

УДК 543.544.5.068.7:543.51:619:615.2

СКРИНИНГ ПРОБ И ОЦЕНКА ОСТАТОЧНЫХ СОДЕРЖАНИЙ 214 ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

© 2024 г. В. Г. Амелин^{а,*}, О. И. Лаврухина^а, А. В. Третьяков^а, И. В. Батов^а, Л. К. Киш^а

^а *Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов,*

Звенигородское шоссе, 5, Москва, 123022, Россия

**E-mail: amelinvg@mail.ru*

Поступила в редакцию 17.04.2023 г.

После доработки 19.05.2023 г.

Принята к публикации 22.05.2023 г.

Сочетание скрининга проб и последующего подтверждающего определения загрязнителей является оптимальной стратегией рутинных исследований при реализации программ мониторинга безопасности пищевой продукции. Ультравысокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией высокого разрешения предложена для многокомпонентного определения остаточных содержаний широкого спектра лекарственных препаратов для ветеринарного применения и их метаболитов с минимальной пробоподготовкой. Для нивелирования матричного эффекта использовали метод изотопного разбавления. Предлагаемая в данной работе методика позволяет одновременно идентифицировать и оценить остаточные содержания 214 лекарственных препаратов для ветеринарного применения на уровне их предела обнаружения 0.1–10.0 нг/г, существенно сократить продолжительность (40–50 мин) и стоимость анализа.

Ключевые слова: ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия высокого разрешения, идентификация и определение по точным массам ионов, изотопное разбавление, пищевые продукты.

DOI: 10.31857/S0044450224030057, **EDN:** vqmfefh

Методикиодновременного определения остаточных содержаний лекарственных средств для ветеринарного применения и их метаболитов необходимы при проведении мониторинга безопасности продовольственного сырья и продуктов питания [1, 2]. Учитывая большой объем рутинных исследований, подход, включающий скрининг проб на максимально широкий спектр загрязнителей и последующий подтверждающий анализ в случае обнаружения, является наиболее оптимальным. Он позволяет снизить затраты, но сохранить необходимую выборку для обеспечения репрезентативности результатов при контроле пищевой безопасности. Задача одновременного определения большого числа загрязнителей разных классов в настоящее время решается хроматографическими методами с масс-спектрометрическим детектированием [3]. Принимая во внимание различия в физико-химических свойствах действующих

веществ ветеринарных препаратов, необходимо использовать общие условия экстракции, хроматографического разделения и обнаружения. При многокомпонентном анализе методами высокоэффективной и ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (УВЭЖХ- и ВЭЖХ-МС/МС) при пробоподготовке наиболее распространены подходы QuEChERS и твердофазно-, жидкостно-жидкостная экстракция в сочетании с последующей очисткой методом твердофазной экстракции [4] (табл. 1).

Методики, сочетающие не только УВЭЖХ, но и ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией и масс-спектрометрией высокого разрешения (МС-ВР), позволяют одновременно идентифицировать множество соединений разных классов и могут быть использованы для скрининга большого числа проб. При этом для УВЭЖХ характерно

Таблица 1. Характеристики методик одновременного определения ветеринарных препаратов

Число определяемых анализов	Матрица; пробоподготовка; степень извлечения, %	Метод; колонка; продолжительность хроматографирования	Предел обнаружения/определения, мкг/кг	Литература
11	Яйца; ЖЖЭ + магнитная ДТФЭ; 75–104	УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Hypersil GOLD aQ C18 (150 г)	0.12–1 532.0/–	[5]
13	Молоко; QuEChERS; 62–125	ВЭЖХ–МС/МС; XTerra C18 (50×3 мм, 3.5 мкм); 20 мин	0.3–16.6/ 1.0–50.0	[6]
18	Молоко, курица, свинина, говядина; QuEChERS; 73.9–135	ВЭЖХ–МС/МС; Acclaim Polar Advantage II C18 (150×2.1 мм, 3 мкм); 26 мин	0.1–0.21/ 0.03–0.66	[7]
23	Рыба и мясо; ТЖЭ*; 82–119	ВЭЖХ–МС/МС; Phenomenex Aqua C18 (150×2.1 мм, 3 мкм); 18 мин	0.3–15.0/ 0.8–45.3	[8]
25	Молоко; QuEChERS; 63–126	ВЭЖХ–МС/МС; Zorbax Eclipse Plus C18 (50 г)	0.02–0.4 (CC _β)/–	[9]
26	Молоко; QuEChERS; 75–120	ВЭЖХ–МС/МС; Symmetry C18 (150×2.1 мм, 5 мкм); 10 мин	–/8.0–12.0	[10]
60	Тилапия; ТЖЭ + ДТФЭ-очистка; 81–111	УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Hypersil Gold aQ C18 (100 г)	0.01–4.73 (CC _β)/–	[1]
60	Козье молоко; ЖЖЭ + ТФЭ-очистка; 60.1–110.0	УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Hypersil Gold aQ C18 (100×2.1 мм, 1.9 мкм); 12 мин	0.5–1.0/ 5.0–10.0	[11]
63	Курица; ТЖЭ + ТФЭ-очистка; 83–117	ВЭЖХ–МС/МС; Acclaim 120 C18 (100×2.1 мм, 3 мкм); 12 мин	0.01–0.3/ 0.02–1.0	[12]
66	Молоко; ЖЖЭ + ТФЭ-очистка; 70–120	УВЭЖХ–МС/МС; Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 (50×2.1 мм, 1.8 мкм); 10.5 мин	–/0.02–18.5	[13]
75	Детское питание; ТЖЭ + ЖЖЭ-очистка, фильтрация; 79.8–110.7	УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Accucore aQ C18 (100×2.1 мм, 2.6 мкм); 9.5 мин	0.01–5.35/ 0.01–9.27	[14]
78	Яйца; ЖЖЭ + ДТФЭ-очистка; 70.5–119.2	УВЭЖХ–МС/МС; Acquity UPLC BEH C18 (100×2.1 мм, 1.7 мкм); 9.5 мин	0.03–0.33/ 0.1–1.0	[15]
>100	Мышечная ткань КРС; ТЖЭ + ДТФЭ-очистка; 70–120	УВЭЖХ–МС/МС; Acquity RP HSS T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 9.5 мин	–	[16]
105	Молоко, мясо, рыба, яйца, жир; QuEChERS; 70–120	УВЭЖХ–МС/МС; Acquity BEH VanGuard (2.1×5 мм, 1.7 мкм) + Acquity BEH C18 LC (100×2.1 мм, 1.7 мкм); 16 мин	0.3–15.0/–	[17]
112	Мясо; ТЖЭ + ДТФЭ-очистка; 95.6–101.0	ВЭЖХ–МС/МС; XSelect HHS T3, (150×3 мм, 2.5 мкм); 25 мин	0.2–13.6/ 0.9–48.0	[18]
117	Детское питание; QuEChERS, –	УВЭЖХ–МС-ВР; RRHD Eclipse-Plus C18 (50 г)	–/<10	[19]
132	Молоко; ЖЖЭ + магнитная ДТФЭ; 72–120	ВЭЖХ–МС/МС; Acclaim 120 C18 (100×2.1 мм, 3 мкм); 25 мин	0.015–0.3/0.05–1	[20]
140	Курица; ТЖЭ + ЖЖЭ + ДТФЭ-очистка; 70–120	УВЭЖХ–МС/МС; Acquity HSS T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 12 мин	≤1.0/0.05–10.0	[21]

Таблица 1. Окончание

Число определяемых анализов	Матрица; пробоподготовка; степень извлечения, %	Метод; колонка; продолжительность хроматографирования	Предел обнаружения/определения, мкг/кг	Литература
141	Свинина; ТЖЭ, ТФЭ-очистка; >70	ВЭЖХ–МС-ВП; Poroshell 120 EC–C18 (150×2.1 мм, 2.7 мкм); 27 мин	0.1–5.0/ 0.1–10.0	[22]
155	Свинина, говядина, баранина, курица, свинья и куриная печень; ТЖЭ + ТФЭ-очистка; 79.2–118.5	УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Eclipse plus C18 (150×3.0 мм, 1.8 мкм); 28 мин	0.1–10.0/–	[23]
155	Свинина, говядина, баранина; ТЖЭ + ТФЭ-очистка; 60–120	УВЭЖХ–МС/МС; Eclipse Plus C18 (150×3.0 мм, 1.8 мкм); 22 мин	0.5–5.0/ 2.0–20.0	[24]
164	Свинина, говядина, курица; ТЖЭ + вымораживание; 70.0–120.0	ВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Phenomenex Luna Omega (100×2.1 мм, 1.6 мкм); 20 мин	>0.18 (СС _β)/–	[25]
169	Яйца; ЖЖЭ; 70.0–120.0	УВЭЖХ–МС/МС; Acquity HSS T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 10.5 мин	–	[26]
182	Продукция аквакультуры; ТЖЭ (2 этапа) + ДТФЭ-очистка; 70.0–120.0 для большинства соединений	ВЭЖХ–МС-ВП; ACQUITY VEN C18 (100×2.1 мм, 1.7 мкм); 23 мин	–/≤10.0	[27]
>200	Карп, угорь, креветки, краб, мидии; ТЖЭ (2 этапа); 70–120 для большинства соединений	УВЭЖХ–МС-ВР (Orbitrap); Accucore RP-MS C18 (100×2.1 мм, 2.6 мкм); 25 мин	–/1.0–50.0 (скрининговый предел)	[28]
291	Протеиновый порошок; ДТФЭ; 65.6–142.2	УВЭЖХ–МС/МС; Acquity HSS-T3 (100×2.1 мм, 1.8 мкм); 16 мин	–/0.1–50.0	[29]

Обозначения: ТЖЭ, ЖЖЭ – твердофазно-жидкостная и жидкостно-жидкостная экстракция; ДТФЭ – дисперсионная твердофазная экстракция; СС_β – возможность обнаружения.

