

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
дорамектина в пищевых продуктах**

**Методические указания
МУК 4.1.2480—09**

Издание официальное

Москва • 2009

ББК 51.21
О60

О60 **Определение остаточных количеств дорамектина в пищевых продуктах: Методические указания.**—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—10 с.

1. Разработаны ГУ НИИ питания РАМН (академик РАМН В. А. Тутельян, К. И. Эллер, М. Г. Киселева, Л. Г. Левин, Е. П. Хромченкова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 2 февраля 2009 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2009

© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

Г. Г. Онищенко

2 февраля 2009 г.

Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
дорамектина в пищевых продуктах**

**Методические указания
МУК 4.1.2480—09**

Настоящие методические указания устанавливают методику определения дорамектина в мясе сельскохозяйственных животных и продуктах его переработки методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, находящиеся в обращении на территории Российской Федерации, в т.ч. импортируемых в Российскую Федерацию.

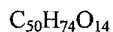
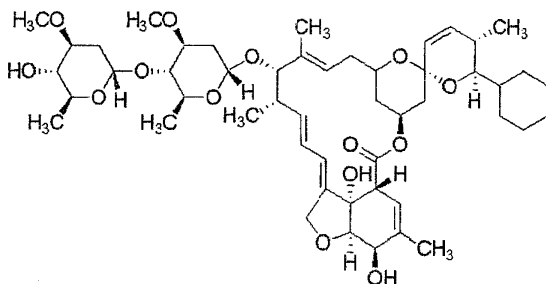
Методические указания могут быть использованы другими лабораторными центрами, осуществляющими контроль качества и безопасности пищевых продуктов и аккредитованными в установленном порядке.

1. Краткая характеристика препарата

Общепринятое название: дорамектин, ветранал.

Название по номенклатуре ИЮПАК: 25-циклогексил-5-О-диметил-25-ди(1-метил-пропил)авермектин. CAS: 117704-25-3.

Структурная формула:



Мол. масса: 899,11

Физические свойства: белый порошок, без запаха. Хорошо растворим в ацетонитриле.

Торговая марка: эндектоцид «Дектомакс» («Dectomax»).

Фирма-производитель: «Pfizer».

Форма выпуска: 1 %-й раствор дорамектина в растительном масле.

Область применения. «Дектомакс» используется в качестве противопаразитарного средства широкого спектра действия для лечения и профилактики заболеваний крупного рогатого скота, овец и свиней. Средство предназначено для парентерального введения крупному рогатому скоту.

2. Методика определения остаточных количеств дорамектина в мясе сельскохозяйственных животных и продуктах его переработки методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. *Принцип метода.* Методика основана на определении остаточных количеств дорамектина в пищевых продуктах методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием ($\lambda_{\text{возб.}}=360$ нм, $\lambda_{\text{эм.}} - 470$ нм) после экстракции дорамектина из образца. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. *Метрологические характеристики метода.* При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой, погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает

значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры методики определения дорамектина в тканях сельскохозяйственных животных ($\rho = 0,95$, $n = 10$)

Анализируемый объект	Мышечная ткань, печень, почки, жир	
Диапазон загрязнения, мг/кг	0,003—0,1	0,1—2,5
Предел обнаружения, мг/кг	0,001	
Среднее значение степени извлечения, %	71,5	84,6
Стандартное отклонение повторяемости, S_r , мг/кг (в % от среднего значения)	0,017 (22,6)	0,078 (15,6)
Предел повторяемости, r , мг/кг (в % от среднего значения)	0,047 (62,6)	0,217 (43,4)
Предел относительной погрешности результата анализа, $\pm\delta$, %	25,5	13,4

2.2. Реактивы

Ацетонитрил, квалификации для ВЭЖХ

Тетрагидрофуран, квалификации осч

Метанол, квалификации для ВЭЖХ

н-Гексан, квалификации хч

Вода дистиллированная

Натрия гидроокись, квалификации осч

Аммиак водный (25—30 % NH_4OH)

квалификации осч

Триэтиламин, $\geq 99,0$ % (Sigma), CAS: 121-44-8

Трифторуксусный ангидрид, $\geq 99,0$ % (Sigma)

Дорамектин (UK-67,994), 91,9 %, «Pfizer»

ТУ 6-09-4521

ГОСТ 6709

ГОСТ 4328

ГОСТ 24147

2.3. Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы

Хроматографическая система, состоящая из жидкостного хроматографа высокого давления, дегазатора, спектрофлюориметрического детектора и системы для сбора и обработки хроматографических данных.

