CH 6.5.

STANOVENIE TIAMULÍNU METÓDOU HPLC

1. ROZSAH POUŽITEĽNOSTI METÓDY

Skúšobná metóda je použiteľná na stanovenie tiamulínu v kŕmnych premixoch.
Tiamutin hydrogén fumarát sa používa na individuálnu a hromadnú liečebno - ochrannú a liečebnú aplikáciu v krmive.

2. PRINCÍP METÓDY

Zriedené a upravené vzorky sa analyzujú reverznofázovou HPLC s UV detekciou s vlnovou dĺžkou 210 nm.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

• Ultrazvukový vodný kúpeľ
• Centrifúga
• Milli-Q-Plus, systém na prečistenie destilovanej vody
• HPLC s UV detektorom
• Analytická kolóna: LiChroCART 250-4, Purospher 100 RP 18e (5μm) s predkolónou RP 18
• Predvážky a analytické váhy
• Injekčná striekačka 100 μl
• Kalibrované odmerné sklo

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

Pokiaľ nie je uvedené inak, používajú sa chemikálie čistoty p.a.:
• Acetonitril – UvaSolv, gradient grade
• Kyselina orto - fosforečná
• HPLC voda
• Referenčný materiál (RM): tiamulín hydrogén fumarát

5. PRACOVNÝ POSTUP PRÍPRAVY VZORIEK

Vzorka premixu sa dôkladne zhomogenizuje v trecej miske a z takto upravenej vzorky sa naváži 1 g do centrifugačnej skúmavky. Ku vzorke sa pridá mobilná fáza a sonikuje sa v ultrazvukovom kúpeli. Potom sa vzorka centrifuguje 5 min pri 2500ot/min. Supernatan sa prefiltruje cez filtračný papier do odmernej banky.
Takto pripravená vzorka sa dávkuje na chromatografickú kolónu.

6. HPLC STANOVENIE

• Analytická kolóna:	LiChroCART 250-4, Purospher 100 RP 18e (5μm) s predkolónou RP18 (5μm), 4x4
• Mobilná fáza:	**A** = voda okyslená 0,04 % kyselinou orto – fosforečnou **B** = acetonitril
• Zloženie mobilnej fázy:	izokratická elúcia 95 % **A** a 5 % **B**
• Rýchlosť prietoku mobilnej fázy:	0,8 ml/min.
• Objem nástreku:	10 μl
• Teplota kolóny:	40ºC
• Detekcia:	UV pri 210 nm

Vzorky pripravené postupom uvedeným v kapitole 5. kvantifikujeme kvapalinovým chromatografom.

7. SPRACOVANIE NAMERANÝCH ÚDAJOV A VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV

Po ukončení série analýz vzoriek je potrebné spracovať jednotlivé analytické behy, ktorých dáta sú uložené v adresári DATA .
Prítomnosť a množstvo tiamulínu kvantifikujeme pomocou multikalibračného programu, ktorý je súčasťou programového vybavenia.
Po prebehnutí kalkulácie a vytlačení výsledkov analýzy sa urobí prepočet koncentrácie analytu vo vzorke na riedenie, návažku a výťažnosť. Hodnota výsledku je vyjadrená v g/100g vzorky.

8. POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Podniková norma PLN 2/01/98, f. Pulmix s.r.o., (príloha k prípravku Tiamutin)