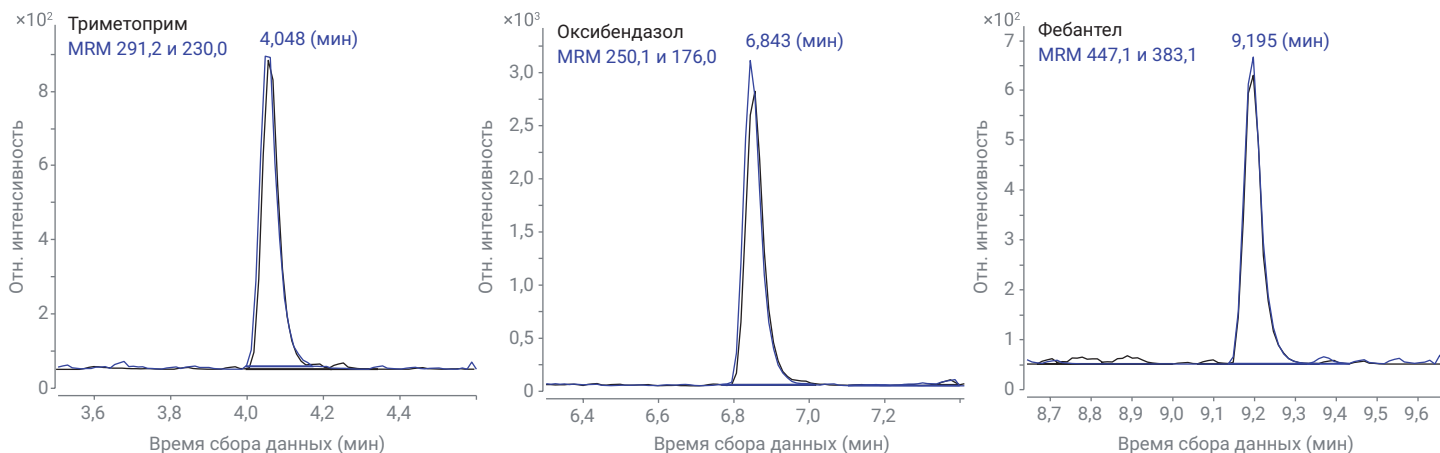


Рис. 4. Наложенные хроматограммы MRM трех избранных ветеринарных препаратов в концентрации, соответствующей содержанию 1 мкг/кг курятины, в начале, середине и конце хроматограммы. Черной линией показана хроматограмма калибровочного стандарта с концентрацией 1 мкг/л с добавлением раствора стандарта после экстракции, голубой — до экстракции.

Полученные результаты сведены в табл. 2. Для всех 210 соединений воспроизводимость степени извлечения была не хуже предела в 32% ОСО¹. При этом для более чем 91% соединений это значение было не хуже 15% ОСО. Результаты оценки воспроизводимости подтверждают низкий разброс результатов пробоподготовки с использованием патронов для ТФЭ Captiva EMR–Lipid в различных условиях.

Оценка влияния матрицы

Влияние матрицы оценивалось из соотношения отклика соединения для пробы в целевой матрице с добавкой стандарта после экстракции и отклика этого же соединения в чистом растворителе. Как правило, строгих критериев пригодности для влияния матрицы не бывает, так как это влияние легко учитывается использованием калибровочных стандартов, приготовленных в целевой матрице. Однако влияние матрицы — это важный параметр при оценке чувствительности и надежности методики. В данном исследовании влияние матрицы оценивалось путем сравнения результатов

анализа калибровочных стандартов с добавкой раствора стандарта после экстракции с концентрацией 2,5 мкг/л с результатами анализа проб стандарта этой же концентрации в чистом растворителе. Более 93% из всех 210 определяемых соединений не продемонстрировали значительного подавления сигнала из-за влияния матрицы. Для этих соединений влияние матрицы было более 75%. Для примерно 3% соединений влияние матрицы было от 50 до 70%, что указывает на легкое подавление сигнала, для 1% соединений влияние матрицы было от 25 до 50%, что указывает на подавление сигнала средней силы, а для 3% соединений подавление сигнала было сильным, а влияние матрицы было менее 25%. Для таких соединений, как циромазин, дицикланил, сульфациетамид, сульфатуанидин, сульфизомидин и толфенамовая кислота, подавление сигнала было слабым. Для таких соединений, как эритромицин и флуранер, подавление сигнала было средней силы, а для 2,4,6-триаминопиримидин-5-карбонитрила, ампролиума, котинина, деацетилцефарины, метронидазола, гидроксиметронидазола и никотина — сильным.

Сравнение эффективности методики для трех разных видов мяса

Параметры эффективности методики для курятины, говядины и свинины хорошо между собой согласуются. В качестве примера на рис. 5 показаны степени обнаружения определяемых соединений, введенных в концентрации 10 мкг/кг в курятину, говядину и свинину. Для более чем 97% соединений в курятине эти значения были в приемлемых пределах от 60 до 120%, в то время как для говядины и свинины таких соединений было более 94%. Эти результаты подтверждают пригодность методики для исследования различных видов мяса. Для дипиронгидрата и цефуросима в говядине и свинине влияние посторонних компонентов пробы было достаточно сильным, чтобы отрицательно повлиять на результаты количественного анализа. Для ацепромазина, хлорпромазина и пропионилпромазина в говядине и свинине степень обнаружения была довольно низкой, однако с приемлемой воспроизводимостью в 7% ОСО.