большее разрешение хроматографических пиков, благодаря высокой скорости потока они существенно уже (как правило, 1–3 с), соответственно появляется возможность сократить время хроматографирования и в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения, времяпролётной (МС-ВП) или Orbitrap увеличить число одновременно идентифицируемых соединений [3] (табл. 1). В случае МС-ВР идентификацию и определение проводят по точным массам ионов-прекурсоров, как правило, без фрагментации (в режиме МС/МС – по ионам-продуктам). Стандартное разрешение МС-ВР как минимум в 20 раз выше, чем масс-спектрометрии с низким разрешением [30] (при использовании времяпролётного детектора до 15 000 FWHM [31–34], квадруполь-времяпролётного до 50 000 FWHM [35, 36], орбитальной ловушки до 100 000 FWHM [37, 38]). Метод

очень избирателен и благодаря измерению точных масс соединений даёт возможность различать даже незначительные изменения в их структуре [39]. Масс-спектрометрия высокого разрешения позволяет разделять пики соединений с близкими соотношениями m/z и определять их на уровне 2–5 млн^{–1}, что крайне важно для многокомпонентного анализа сложных матриц, в том числе образцов продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с МС-ВР-детектированием (Orbitrap) позволяет одновременно идентифицировать и определять остаточные содержания более 200 действующих веществ препаратов для ветеринарного применения и их метаболитов, принадлежащих к разным классам: антибиотики, противовоспалительные препараты, антигельминтики, кортикостероиды,

гормоны, тиреостатики, транквилизаторы, амфетамины, а также β -агонисты в яйцах, рыбе и другой продукции аквакультуры, детском питании, мясе и субпродуктах (табл. 1). Разработаны скрининговые УВЭЖХ–МС-ВП-методики определения 630 загрязнителей, включая 117 лекарственных препаратов разных групп в мясорастительном пюре для детей [19], 141 — в свинине [22], 182 — в продукции аквакультуры [27].

Компоненты матрицы оказывают влияние на извлечение аналитов, селективность и чувствительность их определения даже в случае использования МС-ВП-детектирования. Снижения матричного эффекта можно добиться дополнительной очисткой экстрактов, но это существенно усложняет процедуру анализа на стадии пробоподготовки. Для повышения надежности идентификации и точности определения используют изотопно меченные внутренние стандарты [22] и метод изотопного разбавления [40].

Ранее нами опубликована работа [41], в которой содержание β -лактамных антибиотиков в пищевых продуктах определяли методом добавок: сначала проводили скрининг проб по точным массам ионов, затем в случае обнаружения соединения из данного класса анализ повторяли с добавкой стандартного раствора найденного антибиотика.

Цель данной работы заключалась в разработке универсальной УВЭЖХ–МС-ВП-методики скрининга и оценки остаточных содержаний широкого спектра лекарственных препаратов ветеринарного назначения в пищевых продуктах с упрощенной пробоподготовкой и использованием метода изотопного разбавления для нивелирования матричного эффекта.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Использовали ультравысокоэффективный жидкостной хроматограф UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США) в сочетании с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором maXis Impact, maXis 4G и электрораспылительным устройством ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Разделение проводили в режиме градиентного элюирования на колонке 30×2.1 мм, 1.7 мкм ACQUITY UPLC® BEN C18 (Waters, США)

Реактивы. Использовали ацетонитрил (Schar-lab S.L., Испания) 99.9%; изопропиловый спирт (Scharlab S.L., Испания) для ВЭЖХ; метанол (Panreac, ЕС) PA-ACS-ISO;

этилендиаминтетраацетат натрия (ЭДТА) (ХИММЕД, Россия) 99.0%; хлорид натрия (ХИММЕД, Россия) х. ч.

Использовали стандартные образцы (Dr. Ehrenstorfer, Fluka, Sigma-Aldrich и др., табл. 2) сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов и цефалоспоринов, амфениколов, кокцидиостатиков, нестероидных противовоспалительных средств, антигельминтиков, хинолонов, макролидов, линкозамидов, седативных средств, плевомутилинов, хиноксалинов, полипептидов, красителей, β -агонистов, а также изотопно меченные стандарты, соответствующие этим классам веществ. Содержание основного вещества во всех использованных стандартах составляло 87.0–99.1%.

Исходные растворы с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением соответствующей навески (с учетом содержания основного вещества) в метаноле или в ацетонитриле. Хранили растворы при -20 °C не более шести месяцев. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных водой в день использования.

Пробоподготовка. В центрифужную пробирку емк. 15 мл вносили 1.00 г тщательно измельченной пробы (1.00 г мёда растворяли в 1 мл воды), добавляли 2.0 мл ацетонитрила, 0.5 г NaCl, 40.0 мг ЭДТА, перемешивали в течение 5 мин и центрифугировали в течение 5 мин при 2 700 об/мин. Отбирали верхний ацетонитрильный слой во флакон и упаривали досуха при 40 °C в токе азота с использованием устройства RapidVap LABCONCO, США, к сухому остатку добавляли 50 мкл метанола и 950 мкл деионизованной воды, перемешивали 5 мин и фильтровали через мембранный фильтр 0.20 мкм (GHP ACRODISC13, PALL, США) в микрофлакон для хроматографирования.

Оценка матричного эффекта (МЭ). Для оценки МЭ использовали соотношение площадей хроматографических пиков, полученных в условиях анализа экстракта из матрицы, не содержащей исследуемых соединений, и деионизованной воды. Матричный эффект рассчитывали по формуле:

$$\text{МЭ (\%)} = (S_x/S_0 - 1) \times 100,$$

где S_x , S_0 — площади хроматографических пиков экстрактов из матрицы и деионизованной воды соответственно.

Условия хроматографического разделения и детектирования. Подвижная фаза состояла из 0.1%-ной муравьиной кислоты в воде (А) и 0.1%-ной муравьиной кислоты в ацетонитриле (Б).

Таблица 2. Основные характеристики 214 ветеринарных препаратов, определяемых методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии высокого разрешения в пищевых продуктах

Аналит	Производитель, CAS-номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Линкозамиды (2)								
Клиндамицин	Sigma-Aldrich, 58207-19-5	$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$	$[M+H]^+$	3.8	425.1871	0.5	0.9/0.8	–21/–66
Линкомицин	TRC, 859-18-7	$C_{18}H_{34}N_2O_6S$	$[M+H]^+$	2.5	407.2210	0.5	0.4/0.5	–39/–67
Клинда-мицин- D_3	TRC, 1356933-72-6	$C_{18}H_{30}D_3ClN_2O_5S$	$[M+H]^+$	3.8	428.2060	0.5		–20/–66
Макролиды (12)								
Азитромицин	TRC, 83905-01-5	$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$	$[M+H]^+$	3.7	749.5158	0.5	1.3/1.5	–20/–30
Джозамицин	Santa Cruz Biotechnology, 16846-24-5	$C_{42}H_{69}NO_{15}$	$[M+H]^+$	4.4	828.4818	0.5	0.4/0.5	–12/–21
Кларитромицин	Sigma-Aldrich, 81103-11-9	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	$[M+H]^+$	4.3	748.4842	0.5	0.3/0.2	+30/–61
Рокситромицин	Sigma-Aldrich, 80214-83-1	$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$	$[M+H]^+$	4.3	837.5318	0.5	1.2/1.3	+15/–45
Спирамицин	Santa Cruz Biotechnology, 24916-50-5	$C_{43}H_{74}N_2O_{14}$	$[M+2H]^{2+}$	3.7	422.2607	0.5	0.4/0.4	–15/–83
Тилмикозин	Dr. Ehrenstorfer, 108050-54-0	$C_{46}H_{80}O_{13}N_2$	$[M+H]^+$	3.9	869.5738	0.5	1.4/1.3	–20/+36
Тилозин	Sigma-Aldrich, 001405-54-5	$C_{46}H_{77}O_{17}N$	$[M+H]^+$	4.1	916.5270	0.5	0.7/0.9	+2/–50
Тилвалозин	TRC, 63409-12-1	$C_{53}H_{87}O_{19}N$	$[M+H]^+$	4.4	1042.5945	0.5	0.6/0.6	+38/–66
Тулатромицин	TRC, 217500-96-4	$C_{41}H_{79}O_{12}N_3$	$[M+2H]^{2+}$	4.3	403.7905	0.5	0.8/0.8	–10/–29
Эритромицин	Fluka, 114-07-8	$C_{37}H_{67}O_{13}N$	$[M+H]^+$	4.1	734.4690	0.5	0.6/0.6	–4/–60
Китасамицин	LGC, 1392-21-8	$C_{40}H_{67}NO_{14}$	$[M+H]^+$	4.3	786.4634	0.5	1.9/1.8	–15/–67
Тилдипирозин	TRC, 328898-40-4	$C_{41}H_{71}N_3O_8$	$[M+H]^+$	3.3	734.5313	1.0	2.3/2.5	–6/–68
Азитромицин- D_3	TRC, 163921-65-1	$C_{38}H_{69}N_2O_{12}D_3$	$[M+H]^+$	3.7	752.5346	0.5		–19/–35
Амфениколы (4)								
Тиамфеникол	Sigma-Aldrich, 15318-45-3	$C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$	$[M-H]^-$ $[M+Cl]^-$	2.2	353.9964 389.9731	1.0	2.4/2.5	–11/–79
Флорфеникол	TRC, 73231-34-2	$C_{12}H_{14}NO_4Cl_2SF$	$[M-H]^-$ $[M+Cl]^-$	3.7	355.9921 393.9659	1.0	1.0/1.2	–44/–80
Хлорамфеникол	Dr. Ehrenstorfer, 56-75-7	$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$	$[M-H]^-$ $[M+Cl]^-$	4.0	321.0051 356.9805	0.2	0.7/0.8	–15/–67
Хлорамфеникола сукцинат	Sigma-Aldrich, 982-57-0	$C_{15}H_{15}Cl_2N_2O_8Na$	$[M-Na]^-$	4.3 4.4	421.0200	1.0	0.6/0.5	–16/–68
Хлорамфеникол- D_5	Witega, NA	$C_{11}H_7D_5Cl_2N_2O_5$	$[M-H]^-$ $[M+Cl]^-$	4.0	326.0353 362.0120	0.2		–15/–65
Метаболиты нитрофуранов (4) (после гидролиза пробы и дериватизации)								
АМОЗ	Witega, 43056-63-9	$C_{15}H_{18}N_4O_5$	$[M+H]^+$	2.2	335.1350	0.5	0.1/0.1	–10/–29

