

# ZASTOSOWANIE METODY EKSTRAKЦИИ ROZPRASZANIA PRÓBKII W FAZIE STAŁEJ (MSPD) DO OZNACZANIA TYREOSTATYKÓW W TKANCIE MIĘŚNIOWEJ ZWIERZĄT METODĄ CHROMATOGRFII CIECZOWEJ – TANDEM SPEKTOMETRII MAS

## DETERMINATION OF THE THYREOSTATS IN ANIMAL MUSCLE TISSUE BY MATRIX SOLID-PHASE DISPERSION (MSPD) AND LIQUID CHROMATOGRAPHY – TANDEM MASS SPECTROMETRY

*Lech Rodziewicz, Jolanta Masłowiecka*

Pracownia Badań Środków Spożywczych, Zakład Higieny Weterynaryjnej, Białystok

**Słowa kluczowe:** *tyreostatyki, rozpraszanie próbki w fazie stałej, tkanka mięśniowa zwierząt*

**Key words:** *thyreostats, matrix solid-phase dispersion, animal muscle tissue*

### STRESZCZENIE

**Wprowadzenie.** Pozostałości tyreostatyków nie powinny znajdować w tkankach zwierząt przeznaczonych do spożycia. Zaproponowana w UE wartość granicznej wydajności metody analitycznej MRPL (ang. *minimum required performance limit*) w tkankach zwierzęcych wynosi 10 µg/kg. Dlatego też decyzyjna wartość graniczna (CCα) oraz zdolność wykrywania (CCβ) dla metod stosowanych do oznaczania tych związków powinna być niższa niż 10 µg/kg.

**Cel.** Celem pracy było opracowanie, w oparciu o dane z piśmiennictwa i badania własne, metody analitycznej do identyfikacji i oznaczania pięciu tyreostatyków: tapazolu (TAP), tiouracylu (TU), metyloitiouracylu (MTU), propyloitiouracylu (PTU) i fenylotiouracylu (FTU)) w tkance mięśniowej bydła, która spełniałaby wymagania decyzji Komisji nr 2002/657/WE.

**Material i metoda.** Opracowano metodę do oznaczania tyreostatyków: tapazolu, tiouracylu, metyloitiouracylu, propyloitiouracylu i fenylotiouracylu w tkance mięśniowej bydła przy zastosowaniu chromatografii cieczowej-tandemowej spektrometrii mas (LC-MS/MS). Do ekstrakcji i oczyszczania próbek zastosowano metodę rozpraszania próbki w fazie stałej (ang. *matrix solid-phase dispersion* – MSPD). Analizę prowadzono w układzie LC-ESI-MS/MS z zastosowaniem kolumny Luna C18 Phenomenex. Jako standard wewnętrzny stosowano dimetyloitiouracyl (DMTU). Próbki fortyfikowano na poziomach: 5, 10 i 20 µg/kg. Metodę zwalidowano zgodnie z kryteriami decyzji Komisji nr 2002/657/WE.

**Wyniki.** Średnie odzyski mieściły się w zakresie 90 – 109%. Współczynniki zmienności powtarzalności (CV) nie przekroczył 10%. Decyzyjna wartość graniczna (CCα) oraz zdolność wykrycia (CCβ) obliczone dla wszystkich badanych tyreostatyków nie przekroczyły zalecanej wartości granicznej wydajności metody (MRPL) wynoszącej 10 µg/kg.

**Wnioski.** Opracowana i zwalidowana metoda oznaczania tyreostatyków w tkance mięśniowej zwierząt przy zastosowaniu do oczyszczania metody MSPD oraz techniki LC-ESI-MS/MS pozwala na wykrycie tych związków poniżej dopuszczalnego poziomu 10 µg/kg. Procedura analityczna spełnia wymagania decyzji Komisji nr 2002/657/WE.

### ABSTRACT

**Background.** The residues of thyreostats must not be present in the edible animal tissues. The proposed in the EU minimum required performance limit (MPRL) in the animal tissues is 10 µg/kg. This implies the decision limit (CCα) and decision capability (CCβ) of the analytical methods used for the determination of these compounds lower than 10 µg/kg.

