



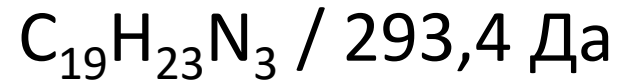
ВАЛІДАЦЫЯ МЕТОДЫКІ ВЫЗНАЧЭННЯ АМІТРАЗУ Ё МЁДЗЕ МЕТАДАМ ВЭВХ–МС/МС

АВТОРЫ: ПАЛАНЕВІЧ Г.Г.¹, ЛЯШЧОЎ С.М.², БУЛГАКОВА В.А.¹

¹ Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Навукова-практычны цэнтр гігіены»

² Беларускі дзяржаўны ўніверсітэт

Виртуальная выставка
научных разработок
«Гигиеническая
безопасность»



інсектыцыд і акарацыд шырокага спектру дзеяння

ВЫКАРЫСТАННЕ

Пчалярства:

апрацоўка вулляў супраць паразітычных кляшчэй *Varroa*, што выклікаюць у пчол вараатоз.

Ветэрынарыя:

супраць эктапаразітаў (кляшчэй, вошай) у быдла, авечак, свіней, сабак.

Сельская гаспадарка:

кантроль росту кляшчэй, мух і тлі ў разнастаных с/г культурах

ПРАЗМЕРНАЕ ВЫКАРЫСТАННЕ



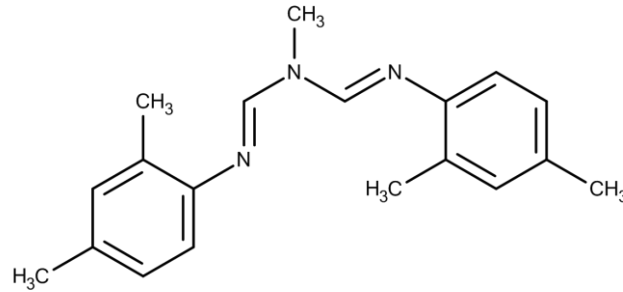
накапленне



**школа здароўю чалавека
і млекакормячых**

Могучь назірацца

нізкі кравяны ціск, гіпатэрмія, літаргія, анарэксія, атаксія, сутаргі, высокі ўзровень глюкозы ў крыві, ірвота, расстройтва стравальнага тракту, парушэнне рэпрадуктыўнай сістэмы.



распрацаваць і валідаваць
селектыўную, адчувальную, экспрэсную, даступную
методыку вызначэння амітаразу ў мёдзе,
заснаваную на
вадкасць-вадкаснай экстракцыі і ВЭВХ–МС/МС
(высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі з мас-спектраметрычным
дэтэктыраваннем)

- Найбольш селектыўны экстрагент амітразу
- Канстанта размеркавання амітразу ў экстракцыйнай сістэме вада – гексан $1,25 \cdot 10^5$
 - Адначасова забяспечвае дастатковую эфектыўнасць выцягвання амітразу і аддзяленне яго ад кампанентаў матрыцы мёду (цукроў, бялкоў і амінакіслот, мінеральных рэчываў)
 - Няма неабходнасці ў дадатковай ачыстцы экстракту

МЕТОДЫКА ВЫЗНАЧЭННЯ АМІТРАЗУ

АБ'ЕКТ

Мёд

ДЫЯПАЗОН ВЫЗНАЧЭННЯ

от 5 до 250 мкг/кг

ПРОБАПАДРЫХОЎКА

1. Мёд 1 г
2. Унясенне ўнутранага стандарту АМІ-D3
3. Растварэнне ў 100 мМ водным раствору NH_3
4. Экстракцыя н-гексанам
5. Упарванне арганічнага экстракту ў азоце
6. Растварэнне сухога астатку ў сумесі
100 мМ воднага раствору NH_3 -ацэтанітрылу (1 : 1)

