CH 6.11. Stanovenie avermektínov v biologickom materiále a v krmive metódou HPLC

1. Pôvod metódy
Zbierka laboratórnych metód na detekciu cudzorodých látok referenčného laboratória ŠVÚ Košice. Metodika bola modifikovaná a validovaná RNDr. S.Tkáčikovou.

2. Princíp metódy
Vzorka sa zhomogenizuje a extrahuje acetonitrilom u pečene alebo izooktánom u mlieka. Odtuční sa hexánom. Pri stanovovaní ivermectinu v pečeni sa ešte pre-čistí a zakoncentruje na SPE kolónkach.

3. Použité prístroje a spotrebný materiál
polguľová banka 100 ml,
filtračný lievik,
filtračný papier,
trepačka,
deliaci lievik,
SPE kolónky Si rotačná vákuová odparka,
ultrazvukový kúpeľ,
analytické váhy,
kvapalinový chromatograf .

4. Zoznam chemikálií
Acetonitril g.g.
a-hexán g.g.
dichlórmetán p.a.,
acetón p.a.,
izooktán p.a.,
redestilovaná voda,.

5. Príprava štandardov
Zásobný roztok : 10 mg ivermectinu sa rozpustí v 10 ml metanolu.

6. Príprava vzoriek
Pečeň
Vzorka sa extrahuje s acetonitrilom v ultrazvukovom kúpeli a následne 10 min vytrepáva na trepačke. Oddelí sa acetonitrilový extrakt. K tuhému podielu sa pridá 30 ml acetonitrilu a extrakcia sa opakuje. Spojené acetonitrilové extrakty sa odtučnia v oddeľovacom lieviku hexánom. Acetonitrilový podiel sa prenesie do odparovacej banky.

SPE extrakčná kolónka sa aktivuje dichlórmetánom. Následne sa na ňu nadávkuje rozpustený odparok.

Mlieko:
Mlieko sa zmieša s 5 ml zmesi acetón/voda (1/1, v/v) a umiestni na 5 min do ultrazvukového kúpeľa. Následne sa zmes extrahuje 5 ml izooktánu. Vrstvy sa oddelia odcentrifugovaním. Spojené izooktánové podiely sa odparia dosucha na rotačnej vákuovej odparke pri teplote do 80 °C. Odparok sa rozpustí v 8 ml acetonitrilu a scentrifuguje 5 min.

7. Podmienky stanovenia:
Kolóna: LiChroCART Superspher C-18,
Mobilná fáza: A: acetonitril/redestilovaná voda 98/2 (v/v)
B: redestilovaná voda
Prietok mobilnej fázy: 1 ml/min
Teplota: 40 °C
Injekovaný objem: 25 ul.