**Objective.** This study aimed at the development, basing on the literature data and own studies the analytical method allowing for the identification and quantification of five thyreostats: tapazole (TAP), thiouracil (TU), methyloitiouracil (MTU), propyloitiouracil (PTU) and phenylotiouracil (FTU)) in the bovine muscle tissue, which would meet the criteria set in the Commission Decision No 2002/657/EC.

**Material and methods.** The developed method used liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The sample was extracted and cleaned using the matrix solid-phase dispersion (MSPD) method. The LC was equipped with column Luna C18 Phenomenex. Dimetyloitiouracyl was used as internal standard. The samples were fortified at levels: 5, 10 and 20 µg/kg. The method was validated according to the criteria laid down in Commission Decision No. 2002/657/EC.

**Adres do korespondencji:** Lech Rodziewicz, Pracownia Badań Środków Spożywczych, Zakład Higieny Weterynaryjnej, Białystok, 15-959 Białystok, ul. Zwycięstwa 26A, tel. +48 85 6510229, fax +48 85 651 16291, e-mail: [rodziewicz@wiw.bianet.com.pl](mailto:rodziewicz@wiw.bianet.com.pl)

**Results.** At the levels, mean relative recoveries was in the range 90 - 109% and repeatability (CV %) was less than 10%. Decision limit (CC $\alpha$ ) and detection capability (CC $\beta$ ) calculated for all thyreostats were below the recommended minimum required performance limit (MRPL) - 10  $\mu$ g/kg.

**Conclusions.** The developed and validated LC-ESI-MS/MS method allows for the identification and quantification of five thyreostats in the bovine muscle tissue in the quantities below 10  $\mu$ g/kg. Analytical procedure meets the criteria of Commission Decision No 2002/657/EC

## WSTĘP

Tyreostatyki (leki przeciwtarczycowe) to grupa leków o różnej budowie chemicznej oraz różnym mechanizmie działania, których wspólną cechą jest hamowanie syntezy i wydzielania tyroksyny i trijodotyroniny. Stosowane są one w leczeniu nadczynności tarczycy.

Tyreostatyki podawane zwierzętom powodują wzrost ich masy ciała, głównie przez absorbowanie wody z przewodu pokarmowego i zatrzymywanie w tkankach, dlatego też przez wiele lat stosowano je przeważnie w tuczu zwierząt. Po stwierdzeniu, że tyreostatyki posiadają właściwości kancerogenne i teratogenne, wprowadzono zakaz ich stosowania u zwierząt. Pozostałości tyreostatyków nie powinny znajdować w tkankach zwierząt przeznaczonych do spożycia. Aktualnie zaproponowana wartość granicznej wydajności metody analitycznej MRPL (ang. *minimum required performance limit*) w tkankach zwierzęcych wynosi 10  $\mu$ g/kg. Dlatego też decyzyjna wartość graniczna (CC $\alpha$ ) oraz zdolność wykrywania (CC $\beta$ ) metod analitycznych stosowanych do oznaczania tych związków powinna być niższa niż 10  $\mu$ g/kg.

Zgodnie z decyzją Komisji nr 2002/657/WE [1] tyreostatyki zostały zakwalifikowane do grupy A, do której należą substancje wykazujące działanie anaboliczne i na stosowanie których nie ma urzędowego zezwolenia. Dlatego też potwierdzającymi metodami do oznaczania tyreostatyków w materiale biologicznym, mogą być wyłącznie metody z zastosowaniem techniki chromatografii gazowej (GC-MS) lub chromatografii cieczowej połączone z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Jednak, ze względu na to, że układ GC-MS nie spełnia wymagań w zakresie poziomu detekcji tyreostatyków [7, 8], dlatego też do oznaczania tych związków może być zastosowany układ LC-MS/MS. Większość prac dotyczy oznaczania tyreostatyków przy zastosowaniu układu LC-MS/MS w moczu zwierząt [2, 3, 5]. Natomiast niewiele jest publikacji dotyczących oznaczania tyreostatyków w tkankach zwierząt [6]. Procedura przygotowania próbek (matryca - mocz, tkanka) do MS polega przeważnie na ekstrakcji tyreostatyków metanolem, derywatacji bromkiem 3-jodobenzylu i oczyszczaniu ekstraktu eterem dietylowym lub na kolumnkach SPE C-18.