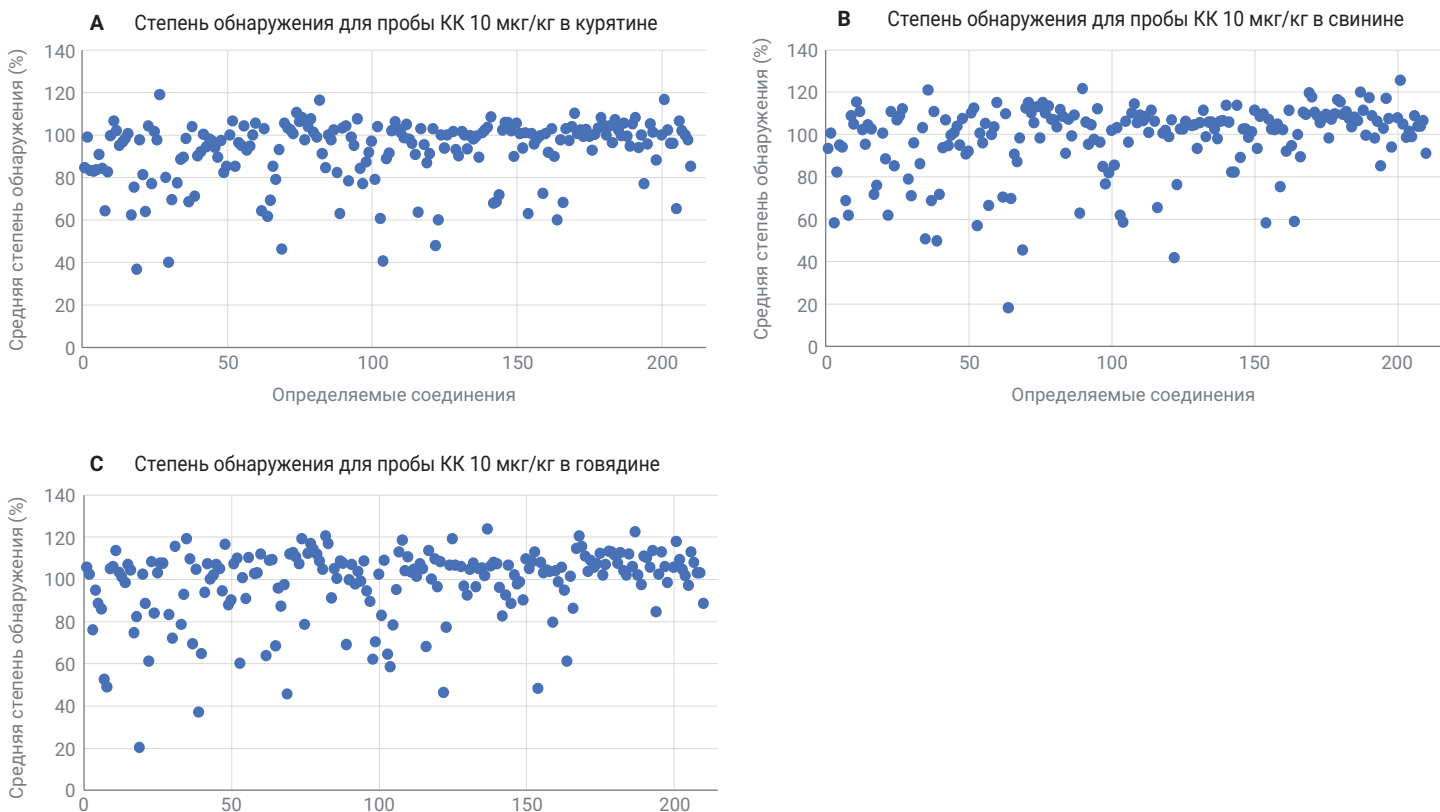


Рис. 5. Степень извлечения определяемых соединений для курятины (А), свинины (В) и говядины (С) для проб КК средней концентрации (10 мкг/кг) с добавлением раствора стандарта до экстракции.

Выводы

Данное исследование описывает высокочувствительную и воспроизводимую методику быстрого и надежного скрининга и количественного анализа 210 ветеринарных препаратов разных классов в мясе с помощью трехквартупольного ВЭЖХ-МС Agilent 6470. По методике проба мяса экстрагируется растворителем, экстракт очищается с помощью твердофазной экстракции на патроне Captiva EMR—Lipid, после чего анализируется с помощью ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II с трехквартупольным ВЭЖХ-МС Agilent 6470. Пригодность методики для постоянного скрининга на наличие ветеринарных препаратов была продемонстрирована путем скрининга курятины на наличие соединений, входящих в список АОАС.

Простой протокол пробоподготовки, основанный на экстракции растворителем с последующей очисткой пропуская через патрон для ТФЭ Captiva EMR—Lipid, обеспечивает эффективное, селективное и воспроизводимое удаление липидов и соединений матрицы, не влияющее на степень обнаружения целевых веществ. Методика хроматографирования на колонке InfinityLab Poroshell EC-C18 продолжительностью 13 минут обеспечивает хорошее хроматографическое разделение и равномерное распределение пиков по всей длине хроматограммы. Сбор данных масс-спектрометрии в режиме dMRM с быстрым переключением полярности обеспечивает минимальное время цикла прибора. Чувствительность методики позволяет добиться для большинства определяемых веществ предела детектирования ниже 5 нг/мл.