ВЭВХ–МС/МС

КАЛОНКА

C18 150 мм x 2,1 мм, 3,5 мкм

ТЭМПЕРАТУРА

40 °C

РУХОМАЯ ФАЗА

A: 0,1 % HCOOH у вадзе

B: ацэтанітрыл

ПАТОК

0,3 мл/хв

ГРАДЫЕНТНАЕ ЭЛЮІРАВАННЕ

ад 50 % B да 95 % B

ESI (+),MRM пераходы

АМІ: 294 > 163, 294 > 122, 294 > 107

АМІ-D3: 297 > 166

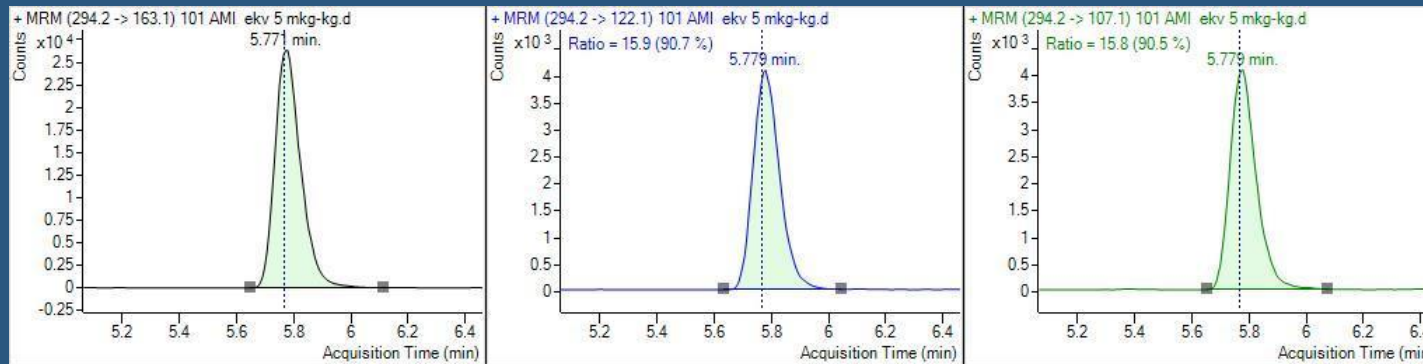
КОЛЬКАСНЫ РАЗЛІК

знешняя каліброўка

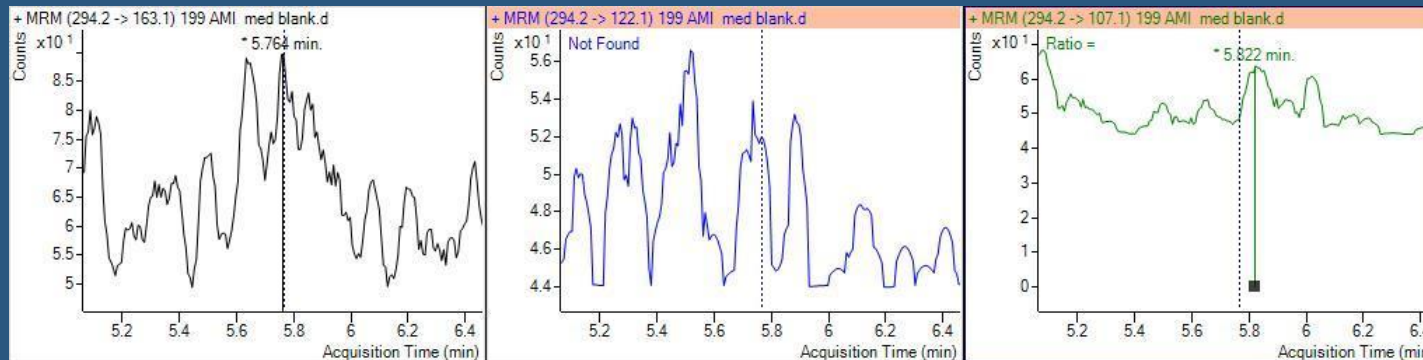
унутраны стандарт

СЕЛЕКТЫЎНАСЦЬ

- Забяспечана выкарыстаннем ВЭХ-МС/МС у рэжыме MRM
- Пацверджана праз дэманстрацыю адсутнасці на храматаграмах сігналаў большых за ўзровень шуму ў зоне часу ўтрымання амітразу ($\langle t_R \rangle = 5,78$ хв)