Celem niniejszej pracy było opracowanie, w oparciu o dane z piśmiennictwa i badania własne, metody

analitycznej odpowiedniej do identyfikacji i oznaczania pięciu tyreostatyków: tapazolu (TAP), tiouracylu (TU), metylotiouracylu (MTU), propylotiouracylu (PTU) i fenylotiouracylu (FTU)) w tkance mięśniowej bydła, która spełniałaby wymagania decyzji Komisji nr 2002/657/WE.

## MATERIAŁ I METODY

Opracowana metoda nie zawierała etapu derywatacji tyreostatyków. Do ekstrakcji i oczyszczania próbek zastosowano metodę rozpraszania próbki w fazie stałej (ang. *matrix solid-phase dispersion* – MSPD). Metoda polegała na ucieraniu próbki w określonej ilości fazy stałej np. C-18, C-8, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>. Następnie mieszaninę umieszczano w kolumnkach SPE i prowadzono elucję rozpuszczalnikami. W zastosowanej procedurze kolumnki przygotowano przez wymieszanie próbki z żelem krzemionkowym.

Stosowano standardy pięciu tyreostatyków: tapazolu, tiouracylu, metylotiouracylu, propylotiouracylu, fenylotiouracylu oraz standard wewnętrzny (IS) dimetylotiouracyl firmy Sigma-Aldrich (<99%). Żel krzemionkowy 1000 (63 – 200  $\mu$ m) 60 nr katalogowy 1.07734 firmy Merck., Eter naftowy do oznaczania pozostałości firmy J.T. Baker, metanol HPLC firmy J.T. Baker, kwas octowy 100 % cz.d.a. firmy Merck.

### Roztwory wzorcowe

Roztwory podstawowe analitów o stężeniu 1mg/ml sporządzono przez rozpuszczenie 10 mg każdego analitu w metanolu w oddzielnych kolbach pomiarowych o pojemności 10 ml. Roztwór roboczy o stężeniu 100  $\mu$ g/ml przygotowywano odmierzając po 1 ml roztworów podstawowych poszczególnych związków do kolby o pojemności 10 ml, którą uzupełniono metanolem do kreski. Roztwory podstawowe przechowywano w temperaturze poniżej -20°C. Trwałość roztworów wynosiła 1 rok. Trwałość roztworu roboczego, przechowywanego w temperaturze 4°C wynosiła 3 miesiące. Standard wewnętrzny (dimetylotiouracyl) o stężeniu 100  $\mu$ g/ml sporządzano w metanolu.

### Przygotowanie próbki materiału

Materiał do badań stanowiły próbki tkanki mięśniowej pochodzącej od bydła. Do czasu analizy próbki

przechowywano w temperaturze. poniżej  $-20^{\circ}\text{C}$ . Przed rozpoczęciem badania próbkę mięśni (300 g) doprowadzano do temperatury pokojowej. Próbkę laboratoryjną rozdrabniano przy użyciu maszynki do mielenia mięsa i dokładnie mieszano. Do zlewek o pojemności 10 ml odważano po 0,5 g próbki tkanki mięśniowej, dodawano po 200  $\mu\text{l}$  standardu wewnętrznego (DMTU) i pozostawiano na 30 min. Następnie do próbki dodawano 2,0 g żelu krzemionkowego i ucierano bagietką. Całość przenoszono do pustych kolumnienek o pojemności 6 ml. Wypełnione kolumnienki umieszczano w zestawie SPE, przemywano 10 ml eteru naftowego, a następnie suszono przez 1 min. Badane związki wymywano z kolumnienki 5 ml metanolu. Eluat odparowywano na bloku grzejnym w temperaturze  $50^{\circ}\text{C}$ . Suchą pozostałość rozpuszczano w 0,250 ml mieszaniny metanolu do LC z 0,1 % kwasem octowym w stosunku 30:70 ( $V_1+V_2$ ).

#### Analiza LC-MS/MS

Do rozdzielania tyreostatyków stosowano chromatograf cieczerwowy firmy Agilent 1200 wyposażony w pompę binarną oraz kolumnę chromatograficzną Luna C18 (2) (150 x 2 mm, wielkość ziarna 5  $\mu\text{m}$ ) (Phenomenex, Torrance, USA) wraz z przedkolumną o tym samym wypełnieniu. Warunki analizy LC: przepływ przez kolumnę 0,3 ml/min, temperatura kolumny  $35^{\circ}\text{C}$ , objętość dozowania 10  $\mu\text{l}$ , faza ruchoma A – metanol do MS, B – 0,1% kwas octowy, gradient stężeń 0,0-1,5 min A 30%, 1,5-3 min A 100%, 3-8 min A 100%, 8-9 min A 30%, 9-15 min A 30%.