Эффективность методики проверялась на двух разных трехквартупольных ВЭЖХ-МС, Agilent 6470 и Agilent 6495C. В качестве параметров эффективности методики использовались линейность калибровочной кривой, точность и разброс результатов, а также степень извлечения. Для обеих моделей ВЭЖХ-МС эти параметры хорошо согласовывались друг с другом, однако Agilent 6495C продемонстрировал повышенную чувствительность. Методика была дополнительно проверена путем сравнения полученных результатов с результатами, полученными на двух других приборах аналогичных моделей. В работе была также продемонстрирована пригодность методики для исследования других видов мяса, а именно говядины и свинины.

Таблица 2. Результаты направленного скрининга курятины в соответствии с рекомендациями АОАС.

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с R ² > 0,99 (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)
1	2,4,6-триаминопиримидин-5-карбонитрил	1,58	Инсектицид	465531-97-9	Нет	5	От 10 до 100	85	8%	5%
2	2,4-ДМА (метаболит амитраза)	4,34	Инсектицид	33089-74-6	Нет	0,1	От 0,25 до 100	99	1%	1%
3	2-хиноксалинкарбоновая кислота (QCA)	4,13	Хиноксалины	879-65-2	Нет	5	От 10 до 100	83	6%	13%
4	4-эпиокситетрацилин	4,26	Антибиотики/тетрациклины	14206-58-7	200	0,5	От 1 до 100	83	5%	14%
5	4-эпитетрацилин	4,17	Антибиотики/тетрациклины	79-85-6	200	0,25	От 0,5 до 100	83	1%	15%
6	5-гидрокситиабендазол	3,52	Антигельминтики/бензимидазолы	948-71-0	Нет	0,25	От 0,5 до 100	91	1%	3%
7	5-гидроксифлунисин	8,29	Нестероидные противовоспалительные препараты	75369-61-8	Нет	0,1	От 0,25 до 100	84	2%	10%
8	Ацепромазин	7,34	Транквилизаторы	61-00-7	Нет	0,1	От 0,25 до 100	64	7%	11%
9	Ацетилзолвалерилтилозин (тилозин)	8,71	Антибиотики/макролиды	63409-12-1	40	1	От 2,5 до 100	82	1%	10%
10	Альбендазол	8,01	Антигельминтики/бензимидазолы	54965-21-8	Нет	0,1	От 0,25 до 100	100	1%	2%
11	Альбендазолсульфон	6,14	Антигельминтики/бензимидазолы	75184-71-3	Нет	0,25	От 0,5 до 100	107	2%	6%
12	Альбендазолсульфоксид	5,54	Антигельминтики/бензимидазолы	54029-12-8	Нет	1	От 2,5 до 100	102	2%	3%
13	Альбендазол-2-аминосальфон	3,71	Антигельминтики/бензимидазолы	80983-34-2	Нет	0,5	От 1 до 100	95	2%	4%
14	Альфа-зеараланол	8,25	Гормоны	26538-44-3	Нет	2,5	От 5 до 100	97	12%	6%
15	Альтреногест	8,96	Гормоны	850-52-2	Нет	0,25	От 0,5 до 100	98	2%	2%
16	Аминофлубендазол	6,08	Антигельминтики/бензимидазолы	82050-13-3	50	0,1	От 0,25 до 100	101	0%	1%
17	Амоксициллин	2,78	Антибиотики/бета-лактамы	26787-78-0	10	2,5	От 5 до 100	62	9%	23%
18	Ампициллин	3,94	Антибиотики/бета-лактамы	69-53-4	10	2,5	От 5 до 100	75	2%	16%
19	Ампролиум	1,19	Антимикробные препараты	13082-85-4	500	1	От 2,5 до 100	36	7%	14%

