# CH 6.20. STANOVENIE SULFÓNAMIDOV, DAPSONU A TRIMETHOPRIMU METÓDOU UPLC/MS/MS

## 1 PRINCÍP METÓDY

Zhomogenizovaná vzorka sa extrahuje zmesou acetonitril-voda. Na analýzu sa použije chromatografická kolóna s obrátenými fázami a po rozdelení rezíduí sa tieto detegujú hmotnostným detektorom pracujúcim v režime MS/MS v pozitívnom móde, ionizácia ESI. Identifikácia látky je prevedená dvoma tranzíciami (2 transitions) a kontrolou ich iónových pomerov (ion ratio). Kvantifikácia je prevedená metódou vnútorného štandardu. Vnútorný štandard je sulfametizol.

## 2 POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na konfirmačné stanovenie rezíduí sulfonamidov, dapsonu a trimetoprimu v mäse, mlieku, vajciach, krmivách a mede.

## 3 CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

### 3.1 Čisté chemikálie

3.1.1 Sulfaguanidine (SGN)
3.1.2 Sulfadiazine (SDZ)
3.1.3 Sulfathiazol (STZ)
3.1.4 Sulfapyridine (SPD)
3.1.5 Sulfadimidine (Sulfamethazine) (SDM)
3.1.6 Sulfamethizole (SMZ)
3.1.7 Sulfamethoxypyridazine (SMP)
3.1.8 Sulfamonomethoxine (SMM)
3.1.9 Sulfachloropyridazine (SCHP)
3.1.10 Sulfadoxin (SDX)
3.1.11 Sulfamethoxazole (SMX)
3.1.12 Sulfisoxazole (SFX)
3.1.13 Sulfadimethoxine (SDMX)
3.1.14 Sulfamerazine (SMR)
3.1.15 Sulfacetamide (SFC)
3.1.16 Sulfaquinoxaline sodium salt (SGX)
3.1.17 4-Aminophenyl sulfone – dapsone (DAP)
3.1.18 Trimethoprim (TMT)
3.1.19 metanol gradient grade
3.1.20 deionizovaná voda
3.1.21 kyselina octová 100% p.a.
3.1.22 octan sodný trihydrát p.a.
3.1.23 acetonitril gradient grade
3.1.24 dichlórmetán
3.1.25 hydroxid sodný p.a.

3.1.26 dodekahydrát hydrogénfosforečnanu sodného p.a.
3.1.27 kyselina mravčia
3.1.28 octan amónny

## 3.2 Roztoky a reagencie

3.2.1 1 M hydrogénfosforečnan sodný
3.2.2 10 M hydroxid sodný
3.2.3 1 M octan sodný
3.2.4 0,02 M octan sodný
3.2.5 roztok acetonitril : voda (3: 7)
3.2.6 0,1% kyselina mravčia v acetonitrile
3.2.7 0,1 % kyselina mravčia
3.2.8 0,2 M octan amónny

## 3.3 Štandardné roztoky

3.3.1 Zásobné roztoky štandardov

3.3.1.1 Zásobný roztok štandardu sulfaguanidínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,1 mg sulfaguanidínu (3.1.1.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.2 Zásobný roztok štandardu sulfadiazínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfadiazínu (3.1.2.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19).
3.3.1.3 Zásobný roztok štandardu sulfatiazolu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfatiazolu (3.1.3.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19).
3.3.1.4 Zásobný roztok štandardu sulfapyridínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfapyridínu (3.1.4.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19).
3.3.1.5 Zásobný roztok štandardu sulfadimidínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,1 mg sulfadimidínu (sulfametazín) (3.1.5.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19).
3.3.1.6 Zásobný roztok štandardu sulfametizolu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfametizolu (3.1.6.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.7 Zásobný roztok štandardu sulfamethoxypyridazínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfamethoxypyridazínu (3.1.7.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.8 Zásobný roztok štandardu sulfamonometoxínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,2 mg sulfamonometoxínu (3.1.8.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.9 Zásobný roztok štandardu sulfachloropyridazínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,1 mg sulfachloropyridazínu (3.1.9.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).