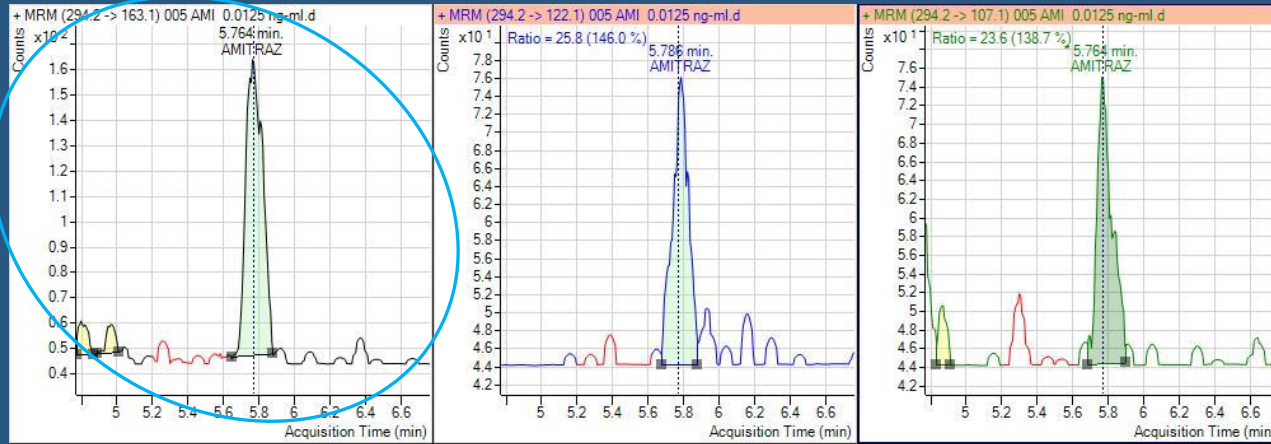
Храматаграма раствору амітразу канцэнтрацыяй 2,5 нг/мл