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с $R^2 > 0,99$ (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)
20	Азаперон	5,76	Транквилизаторы	1649-18-9	Нет	0,1	От 0,25 до 100	98	2%	1%
21	Азитромицин	6,16	Антибиотики/макролиды	83905-01-5	Нет	0,25	От 0,5 до 100	81	2%	3%
22	Баквиполим	2,63	Антимикробные препараты	102280-35-3	Нет	0,5	От 1 до 100	64	2%	5%
23	Бетаметазон	7,77	Стимуляторы роста/кортикостероиды	378-44-9	Нет	0,5	От 1 до 100	104	3%	3%
24	Каберголин	4,58	Агонисты дофаминовых рецепторов	81409-90-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	77	3%	4%
25	Каразолол	6,06	Транквилизаторы	57775-29-8	Нет	0,1	От 0,25 до 100	102	1%	1%
26	Карбадокс	4,41	Антимикробные препараты	6804-07-5	Нет	0,5	От 1 до 100	98	3%	4%
27	Карпрофен	9,00	Нестероидные противовоспалительные препараты	53716-49-7	Нет	10	От 25 до 100	119	0%	4%
28	Цефалексин	3,91	Антибиотики/бета-лактамы	15686-71-2	200	10	От 25 до 100	74 (#)	-	29% (#)
29	Цефалониум	3,91	Антибиотики/бета-лактамы	5575-21-3	Нет	5	От 10 до 100	80	20%	15%
30	Цефепим	3,19	Антибиотики/бета-лактамы	21593-23-7	Нет	0,5	От 1 до 100	40	6%	32%
31	Цефазолин	4,31	Антибиотики/бета-лактамы	25953-19-9	Нет	5	От 10 до 100	70	16%	6%
32	Цефоперазон	5,14	Антибиотики/бета-лактамы	62893-19-0	Нет	10	От 25 до 100	88 (#)	-	10% (#)
33	Цефтриаксон	3,69	Антибиотики/бета-лактамы	84957-30-2	Нет	1	От 2,5 до 100	77	9%	6%
34	Цефтидиофур	6,27	Антибиотики/бета-лактамы	80370-57-6	Нет	1	От 2,5 до 100	89	5%	11%
35	Цефуроксим	4,40	Антибиотики/бета-лактамы	55268-75-2	Нет	5	От 10 до 100	89	17%	11%
36	Хлорамфеникол	6,24	Антибиотики/амфениколы	56-75-7	Нет	2,5	От 5 до 100	98	4%	5%
37	Хлоргексидин	7,08	Антимикробные препараты	55-56-1	Нет	0,25	От 0,5 до 100	69	4%	1%
38	Хлормадион	9,45	Гормоны	1961-77-9	Нет	1	От 2,5 до 100	104	2%	1%
39	Хлорпромазин	8,06	Транквилизаторы	50-53-3	Нет	0,1	От 0,25 до 100	71	12%	13%
40	Хлортетрациклин	5,94	Антибиотики/тетрациклины	57-62-5	200	1	От 2,5 до 100	90	2%	9%
41	Ципрофлоксацин	4,43	Антибиотики/хинолоны	85721-33-1	Нет	0,25	От 0,5 до 100	92	2%	2%
42	Кленбутерол	5,28	Стимуляторы роста/бета-агонисты	37148-27-9	Нет	0,1	От 0,25 до 100	100	2%	4%
43	Клиндамицин	6,45	Антибиотики/макролиды	18323-44-9	Нет	5	От 10 до 100	94	1%	3%
44	Клопидол	3,56	Кокцидиостатические препараты	2971-90-6	5000	0,5	От 1 до 100	98	3%	1%
45	Клозантел	10,54	Антигельминтики	57808-65-8	Нет	1	От 2,5 до 100	97	3%	2%
46	Кохицин	6,72	Нестероидные противовоспалительные препараты	64-86-8	Нет	0,5	От 1 до 100	94	3%	3%
47	Котинин	2,35	Инсектицид	486-56-6	Нет	0,5	От 1 до 100	89	2%	2%
48	Кумафос	9,58	Антигельминтики	56-72-4	Нет	1	От 2,5 до 100	97	3%	10%
49	Циромазин	2,47	Антигельминтики	66215-27-8	100	1	От 2,5 до 100	82	3%	3%
50	Данофлоксацин	4,63	Антибиотики/хинолоны	112398-08-0	200	0,1	От 0,25 до 100	85	1%	2%
51	Дапсон	4,67	Антибиотики/сульфонамиды	80-08-0	Нет	0,1	От 0,25 до 100	100	3%	3%
52	N-ацетилдапсон	5,40	Антибиотики/сульфонамиды	565-20-8	Нет	0,5	От 1 до 100	107	2%	1%
53	Деацетилцефепим	2,30	Антибиотики/бета-лактамы	104557-24-6	Нет	5	От 10 до 100	85	8%	2%