3.3.1.10 Zásobný roztok štandardu sulfadoxínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfadoxínu (3.1.10.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.11 Zásobný roztok štandardu sulfametoxazolu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,0 mg sulfametoxazolu (3.1.11.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19).
3.3.1.12 Zásobný roztok štandardu sulfisoxazolu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,1 mg sulfisoxazolu (3.1.12.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.13 Zásobný roztok štandardu sulfadimetoxínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,1 mg sulfadimetoxínu (3.1.13.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19).
3.3.1.14 Zásobný roztok štandardu sulfamerazínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,0 mg sulfamerazínu (3.1.14.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.15 Zásobný roztok štandardu sulfacetamidu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg sulfacetamidu (3.1.15.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.16 Zásobný roztok štandardu sulfaquinoxalínu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 11,5 mg sulfaquinoxalínu sodnej soli (3.1.16.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.17 Zásobný roztok štandardu dapsonu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10 mg dapsonu (3.1.17.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).
3.3.1.18 Zásobný roztok štandardu trimetoprimu (100 mg/l v metanole)
Navážiť 10,1 mg trimetoprimu (3.1.18.) do 100 ml odmernej banky. Rozpustiť v malom množstve metanolu a doplniť po značku metanolom (3.1.19.).

Takto pripravené roztoky sa uchovávajú v chladničke pri teplote 4°C až 8°C a zostávajú stabilné po dobu troch mesiacov.

3.3.2 Základné roztoky štandardov

3.3.2.1 Základný roztok štandardu sulfametizolu **SIS1** (1 mg/l vo vode)
Zobrať 500 µl zásobného roztoku štandardu sulfametizolu SMZ (100 mg/l) (3.3.1.6.). Preniesť do 50 ml odmernej banky a doplniť po značku deionizovanou vodou.
3.3.2.2 Základný zmesný roztok štandardov sulfonamidov **SFC1** (1 mg/l vo vode)
Zobrať 500 µl zásobných roztokov štandardov sulfonamidov SGN, SDZ, STZ, SDM, SMM, SCHP, SDX, SMX, SDMX, SGX, SMP, SPD, SMR, SFC (100 mg/l). Preniesť do 50 ml odmernej banky a doplniť po značku deionizovanou vodou.
3.3.2.3 Základný roztok štandardu trimetoprimu **SFC2** (1 mg/l vo vode)
Zobrať 500 µl zásobného roztoku štandardu trimetoprimu TMT (100 mg/l). Preniesť do 50 ml odmernej banky a doplniť po značku deionizovanou vodou.
3.3.2.4 Zriedený roztok štandardu dapsonu **SFC3** (0,1 mg/l vo vode)
Zobrať 50 µl zásobného roztoku štandardu dapsonu DAP (100 mg/l). Preniesť do 50 ml odmernej banky a doplniť po značku deionizovanou vodou.
3.3.2.5 Základný zmesný roztok štandardov sulfonamidov, trimetoprimu, dapsonu **SFC4** (1 mg/l SA, TMT a 0,5 mg/l DAP vo vode)
Zobrať 50 µl zásobných roztokov štandardov sulfonamidov SGN, SDZ, STZ, SDM, SMM, SCHP, SDX, SMX, SDMX, SGX, SMP, SPD, SMR, SFC, TMT (1000 mg/l) a 25 µl DAP (1000 mg/l). Preniesť do 50 ml odmernej banky a doplniť po značku deionizovanou vodou.

3.3.3 Pracovné roztoky štandardov

3.3.3.1 Zmesný štandard sulfonamidov, trimetoprimu a dapsonu (SGN, SDZ, STZ, SDM, SMM, SCHP, SDX, SMX, SDMX, SGX, SMP, SPD, SMZ, SMR, SFC, TMT, DAP) **SMC1** (5 µg/l v 0,02 M octanovom pufri)

Zobrať 500 µl základného štandardu SFC1 (1 mg/l ) (3.3.2.2.), 500 µl základného štandardu SIS1 (1 mg/l ) (3.3.2.1.), 500 µl základného štandardu SFC2 (1 mg/l ) (3.3.2.3.), 5 ml základného štandardu SFC3 (0,1 mg/l ) (3.3.2.4.) . Preniesť do 100 ml odmernej banky a doplniť po značku 0,02 M octanom sodným (3.2.4.).