Do identyfikacji i oznaczania ilościowego stosowano spektrometr mas API 4000 (Applied Biosystems, Foster City, CA, Canada). Jonizację przeprowadzano metodą rozpylania cieczy zawierającej badaną substancję w polu elektrycznym (ang. *electrospray ionisation* – ESI).

Tabela 1. Monitorowanie przejść MRM dla tyreostatyków i standardu wewnętrznego DMTU  
MRM transitions monitored for thyreostats and internal standard DMTU

Analit	Przejścia używane w analizie (m/z)	Energia kolizyjna (eV)	Czas retencji (min)	Względne natężenia jonów $\pm$ tolerancja
Tapazol (TAP)	115 $\rightarrow$ 74* 115 $\rightarrow$ 57	29 12	1,82 1,81	42 $\pm$ 25%
Tiouracyl (TU)	129 $\rightarrow$ 112* 129 $\rightarrow$ 84	29 29	1,80 1,80	35 $\pm$ 25%
Metylotiouracyl (MTU)	143 $\rightarrow$ 126* 143 $\rightarrow$ 84	15 15	1,96 1,95	75 $\pm$ 20%
Propylotiouracyl (PTU)	171 $\rightarrow$ 154* 171 $\rightarrow$ 86	15 18	5,24 5,22	18 $\pm$ 30%
Fenylotiouracyl (FTU)	205 $\rightarrow$ 188* 205 $\rightarrow$ 103	18 22	6,73 6,72	44 $\pm$ 25%
Standard wewnętrzny (DMTU)	157 $\rightarrow$ 140* 157 $\rightarrow$ 96	25 15	2,76 2,76	

- przejścia używane w analizie ilościowej

Warunki analizy ESI-MS/MS: polaryzacja dodatnia, gaz kolizyjny azot, temp. kapilary  $400^{\circ}\text{C}$ , napięcie kapilary elektrospreju (ESI) 3500V, tryb skanowania MRM, czas przemiatana 150 ms. W tabeli 1 przedstawiono przejścia MRM, ich energię kolizyjną oraz względne natężenia jonów.

Do ilościowego oznaczenia stosowano krzywe wzorcowe wykonane z wykorzystaniem wzorca wewnętrznego. W tym celu próbki mięśni bydła, w których nie stwierdzono pozostałości badanych związków, fortifikowano w zakresie 5 – 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Do każdej próbki dodawano standard wewnętrzny i poddawano analizie. Mierzono odpowiedzi spektrometru mas na różne ilości tyreostatyków porównując z odpowiedzią na stałą ilość standardu wewnętrznego (DMTU).

## WYNIKI I DYSKUSJA

Zgodnie z decyzją Komisji nr 2002/657/WE metody potwierdzające stosowne do oznaczeń pozostałości (grupa A) z zastosowaniem układu LC-MS/MS muszą posiadać minimum cztery punkty identyfikacyjne. W opracowanej metodzie dla każdego tyreostatyku mamy jon macierzysty (1 punkt) i dwa jony potomne pierwszej generacji (2 x 1,5 punktu) co daje w sumie 4 punkty.

Opracowana metoda została oceniona przez sprawdzenie następujących identyfikacyjnych kryteriów: (1) stosunek sygnału do szumu (S/N) powinien być większy niż 3; (2) względny czas retencji wykrytego analitu odpowiada czasowi retencji roztworu wzorcowego lub próbki wzbogaconej z dopuszczalną tolerancją  $\pm 2,5\%$ ; (3) względne natężenia wykrytych jonów, wyrażone jako procent najbardziej intensywnego jonu, odpowiada natężeniu wzorca z dopuszczalną tolerancją zawartą w tabeli 4. Wszystkie wymienione kryteria były spełnione dla próbek wzmocnionych na poziomie 5, 10 i 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Na rycinie 1 przedstawiono MRM chromatogram próbki mięśni bydła wzmocnionej badanymi tyreostatykami na poziomie 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Sprawdzono występowanie efektów matrycowych (supresja jonów), które są głównym problemem techniki jonizacji próbki metodą ESI. Skutki znoszenia jonów zostały ocenione na podstawie eksperyment. Próbkę, w której nie stwierdzono tyreostatyków poddano analizie. Suchą pozostałość rozpuszczono w fazie ruchomej (0,25 ml), która zawierała tyreostatyki na poziomie 10 i 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Otrzymane intensywności sygnałów porównano z wzorcami (10 i 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Stwierdzono znaczące obniżenie intensywności sygnałów dla TU. Zastosowanie standardu wewnętrznego (DMTU) eliminowało wpływ matrycy na wynik badania. W tabeli 2 przedstawiono stosunek odpowiedzi różnych tyreostatyków