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с $R^2 > 0,99$ (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)
54	Диаверидин	3,73	Антимикробные препараты	5355-16-8	50	0,1	От 0,25 до 100	97	2%	1%
55	Диазинон	9,64	Инсектицид	333-41-5	Нет	0,25	От 0,5 до 100	95	2%	8%
56	Диклофенак	9,14	Нестероидные противовоспалительные препараты	15307-86-5	Нет	0,5	От 1 до 100	104	5%	7%
57	Диклоксациллин	8,11	Антибиотики/бета-лактамы	3116-76-5	300	5	От 10 до 100	93	2%	23%
58	Дицикланил	2,93	Инсектицид	112636-83-6	Нет	0,5	От 1 до 100	95	2%	2%
59	Дифлоксацин	5,29	Антибиотики/хинолоны	98106-17-3	300	0,25	От 0,5 до 100	100	1%	1%
60	Дифлубензурон	9,11	Инсектицид	35367-38-5	Нет	2,5	От 5 до 100	105	7%	3%
61	Диметридазол	3,66	Кокцидиостатические препараты	551-92-8	Нет	10	От 25 до 100	87 (#)	-	7% (#)
62	Диминазен	2,96	Кокцидиостатические препараты	536-71-0	Нет	2,5	От 5 до 100	64	9%	8%
63	Динитолмид (зоален)	5,56	Кокцидиостатические препараты	148-01-6	3000	2,5	От 5 до 100	103	1%	5%
64	Метаболит дипиронгидрата (4-метиламиноантипирин)	3,34	Нестероидные противовоспалительные препараты	519-98-2	Нет	0,1	От 0,25 до 100	62	2%	3%
65	Доксициклин	6,26	Антибиотики/тетрациклины	564-25-0	100	0,5	От 1 до 100	69	3%	17%
66	Эмамектин В1а бензоат	10,09	Антигельминтики/авермектины	121124-29-6	Нет	0,25	От 0,5 до 100	79	2%	4%
67	Эмамектин В1b бензоат	9,90	Антигельминтики/авермектины	121424-52-0	Нет	2,5	От 5 до 100	85	7%	5%
68	Энрофлоксацин	4,74	Антибиотики/хинолоны	93106-60-6	100	0,25	От 0,5 до 100	93	2%	2%
69	Эритромицин	7,40	Антибиотики/макролиды	114-07-8	100	0,5	От 1 до 100	46	7%	3%
70	Этопабат	6,60	Кокцидиостатические препараты	59-06-3	500	0,1	От 0,25 до 100	106	2%	3%
71	Фамфур	8,18	Инсектицид	52-85-7	Нет	1	От 2,5 до 100	103	4%	6%
72	Фебантел	9,15	Антигельминтики/бензимидазолы	58306-30-2	Нет	0,25	От 0,5 до 100	102	6%	2%
73	Фенбендазол	8,59	Антигельминтики/бензимидазолы	43210-67-9	Нет	0,1	От 0,25 до 100	100	1%	3%
74	Фенбендазола сульфоксид (оксофендазол)	6,44	Антигельминтики/бензимидазолы	53716-50-0	Нет	0,25	От 0,5 до 100	110	1%	1%
75	Фирококсиб	7,96	Нестероидные противовоспалительные препараты	189954-96-9	Нет	2,5	От 5 до 100	106	5%	6%
76	Флорфеникол	5,55	Антибиотики/амфениколы	73231-34-2	100	0,5	От 1 до 100	108	5%	4%
77	Флуазурон	10,17	Инсектицид	86811-58-7	Нет	0,5	От 1 до 100	98	2%	4%
78	Флубендазол	7,72	Антигельминтики/бензимидазолы	31430-15-6	50	0,1	От 0,25 до 100	104	1%	5%
79	Флугестона ацетат	8,35	Гормоны	2529-45-5	Нет	1	От 2,5 до 100	108	3%	2%
80	Флумеквин	7,39	Антибиотики/хинолоны	42835-25-6	400	0,1	От 0,25 до 100	101	2%	1%
81	Флуниксин	8,75	Нестероидные противовоспалительные препараты	38677-85-9	Нет	0,1	От 0,25 до 100	99	2%	1%
82	Флураланер	9,89	Инсектицид	864731-61-3	Нет	2,5	От 5 до 100	116	4%	9%
83	Фуразолидон	4,68	Антимикробные препараты/фураны	67-45-8	Нет	2,5	От 5 до 100	91	4%	16%
84	Гамитромицин	6,44	Антибиотики/аминогликозиды	145435-72-9	Нет	0,25	От 0,5 до 100	85	11%	1%
85	Гонадотропин	7,57	Гормоны	33515-09-2	Нет	0,5	От 1 до 100	100	4%	4%
86	Галофугинон	6,44	Кокцидиостатические препараты	55837-20-2	10	0,5	От 1 до 100	98	1%	3%
87	Галоперидол	7,11	Транквилизаторы	52-86-8	Нет	0,1	От 0,25 до 100	102	1%	1%

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с $R^2 > 0,99$ (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)
88	Галоксон	8,58	Антигельминтики	321-55-1	Нет	2,5	От 5 до 100	82	8%	10%
89	Имидокарб	3,20	Кокцидиостатические препараты	27885-92-3	Нет	0,5	От 1 до 100	63	3%	7%
90	Ипронидазол	6,04	Антигельминтики/нитромидазолы	14885-29-1	Нет	5	От 10 до 100	103	13%	11%
91	Гидроксиипронидазол	4,85	Антигельминтики/нитромидазолы	35175-14-5	Нет	1	От 2,5 до 100	104	3%	1%
92	Изометамидиум	5,98	Антигельминтики	20438-03-3	Нет	2,5	От 5 до 100	78	3%	10%
93	Джозамицин	8,22	Антибиотики/макролиды	16846-24-5	40	0,5	От 1 до 100	99	3%	2%
94	Кетамин	4,74	Анестетики	6740-88-1	Нет	0,1	От 0,25 до 100	95	2%	1%
95	Кетопрофен	8,20	Нестероидные противовоспалительные препараты	22071-15-4	Нет	0,5	От 1 до 100	107	1%	4%
96	Китасамицин А5 (лейкомицин А5)	7,70	Антибиотики/аминогликозиды	18361-45-0	200	1	От 2,5 до 100	84	1%	4%
97	Ласалоцид А	10,99	Кокцидиостатические препараты	25999-31-9	20	0,25	От 0,5 до 100	77	2%	4%
98	Кристаллический фиолетовый, лейко-форма	10,36	Фунгициды и красители	603-48-5	Нет	0,5	От 1 до 100	87	3%	1%
99	Малахитовый зеленый, лейко-форма	10,48	Фунгициды и красители	129-73-7	Нет	0,1	От 0,25 до 100	92	0%	4%
100	Левамизол	3,58	Антигельминтики	14769-73-4	10	0,25	От 0,5 до 100	97	2%	2%
101	Линкомицин	3,74	Антибиотики/аминогликозиды	154-21-2	100	0,1	От 0,25 до 100	79	1%	2%
102	Луфенурон	10,11	Инсектицид	103055-07-8	Нет	10	От 25 до 100	104	5%	0%
103	Мадурамицин аммония	11,59	Кокцидиостатические препараты	79356-08-4	100	1	От 2,5 до 100	61	1%	4%
104	Малахитовый зеленый	8,21	Фунгициды и красители	10309-95-2	Нет	0,1	От 0,25 до 100	40	2%	10%
105	Малатион	8,92	Инсектицид	121-75-5	Нет	0,25	От 0,5 до 100	89	2%	4%
106	Марбофлоксацин	4,00	Антибиотики/хинолоны	115550-35-1	Нет	0,25	От 0,5 до 100	91	4%	2%
107	Мебендазол	7,49	Антигельминтики/бензимидазолы	31431-39-7	Нет	0,1	От 0,25 до 100	102	1%	6%
108	Мефенамовая кислота	9,68	Противовоспалительные	61-68-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	106	1%	6%
109	Мегестрола ацетат	9,43	Гормоны	595-33-5	Нет	0,25	От 0,5 до 100	103	5%	1%
110	Меленгестрола ацетат	9,55	Гормоны	2919-66-6	Нет	0,25	От 0,5 до 100	101	4%	3%
111	Мелоксикам	8,10	Нестероидные противовоспалительные препараты	71125-38-7	Нет	0,1	От 0,25 до 100	99	1%	5%
112	Метилпреднизолон	7,78	Стимуляторы роста/кортикостероиды	83-43-2	Нет	0,5	От 1 до 100	105	3%	3%
113	Метозерпат	6,55	Транквилизаторы	1178-28-5	20	0,25	От 0,5 до 100	98	3%	3%
114	Метронидазол	3,22	Антигельминтики/нитромидазолы	443-48-1	Нет	0,5	От 1 до 100	96	5%	4%
115	Гидроксиметронидазол	2,77	Антигельминтики/нитромидазолы	4812-40-2	Нет	2,5	От 5 до 100	91	8%	5%
116	Монензин	11,22	Кокцидиостатические препараты	17090-79-8	10	0,5	От 1 до 100	63	1%	2%
117	Монепантел	9,45	Антигельминтики	851976-50-6	Нет	1	От 2,5 до 100	103	1%	23%
118	Морантела тартрат	5,27	Антигельминтики	20574-50-9	Нет	0,5	От 1 до 100	95	2%	2%
119	Моксидектин	11,04	Антигельминтики/авермектины	113507-06-5	Нет	5	От 10 до 100	87	14%	23%
120	Нафциллин	8,02	Антибиотики/бета-лактамы	147-52-4	Нет	0,5	От 1 до 100	91	2%	5%
121	Налидиксовая кислота	7,21	Антибиотики	389-08-2	Нет	0,1	От 0,25 до 100	103	3%	1%
122	Наразин	11,71	Кокцидиостатические препараты	55134-13-9	15	0,5	От 1 до 100	48	2%	7%
123	Неоспирамицин	5,71	Антибиотики/макролиды	70253-62-2	200	0,5	От 1 до 100	60	5%	4%