Poznámka: Štandard použiť pri stanovení sulfonamidov, dapsonu a trimetoprimu v mede.

3.3.3.2 Zmesný štandard sulfonamidov, trimetoprimu a dapsonu (SGN, SDZ, STZ, SDM, SMM, SCHP, SDX, SMX, SDMX, SGX, SMP, SPD, SMZ, SMR, SFC, TMT, DAP) **SMC2** (5 µg/l v ACN:voda (3:7))

Zobrať 500 µl základného štandardu SFC1 (1 mg/l ) (3.3.2.2.), 500 µl základného štandardu SIS1 (1 mg/l ) (3.3.2.1.), 500 µl základného štandardu SFC2 (1 mg/l ) (3.3.2.3.), 5 ml základného štandardu SFC3 (0,1 mg/l ) (3.3.2.4.) . Preniesť do 100 ml odmernej banky a doplniť po značku roztokom ACN:voda (3:7) (3.2.5.)

Poznámka: Štandard použiť pri stanovení sulfonamidov, dapsonu a trimetoprimu v svale, mlieku, vajciach a krmive.

3.3.3.3 Zmesný štandard sulfametizolu a dapsonu (SMZ, DAP) **SMC3** (5 µg/l v 0,2M octane amónnom)

Zobrať 500 µl základného štandardu SIS1 (1 mg/l ) (3.3.2.1.), 5 ml základného štandardu SFC3 (0,1 mg/l ) (3.3.2.4.). Preniesť do 100 ml odmernej banky a doplniť po značku 0,2M octanom amónnym (3.2.8.)

Poznámka: Štandard použiť pri stanovení dapsonu v svale.

## 4 PRÍSTROJE A POMÔCKY

4.1 kvapalinový chromatograf Waters Acquity UPLC s hmotnostným detektorom Micromass Quattro XE Premier
4.2 chromatografická kolóna : C18
4.3 analytická váha HELAGO HM 200
4.4 trepačka heidolph
4.5 centrifúga BIOFUGE STRATOS (Heraeus)
4.6 minishaker Vortex
4.7 pH meter KNICK
4.8 laboratórne odmerné sklo: 10 a 100 ml odmerná banka, 25 ml odmerný valec, 1 a 5 ml pipety
4.9 reakčné vialky 5 ml
4.10 teflónové centrifugačné nádobky – 50 ml
4.11 25 µl, 50 µl, 100 µl, 250 µl striekačky Hamilton
4.12 striekačkový mikrofilter

# 5 PRACOVNÝ POSTUP

## 5.1 Predpríprava vzoriek

Vzorky dobre zhomogenizovať.

## 5.2 Príprava kvality kontrol vzoriek - matricová kalibrácia

### 5.2.1 Príprava negatívnej vzorky a fortifikovaných vzoriek

Na prípravu vzoriek sa použijú negatívne matrice. Vzorky sa fortifikujú v 0.5, 1, 2 a 5 násobku ustanoveného MRL. V prípade medov na úrovni 0.5, 1, 2 a 5 násobku detekčného limitu.

sval, vajcia, mlieko, krmivo:
Navážiť 2 g homogenizovanej vzorky do centrifugačnej teflónovej nádobky. Pridať jednotlivé roztoky štandardov podľa tabuľky 1. Premiešať na Vortexe. Nechať postáť 15 minút a pokračovať podľa procedúry od bodu 5.3.2

sval (len pre stanovenie dapsonu):
Navážiť 2 g homogenizovanej vzorky do centrifugačnej teflónovej nádobky. Pridať jednotlivé roztoky štandardov podľa tabuľky 2. Premiešať na Vortexe. Nechať postáť 15 minút a pokračovať podľa procedúry od bodu 5.3.2

med:
Navážiť 5 g homogenizovanej vzorky do centrifugačnej teflónovej nádobky. Pridať jednotlivé roztoky štandardov podľa tabuľky 2. Premiešať na Vortexe. Nechať postáť 15 minút a pokračovať podľa procedúry od bodu 5.3.2