Ryc.1. Chromatogram MRM z ekstraktu mięśni bydła, wzmacnienie matrycy tyreostatykami 5 µg/kg  
MRM chromatograms of bovine muscle extract, spiked matrix thyreostats 5 µg/kg

otrzymanych z matrycy próbki czystej wzbogaconej o wzorce do wzorców rozpuszczonych w fazie ruchomej (%). Wynik 100% świadczy o braku supresji jonu.

Tabela 2. Efekty matrycowe  
Matrix effects

Analityt	Przejścia używane w analizie (m/z)	10 µg/kg	20 µg/kg
Tapazol (TAP)	115→74	91	98
	115→57	94	98
Tiouracyl (TU)	129→112	20	18
	129→84	17	22
Metylotiouracyl (MTU)	143→126	66	76
	143→84	68	78
Propylotiouracyl (PTU)	171→154	85	75
	171→86	85	82
Fenylotiouracyl (FTU)	205→188	94	98
	205→103	88	93
Standard wewnętrzny (DMTU)	157→140	93	95
	157→96	96	96

Opracowana metoda została zwalidowana zgodnie z zaleceniami zawartymi w decyzji Komisji nr 2002/657/WE. Wyznaczono następujące parametry statystyczne metody: specyficzność, liniowość, odzysk, precyzję (powtarzalność, odtwarzalność wewnątrz-

laboratoryjną) oraz limit decyzyjny wartości granicznej (CC $\alpha$ ) i zdolności wykrycia (CC $\beta$ ).

Specyficzność metody zbadano dla 20 matryc oraz matryc wzbogaconych pochodzących od bydła. Porównując chromatogramy próbek odczynnikowych, wzorców i matryc z próbkami matryc wzbogaconych nie stwierdzono dodatkowych pików w matrycy mieszczących się w czasie retencji tyreostatyków. Określono liniowość krzywej wzorcowej wykorzystując przejścia dla poszczególnych jonów tyreostatyków oraz standardu wewnętrznego DMTU. Liniowość krzywych była oceniana przez współczynnik korelacji liniowej ( $r$ ) przy kryterium  $r \geq 0,98$ . Stwierdzono, że współczynnik korelacji liniowej krzywych wykonanych dla wszystkich związków na próbkach wzmacnionych w zakresie 5 – 20 µg/kg wynosił powyżej 0,996.

W celu zbadania odzysku i precyzji powtarzalności metody próbki matrycy mięśni bydła wzmacniono na poziomie 5, 10 i 20 µg/kg. Próbki poddano analizie. Dla każdego wzmacnienia przygotowano i przebadano po 6 próbek. Parametry statystyczne zostały obliczone na podstawie analizy próbek wykonanych na tym samym przyrządzie pomiarowym i przez tego samego operatora. Odzyski wyliczono z krzywej wzorcowej dla



próbek wzmocnionych, przy zastosowaniu standardu wewnętrznego dodanego do nich przed wykonaniem analizy (korekta wyniku). Precyzja powtarzalności została obliczona na podstawie analizy próbek wykonanych na tym samym przyrządzie pomiarowym i przez tego samego operatora.

Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna została wykonanych w trzech różnych dniach na tym samym przyrządzie pomiarowy przez różnych operatorów przy wzmocnieniu próbek na poziomie 10 µg/kg (3 dni po 6 próbek w każdym dniu). CC $\alpha$  i CC $\beta$  obliczono na podstawie dwóch krzywych wzorcowych wyznaczonych na podstawie próbek wzmocnionych zgodnie z PN-ISO 11843-2 [4]. Krzywe wzorcowe sporządzano stosując standard wewnętrzny. W tabeli 3 przedstawiono wartości uzyskanych parametrów statystycznych dla opracowanej metody.