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производи- тель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R,}$ мин	m/z	$c_{\text{мин}},$ мкг/ кг	$k,$ вода/ мат- рица	МЭ, % мин/ макс
АОЗ	Witega, 8065-9	$C_{10}H_9N_3O_4$	$[M+H]^+$	3.7	236.0665	0.5	1.3/1.2	−4/−16
СЕМ	Sigma-Aldrich, 563-41-7	$C_8H_8N_4O_3$	$[M+H]^+$	3.5	209.0669	1.0	0.8/0.9	−5/−67
АГД	Witega, 6301- 02-6	$C_{10}H_8N_4O_4$	$[M+H]^+$	2.8	249.0618	1.0	2.2/2.4	−6/−68
АОЗ- D_4	Witega, 1188331- 23-8	$C_{10}H_5D_4N_3O_4$	$[M+H]^+$	3.7	240.0917	0.5		−4/−19
Пенициллины (11)								
Пенициллин G	Sigma-Aldrich, 113-98-4	$C_{16}H_{18}N_2O_4S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.0	367.1322	5.0	0.3/0.3	−20/−38
			$[M+H]^+$	3.1	335.1060			
			$[M-H]^-$	4.6	333.0903			
Пенициллин V	Sigma-Aldrich, 132-98-9	$C_{16}H_{18}N_2O_5S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.2	383.1271	10	0.7/0.7	−21/−42
			$[M+H]^+$	4.2	351.1009			
			$[M-H]^-$	4.8	349.0853			
Ампициллин	Sigma-Aldrich, 7177-48-2	$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	3.5	382.1431	1.0	1.5/1.7	−10/−30
			$[M+H]^+$	2.9	350.1169			
			$[M-H]^-$	2.9	348.1013			
Оксациллин	Sigma-Aldrich, 7240-38-2	$C_{19}H_{19}N_3O_5S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.4	434.1380	10	0.5/0.6	−22/−39
			$[M+H]^+$	4.4	402.1118			
			$[M-H]^-$	4.9	400.0961			
Амоксициллин	Sigma-Aldrich, 61336-70-7	$C_{16}H_{19}N_3O_5S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	2.9	398.1380	5.0	3.8/3.5	−35/−68
Диклоксациллин	Dr.Ehrenstorfer, 13412-64-1	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_5S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.6	502.0601	5.0	0.9/0.9	−12/−56
			$[M+H]^+$	4.4	470.0339			
			$[M-H]^-$	5.3	468.0182			
Клоксациллин	Sigma-Aldrich, 642-78-4	$C_{19}H_{18}Cl\ N_3O_5S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.5	468.0990	10	0.1/0.1	−31/−56
			$[M+H]^+$	4.5	436.0728			
			$[M-H]^-$	5.1	434.0572			
Нафциллин	USP, 985-16-0	$C_{21}H_{22}N_2O_5S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.5	447.1584	1.0	0.4/0.4	−32/−46
			$[M+H]^+$	3.2	415.1322			
			$[M-H]^-$	5.2	413.1166			
Карбенициллин	EPRS, 4800- 94-6	$C_{17}H_{18}N_2O_6S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	3.9	411.1220	10	0.5/0.6	−21/−46
			$[M+H]^+$	3.8	379.0958			
Пиперациллин	EDQM, 59703- 84-3	$C_{23}H_{27}N_5O_7S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.0	550.1966	10	0.5/0.7	−15/−63
			$[M+H]^+$	4.0	518.1707			
Тикарциллин	Sigma-Aldrich, 4697-14-7	$C_{15}H_{16}N_2O_6S_2$	$[M+CH_3OH+H]^+$	3.8	417.0784	10	0.5/0.5	−30/−39
			$[M+H]^+$	3.7	385.0523			
Пенициллин G- D_7	Sigma-Aldrich, 11217445-37-8	$C_{16}H_{11}D_7N_2O_4S$	$[M+CH_3OH+H]^+$	4.0	374.1761	5.0		−20/−30
			$[M+H]^+$	3.1	342.1499			
			$[M-H]^-$	4.6	340.1343			
Нитроимидазолы (10)								
Диметридазол	Sigma-Aldrich, 551-92-8	$C_5H_7N_3O_2$	$[M+H]^+$	0.8	142.0611	0.5	1.3/1.0	+2/+60
Ипронидазол	LGC, 14885- 29-1	$C_7H_{11}N_3O_2$	$[M+H]^+$	3.3	170.0924	1.0	1.3/1.1	+5/+30
Метронидазол	Sigma-Aldrich, 443-48-1	$C_6H_9N_3O_3$	$[M+H]^+$	0.7	172.0717	0.5	0.5/0.4	−38/−78

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Гидроксиипронидазол	Sigma-Aldrich, 1156508-86-9	$C_7H_{11}N_3O_3$	$[M+H]^+$	2.4	186.0873	1.0	0.9/1.0	+1/+26
Ронидазол	Sigma-Aldrich, 7681-76-7	$C_6H_8N_4O_4$	$[M+H]^+$	0.8	201.0618	1.0	3.5/3.2	+4/+60
Тернидазол	Sigma-Aldrich, 70028-95-4	$C_8H_{11}N_3O_3$	$[M+H]^+$	1.0	186.0873	0.5	0.7/0.6	+6/+35
Тинидазол	Sigma-Aldrich, 19387-91-8	$C_8H_{13}N_3O_4S$	$[M+H]^+$	1.5	248.0699	0.5	0.6/0.6	+8/+45
Гидроксиметил-метилнитроимидазол	Sigma-Aldrich, 936-05-0	$C_5H_7N_3O_3$	$[M+H]^+$	0.7	158.0560	1.0	2.9/2.7	-3/-24
Секнидазол	Sigma-Aldrich, 3366-95-8	$C_8H_{11}O_3N_3$	$[M+H]^+$	1.5	186.0873	0.5	0.6/0.5	-3/-64
Метронидазол-ОН	Witega, 4812-40-2	$C_6H_9N_3O_4$	$[M+H]^+$	0.6	188.0666	1.0	0.8/0.7	-14/-48
Ипронидазол- D_3	Witega, 1015855-83-0	$C_7H_8D_3N_3O_2$	$[M+H]^+$	3.3	173.1112	1.0		+5/+32
Сульфаниламиды и диаминопиримидины (22)								
Сульфапиридин	Sigma-Aldrich, 144-83-2	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	$[M+H]^+$	1.4	250.0644	0.5	0.6/0.5	-2/-55
Сульфадиазин	Fluka, 68-35-9	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	1.3	251.0597	1.0	1.6/1.4	+5/-67
Сульфатиазол	Sigma-Aldrich, 72-14-0	$C_9H_9N_3O_2S_2$	$[M+H]^+$	1.2	256.0208	0.5	1.8/1.5	+4/-65
Сульфамеразин	Sigma-Aldrich, 127-79-7	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	1.6	265.0753	0.5	0.7/0.6	-4/-62
Сульфаметазин	Sigma-Aldrich, 57-68-1	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	2.7	279.0910	0.5	0.5/0.4	-15/-67
Сульфахлорпиридазин	USP, 80-32-0	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	$[M+H]^+$	3.2	285.0207	1.0	3.2/3.0	-6/-70
Сульфахиноксалин	Sigma-Aldrich, 59-40-5	$C_{14}H_{12}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	3.9	301.0753	1.0	3.0/3.0	-7/-65
Сульфазтоксипиридазин	Sigma-Aldrich, 963-14-4	$C_{12}H_{14}N_4O_3S$	$[M+H]^+$	3.7	295.0859	0.5	1.0/0.9	-4/-68
Сульфагуанидин	Sigma-Aldrich, 57-67-0	$C_7H_{10}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	0.5	215.0597	1.0	2.2/2.1	+4/-65
Сульфаметоксазол	Sigma-Aldrich, 723-46-6	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	$[M+H]^+$	3.4	254.0594	5.0	2.7/2.5	-12/-65
Сульфаметоксипиридазин	Sigma-Aldrich, 80-35-3	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	$[M+H]^+$	3.2	281.0703	0.5	1.2/1.3	-35/-58
Сульфамоксол	Sigma-Aldrich, 729-99-7	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	$[M+H]^+$	2.6	268.0750	0.5	0.9/1.2	-19/-64
Сульфадиметоксин	Sigma-Aldrich, 122-11-2	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	$[M+H]^+$	3.9	311.0808	0.5	1.2/1.4	-11/-73
Триметоприм	Sigma-Aldrich, 738-70-5	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	$[M+H]^+$	2.9	291.1452	0.5	0.7/0.9	-34/-64
Баквилоприм	Sigma-Aldrich, 102280-35-3	$C_{17}H_{20}N_6$	$[M+H]^+$	0.6	309.1822	0.5	0.6/0.7	+3/-57
Сульфаметизол	Sigma-Aldrich, 144-82-1	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	$[M+H]^+$	2.5	271.0318	1.0	0.5/0.8	-27/-58

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Сульфаметер	Sigma-Aldrich, 63-74-1	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	$[M+H]^+$	2.9	281.0703	0.5	0.6/0.7	-5/-61
Сульфамонотоксин	Sigma-Aldrich, 1220-83-3	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	$[M+H]^+$	3.2	281.0703	0.5	0.4/0.5	+10/-30
Сульфасалазин	Sigma-Aldrich, 599-79-1	$C_{18}H_{14}N_4O_5S$	$[M+H]^+$	4.0	399.0758	1.0	0.9/0/9	-11/-75
Сульфафеназол	Dr. Ehrenstorfer, 526-08-9	$C_{11}H_{14}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	3.8	315.0910	0.5	0.6/0.7	+4/-38
Сульфисоксазол	TRC, 127-69-5	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	$[M+H]^+$	2.6	268.0750	0.5	0.6/0.8	+3/-26
Сульфанитран	Dr. Ehrenstorfer, 122-16-7	$C_{14}H_{13}N_3O_3S$	$[M-H]^-$	4.7	334.0492	1.0	0.5/0.7	-5/-47
Сульфатиазол- D_4	Sigma-Aldrich, 72-14-0	$C_9H_5D_4N_3O_2S_2$	$[M+H]^+$	1.2	260.0460	0.5		+6/-65
Плевромутиины (2)								
Валнемулин	Sigma-Aldrich, 133868-46-9	$C_{31}H_{52}N_2O_5S$	$[M+H]^+$	4.4	565.3670	0.5	0.9/0.9	-38/-87
Валнемулин- D_6	TRC, 1217627-44-5	$C_{31}H_{46}D_6N_2O_5S$	$[M+H]^+$	4.4	571.6321			-38/-80
Тетрациклины (13)								
4-Эпитетрациклин	Acros organics, 23313-80-6	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	$[M+H]^+$	1.4	445.1605	1.0	0.9/0.9	-6/-78
4-Эпиангидротетрациклин	EPRS, 4465-65-0	$C_{22}H_{22}N_2O_7$	$[M+H]^+$	3.6	427.1499	1.0	0.9/0.9	-10/-68
4-Эпидемеклоциклин	LGC, 179471-95-5	$C_{21}H_{21}ClN_2O_8$	$[M+H]^+$	2.2	465.1059	1.0	1.1/1.0	-10/-71
4-Эпидоксициклин	TRC, 6543-77-7	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	$[M+H]^+$	3.3	445.1605	2.0	1.2/1.2	-31/-77
4-Эпиметациклин	TRC, 6543-87-8	$C_{22}H_{22}N_2O_8$	$[M+H]^+$	2.5	443.1448	1.0	1.0/1.0	-16/-70
4-Эпиокситетрациклин	Acros organics, 35259-39-3	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	$[M+H]^+$	1.8	461.1554	1.0	1.1/1.0	-16/-76
4-Эпихлортетрациклин	Acros organics, 14297-93-9	$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$	$[M+H]^+$	3.2	479.1215	1.0	1.3/1.5	-31/-76
Ангидротетрациклин	TRC, 13803-65-1	$C_{22}H_{22}N_2O_7$	$[M+H]^+$	3.8	427.1499	1.0	0.9/1.2	-10/-68
Демеклоциклин	Sigma-Aldrich, 64-73-3	$C_{21}H_{21}ClN_2O_8$	$[M+H]^+$	3.2	465.1059	1.0	1.1/1.3	-16/-76
Доксициклин	BePure, 24390-14-5	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	$[M+H]^+$	3.5	445.1605	1.0	1.2/1.5	-32/-82
Окситетрациклин	Sigma-Aldrich, 2058-46-0	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	$[M+H]^+$	2.3	461.1554	1.0	1.1/1.3	-16/-76
Тетрациклин	Sigma-Aldrich, 60-54-8	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	$[M+H]^+$	2.7	445.1605	1.0	0.9/0.9	-6/-78
Хлортетрациклин	Sigma-Aldrich, 64-72-2	$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$	$[M+H]^+$	3.4	479.1215	1.0	1.3/1.1	-30/-70
Метациклин	TRC, 3963-95-9	$C_{22}H_{22}N_2O_8$	$[M+H]^+$	3.5	443.1448	1.0		-16/-70
Красители (7)								
Бриллиантовый зеленый	Sigma-Aldrich, 633-03-4	$C_{27}H_{33}N_2$	$[M]^+$	5.3	385.2638	0.5	0.9/0.8	-25/-45
Кристаллический фиолетовый	Sigma-Aldrich, 548-62-9	$C_{25}H_{30}N_3$	$[M]^+$	5.0	372.2434	0.5	1.0/0.9	-30/-45