Tabuľka 1 Príprava fortifikovanách vzoriek (sval, vajcia, mlieko, krmivo)

| konc. sulfonamidov, trimethoprimu, dapsonu vo vzorke (µg/kg) | | | konc. vnút. štandardu (µg/kg) | Prídavok roztoku SFC1 (µl) | Prídavok roztoku SFC2 (µl) | Prídavok roztoku SFC3 (µl) | Prídavok roztoku SIS (µl) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SGN, SDZ, STZ, SDM, SMM, SCHP, SDX, SMX, SDMX, SGX, SMP, SPD, SMR, SFC | TMT | DAP | SMZ | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 200 | 0 | 0 | 0 | 400 |
| 50 | 25 | 2,5 | 200 | 100 | 50 | 50 | 400 |
| 100 | 50 | 5 | 200 | 200 | 100 | 100 | 400 |
| 200 | 100 | 10 | 200 | 400 | 200 | 200 | 400 |
| 500 | 250 | 25 | 200 | 1000 | 500 | 500 | 400 |

Tabuľka 2 Príprava fortifikovanách vzoriek svalu pre stanovenie dapsonu

| koncentrácia dapsonu vo vzorke (µg/kg) | konc. vnút. štandardu (µg/kg) | Prídavok roztoku SFC3 (µl) | Prídavok roztoku SIS (µl) |
|---|---|---|---|
| DAP | SMZ | | |
| 0 | 200 | 0 | 400 |
| 2,5 | 200 | 50 | 400 |
| 5 | 200 | 100 | 400 |
| 10 | 200 | 200 | 400 |
| 25 | 200 | 500 | 400 |

Tabuľka 3 Príprava fortifikovanách vzoriek (med)

| konc. sulfonamidov, trimethoprimu a dapsonu vo vzorke (µg/kg) | | koncentrácia vnút. štandardu (µg/kg) | Prídavok roztoku SFC4 (µl) | Prídavok roztoku SIS (µl) |
|---|---|---|---|---|
| SGN, SDZ, STZ, SDM, SMM, SCHP, SDX, SMX, SDMX, SGX, SMP, SPD, SMR, SFC,TMT | DAP | SMZ | | |
| 0 | 0 | 20 | 0 | 100 |
| 5 | 2,5 | 20 | 25 | 100 |
| 10 | 5 | 20 | 50 | 100 |
| 20 | 10 | 20 | 100 | 100 |
| 50 | 25 | 20 | 250 | 100 |

## 5.3 Príprava vzorky

5.3.1 Fortifikácia vzorky vnútorným štandardom (úroveň 200 µg/kg sulfametizolu (sval, vajcia, mlieko) a 20 µg/kg sulfametizolu (med))

sval, vajcia, mlieko, krmivo:
Navážiť 2 g homogenizovanej vzorky do centrifugačnej teflónovej nádobky. Pridať 400 µl roztoku SIS1 .

sval (len pre stanovenie dapsonu):
Navážiť 2 g homogenizovanej vzorky do centrifugačnej teflónovej nádobky. Pridať 400 µl roztoku SIS1 .

med:
Navážiť 5 g homogenizovanej vzorky do centrifugačnej teflónovej nádobky. Pridať 100 µl roztoku SIS1 .

5.3.2 Extrakcia

**sval, vajcia, mlieko, krmivo :**
Pridať 1 ml redestilovanej vody a 8 ml acetonitrilu (3.1.21.). U vzoriek vajec a mlieka pridať len 8 ml acetonitrilu (3.1.21.). Skúmavku vložiť na 10 minút na trepačku (nastaviť 400 ot./min.). Po pretrepaní extrakt kvantitatívne preniesť do odmerného valca a doplniť

deionizovanou vodou na objem 25 ml a dokonale premiešať. Do centrifugačnej skúmavky odobrať 10 ml extraktu. Extrakt centrifugovať po dobu 10 minút pri otáčkach 3000 x g a teplote 15 °C. Pred meraním prefiltrovať cez striekačkový mikrofilter. Extrakt krmiva prefiltrovať cez striekačkový mikrofilter.