Храматаграма ўзору грэчкавага мёду

ІНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ МЯЖА ВІЗНАЧЭННЯ iLOQ

- Для асноўнага пераходу па велічыні $S/N = 10$ – 0,0125 нг/мл



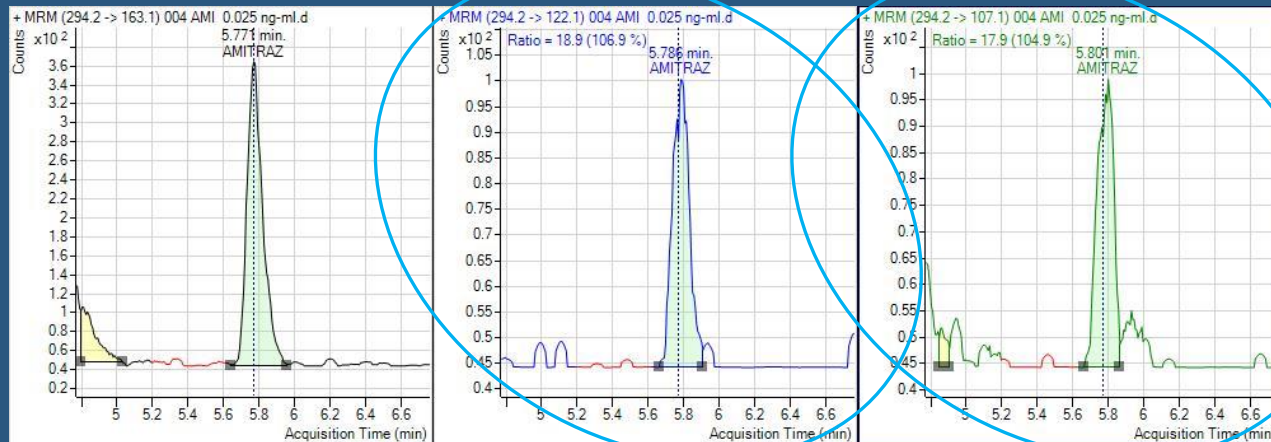
0,0125 нг/мл

- Па градуіровачнаму графіку паблізу iLOQ

$$iLOQ = 10 \times \frac{S_0}{b}$$

найгоршая ацэнка
0,33 нг/мл

- Для двух пацвярджальных пераходаў па велічыні $S/N = 10$ – 0,025 нг/мл



0,025 нг/мл

iLOQ
0,33 нг/мл

АГУЛЬНАЯ ЭФЕКТЫЎНАСЦЬ ПРАЦЭСУ РЕ

Канцэнтрацыя амітразу ў раствору, нг/мл	Масавая доля амітразу ў мёдзе, мкг/кг	РЕ, %		
		параўнанне вуглоў нахілу град. графікаў	параўнанне разлічаных канцэнтрацый	параўнанне плошчаў храматаграфічных пікаў
2,5	5	86	76	79
5	10		79	81
12,5	25		84	83
40	80	81	75	81
70	140		81	83
95	190		78	77
125	250		80	82

$$PE = \frac{b_{\text{pre-extraction standard}}}{b_{\text{solvent standard}}} \times 100 \% \quad PE = \frac{C_{\text{pre-extraction standard}}}{C_{\text{solvent standard}}} \times 100 \% \quad PE = \frac{S_{\text{pre-extraction standard}}}{S_{\text{solvent standard}}} \times 100 \%$$

- Ацэнкі РЕ атрыманыя рознымі шляхамі блізкія і не залежаць ад канцэнтрацыі.
- За выніковую ацэнку РЕ узялі агульнае сярэдняе ўсіх ацэнак.