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Лейкомалахитовый зеленый	Dr. Ehrenstorfer, 129-73-7	$C_{23}H_{26}N_2$	$[M+H]^+$	4.5	331.2187	0.5	6.3/6.0	–31/–50
Лейкоккристаллический фиолетовый	Sigma-Aldrich, 603-48-5	$C_{25}H_{31}N_3$	$[M+H]^+$	4.0	374.2591	0.5	17/15	–3/–41
Малахитовый зеленый	Dr. Ehrenstorfer, 2437-29-8	$C_{23}H_{25}N_2$	$[M]^+$	4.8	329.2012	0.1	0.9/0.8	–30/–55
Акрифлавин	Sigma-Aldrich, 8048-52-0	$C_{14}H_{14}N_3$ $C_{13}H_{11}N_3$	$[M]^+$ $[M+H]^+$	3.8 3.7	224.1182 210.1026	1.0	2.0/1.9	–25/–40
Метиленовый синий	Sigma-Aldrich, 122965-43-9	$C_{16}H_{18}N_3S$	$[M]^+$	3.9	284.1216	0.5	1.8/1.9	–3/–35
Кристаллический фиолетовый- D_6	Witega, 612-204-00-2	$C_{25}H_{24}D_6N_3$	$[M]^+$	5.0	378.2811	0.5		–30/–45
Хинолоны (17)								
Данофлоксацин	TRC, 119478-55-6	$C_{19}H_{20}FN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.4	358.1561	0.1	0.7/0.6	–5/–63
Дифлоксацин	Sigma-Aldrich, 91296-86-5	$C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$	$[M+H]^+$	3.5	400.1467	0.1	1.4/1.8	–45/–78
Левифлоксацин	TRC, 100986-85-4	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	$[M+H]^+$	3.2	362.1510	0.1	0.6/0.7	–5/–63
Ломефлоксацин	Sigma-Aldrich, 98079-52-8	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$	$[M+H]^+$	3.3	352.1467	0.1	0.6/0.7	–15/–70
Марбофлоксацин	Sigma-Aldrich, 115550-35-1	$C_{17}H_{19}FN_4O_4$	$[M+H]^+$	2.9	363.1463	0.1	0.5/0.4	–6/–67
Налидиксовая кислота	LGC, 389-08-2	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	$[M+H]^+$	4.1	233.0920	1.0	1.1/1.0	–6/–72
Норфлоксацин	Sigma-Aldrich, 70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.1	320.1404	0.1	1.0/0.9	–5/–53
Оксолиновая кислота	Sigma-Aldrich, 14698-29-4	$C_{13}H_{11}NO_5$	$[M+H]^+$	3.8	262.0709	1.0	1.8/1.5	–10/–73
Офлоксацин	Sigma-Aldrich, 82419-36-1	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	$[M+H]^+$	3.2	362.1510	0.1	0.6/0.5	–38/–80
Пефлоксацин	TRC, 70458-92-3	$C_{17}H_{20}FN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.2	334.1561	0.1	0.5/0.5	–5/–60
Пипемидовая кислота	Sigma-Aldrich, 51940-44-4	$C_{14}H_{17}N_5O_3$	$[M+H]^+$	1.8	304.1399	0.5	1.2/1.3	–3/–74
Сарафлоксацин	Sigma-Aldrich, 91296-87-6	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	$[M+H]^+$	3.5	386.1310	0.5	2.2/2.3	–70/–80
Спарфлоксацин	TRC, 110871-86-8	$C_{19}H_{22}F_2N_4O_3$	$[M+H]^+$	3.6	393.1733	0.1	0.8/0.8	–11/–63
Флумеквин	Dr. Ehrenstorfer, 42835-25-6	$C_{14}H_{12}FNO_3$	$[M+H]^+$	4.1	262.0873	1.0	0.8/0.9	–31/–83
Ципрофлоксацин	Sigma-Aldrich, 85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.2	332.1404	0.5	1.1/1.3	–3/–60
Эноксацин	TRC, 74011-58-8	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$	$[M+H]^+$	3.0	321.1357	0.1	0.6/0.7	–4/–58
Энрофлоксацин	Sigma-Aldrich, 93106-60-6	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.4	360.1717	0.1	0.7/0.7	–25/–66
Энрофлоксацин- D_5	Sigma-Aldrich, 1173021-92-5	$C_{19}H_{17}D_5FN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.4	365.2032	0.1		–25/–63

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Цефалоспорины (20)								
Деацетил-цефепим	TRC, 104557-24-6	$C_{15}H_{15}N_3O_5S_2$	$[M+H]^+$	0.9	382.0526	5.0	1.2/1.4	–13/–68
Цефадроксил	Sigma-Aldrich, 50370-12-2	$C_{16}H_{17}N_3O_5S$	$[M+Na]^+$	1.3	386.0781	5.0	15/18	–15/–76
Цефаклор	EDQM, 53994-73-3	$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$	$[M+H]^+$	2.9	368.0466	5.0	6.5/6.8	–3/–80
Цефалексин	Sigma-Aldrich, 15686-71-2	$C_{16}H_{17}N_3O_4S$	$[M+H]^+$ $[M+Na]^+$	3.5	348.1013 370.0831	1.0	4.6/4.9	–23/–69
Цефалоним	TRC, 5575-21-3	$C_{20}H_{18}N_4O_5S_2$	$[M+H]^+$	3.3	459.0791	10.0	17/19	–16/–70
Цефепим	Sigma-Aldrich, 24356-60-3	$C_{17}H_{17}N_3O_6S_2$	$[M+H]^+$	2.6	424.0631	0.5	0.9/0.8	–3/–61
Цефаксидим	TRC, 10206-21-0	$C_{13}H_{13}N_3O_6S$	$[M+Na]^+$	3.0	362.0417	0.8	17/16	–10/–58
Цефепим	Santa Cruz Biotechnology, 88040-23-7	$C_{19}H_{24}N_6O_5S_2$	$[M+H]^+$	1.2	481.1322	1.0	1.8/1.9	–7/–78
Цефетамет пивоксил	Santa Cruz Biotechnology, 65243-33-6	$C_{20}H_{25}N_5O_7S_2$	$[M+H]^+$	4.7	512.1268	1.0	0.7/0.8	–9/–66
Цефкином	Sigma-Aldrich, 118443-89-3	$C_{23}H_{24}N_6O_5S_2$	$[M+H]^+$	3.5	529.1322	1.0	7.6/7.7	–10/–67
Цефоперазон	EDQM, 113826-44-1	$C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$	$[M+Na]^+$	4.0	668.1316	5.0	6.3/6.0	–11/–77
Цефотиам	Sigma-Aldrich, 66309-69-1	$C_{18}H_{23}N_9O_4S_3$	$[M+H]^+$ $[M+Na]^+$	1.0	526.1108 548.0927	3.0	4.4/4.8	–12/–65
Цефотаксим	USP, 64485-93-4	$C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$	$[M+H]^+$	3.7	456.0642	1.0	1.6/1.8	–13/–72
Цефпиром	TRC, 98753-19-6	$C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$	$[M+H]^+$	3.3	515.1166	3.0	4.0/4.6	–10/–88
Цефподоксим проксетил	Sigma-Aldrich, 80210-62-4	$C_{21}H_{27}N_5O_9S_2$	$[M+H]^+$	4.7	558.1322	5.0	1.0/1.5	–17/–70
Цефтибутен	Sigma-Aldrich, 97519-39-6	$C_{15}H_{14}N_4O_6S_2$	$[M+H]^+$	2.0	411.0428	5.0	3.4/3.5	–15/–63
Цефтиофур	Fluka, 103980-44-5	$C_{19}H_{17}N_5O_7S_3$	$[M+H]^+$	4.2	524.0363	5.0	1.7/1.9	–3/–64
Десфурил цефтиофур	Santa Cruz Biotechnology, 120882-22-6	$C_{14}H_{15}N_5O_5S_3$	$[M+H]^+$	3.8	430.0308	3.0	2.4/2.8	–19/–78
Десфурил цефтиофур цистеин дисульфид	TRC, 158039-15-7	$C_{17}H_{20}N_6O_7S_4$	$[M+H]^+$	2.9	549.0349	5.0	3.9/3.5	–10/–69
Цефуросим	TRC, 55268-75-2	$C_{16}H_{16}N_4O_8S$	$[M-H]^-$	3.9	423.0605	10.0	4.8/4.2	–15/–65
Цефетамет- D_3	TRC, 65052-63-3	$C_{15}H_{12}D_3N_4O_6S_2$	$[M+H]^+$	3.6	401.0776	1.0		–9/–66
Кокцидиостатики (16)								
Ампролиум	Sigma-Aldrich, 137-88-2	$C_{14}H_{18}N_4$	$[M+H]^+$	0.4	243.1604	0.5	1.5/1.8	–25/–38