Tabela 3. Statystyczna charakterystyka metody oznaczania tyreostatyków w tkance mięśniowej bydła  
Statistical characteristics of method for determination of thyreostats in bovine muscles

Poziom wzmocnienia (µg/kg)	Odzysk (%)	CV <sub>r</sub> (%)	CV <sub>R</sub> (%)	CC $\alpha$ (µg/kg)	CC $\beta$ (µg/kg)
<b>Tapazol (TAP)</b>					
5	90,3	8,3		1,68	2,08
10	108,5	7,6	12,5		
20	98,4	5,6			
<b>Tiouracyl (TU)</b>					
5	89,7	8,9		2,71	3,35
10	93,4	9,7	13,7		
20	102,1	6,8			
<b>Metylotiouracyl (MTU)</b>					
5	91,7	6,6		2,32	2,87
10	103,2	8,9	10,1		
20	98,7	5,8			
<b>Propylotiouracyl (PTU)</b>					
5	98,7	7,8		2,85	3,52
10	107,4	6,4	8,9		
20	96,9	4,7			
<b>Fenylootiouracyl (FTU)</b>					
5	89,7	7,5		2,14	2,65
10	108,1	5,2	8,8		
20	98,7	4,3			

Dla pięciu oznaczanych tyreostatyków średni odzysk przy wzmocnieniu na poziomie 5, 10 i 20 µg/kg wynosił 90 – 109% przy współczynniku zmienności powtarzalności (CV<sub>r</sub>) 4 – 10 %, zaś odtwarzalności (CV<sub>R</sub>) przy wzmocnieniu na poziomie 10 µg/kg 9 – 14 % . CC $\alpha$  mieściła się w granicach 1,68 – 2,85 µg/kg, zaś CC $\beta$  2,02 – 3,52 µg/kg.

## WNIOSKI

Metoda jakościowego i ilościowego oznaczania tyreostatyków w tkance mięśniowej zwierząt przy zastosowaniu techniki LC-ESI-MS/MS pozwala na wykrycie tych związków w ilości poniżej 10 µg/kg. Opracowana procedura spełnia wymagania decyzji Komisji nr 2002/657/WE i może być stosowana w badaniach kontrolnych pozostałości tyreostatyków.

## PIŚMIENNICTWO

1. Decyzja Komisji z dnia 14 sierpnia 2002 r. 2002/657/WE wykonująca dyrektywę Rady 96/23 dotyczącą wyników metod analitycznych i ich interpretacji.
2. Löhms M., Kallaste K., Le Bizec B.: Determination of thyreostats in urine and thyroid gland by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatography A* 2009, 1216, 8080-8089.
3. Pinel G., Bichon E., Poupponeau K., Maume D., André F., Le Bizec B.: Multi-residue method for the determination of thyreostats in urine samples using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry after derivatisation with 3-iodobenzylbromide. *J. Chromatography A* 2005, 1085, 247-252.
4. PN-ISO 11843-2: Zdolność wykrywania – Cz.2. Metrologia w przypadku kalibracji liniowej. PKN, lipiec 2003, 19, 1-13.
5. Vanden Bussche J., Vanhaecke L., Deceuninck Y., Verheyden K., Wille K., Bekaert K., Batjoens Le Bizec B., De Brabander H. F.: Development and validation of an ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for quantifying thyreostats in urine without derivatisation. *J. Chromatography A* 2010, 1217, 4285-4293.
6. Woźniak B., Matraszek-Zuchowska I., Żmudzki J., Jedziński P., Korycińska B., Sielska K., Witek S., Kłopot A.: Liquid chromatography tandem mass spectrometry with ion trap and triple quadrupole analyzers for determination of thyreostatic drugs in urine and muscle tissue. *Anal. Chim. Acta* 2011, 700, 155-166.
7. Zhang L., Liu Y., Xie M-X., Qiu Y-M.: Simultaneous determination of thyreostatic residues in animal tissues by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatography A* 2005, 1074, 1-7.
8. Zou Q-H., Liu Y., Xie M-X., Han J., Zhang L.: A rapid method for determination and confirmation of the thyreostats in milk and urine by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2005, 551, 184-191.

Otrzymano: 17.11.2011

Zaakceptowano do druku: 25.06.2012