$$PE = 81 \%$$

МЯЖА ВИЗНАЧЭННЯ LOQ

iLOQ

0,33 нг/мл

PE

81 %

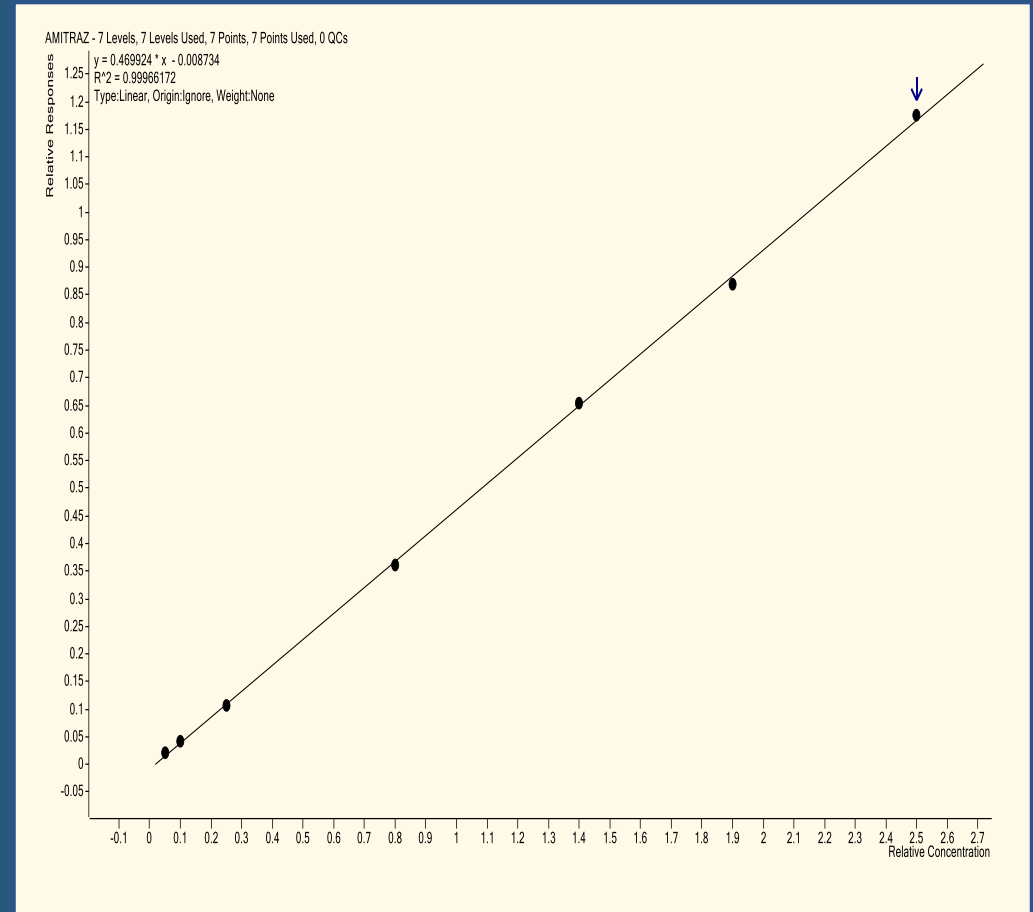
$$LOQ = iLOQ \times \frac{100}{PE}$$

$$LOQ = 0,33 \times \frac{100}{81} = 0,41 \text{ нг/мл} \rightarrow 0,8 \text{ мкг/кг}$$

LOQ = 0,8 мкг/кг

ГРАДУІРОВАЧНЫЯ ГРАФІКІ

- Знешняя градуіроўка з унутраным стандартам
- Каэфіцыент рэгрэсіі a не значны ($a = 0$)
- Каэфіцыент дэтэрмінацыі $R^2 = 0,999$
- Графік лінейны (праверана па крытэру Фішара, СТБ ISO 11095-2009)
- Адваротна разлічаныя па графіку канцэнтрацыі градуіровачных раствораў не адхіляліся ад прыпісаных больш чым на 15 %



ПРЭЦЫЗЫЙНАСЦЬ. ПРАВІЛЬНАСЦЬ. НЯПЭЎНАСЦЬ

узровень, мкг/кг	S_r %	S_{RW} %	RMS_{bias} %	$u(bias)$, %	u_c , %	U (P = 95 %, k = 2), %
6	2,8	5,9	4,8	5,5	8,0	16
120	3,4	4,3	3,2	4,1	6,0	12
220	3,3	3,3	4,4	5,0	6,1	12

- S_r – стандартнае адхіленне паўтаральнасці
- S_{RW} – стандартнае адхіленне ўнутрылабараторнай аднаўляльнасці
- RMS_{bias} – сярэднеквадратычнае смяшчэнне
- $u(bias)$ – стандартная няпэўнасць, выкліканая магчымым сваяшчэннем
- u_c – сумарная стандартная няпэўнасць
- U – пашыраная няпэўнасць

ВЫСНОВЫ

- Распрацавалі селектыўную, адчувальную, экспрэсную, даступную методыку вызначэння амітазу ў мёдзе, заснаваную на вадкасць-вадкаснай экстракцыі і ВЭВХ–МС/МС.
- Экстракты не патрабуюць дадатковай ачысткі.
- Працаздольнасць методыкі прадэманстравалі валідацыйнымі даследаваннямі.



Республиканское унитарное предприятие
«Научно-практический центр гигиены»



220012, г. Минск
ул. Академическая, 8



+375 17 347-73-70



rspch@rspch.by



+375 17 272-33-45



rspch.by
certificate.by

Лаборатория химии пищевой
продукции:



+375 17 379-13-80



chf@rspch.by

Образовательный центр «МОЦНА»:

- курсы повышения квалификации;
- обучающие семинары;
- стажировки на рабочих местах.



+375 17 399-87-34



edu@rspch.by



Информация о всех разработках Центра
доступна по ссылке:
<https://rspch.by/ru/DevelopedDocuments>