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Декоквинат	Sigma-Aldrich, 18507-89-6	$C_{24}H_{35}NO_5$	$[M+H]^+$	5.7	418.2588	0.5	0.1/0.2	–2/–68
Диклазурил	Sigma-Aldrich, 101831-37-2	$C_{17}H_9Cl_3N_4O_2$	$[M-H]^-$	5.7	404.9707	1.0	66/69	–5/–35
Толтразурил	Fluka, 69004-03-1	$C_{18}H_{14}F_3N_3O_4S$	$[M-H]^-$	5.9	424.0573	3.0	49/67	–16/–61
Толтразурила сульфон	Witega, 69004-04-2	$C_{18}H_{14}F_3N_3O_6S$	$[M-H]^-$	5.6	456.0472	3.0	18/75	–13/–39
Клопидол	Fluka, 2971-90-6	$C_7H_7Cl_2NO$	$[M+H]^+$	1.0	191.9978	0.5	0.3/0.5	–2/–50
Ласалоцид	Santa Cruz Biotechnology, 25999-20-6	$C_{34}H_{54}O_8$	$[M+Na]^+$	6.6	613.3711	0.5	0.2/0.4	–2/–31
Мадуримицин	TRC, 84878-61-5	$C_{47}H_{83}O_{17}N$	$[M+H]^+$	6.7	934.5734	0.5	0.2/0.2	–2/–25
Монензин	Sigma-Aldrich, 22373-78-0	$C_{36}H_{62}O_{11}$	$[M+Na]^+$	6.5	693.4184	0.5	0.1/0.1	–2/37
Наразин	TRC, 55134-13-9	$C_{43}H_{72}O_{11}$	$[M+Na]^+$	6.9	787.4972	0.5	0.2/0.2	–3/–38
4,4 Динитрокарбанилид	Sigma-Aldrich, 330-95-0	$C_{13}H_{10}N_4O_5$	$[M-H]^-$	5.5	301.0567	1.0	8.5/8.0	–20/–30
Априноцид	TRC, 55779-18-5	$C_{12}H_9ClFN_5$	$[M+H]^+$	3.6	278.0603	1.0	0.2/0.2	–15/–58
Галофугинон	Sigma-Aldrich, 64924-67-0	$C_{16}H_{17}BrClN_3O_3$	$[M+H]^+$	3.8	416.0193	1.0	0.5/0.5	–11/–40
Робенидин	Sigma-Aldrich, 25875-50-7	$C_{15}H_{13}Cl_2N_5$	$[M+H]^+$	4.5	334.0621	1.0	0.1/0.1	–25/–58
Салиномицин	Sigma-Aldrich, 55721-31-8	$C_{42}H_{70}O_{11}$	$[M+Na]^+$	6.7	773.4810	0.5	0.2/0.2	–3/–32
Этопабат	LGC, 59-06-3	$C_{12}H_{15}O_4N$	$[M+H]^+$	3.9	238.1074	1.0	2.2/1.9	–2/–48
4,4 Динитрокарбанилид- D_8	Witega, 1156508-87-0	$C_{13}H_2D_8N_4O_5$	$[M-H]^-$	5.3	309.1069	1.0		–20/–30
β-Агонисты (18)								
Бромбутерол	Sigma-Aldrich, 21912-49-2	$C_{12}H_{18}Br_2N_2O$	$[M+H]^+$	4.7	366.9839	1.0	0.8/0.8	–5/–75
Гидроксиметилкленбутерол	Sigma-Aldrich, 37162-89-3	$C_{12}H_{18}Cl_2N_2O_2$	$[M+H]^+$	4.6	293.0818	1.0	0.6/0.7	–20/–66
Зилпатерол	Witega, 119520-06-8	$C_{14}H_{19}N_3O_2$	$[M+H]^+$	5.0	262.1550	1.0	0.7/0.7	–6/–71
Изоксисуприн	Sigma-Aldrich, 579-56-6	$C_{18}H_{23}NO_3$	$[M+H]^+$	4.3	302.1751	1.0	0.5/0.6	–14/–71
Кленбутерол	EDQM, 21898-19-1	$C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$	$[M+H]^+$	4.6	277.0869	1.0	1.1/1.0	–25/–37
Кленпентерол	Sigma-Aldrich, 37158-47-7	$C_{13}H_{20}Cl_2N_2O$	$[M+H]^+$	4.8	291.1025	0.5	0.5/0.6	–14/–72
Кленпроперол	Witega, 38339-11-6	$C_{11}H_{16}Cl_2N_2O$	$[M+H]^+$	4.9	263.0712	0.5	1.0/0.9	–2/–72
Мабутерол	Fluka, 54240-36-7	$C_{13}H_{18}ClF_3N_2O$	$[M+H]^+$	4.9	311.1133	0.5	0.6/0.7	–7/–63

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Мапентерол	TRC, 54238-51-6	$C_{14}H_{20}ClF_3N_2O$	$[M+H]^+$	5.0	325.1289	0.5	0.9/0.9	-12/-68
Рактопамин	TRC, 90274-24-1	$C_{18}H_{23}NO_3$	$[M+H]^+$	4.3	302.1751	1.0	0.5/0.6	-5/-68
Ритодрин	TRC, 23239-51-2	$C_{17}H_{21}NO_3$	$[M+H]^+$	3.6	288.1594	1.0	0.2/0.2	-5/-70
Сальбутамол	British Pharmacopoeia Chemical Reference Substance, 18559-94-9	$C_{13}H_{21}NO_3$	$[M+H]^+$	0.8	240.1594	5.0	0.5/0.4	-3/-13
Тербуталин	Sigma-Aldrich, 23031-32-5	$C_{12}H_{19}NO_3$	$[M+H]^+$	4.3	226.1438	1.0	0.4/0.5	-8/-68
Тулобутерол	TRC, 56776-01-3	$C_{12}H_{18}ClNO$	$[M+H]^+$	4.6	228.1150	1.0	0.7/1.0	-3/-16
Фенотерол	TRC, 1944-12-3	$C_{17}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	3.2	304.1543	5.0	0.4/0.3	-5/-75
Циматерол	Fluka, 54239-37-1	$C_{12}H_{17}N_3O$	$[M+H]^+$	0.8	220.1444	5.0	1.4/1.3	-3/-71
Цимбутерол	Fluka, 54239-39-3	$C_{13}H_{19}N_3O$	$[M+H]^+$	1.4	234.1601	1.0	0.4/0.3	-6/-19
Ксилазин	Sigma-Aldrich, 23076-35-9	$C_{12}H_{16}N_2S$	$[M+H]^+$	4.5	221.1107	0.5	0.6/0.4	-8/-67
Кленбутерол- D_9	Witega, 184006-60-8	$C_{12}H_9D_9Cl_2N_2O$	$[M+H]^+$	4.6	286.1434	1.0		-25/-38
Антигельминтики (37)								
Альбендазол	Sigma-Aldrich, 54965-21-8	$C_{12}H_{15}N_3O_2S$	$[M+H]^+$	4.0	266.0958	0.5	0.3/0.3	-21/-49
Альбендазола сульфон	TRC, 75184-71-3	$C_{12}H_{15}N_3O_4S$	$[M+H]^+$	3.6	298.0851	0.5	1.7/1.6	-20/-50
Аминофлубендазол	Witega, 82050-13-3	$C_{14}H_{10}FN_3O$	$[M+H]^+$	3.7	256.0881	0.5	1.0/0.9	-12/-50
Кетотриклабендазол	HPC standards GmbH, 1201920-88-8	$C_{13}H_7Cl_3N_2O_2$	$[M-H]^-$	5.5	326.9489	5.0	19/16	-10/-44
Клорсулон	TRC, 60200-06-8	$C_8H_8Cl_3N_3O_4S_2$	$[M-H]^-$	4.0	377.8944	1.0	4.3/4.0	-20/-54
Левамизол	Sigma-Aldrich, 16595-80-5	$C_{11}H_{12}N_2S$	$[M+H]^+$	1.0	205.0794	0.1	0.1/0.2	-8/-61
Мебендазол	Fluka, 31431-39-7	$C_{16}H_{13}N_3O_3$	$[M+H]^+$	4.0	296.1029	0.5	0.9/0.8	-2/-70
Морантел	Sigma-Aldrich, 26155-31-7	$C_{12}H_{16}N_2S$	$[M+H]^+$	3.4	221.1107	0.5	0.3/0.3	-5/-49
Пириметамин	Dr. Ehrenstorfer, 58-14-0	$C_{12}H_{13}ClN_4$	$[M+H]^+$	3.7	249.0902	0.5	0.4/0.4	-4/-56
Празиквантел	Sigma-Aldrich, 55268-74-1	$C_{19}H_{24}N_2O_2$	$[M+H]^+$	4.6	313.1910	2.0	1.3/1.2	-1/-48
Тиабендазол	Sigma-Aldrich, 148-79-8	$C_{10}H_7N_3S$	$[M+H]^+$	1.2	202.0433	0.5	0.2/0.2	-2/-71
Триклабендазол	TRC, 68786-66-3	$C_{14}H_9Cl_3N_2OS$	$[M+H]^+$	5.2	358.9574	1.0	1.0/0.9	-9/-50