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с $R^2 > 0,99$ (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)
124	Неквинат	9,35	Антигельминтики	13997-19-8	100	0,1	От 0,25 до 100	100	4%	1%
125	Нетобимин	7,06	Антигельминтики	88255-01-0	100	2,5	От 5 до 100	94	8%	16%
126	Никарбазин	8,76	Кокцидиостатические препараты	587-90-6	200	0,5	От 1 до 100	100	2%	2%
127	Никотин	1,44	Препараты для защиты от травоядных	54-11-5	Нет	10	От 25 до 100	54 (#)	-	20% (#)
128	Нифлумовая кислота	9,07	Противовоспалительные	4394-00-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	102	3%	1%
129	Нитроксинил	6,67	Антигельминтики	1689-89-0	Нет	2,5	От 5 до 100	93	5%	3%
130	Норфлоксацин	4,28	Антибиотики/хинолоны	70458-96-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	90	3%	1%
131	Норгестомет	9,31	Гормоны	472-54-8	Нет	1	От 2,5 до 100	102	3%	3%
132	Новобиоцин	9,75	Антибиотики	303-81-1	1000	1	От 2,5 до 100	100	2%	5%
133	Олаквиндокс	3,00	Стимуляторы роста/анаболические стероиды	23696-28-8	Нет	0,5	От 1 до 100	93	2%	2%
134	Олеандомицин	7,03	Антибиотики/аминогликозиды	3922-90-5	150	0,25	От 0,5 до 100	100	1%	2%
135	Орбифлоксацин	4,97	Антибиотики/хинолоны	113617-63-3	20	0,25	От 0,5 до 100	98	2%	1%
136	Орметоприм	4,39	Антибиотики	6981-18-6	100	0,25	От 0,5 до 100	99	5%	1%
137	Оксациллин	7,51	Антибиотики/бета-лактамы	66-79-5	300	5	От 10 до 100	89	11%	11%
138	Оксибендазол	6,79	Антигельминтики/бензимидазолы	20559-55-1	Нет	0,1	От 0,25 до 100	101	1%	1%
139	Оксилиновая кислота	6,29	Антибиотики/хинолоны	14698-29-4	100	0,25	От 0,5 до 100	102	2%	1%
140	Оксиклозанид	9,49	Антигельминтики	2277-92-1	Нет	2,5	От 5 до 100	103	4%	2%
141	Оксифенбутазон	8,09	Нестероидные противовоспалительные препараты	129-20-4	Нет	0,5	От 1 до 100	108	2%	2%
142	Окситетрациклин	4,46	Антибиотики/тетрациклины	79-57-2	200	1	От 2,5 до 100	68	3%	19%
143	Пенициллин G	6,92	Антибиотики/бета-лактамы	61-33-6	Нет	1	От 2,5 до 100	68	2%	20%
144	Пенициллин V (феноксиметилпенициллин)	7,33	Антибиотики/бета-лактамы	87-08-1	25	2,5	От 5 до 100	72	2%	25%
145	Фенилбутазон	9,01	Нестероидные противовоспалительные препараты	50-33-9	Нет	1	От 2,5 до 100	102	3%	1%
146	Фосалон	9,69	Инсектицид	2310-17-0	Нет	1	От 2,5 до 100	106	5%	3%
147	Фоксим	9,63	Инсектицид	14816-18-3	25	2,5	От 5 до 100	106	8%	2%
148	Пиперонилбутуоксид аммония	10,24	Инсектицид	51-03-6	500	0,1	От 0,25 до 100	102	3%	7%
149	Пирлимидин	5,70	Антибиотики/аминогликозиды	79548-73-5	Нет	2,5	От 5 до 100	90	5%	10%
150	Празиквантел	8,49	Антигельминтики	55268-74-1	Нет	0,1	От 0,25 до 100	106	3%	2%
151	Преднизолон	7,22	Стимуляторы роста/кортикостероиды	50-24-8	Нет	0,5	От 1 до 100	101	0%	6%
152	Преднизон	7,06	Стимуляторы роста/кортикостероиды	53-03-2	0,7	0,5	От 1 до 100	102 (*)	24% (*)	24% (*)
153	Прогестерон	9,53	Гормоны	57-83-0	Нет	0,5	От 1 до 100	101	3%	1%
154	Пропионилпромазин	7,90	Противорвотные	3568-24-9	Нет	0,1	От 0,25 до 100	63	5%	11%
155	Пропифеназон	7,61	Нестероидные противовоспалительные препараты	479-92-5	Нет	0,1	От 0,25 до 100	101	0%	2%
156	Пирантел	4,15	Антигельминтики	15686-83-6	Нет	0,5	От 1 до 100	96	2%	2%
157	Пириметамин	6,20	Антимикробные препараты	58-14-0	50	0,1	От 0,25 до 100	98	3%	1%
158	Рактопамин	4,55	Стимуляторы роста/бета-агонисты	97825-25-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	100	2%	2%
159	Рафоксанид	11,03	Антигельминтики	22662-39-1	Нет	0,5	От 1 до 100	72	5%	4%