**sval (len pre stanovenie dapsonu):**
Pridať 8 ml acetonitrilu (3.1.21.). Skúmavku vložiť na 10 minút na trepačku head over head pri otáčkach 100 ot./min. Extrakt centrifugovať po dobu 5 minút pri otáčkach 14 000 x g. Odobrať supernatant. Odfúkať pod prúdom dusíka (teplota 50$^{o}$C, cca 1hod.). Rezíduá rozpustiť v 0,3 ml 0,2M octanu amónneho(3.2.8). Prefiltrovať cez striekačkový mikrofilter.

**med:**
Pridať 5 ml 10% kyseliny trichlóroctovej (3.1.25.) a trepať sa na trepačke 10 minút. Potom skúmavku vložiť približne na 1 hodinu do vodného kúpeľa s teplotou cca 64 $^{0}$C. Ochladiť. Pridať 10 ml acetonitrilu (3.1.21.) a 2,5 ml dichlórmetánu (3.1.22.) a trepať 10 minút na trepačke (400 ot./ min.). Následne vzorku centrifugovať pri 6000 ot/min. po dobu 10 minút. Vrchnú vrstvu odobrať do 25 ml banky. Ku zvyšku pridať 7,5 ml acetonitrilu (3.1.21.) a 2,5 ml dichlórmetánu. (3.1.22.) Vzorku opätovne centrifugovať pri rovnakých podmienkach. Vrchnú vrstvu odobrať do 25 ml banky. Spojené extrakty doplniť na objem 25 ml acetonitrilom (3.1.21.). Odobrať 10 ml do reakčných vialiek. Roztok odpariť na Termovape pri 50 $^{0}$C dusíkom dosucha a rozpustiť v 1 ml octanu sodného s pH 4,8 (3.2.4.). Prefiltrovať cez striekačkový mikrofilter.

Poznámka: V prípade, že sa vzorka koncentračne vymyká z rozsahu meranej kalibračnej krivky je pri opakovanom meraní upravená tak, aby koncentračne spadala do kalibračného rozsahu.

## 5.4 Chromatografická analýza

chromatografická kolóna : UPLC C18
teplota kolóny: 30 $^{0}$C
Prietok: 0,3 ml/min
Eluent : 0,1 % kys. mravčia v acetonitrile / 0,1 % kys.mravčia vo vode
gradientová elúcia
nástrek: 10 µl

**MS podmienky Quattro Premier XE:**

Ionizačný mód: ESI pozitívna

**Voltages:**
Capillary (kV) : 0,66
Extractor (V): 7
RF Lens (V): 0

**Temperatures:**
Source Temp ($^{0}$C): 120
Desolvation Temp ($^{0}$C): 400

**Gas Flow:**
Desolvation (l/hr): 800
Cone (l/hr): 80

**Analyser:**
LM Resolution 1: 15
HM Resolution 1: 15
Ion Energy 1: 1
Entrance: 0
Exit: 1
LM Resolution 2: 15
HM Resolution 2: 15
Ion Energy 2: 0,5