Таблица 2. Продолжение

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Фенбендазол	Sigma-Aldrich, 43210-67-9	$C_{15}H_{13}N_3O_2S$	$[M+H]^+$	4.3	300.0806	0.5	0.4/0.3	–4/–51
Фебантел	Sigma, 58306-30-2	$C_{20}H_{22}N_4O_6S$	$[M+H]^+$	4.9	447.1333	0.1	0.7/0.6	–2/–44
Флубендазол	Dr. Ehrenstorfer, 31430-15-6	$C_{16}H_{12}N_3O_3F$	$[M+H]^+$	4.1	314.0941	0.5	1.8/1.9	–6/–68
Оксибендазол	Dr. Ehrenstorfer, 20559-55-1	$C_{12}H_{15}N_3O_3$	$[M+H]^+$	3.7	250.1191	0.5	4.0/4.4	–9/–49
Альбендазол-2-аминосульффон	Sigma-Aldrich, 80983-34-2	$C_{10}H_{13}N_3O_2S$	$[M+H]^+$	1.2	240.0801	1.0	0.4/0.3	–2/–47
Камбендазол	Dr. Ehrenstorfer, 26097-80-3	$C_{14}H_{14}N_4O_2S$	$[M+H]^+$	3.6	303.0910	1.0	0.5/0.5	–7/–75
Клозантел	Sigma-Aldrich, 57808-65-8	$C_{22}H_{14}Cl_2N_2O_2I_2$	$[M-H]^-$	6.9	660.8438	0.5	0.4/0.4	–12/–61
Клотримазол	TRC, 23593-75-1	$C_{22}H_{17}ClN_2$	$[M+H]^+$	4.3	345.1153	1.0	30/25	–10/–50
Аминомебендазол	Witega, 52329-60-9	$C_{14}H_{11}N_3O$	$[M+H]^+$	3.6	238.0975	1.0	0.9/0.8	–1/–47
Гидроксимебендазол	Witega, 60254-95-7	$C_{16}H_{15}N_3O_3$	$[M+H]^+$	3.6	298.1186	1.0	1.1/1.0	–8/–67
Никлозамид	Sigma-Aldrich, 73360-56-2	$C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$	$[M-H]^-$	5.9	324.9777	1.0	0.1/0.1	–13/–76
Оксибендазоламин	Witega, 1538624-34-8	$C_{10}H_{13}N_3O$	$[M+H]^+$	3.5	192.1131	1.0	0.7/0.7	–1/–47
Оксиклозанид	Sigma-Aldrich, 2277-92-1	$C_{13}H_6Cl_3NO_3$	$[M-H]^-$	5.9	399.8678	1.0	0.1/0.1	–1/–49
Оксфендазола сульффон	Dr. Ehrenstorfer, 54029-20-8	$C_{15}H_{13}N_3O_4S$	$[M+H]^+$	3.9	332.0699	1.0	0.7/0.6	–2/–54
Оксфендазол	Sigma-Aldrich, 53716-50-0	$C_{15}H_{13}N_3O_3S$	$[M+H]^+$	3.7	316.0750	1.0	1.3/1.4	–6/–47
Парбендазол	Sigma-Aldrich, 14255-87-9	$C_{13}H_{17}N_3O_2$	$[M+H]^+$	4.1	248.1394	1.0	0.6/0.5	–15/–76
Пирантел	Sigma-Aldrich, 22204-24-6	$C_{11}H_{14}N_2S$	$[M+H]^+$	2.1	207.0950	0.5	0.1/0.1	–21/–80
Рафоксанид	Sigma-Aldrich, 22662-39-1	$C_{19}H_{11}Cl_2NO_3I_2$	$[M-H]^-$	7.2	623.8121	1.0	0.2/0.2	–26/–69
Гидрокситиабендазол	Witega, 948-71-0	$C_{10}H_7N_3OS$	$[M+H]^+$	0.8	218.0383	1.0	0.3/0.3	–31/–75
Триклабендазола сульффон	Witega, 106791-37-1	$C_{14}H_9Cl_3N_2O_3S$	$[M+H]^+$	4.9	390.9472	0.5	8.1/7.9	–20/–48
Триклабендазола сульфоксид	Witega, 100648-13-3	$C_{14}H_9Cl_3N_2O_2S$	$[M+H]^+$	4.7	374.9523	0.5	4.1/4.5	–41/–79
Аминотриклабендазол	Sigma-Aldrich, 1448346-37-9	$C_{13}H_8Cl_3N_3O$	$[M+H]^+$	4.3	327.9806	0.5	0.7/0.8	–15/–73
Нитроксирил	Witega, 1689-89-0	$C_7H_3N_2O_3I$	$[M-H]^-$	4.7	288.9105	0.5	0.1/0.1	–2/–45
Нетобимин	TRC, 88254-99-3	$C_{14}H_{20}N_4O_7S_2$	$[M+H]^+$	3.9	421.0846	1.0	2.7/2.5	–20/–65
Триклабендазол- D_3	Witega, 1353867-93-2	$C_{14}H_6D_3N_2OSCl_3$	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	5.1 5.9	361.9762 359.9606	1.0 1.0		–8/–49

Таблица 2. Окончание

Аналит	Производитель, CAS номер	Брутто-формула	Ион	$t_{R, \text{мин}}$	m/z	$c_{\text{мин}}, \text{мкг/кг}$	$k, \text{вода/матрица}$	МЭ, % мин/макс
Нестероидные противовоспалительные средства (19)								
Антипирин	Sigma-Aldrich, 60-80-0	$C_{11}H_{12}N_2O$	$[M+H]^+$	3.1	189.1017	0.5	0.5/0.4	–28/–59
Аминоантипирин	Sigma-Aldrich, 83-07-8	$C_{11}H_{13}N_3O$	$[M+H]^+$	1.0	204.1131	2.0	0.5/0.5	–25/–60
Ацетиламиноантипирин	Sigma-Aldrich, 83-15-8	$C_{13}H_{15}N_3O_2$	$[M+H]^+$	2.0	246.1237	2.0	0.5/0.4	–21/–49
Диметиламиноантипирин	Acros Organics, 58-15-1	$C_{13}H_{17}N_3O$	$[M+H]^+$	1.0	232.1444	2.0	0.5/0.5	–19/–50
Изопропиламиноантипирин	TRC, 3615-24-5	$C_{14}H_{19}N_3O$	$[M+H]^+$	1.9	246.1600	2.0	0.5/0.5	–11/–60
Дапсон	Sigma-Aldrich, 80-08-0	$C_{12}H_{12}N_2O_2S$	$[M+H]^+$	2.4	249.0692	0.5	0.5/0.5	–12/–36
Диклофенак	Sigma-Aldrich, 15307-79-6	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	$[M-H]^-$	5.6	294.0083	2.0	0.9/0.9	–34/–58
Кетопрофен	Sigma-Aldrich, 22071-15-4	$C_{16}H_{14}O_3$	$[M-H]^-$	5.1	253.0859	10.0	0.8/0.8	–11/–46
Мелоксикам	LGC, 71125-38-7	$C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	4.5 5.1	352.0420 350.0264	0.5	1.2/1.1 1.2/1.3	–8/–63
Метиламиноантипирин	TRC, 519-98-2	$C_{12}H_{15}N_3O$	$[M+H]^+$	0.9	218.1282	0.5	0.5/0.4	–20/–60
Толфенамовая кислота	Sigma-Aldrich, 13710-19-5	$C_{14}H_{12}ClNO_2$	$[M-H]^-$	6.0	260.0478	1.0	1.8/1.8	–21/–80
Флуфенамовая кислота	Sigma-Aldrich, 530-78-9	$C_{14}H_{10}F_3NO_2$	$[M-H]^-$	5.9	280.0580	2.0	2.2/2.5	–21/–80
Фенилбутазон	Sigma-Aldrich, 50-33-9	$C_{19}H_{20}N_2O_2$	$[M-H]^-$	5.8	307.1447	0.5	1.7/1.8	–18/–70
Флуниксин	Sigma-Aldrich, 1015856-60-6	$C_{14}H_{11}N_2O_2F_3$	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	4.5 5.1	297.0845 295.0689	0.5	1.2/1.5 0.6/0.6	–19/–52
Гидроксифлуниксин	Fluka, 75369-61-8	$C_{14}H_{11}N_2O_3F_3$	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	4.4 5.0	313.0795 311.0638	1.0	1.2/1.4 0.8/0.9	–22/–46
Флурбипрофен	Pharmaffiates, 5104-49-4	$C_{15}H_{13}FO_2$	$[M+H]^+$	4.0	245.0972	1.0	1.2/1.4	–10/–52
Нифлумовая кислота	TRC, 4394-00-7	$C_{13}H_9N_2O_2F_3$	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	4.9 5.6	283.0689 281.0532	5.0	1.2/1/2 1.4/1.4	–35/–78
Мефенамовая кислота	Sigma-Aldrich, 61-68-7	$C_{15}H_{15}NO_2$	$[M+H]^+$	5.3	242.1176	5.0	5.6/5.3	–21/–80
Рифампицин	TRC, 13292-46-1	$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$	$[M+H]^+$	4.7	823.4124	1.0	3.2/3.5	–16/–51
Мелоксикам- D_3	Witega, 942047-63-4	$C_{14}H_{10}D_3N_3O_4S_2$	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	4.4 5.1	355.0609 353.0452	0.5		–9/–60

Обозначения: АМОЗ – 3-амино-5-морфолинометил-1,3-оксазолидинон; АОЗ – 3-амино-2-оксазолидинон; АГД – 1-аминогидантоин; СЕМ – семикарбазид.

Осуществляли градиентное элюирование: 0 мин – 5% Б, 0.5 мин – 5% Б, 2 мин – 50% Б, 5 мин – 100% Б, 6 мин – 5% Б, 10 мин – 5% Б. Скорость потока подвижной фазы 0.4 мл/мин. Температура хроматографической колонки 50 °С, объем вводимой пробы 50 мкл. Температура термостата автосамплера 10 °С.

Использовали электрораспылительную ионизацию в устройстве ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Оптимальные значения параметров устройства: напряжение на щите капилляра 400 В, на капилляре 1 000 В, давление газа-распылителя азота 4.76 атм, поток газа-осушителя азота 6 л/мин,

температура газа-осушителя азота 200 °С, поток газа-испарителя азота 250 л/ч, температура газа-испарителя азота 250 °С.

Диапазон регистрируемых масс ионов 100–1 100 Да. Для калибровки использовали 10 мМ раствор формиата натрия в смеси вода–изопропанол (1:1) в интервале хроматографирования 9.5–10 мин.

Пробы. Анализируемые пробы получены ФГБУ “Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов” (ФГБУ “ВГНКИ”) в рамках государственного ветеринарного лабораторного мониторинга, осуществляемого Россельхознадзором. Мясо, печень, почки, шпик хранили при –20 °С в холодильнике в течение месяца, перед анализом замороженные продукты измельчали с использованием бытового миксера; молоко, мёд, яйца хранили при 4 °С в течение месяца. Перед анализом яйца освобождали от скорлупы, объединяли 6 штук в одну пробу и тщательно перемешивали с использованием бытового миксера.

Идентификация и определение. Идентификацию ветеринарных препаратов по полученным хроматограммам проводили с использованием программного продукта DataAnalysis-4.1, TargetAnalysis (Bruker Daltonics, Германия), составление картины изотопного распределения аналитов – с использованием IsotopePattern (Bruker Daltonics, Германия).