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с $R^2 > 0,99$ (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%)(низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%)(низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%)(низкой концентрации, #высокой концентрации)
160	Рифаксимин	9,00	Антибиотики	80621-81-4	Нет	1	От 2,5 до 100	101	4%	4%
161	Робенидин	8,48	Кокцидиостатические препараты	25875-51-8	100	0,5	От 1 до 100	92	2%	2%
162	Ронидазол	3,34	Антигельминтики/нитроимидазолы	7681-76-7	500	0,25	От 0,5 до 100	103	2%	2%
163	Сальбутамол (альбутерол)	2,93	Стимуляторы роста/бета-агонисты	18559-94-9	Нет	0,1	От 0,25 до 100	90	2%	2%
164	Салиномицин	11,52	Кокцидиостатические препараты	53003-10-4	100	0,5	От 1 до 100	60	1%	2%
165	Сарафлоксацин	5,29	Антибиотики/хинолоны	98105-99-8	10	0,25	От 0,5 до 100	98	2%	2%
166	Спирамицин I	6,03	Антибиотики/макролиды	24916-50-5	200	0,5	От 1 до 100	68	5%	4%
167	Сульфабензамид	5,99	Антибиотики/сульфонамиды	127-71-9	100	0,1	От 0,25 до 100	103	3%	4%
168	Сульфациетамид	3,06	Антибиотики/сульфонамиды	144-80-9	100	0,25	От 0,5 до 100	97	3%	2%
169	Сульфохлорпиридазин	5,16	Антибиотики/сульфонамиды	80-32-0	100	0,25	От 0,5 до 100	104	2%	9%
170	Сульфаклозин	6,21	Антибиотики/сульфонамиды	102-65-8	100	0,5	От 1 до 100	110	3%	6%
171	Сульфадиазин (сильваден)	3,36	Антибиотики/сульфонамиды	68-35-9	100	0,25	От 0,5 до 100	101	1%	4%
172	Сульфадиметоксин	6,39	Антибиотики/сульфонамиды	122-11-2	100	0,1	От 0,25 до 100	102	1%	3%
173	Сульфадимидин (сульфаметазин)	4,54	Антибиотики/сульфонамиды	57-68-1	100	0,25	От 0,5 до 100	99	1%	4%
174	Сульфадоксин	5,49	Антибиотики/сульфонамиды	2447-57-6	100	0,1	От 0,25 до 100	102	2%	1%
175	Сульфазтоксипиридазин	5,84	Антибиотики/сульфонамиды	963-14-4	100	0,1	От 0,25 до 100	99	3%	6%
176	Сульфагуанидин	1,82	Антибиотики/сульфонамиды	57-67-0	100	0,5	От 1 до 100	93	1%	2%
177	Сульфамеразин	3,94	Антибиотики/сульфонамиды	127-79-7	100	0,25	От 0,5 до 100	100	2%	3%
178	Сульфаметер (сульфаметоксидиазин)	4,40	Антибиотики/сульфонамиды	651-06-9	100	0,25	От 0,5 до 100	103	1%	4%
179	Сульфаметизол	4,43	Антибиотики/сульфонамиды	144-82-1	100	0,25	От 0,5 до 100	108	3%	5%
180	Сульфаметоксазол	5,39	Антибиотики/сульфонамиды	723-46-6	100	0,25	От 0,5 до 100	105	3%	5%
181	Сульфаметоксипиридазин	4,60	Антибиотики/сульфонамиды	80-35-3	100	0,25	От 0,5 до 100	100	3%	4%
182	Сульфанонометоксин	5,14	Антибиотики/сульфонамиды	1220-83-3	100	0,25	От 0,5 до 100	104	3%	7%
183	Сульфамоксол	4,24	Антибиотики/сульфонамиды	729-99-7	100	0,25	От 0,5 до 100	96	2%	6%
184	Сульфанитран	7,25	Антибиотики/сульфонамиды	122-16-7	100	5	От 10 до 100	107	6%	7%
185	Сульфafenазол	6,26	Антибиотики/сульфонамиды	526-08-9	100	0,25	От 0,5 до 100	102	3%	3%
186	Сульфипиридин	3,75	Антибиотики/сульфонамиды	144-83-2	100	0,25	От 0,5 до 100	100	3%	3%
187	Сульфаквиноксалин	6,44	Антибиотики/сульфонамиды	59-40-5	100	0,1	От 0,25 до 100	105	3%	7%
188	Сульфатиазол	3,55	Антибиотики/сульфонамиды	72-14-0	100	0,25	От 0,5 до 100	99	2%	4%
189	Сульфизомидин	3,27	Антибиотики/сульфонамиды	515-64-0	100	0,25	От 0,5 до 100	95	2%	2%
190	Сульфизоксазол	5,67	Антибиотики/сульфонамиды	127-69-5	100	0,5	От 1 до 100	105	2%	5%

