

# Применение автоматизированной системы твердофазной экстракции Fotector Plus от RayKol для пробоподготовки к анализу семи хинолонов в свинине

## Аннотация

Метод определения хинолонов в свинине с использованием автоматизированной системы твердофазной экстракции Fotector Plus был разработан в соответствии с "GB/T 21312-2007 Анализ четырнадцати хинолонов в продуктах питания животного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии tandemной масс-спектрометрии".

Образцы экстрагировали смесью Na<sub>2</sub>EDTA-MCIIvaine буфера с помощью Fotector Plus SPE и колонки для твердофазной экстракции Waters Oasis HLB и количественно определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) с использованием метода внешнего стандарта. Среднее значение степени извлечения составило от 78% до 98% с относительным стандартным отклонением (RSD) от 2,9% до 6,0% (n=4).

## Введение

Употребление продуктов с остатками хинолонов может ингибировать или уничтожить чувствительные к хинолонам бактерии в организме человека, что может нарушить гомеостаз микроорганизмов и нанести ущерб здоровью человека, неблагоприятно воздействуя на центральную нервную систему (судороги, повышение внутричерепного давления, токсический психоз), а также повлиять на развитие хрящей, вызвать образование кристаллов в моче и повреждение печени и т.д.

Остатки хинолонов в продуктах питания строго контролируются во многих странах. В Китае также уделяется повышенное внимание обнаружению остатков хинолонов. Компания RayKol создает профессиональные методики по твердофазной экстракции. Метод определения хинолонов был разработан с использованием автоматизированной системы твердофазной экстракции Fotector в соответствии с документом "GB/T 21312-2007 Анализ четырнадцати хинолонов в продуктах питания животного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии tandemной масс-спектрометрии".

## Оборудование и материалы

RayKol Fotector Plus Автоматизированная система твердофазной экстракции;  
ВЭЖХ-МС/MC ESI;

устройство для сушки азотом;

Картридж для твердофазной экстракции Waters Oasis HLB (200 мг, 6 мл);

Реагенты квалификации "для хроматографии": этилацетат, метанол и ацетонитрил, производства TEDIA.

MCIIvaine буфер: смешали 1000 мл 0,1 моль/л лимонной кислоты и 625 мл 0,2 моль/л раствора мононатрийфосфата и довели значение pH до 4,0±0,5.

0,1 моль/л Na<sub>2</sub>EDTA-MCIIvaine буфера: растворили 60,5 г Na<sub>2</sub>EDTA в 1625 мл MCIIvaine буфера.

Стандарты:

ципрофлоксацин

норфлоксацин

энрофлоксацин

офлоксацин

данофлоксацин

марбофлоксацин

сарафлоксацин (чистота≥99%).

## Эксперименты

5 г гомогенизированной свинины помещали в центрифужную пробирку на 50 мл, добавляли 20 мл буфера Na<sub>2</sub>EDTA-MCIIvaine, перемешивали на вортексе со скоростью 1000 об/мин, обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин, а затем центрифугировали при 10000 об/мин в течение 5 мин (температура ≤5 °C), перенося супернатант в камеру для образцов Fotector объемом 80 мл. Повторяли еще раз и сливали супернатант. Установили колонку для твердофазной экстракции HLB на Fotector Plus и обработали по методу, приведенному на рисунке 1. Экстракт высушивали и растворяли в 1 мл метанола с трифторуксусной кислотой для анализа ВЭЖХ/МС.

№	Команда	Р-тель	Выход	Скорость	Объем	Время
1.	Кондиционирование	СНЗОН	Емкость 1	2	6	3
2.	Кондиционирование	H <sub>2</sub> O	Емкость 2	2	6	3
3.	Загрузка образца		Емкость 2	3	60	20
4.	Промывка виал	5% СНЗОН	Емкость 2	30	2	0,1
5.	Ополаскивание	5% СНЗОН	Емкость 2	2	2	1
6.	Продувка воздухом		Емкость 2	10	5	0,5
7.	Осушение					10
8.	Промывка шприца	СНЗОН		10	2	0,2
9.	Элюирование	СНЗОН	Коллектор	1	6	6
10.	Продувка воздухом		Коллектор	10	5	0,5
11.	Окончание					

Рис.1. Программа метода ТФЭ с помощью Fotector Plus.

Таблица 1 Данные по извлечению добавленных стандартов

Соединение	R1	R2	R3	R4	Средний	RSD
Эноксацин	91.4	86.3	81.5	95.7	85.2	4.1
Офлоксацин	80.2	85.2	91.0	87.5	86.0	4.5
Пефлоксацин	84.5	86.8	91.0	85.4	86.9	2.9
Ципрофлоксацин	85.1	94.9	98.3	88.4	91.7	6.0
Ломефлоксацин	90.0	95.8	95.7	89.2	92.7	2.6
Данофлоксацин	86.4	92.8	88.7	90.0	89.4	4.6
Энрофлоксацин	78.0	79.8	78.0	84.1	92.5	5.5

## Обсуждение результатов

1. Результаты анализа в режиме MRM семи стандартов хинолонов (рис.2).

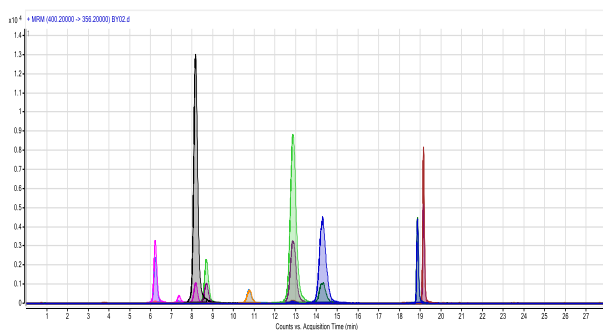


Рис.2. MRM анализ семи стандартов хинолонов (40 мкг/л).

- Образцы с концентрацией хинолонов на уровне 10 мкг/кг были предварительно обработаны и очищены с помощью Fotector Plus SPE, среднее извлечение составило от 78% до 98,3% с RSD от 2,9% до 6,0% (n=4), что соответствует требованиям по экстракции, как показано в таблице 1.
- При экстракции с использованием буфера следует избегать застывшего жира при переносе надосадочной жидкости.
- Fotector Plus может автоматически выполнять всю процедуру твердофазной экстракции, включая активацию, загрузку образца, очистку контейнера для образца, элюирование и концентрацию. Это удобно и экономит время.
- Fotector Plus обеспечивает полностью автоматическую процедуру твердофазной экстракции что позволяет избежать ошибок, вызванных ручными операциями.

## Заключение

Применение Fotector Plus от RayKol позволяет воспроизвести методику "GB/T 21312-2007 Анализ четырнадцати хинолонов в пище животного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии тандемной масс-спектрометрии", со средним значением степени извлечения от 78% до 98% при относительном стандартном отклонении (RSD) от 2,9% до 6,0% (n=4), что соответствует аналитическим требованиям GB/T 21312-2007.