

## Определение остатков этопабата в съедобных тканях домашней птицы



Этопабат применится в комбинации с ампролиумом против тонкокишечных кокцидий, т.к. Этопабаг показал эффективность в лечении лямблиозов, *Eimeria brucei* и др, тогда как ампролиум оказывает слабое действие на вышеупомянутые кокцидии. В то же время бензиловые эфиры этоксиамида неактивны в отношении *Eimeria tenella*.

Существуют два национальных стандарта КНР на определение этопабата, а именно "DB32/T 898-2006 Определение остатков этопабата в яйцах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии" и "GB 31660.9-2019 Национальный стандарт безопасности пищевых продуктов "Высокоэффективная жидкостная хроматография для определения остатков этоксиамида в съедобных тканях птицы".

В РФ действует ГОСТ 34535-2019 Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье. Метод определения содержания кокцидиостатиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

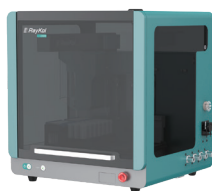
Остаток этопабата в образце экстрагировали ацетонитрилом, обезжировали н-гексаном, обезвоживали безводным сульфатом натрия, концентрировали, растворяли остаток в н-гексан-ацетоне, очищали с помощью твердофазной экстракции, элюировали метанолом и определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением внешнего стандарта.

## Оборудование, расходные материалы и реагенты

Оборудование	Raykol Fotector Plus Высокопроизводительная автоматическая система твердофазной экстракции
	Raykol AP 300 Полностью автоматизированная рабочая станция для обработки жидких образцов
	Raykol AH 50 Автоматический гомогенизатор
	Raykol MPE Система высокопроизводительного вакуумного параллельного концентрирования
	Высокоэффективный жидкостный хроматограф (ВЭЖХ) с УФ-детектором
Расходные материалы	Картридж для ТФЭ из силиката магния RayCure Florisil, 100мг/мл, ( RC-204-16941)
Реагенты	Метанол и ацетонитрил (квалификации "ВЭЖХ")

## Построение градуировочной зависимости

Возьмите 0,1 мг/мл стандартного исходного раствора, уравновесьте при комнатной температуре и используйте автоматическую рабочую станцию для обработки жидких проб AP 300, чтобы сначала приготовить промежуточный раствор 10 мкг/л, а затем приготовить стандарты с концентрацией 0,1, 0,2, 0,4 и 2,0 мкг/л



AP 300 Полностью автоматическая рабочая станция для обработки жидких проб

序号	命令	源液位	源液浓度	源液体积(mL)	目标位	目标浓度	目标体积(mL)	溶剂	洗针溶剂
1	填充管路						3.00	甲醇	
2	直接稀释	A1	100.00	1.00	A2	10.00	1.00	甲醇	甲醇
3	直接稀释	A2	10.00	1.00	A3	1.00	1.00	甲醇	甲醇
4	直接稀释	A3	1.00	1.00	A41	0.10	1.00	甲醇	甲醇
5	直接稀释	A3	1.00	1.00	A42	0.20	1.00	甲醇	甲醇
6	直接稀释	A3	1.00	1.00	A43	0.40	1.00	甲醇	甲醇
7	直接稀释	A2	10.00	1.00	A44	2.00	1.00	甲醇	甲醇
8	方法结束								

## Подготовка образцов

### Образцы: Куриное мясо и сердечки



### Очистка



### Условия очистки ТФЭ

Автоматический экстрактор	Fotector Plus Высокопроизводительный автоматический прибор для твердофазной экстракции
Картридж ТФЭ	силикат магния (100 мг/мл)
Активация	Метанол
Промывка	н-гексаан
Элюирование	Метанол

Операции	Растворитель	Выход	Поток(мл/мин)	Объем(мл)	Время(мин)
Очистка канала	СНЗОН				2.8
Активация	СНЗОН	Орг. отходы	5	5	1.4
Загрузка образца		Орг. отходы	0.5	1	2.4
Промывка	С6Н14	Орг. отходы	3	3	1.4
Продувка		Орг. отходы	10	5	1.1
Продувка		Орг. отходы	10	5	1.1
Элюирование	СНЗОН	Сбор	1	1	1.3
Продувка		Сбор	10	5	1.1
Завершение					

Рис.1 Fotector Plus. Метод твердофазной экстракции

### Условия ВЭЖХ

Колонка	С18 (250мм×4.6мм×5мкм)
Скорость потока Элюент	1.000мл/мин
Температура колонки	А:Н <sub>2</sub> О, В: Ацетонитрил
Объем инъекции	35°C
	50мкл
Детектор	спектрофотометрический
Длина волны	270нм
Градиент	0-11,0 мин ацетонитрил 30%, 14,5-20,5 мин ацетонитрил 80%, 21,0 мин-25,0 мин ацетонитрил 30%

## Результаты и обсуждение

Для проверки степени извлечения в куриное мясо были добавлены 50 мкг/кг, 100 мкг/кг и 250 мкг/кг стандартов (n=3), данные приведены в таблице 1: степень извлечения этопата была средней между 80-110%, RSD составляет около 6%. Это показывает, что приведенный метод может успешно применяться для обнаружения этопата в тканях домашней птицы.

Таблица 1. Степень извлечения и значение RSD

Образец	Соединение	Диап. лин. корреляции (н г/мл)	Кэфф. корреляц R2	Концентрация (мкг/кг)	RSD (%)	Ср. коэф. извлеч. (%)
Курица	Этопобат	0.05мкг/мл~1.0мкг/мл	≥0.99	50	5.24	83.6
				100	3.48	85.3
				250	2.48	89.8
Куриное сердце	Этопобат	0.05мкг/мл~1.0мкг/мл	≥0.99	50	4.68	100.4
				100	3.26	89.6
				250	2.65	96.6

## Выводы

- Для качественного и количественного определения используется метод ВЭЖХ, который является удобным, быстрым и эффективным.
- Для построения калибровочного графика применялась рабочая станция автоматической обработки жидких проб Raykol AP 300, которая автоматически выполняет подготовку стандартов различной концентрации, добавление пробы и разделение жидкости, не требуя присутствия персонала на протяжении всего процесса. Запрограммированная работа прибора позволяет эффективно избежать ошибок, связанных с человеческим фактором и обеспечить точность и достоверность градуировки.
- Высокая пропускная способность и скорость обработки образцов автоматического гомогенизатора Raykol AH 50 обеспечивают большое удобство для процесса пробоподготовки. Он автоматически проводит добавление экстракционного раствора, гомогенизацию и очистку головки ножа, ограждая персонал лаборатории от неблагоприятного воздействия органических растворителей на организм человека.
- После повторной экстракции полученный экстракт концентрируют до почти сухого состояния с помощью параллельного вакуумного концентратора от Raykol MPE, позволяющий обрабатывать за короткое время большие объемы образца. Встряхивание сокращает время концентрации и делает эффект концентрации более стабильным.
- Использование высокопроизводительной системы автоматической твердофазной экстракции Raykol Fotector Plus, позволяет проводить процесс очистки от активации и загрузки образца до элюирования в один этап, что экономит время и усилия, а также обеспечивает быструю обработку больших серий образцов.