№	Название соединения	ВУ (мин)	Функциональные/химические классы	Номер CAS	ПДК АОАС (мкг/кг)	Предел детектирования (мкг/л)	Линейный диапазон калибровочной кривой с $R^2 > 0,99$ (мкг/л)	Степень извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)	Повторяемость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации)	Воспроизводимость степени извлечения для пробы КК средней концентрации (%) (*низкой концентрации, #высокой концентрации)
191	Сулиндак	7,97	Антибиотики/сульфонамиды	38194-50-2	100	0,25	От 0,5 до 100	108	1%	2%
192	Тефлубензурон	10,01	Инсектицид	83121-18-0	Нет	5	От 10 до 100	94	4%	5%
193	Тестостерон	8,49	Стимуляторы роста/анаболические стероиды	58-22-0	Нет	0,25	От 0,5 до 100	100	3%	2%
194	Тетрацилин	4,67	Антибиотики/тетрациклины	60-54-8	200	0,5	От 1 до 100	77	1%	15%
195	Тиабендазол	4,26	Антигельминтики/бензимидазолы	148-79-8	Нет	0,1	От 0,25 до 100	96	4%	3%
196	Тиамфеникол	4,25	Антибиотики/амфениколы	15318-45-3	50	0,5	От 1 до 100	105	2%	6%
197	Тиамулин	7,56	Антибиотики	55297-95-5	100	0,1	От 0,25 до 100	101	1%	2%
198	Тилмикозин	6,76	Антибиотики/макролиды	108050-54-0	75	1	От 2,5 до 100	88	3%	6%
199	Толфенамовая кислота	9,86	Нестероидные противовоспалительные препараты	13710-19-5	Нет	10	От 25 до 100	120 (#)	-	7% (#)
200	Тренболон	7,91	Стимуляторы роста/анаболические стероиды	10161-33-8	Нет	0,5	От 1 до 100	100	4%	4%
201	Трихлофон (DEP)	5,20	Транквилизаторы	52-68-6	Нет	1	От 2,5 до 100	117	0%	16%
202	Триклабендазол	9,67	Антигельминтики/бензимидазолы	68786-66-3	Нет	0,25	От 0,5 до 100	102	2%	1%
203	Триметоприм	4,02	Антибиотики	738-70-5	50	0,25	От 0,5 до 100	96	2%	1%
204	Трипеленнамин	6,28	Антигельминтики	91-81-6	Нет	0,1	От 0,25 до 100	96	3%	1%
205	Тилозин	7,56	Антибиотики/макролиды	1401-69-0	100	1	От 2,5 до 100	65	5%	10%
206	Валнемулин	8,30	Антибиотики	101312-92-9	Нет	0,5	От 1 до 100	106	5%	3%
207	Ведапрофен	9,00	Нестероидные противовоспалительные препараты	71109-09-6	Нет	0,5	От 1 до 100	102	2%	1%
208	Вирджиниамицин М1	8,15	Антибиотики/макролиды	21411-53-0	100	0,5	От 1 до 100	100	2%	2%
209	Ксилазин	5,11	Транквилизаторы	7361-61-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	98	3%	2%
210	Зилпатерол	2,93	Стимуляторы роста/бета-агонисты	119520-05-7	Нет	0,25	От 0,5 до 100	85	2%	4%

Литература

1. Guidelines for Standard Method Performance Requirements, AOAC Official Methods of Analysis (**2016**) Appendix F.
2. The United States, Code of Federal Regulations (CFR) - Title 21, Tolerance of Residues in New Animal Drugs in Food, *Part 556, volume 6*, April 1, **2019**.
3. The United States, Chemical contaminants of public health concern used by the Food Safety and Inspection Service (FSIS), **2017**.
4. Official Journal of the European Union, Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits (MRL), Commission Regulation (EU) No 37/**2010**.
5. AOAC guidelines on "Screening and identification method for regulated veterinary drug residues in food", *Version 7*, June 20, **2018**.

www.agilent.com/chem

Информация может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2020
Напечатано в США 8 мая 2020 г.
5994-1932RU