Неизвестную концентрацию аналита в пробе определяли методом изотопного разбавления. В анализируемую пробу вводили смесь дейтерированных внутренних стандартов (5–10 нг/г, для тетрациклинов в качестве внутреннего стандарта использовали 50 нг/г метациклина), проводили анализ и концентрацию рассчитывали с использованием поправочных коэффициентов для каждого аналита (см. табл. 2):

$$c_x = c_{\text{доб}} \cdot S_x \cdot k / S_{\text{в.ст.х}},$$

где $c_{\text{доб}}$ – концентрация добавки внутреннего стандарта, нг/г; S_x , $S_{\text{в.ст.х}}$ – площади хроматографических пиков обнаруженного аналита в пробе и соответствующего данному классу аналитов внутреннего стандарта соответственно; k – поправочный коэффициент.

Поправочные коэффициенты рассчитывали предварительно на уровнях концентраций 1, 10, 20, 50 и 100 нг/мл по соотношениям площадей пиков стандартных растворов аналитов и внутренних стандартов (использовали среднее значение):

$$k = S_d / S_0,$$

где S_d , S_0 – площади хроматографических пиков внутреннего стандарта и аналита соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимизация условий разделения. Выбор колонки осуществляли из следующих: 30×2.1 мм, 50×2.1 мм, 100×2.1 мм ACQUITY UPLC® BEN C18, 50×2.1 мм ACQUITY UPLC® Shield RP18, 50×2.1 мм ACQUITY UPLC® Phenyl (все с диаметром зерна 1.7 мкм) (Waters, США), 50×2.1 мм Acclaim™ 120 C18, диаметр зерна 2.2 мкм и 3.0 мкм (Thermo Scientific, США). Однако эффективность колонки ACQUITY UPLC® BEN C18 (30×2.1 мм, 1.7 мкм) оказалась несколько выше (число теоретических тарелок $N = 8\,759$ для энрофлоксацина), чем у других ($N = 5\,346$ – $7\,863$), селективность для всех колонок оказалась одинаковой. В дальнейших исследованиях использовали колонку 30×2.1 мм ACQUITY UPLC® BEN C18. Однако следует отметить, что использование любых из перечисленных колонок не приводило к существенному изменению основных аналитических характеристик методики.

При выборе подвижной фазы использовали воду, ацетонитрил и метанол без добавок и с добавками муравьиной кислоты и формиата аммония. В итоге установили оптимальный вариант: А – 0.1%-ный водный раствор муравьиной кислоты, Б – 0.1%-ный ацетонитрильный раствор муравьиной кислоты. Добавки формиата аммония и использование метанола в качестве подвижной фазы не привели к существенному увеличению хроматографических пиков исследуемых аналитов.

При выборе скорости потока подвижной фазы и градиента лучшие результаты получили при скорости 0.4 мл/мин и следующем градиенте: 0 мин – 5% Б, 0.5 мин – 5% Б, 2 мин – 50% Б, 5 мин – 100% Б, 6 мин – 5% Б, 10 мин – 5% Б.

Температуру термостата хроматографической колонки выбирали из 30, 40, 50 и 60 °С, инъектируемый объем пробы из 5, 10, 20, 50, 60 и 100 мкл. Установили, что для достижения высокой чувствительности определения следует использовать температуру хроматографической колонки 50 °С (при этом давление подвижной фазы в хроматографической колонке составило 160–170 бар) и оптимальный объем вводимой в инжектор пробы – 50 мкл (объем более 50 мкл приводил к искажению симметричности хроматографического пика).

Использование УВЭЖХ значительно сокращает время хроматографирования. В данной работе

продолжительность разделения аналитов на колонке длиной 30 мм составила 8 мин. Общее время хроматографирования составило 10–12 мин с учетом кондиционирования колонки и времени калибровки по массам ионов.

Оптимизация пробоподготовки. Для пробоподготовки использовали экстракцию ацетонитрилом в нейтральной и кислой средах (с добавлением янтарной кислоты). В первом и во втором случаях добавляли ЭДТА для связывания ионов металлов в комплексы с целью предотвращения образования комплексов с аналитами. Варьирование различных параметров — массы навески пробы, количества высаливателя и экстрагента, природы высаливателя, количества ЭДТА, а также учет матричного эффекта позволил оптимизировать условия пробоподготовки. Кроме того, добавление метанола в экстракт после его упаривания способствовало образованию протонированных аддуктов пенициллинов с метанолом.

Ионы при электрораспылительной ионизации. Большинство рассматриваемых соединений образует протонированные аддукты либо депротонируются (табл. 2). Для некоторых классов соединений отмечали особенности. Так, приготовление стандартных растворов пенициллинов в метаноле и добавление метанола в экстракт пробы приводит к появлению положительно заряженных протонированных аддуктов пенициллинов с метанолом $[M+CH_3OH+H]^+$, использование которых в анализе позволило значительно увеличить чувствительность определения аналитов. Спирамицин и тулатромицин образуют двухзарядные ионы $[M+2H]^{2+}$, амфениколы — аддукты с хлором $[M+Cl]^-$, цефадроксил, цефалексин, цефакситрил, цефеперзон, цефотиам, ласалоцид, наразин, монензин и салиномицин — аддукты с натрием $[M+Na]^+$.

Матричный эффект. Для минимизации МЭ оптимизировали условия пробоподготовки без очистки методом твердофазной экстракции. Установили, что при данных условиях матричный эффект максимален для печени и мёда ($>-80\%$), минимален для молока, мяса различных животных ($>-40\%$). Матрица оказывает незначительное влияние в области времени удерживания исследуемых аналитов (0.5–2, 3–6 мин). Для нивелирования матричного эффекта применяли изотопно меченные стандарты и приём изотопного разбавления для определения концентрации аналитов.

Метод изотопного разбавления. В табл. 2 представлены аналитические характеристики, полученные при оценке остаточных содержаний 214

ветеринарных препаратов. Установили, что поправочный коэффициент k имеет практически одинаковые значения для водных растворов аналитов и экстрактов из различных матриц (молоко, мясо, субпродукты и пр.). Это позволило нам не использовать матричные градуировочные зависимости, а применить метод изотопного разбавления для расчета концентраций аналитов с учётом поправочного коэффициента (для каждого класса рассматриваемых соединений предложен один изотопно меченный стандарт) (табл. 2).

Идентификацию проводили по полученным масс-хроматограммам с помощью программного продукта Target-Analysis-1.3. Идентификационными параметрами служили времена удерживания (± 0.1 мин), точность массы моноизотопа m/z (± 5 млн⁻¹) и совпадение картины изотопного распределения ($mSigma < 20$). Погрешность в определении масс ионов не превышала 2 млн⁻¹.

Анализ проб. В соответствии с разработанной методикой проводили скрининг проб пищевых продуктов на рассматриваемые аналиты. В случае выявления какого-либо соединения определяли его содержание расчётным способом, используя метод изотопного разбавления. В табл. 3 представлены некоторые результаты определения при выявлении остаточных количеств рассматриваемых соединений в пищевых продуктах. Как видно, полученные данные хорошо согласуются с результатами анализа по ГОСТ 34533-2019, 31694-2012, 34136-2017, 33486-2015, 32797-2014, 32014-2012, 34137-2017, 34535-2019, 32834-2014, 32881-2014 и МУ А-1/080. Следует отметить, что данный способ скрининга проб и оценки остаточных содержаний ветеринарных препаратов позволяет существенно сократить продолжительность (до 40–50 мин) и стоимость анализа.

* * *

Разработка УВЭЖХ-методик позволяет сократить продолжительность анализа, а при совмещении с МС/МС и МС-ВП разработать простые, недорогие методики, характеризующиеся высокой точностью. Метод ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения максимально подходит для решения повседневных задач, таких как скрининг проб и определение остаточных содержаний ветеринарных препаратов и их метаболитов в случае установления соответствия продукции законодательным требованиям. Рассмотрены упрощенная пробоподготовка и применение изотопного разбавления для оценки

Таблица 3. Результаты анализа пищевых продуктов по разработанной методике и по ГОСТ ($n = 3$, $P = 0.95$)

Матрица	Аналит	Найдено по разработанной методике, мкг/кг	s_r	Найдено по ГОСТ, мкг/кг	s_r
Молоко № 1	Цефтиофур	5.4±0.1	0.08	4.9±0.2	0.09
	Нафциллин	9.7±0.2	0.05	9.9±0.1	0.04
Молоко № 2	Цефтиофур	3.2±0.1	0.10	2.9±0.2	0.13
	Нафциллин	2.4±0.1	0.11	2.9±0.2	0.12
Молоко № 3	Цефтиофур	9.6±0.2	0.08	9.9±0.3	0.09
	Нафциллин	0.30±0.08	0.11	0.35±0.06	0.12
Говядина	Цефтиофур	0.22±0.06	0.13	0.21±0.07	0.13
	Нафциллин	0.43±0.05	0.12	0.38±0.07	0.13
	Цефутоксим	5.64±0.08	0.10	5.39±0.06	0.09
Творог	Цефтиофур	5.0±0.1	0.09	4.3±0.2	0.09
	Нафциллин	2.2±0.1	0.09	2.3±0.1	0.09
Яйца куриные	Пиперацillin	7.6±0.1	0.08	7.3±0.1	0.09
	Цефтиофур	5.8±0.1	0.09	5.6±0.1	0.09
Мясо курицы	Цефотаксим	40 ± 2	0.08	43±3	0.08
Мясо цыплёнка бройлера	Ципрофлоксацин	43±5	0.02	49±3	0.02
Мясо курицы	Хлорамфеникол	8.2±0.9	0.03	6.1±0.4	0.02
Колбаса	Окситетрациклин	18±4	0.03	12±6	0.03
	Доксициклин	8.0±0.3	0.02	8.0±0.9	0.02
Говядина	Хлорамфеникол	20±6	0.01	17±4	0.02
Яйцо	Ципрофлоксацин	18±2	0.02	16±5	0.02
Рыба	Энрофлоксацин	84±7	0.03	90±6	0.03
	Ципрофлоксацин	5.4±0.6	0.02	4.1±0.8	0.02

концентрации 214 аналитов. Исключены стадии твердофазной экстракции, матричной градуировки. Предложено для каждого класса соединений использовать один изотопно меченный стандарт. Установлено, что поправочный коэффициент не меняется при использовании водных растворов аналитов и аналитов, извлеченных из различных матриц. Для определения концентрации в пробу вводят изотопно меченные стандарты, проводят пробоподготовку и хроматографирование, в случае обнаружения какого-либо лекарственного средства концентрацию рассчитывают с учетом поправочного коэффициента. Предлагаемая методика не требует дополнительной очистки образцов и позволяет одновременно идентифицировать остаточные содержания 214 лекарственных препаратов для ветеринарного применения на уровне их предела

обнаружения 0.1–10.0 нг/г. Продолжительность анализа проб не превышает 40–50 мин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jia W., Chu X., Chang J., Wang P.G., Chen Y., Zhang F. High-throughput untargeted screening of veterinary drug residues and metabolites in tilapia using high resolution orbitrap mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta*. 2017. V. 957. P. 29.
2. Regal P., Lamas A., Franco C.M., Cepeda A. Veterinary drugs: Progress in multiresidue technique / *Encyclopedia of Food Chemistry* / Eds. Melton L., Shahidi F., Varelis P. Academic Press, 2019. 2194 p.
3. Frenich A.G., Romero-González R., del Mar Aguilera-Luiz M. Comprehensive analysis of toxics (pesticides, veterinary drugs and mycotoxins) in food by UHPLC–MS // *Trends Anal. Chem.* 2014. V. 63. P. 158.

4. Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Киш Л.К., Третьяков А.В., Пеньков Т.Д. Определение остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевых продуктах // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 11. С. 969.
5. Jia W., Liu Y., Xu X., Zhang Y., Shi L. Comprehensive multiplexed analysis of risky drugs in eggs based on magnetic zeolitic imidazolate frameworks and UHPLC Q-Orbitrap HRMS // J. Food Drug Anal. 2021. V. 29. № 3. Article 7.
6. De Oliveira Arias J.L., Schneider A., Batista-Andrade J.A., Vieira A.A., Caldas S.S., Primel E.G. Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk // Food Chem. 2018. V. 240. P. 1243.
7. Neely S., Martin J., da Cruz N.F., Piester G., Robinson M., Okoniewski R., Tran B.N. Application of dispersive solid phase extraction for trace analysis of toxic chemicals in foods // J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2018. V. 1092. P. 65.
8. Al Tamim A., Alzahrani S., Al-Subaie S., Almutairi M.A., Al Jaber A., Alowaiifeer A.M. Fast simultaneous determination of 23 veterinary drug residues in fish, poultry, and red meat by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // Arab. J. Chem. 2022. V. 15. № 10. Article 104116.
9. Liu H., Lin T., Cheng X., Li N., Wang L., Li Q. Simultaneous determination of anabolic steroids and β -agonists in milk by QuEChERS and ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2017. V. 1043. P. 176.
10. Imamoglu H., Oktem Olgun E. Analysis of veterinary drug and pesticide residues using the ethyl acetate multiclass/multiresidue method in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Anal. Methods Chem. 2016. 2016. Article 2170165.
11. Zhang L., Shi L., He Q., Li Y. A rapid multiclass method for antibiotic residues in goat dairy products by UPLC-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry // J. Anal. Sci. Technol. 2021. V. 12. 14.
12. Мелехин А.О., Толмачева В.В., Шубина Е.Г., Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Грудев А.И. Применение сверхсшитого полистирола для многокомпонентной твердофазной экстракции остатков 63 ветеринарных препаратов при их определении в курином мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии–тандемной масс-спектрометрии // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 8. С. 708.
13. Castilla-Fernández D., Moreno-González D., Beneito-Cambra M., Molina-Díaz A. Critical assessment of two sample treatment methods for multiresidue determination of veterinary drugs in milk by UHPLC–MS/MS // Anal. Bioanal. Chem. 2019. V. 411. P. 1433.
14. Jia W., Chu X., Ling Y., Huang J., Chang J. High-throughput screening of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1347. P. 122.
15. Wang C., Li X., Yu F., Wang Y., Ye D., Hu X., Zhou L., Du J., Xia X. Multi-class analysis of veterinary drugs in eggs using dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Food Chem. 2021. V. 334. Article 127598.
16. Geis-Asteggianti L., Lehotay S.J., Lightfield A.R., Dutko T., Ng C., Bluhm L. Ruggedness testing and validation of a practical analytical method for >100 veterinary drug residues in bovine muscle by ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1258. P. 43.
17. Desmarchelier A., Fan K., Minh Tien M., Savoy M.C., Tarres A., Fuger D., Goyon A., Bessaire T., Mottier P. Determination of 105 antibiotic, anti-inflammatory, anti-parasitic agents and tranquilizers by LC–MS/MS based on an acidic QuEChERS-like extraction // Food Addit. Contam. Part A: Chem. Anal. Control Expo Risk Assess. 2018. V. 35. № 4. P. 646.
18. Casey C.R., Andersen W.C., Williams N.T., Nickel T.J., Ayres P.R. Multiclass, multiresidue method for the quantification and confirmation of 112 veterinary drugs in game meat (bison, deer, elk, and rabbit) by rapid polarity switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Agric. Food Chem. 2021. V. 69. № 4. P. 1175.
19. Pérez-Ortega P., Lara-Ortega F.J., Gilbert-López B., Moreno-González D., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A. Screening of over 600 pesticides, veterinary drugs, food-packaging contaminants, mycotoxins, and other chemicals in food by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOFMS) // Food Anal. Methods. 2017. V. 10. P. 1216.
20. Melekhin A.O., Tolmacheva V.V., Goncharov N.O., Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Shubina E.G., Grudev A.I. Multi-class, multi-residue determination of 132 veterinary drugs in milk by magnetic solid-phase extraction based on magnetic hypercrosslinked polystyrene prior to their determination by high-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry // Food Chem. 2022. V. 387. Article 132866.
21. Cao G., Zhan J., Shi X., Deng X., Zhu J., Wu W., Chen X. Analysis of 140 veterinary drugs and other contaminants in poultry muscle by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Chromatographia. 2018. V. 81. P. 707.
22. Li X., Chi Q., Xia S., Pan Y., Chen Y., Wang K. Untargeted multi-residue method for the simultaneous determination of 141 veterinary drugs and their metabolites in pork by high-performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 2020. V. 1634. Article 461671.

23. Zhao W., Jiang R., Guo W., Li S., Wang J., Wang S., Li Y. Screening and analysis of multiclass veterinary drug residues in animal source foods using UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2021. V. 107. P. 228.
24. Wang J., Zhao W., Guo W., Li Y., Jiang R., Li H., Wang S., Li Z. Simultaneous screening and analysis of 155 veterinary drugs in livestock foods using ultra-high performance liquid chromatography tandem quadrupole linear-ion-trap mass spectrometry // *Food Chem.* 2022. V. 393. Article 133260.
25. Pugajeva I., Ikkere L.E., Judjallo E., Bartkevics V. Determination of residues and metabolites of more than 140 pharmacologically active substances in meat by liquid chromatography coupled to high resolution Orbitrap mass spectrometry // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2019. V. 166. P. 252.
26. Lehotay S.J. Comparison of analyte identification criteria and other aspects in triple quadrupole tandem mass spectrometry: Case study using UHPLC-MS/MS for regulatory analysis of veterinary drug residues in liquid and powdered eggs // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. V. 414. P. 287.
27. Bai M., Tang R., Li G., She W., Chen G., Shen H., Zhu S., Zhang H., Wu H. High-throughput screening of 756 chemical contaminants in aquaculture products using liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry // *Food Chem. X.* 2022. V. 15. Article 100380.
28. Kong C., Wang Y., Huang Y. Multiclass screening of >200 pharmaceutical and other residues in aquatic foods by ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole-Orbitrap mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2018. V. 410. P. 5545.
29. Zhan J., Shi X.-Z., Xu X.-W., Cao G.-Z., Chen X.-F. Generic and rapid determination of low molecular weight organic chemical contaminants in protein powder by using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2020. V. 1138. Article 121967.
30. Kuchař L., Asfaw B., Rybová J., Ledvinová J. Chapter five – Tandem mass spectrometry of sphingolipids: Applications for diagnosis of sphingolipidoses / *Advances in Clinical Chemistry* / Ed. Makowski G.S. Elsevier, 2016. V. 77. P. 177.
31. Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Widmer M. Quantitative multiresidue method for about 100 veterinary drugs in different meat matrices by sub 2- μ m particulate high-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1194. P. 66.
32. Stolker A.A.M., Rutgers P., Oosterink E., Lasaroms J.J.P., Petrs P.J.R., Rhijn J.A., Nielen M.W.F. Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC-ToF-MS // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 391. P. 2309.
33. Ortelli D., Cognard E., Jan Ph., Edder P. Comprehensive fast multiresidue screening of 150 veterinary drugs in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2009. V. 877. P. 2363.
34. Peters R.J.B., Bolck Y.J.C., Rutgers P., Stolker A.A.M., Nielen M.W.F. Multi-residue screening of veterinary drugs in egg, fish and meat using high-resolution liquid chromatography accurate mass time-of-flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 8206.
35. Amelin V., Korotkov A., Andoralov A. Identification and determination of 492 contaminants of different classes in food and feed by high-resolution mass spectrometry using the standard addition method // *J. AOAC Int.* 2016. V. 99. № 6. P. 1600.
36. Zhang Y., Li X., Liu X., Zhang J., Cao Y., Shi Z., Sun H. Multi-class, multi-residue analysis of trace veterinary drugs in milk by rapid screening and quantification using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry // *J. Dairy. Sci.* 2015. V. 98. P. 8433.
37. Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Walker S., Widmer M. Development of an improved high resolution mass spectrometry based multi-residue method for veterinary drugs in various food matrices // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 700. P. 86.
38. Gómez-Pérez M.L., Plaza-Bolaños P., Romero-González R., Martínez-Vidal J.L., Garrido-Frenich A. Comprehensive qualitative and quantitative determination of pesticides and veterinary drugs in honey using liquid chromatography-Orbitrap high resolution mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1248. P. 130.
39. Stickle D.F., Garg U. Chapter 4 – Validation, quality control, and compliance practice for mass spectrometry assays in the clinical laboratory / *Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory* / Eds. Nair H., Clarke W. Academic Press, 2017. P. 63.
40. Goscinny S., Unterluggauer H., Aldrian J., Masselter S. Determination of glyphosate and its metabolite AMPA (aminomethylphosphonic acid) in cereals after derivatization by isotope dilution and UPLC-MS/MS // *Food Anal. Methods.* 2012. V. 5. P. 1177.
41. Амелин В.Г., Большаков Д.С., Подколзин И.В. Быстрый скрининг и определение остаточных количеств β -лактамных антибиотиков в пищевых продуктах методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии—квадруполь-времетрающей масс-спектрометрии высокого разрешения // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 9. С. 806.