Tabuľka 4 Parametre nastavenia MS/MS detekcie

| **Name** | **RT** min. | **Precursor** m/z | **Product** m/z | **Cone** V | **Collision** eV |
|---|---|---|---|---|---|
| sulfaguanidín | 0,95 | 214,9 | **155,9**<br>107,9 | 26 | 13<br>21 |
| sulfadiazín | 1,78 | 250,9 | **155,9**<br>107,9 | 26 | 14<br>20 |
| sulfacetamid | 1,71 | 214,9 | **155,9**<br>107,9 | 26 | 10<br>19 |
| sulfatiazol | 1,85 | 255,9 | **155,9**<br>107,9 | 26 | 16<br>26 |
| sulfapyridín | 1,92 | 249,9 | **155,9**<br>107,9 | 31 | 14<br>25 |
| sulfamerazín | 2,02 | 264,9 | 155,9<br>**107,9** | 26 | 20<br>24 |
| sulfadimidín | 2,20 | 278,9 | **155,9**<br>123,9 | 29 | 17<br>25 |
| sulfametizol **IS** | 2,28 | 270,9 | **155,9**<br>107,9 | 26 | 15<br>24 |
| sulfametoxypyridazín | 2,28 | 280,9 | **155,9**<br>107,9 | 29 | 16<br>21 |
| dapsone | 2,58 | 248,9 | **155,9**<br>107,9 | 29 | 15<br>23 |
| trimetoprim | 1,80 | 291,0 | 122,9<br>**230,0** | 42 | 29<br>22 |
| sulfamonometoxín | 2,50 | 280,9 | **155,9**<br>107,9 | 30 | 16<br>25 |
| sulfachlorpyridazín | 2,66 | 284,9 | **155,9**<br>107,9 | 26 | 15<br>28 |
| sulfadoxín | 2,75 | 310,9 | **155,9**<br>107,9 | 32 | 19<br>23 |
| sulfametoxazol | 2,85 | 253,9 | **155,9**<br>107,9 | 24 | 13<br>21 |
| sulfisoxazol | 2,96 | 267,9 | **155,9**<br>107,9 | 23 | 15<br>25 |
| sulfadimetoxín | 3,20 | 310,9 | **155,9**<br>107,9 | 27 | 22<br>27 |
| sulfaguinoxalín | 3,20 | 300,9 | **155,9**<br>107,9 | 28 | 15<br>28 |

### 5.4.1 Iniciačný test

Nainjektovať na chromatografickú kolónu roztok SMC1, SMC2 alebo SMC3 (podľa toho aká matrica sa bude merať) . Skontrolovať pomer signálu ku šumu produkovaných iónov. Pomer by mal byť vyšší ako 6.

## 6 VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV MERANIA

Koncentrácia zložky je vyhodnotená pomocou matricovej kalibračnej krivky s korekciou na vnútorný štandard. Do kalibračnej závislosti sa vynáša na
os x: pomer koncentrácie zložky/ koncentrácie vnútorného štandardu
os y: pomer plochy zložky/plochy vnútorného štandardu

Kvantifikácia – metóda vnútorného štandardu.

**C** koncentrácia vzorky ( µg/kg)

$$C = c_1 \cdot \frac{sample\,area \cdot SI\,Sd\;c_1\,area}{SI\,sample\,area \cdot Sd\;c_1\,area}$$

Kvantifikácia robená na dominantné produkované ióny, ktoré sú v tabuľke 4 zvýraznené v stĺpci Product. V prípade pozitívnej vzorky je nutná kontrola iónových pomerov kvantifikačnej a kvalifikačnej tranzície. Iónový pomer musí spĺňať podmienky definované v Nariadení ES 657/2002.

## 7 LITERATÚRA


1. B. Delepine, D. Hurtaud-Pessel, Liquid-chromatography/tandem mass-spectrometry, Screening method for identification residues of antibiotics in meat, AFSSA- Agence Francaise de Securité Sanitaire des Aliments
   BP 90203-35302 Fougéres cedex, France
2. J. Diserens, M. Savoy Perroud, A. Beck Henzelin, Application of liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry to the detection of 10 sulfonamides in honey, Journal of Chromatography A, 977, 77-87, 2002


## 8 ZOZNAM SKRATIEK

HPLC - vysokoúčinná kvapalinová chromatografia
UPLC – ultraúčinná kvapalinová chromatografia
MS/MS- hmotnostná detekcia s minimálne dvoma tranzíciami
MRL – maximálny reziduálny limit
RT – retenčný čas
ESI – electrospray ionisation
MRM – multiple reaction monitoring
e.g. - napríklad