Колонка для ВЭЖХ, заполненная октадецилсиликагелем $250 \times 4,5$ мм, 5 мкм (например,

Phenomenex Luna C18 или аналогичная)

Микрошприц объемом 25 мкл для ВЭЖХ
(Hamilton, США)

Шприц для инъекций, пластиковый,
объемом 25 см³

Виалы стеклянные с закручивающейся
крышкой «для автосамплера» (в крышке
окошко, герметично закрытое резиновой
вкладкой), объемом 2—4 см³

Аппарат для встряхивания проб типа АБУ-6С ТУ 64-1-2451

Весы лабораторные общего назначения
с наибольшим пределом взвешивания

200 г и погрешностью ± 0,0001 г ГОСТ 24104

Ротационный испаритель ИР-1М или аналогичный ТУ 25-11-917

Блендер

Баллон со сжатым азотом квалификации «ПНГ» ГОСТ 9293

Воронка делительная на 250 см³ ГОСТ 25336

Колбы мерные наливные 2-50-2, 2-100-2,
1-1000-2

ГОСТ 1770

Колбы грушевидные с конусом 14/23

вместимостью 100 см³

ГОСТ 25336

Цилиндры по ГОСТ 1770 вместимостью 100 см³

Пипетки 4(5)-1-2, 4(5)-2-10, 4(5)-2-25

ГОСТ 29227

Фильтры беззольные ФО-ФС-15 «красная лента»

и «синяя лента»

ТУ 2642-001-42624157

Допускается использование приборов и посуды с метрологическими характеристиками и реактивов квалификацией не ниже указанных в МУК.

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ Р 51447—99 «Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб». Для длительного хранения образцы продуктов замораживаются и хранятся при –18 °С до анализа.

Перед анализом образцы тщательно измельчают в гомогенизаторе или блендере.

2.5. Подготовка к проведению измерений

2.5.1. *Приготовление подвижной фазы и кондиционирование хроматографической колонки.* В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ помещают 530 см³ ацетонитрила, 270 см³ тетрагидрофурана, 200 см³ дистиллированной воды, тщательно перемешивают и выдерживают до

комнатной температуры. Раствор дегазируют. Хроматографическую колонку кондиционируют до минимального дрейфа базовой линии.

2.5.2. *Приготовление стандартных растворов дорамектина.* 0,050 ± 0,001 г кристаллического дорамектина количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в 50 см³ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки и тщательно перемешивают. Получают основной стандартный раствор в ацетонитриле с массовой долей дорамектина 0,5 мг/см³.

Для построения градуировочной кривой методом последовательного разбавления ацетонитрилом готовят рабочие стандартные растворы с содержанием дорамектина 0,100, 0,010, 0,001 и 0,0001 мг/см³. Отбирают аликвоты стандартных растворов, упаривают их на ротационном испарителе при температуре не более 40—45 °С. Дорамектин переводят во флюоресцирующее производное, хроматографируют в трех повторностях (объем пробы 10 мм³). Строят график зависимости средних площадей пиков от концентрации дорамектина в мг/см³.

Основной и рабочие стандартные растворы дорамектина хранят в стеклянной посуде (мерной колбе) с притертой пробкой в прохладном месте (при температуре около 4 °С). Сроки годности основного раствора 12 месяцев, рабочих — 2 месяца.

2.5.3. *Подготовка образца.* Измельченный образец, массой 2,5 г помещают в 20 см³ ацетонитрила, закрывают емкость пробкой или парафильмом, помещают в теплую (40—50 °С) ультразвуковую баню на 20—25 мин. Затем охлаждают, переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют при 5 тыс. об/мин в течение 5 мин. Сульфатант декантируют в делительную воронку и обезжиривают двумя порциями гексана по 10 см³. Ацетонитрильный экстракт дорамектина собирают в круглодонную колбу и упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40—45 °С.

2.5.4. *Получение флюоресцирующего производного дорамектина*

А) Приготовление раствора аммиака в метаноле.

В вialsу (крышка герметичная с резиновой вкладкой, которую можно проколоть иглой) наливают 2—3 см³ метанола, крышку завинчивают. На пластиковый шприц для инъекций надевают иглу, вынимают поршень. Внутри шприца помещают 4—6 гранул сухого гидроксида натрия, наливают водный аммиак и вставляют поршень. Шприц переворачивают вверх иглой, выделяющийся газ вытесняет из иглы воду, на иглу надевают вialsу так, чтобы аммиак барботировал через метанол. Поршень шприца придерживают, насыщение происходит в течение 0,5—

1 мин. Перед каждым анализом рекомендуется готовить свежий раствор аммиака в метаноле.

Б) Получение флуоресцирующего производного дорамектина.

К остатку после упаривания аликвоты стандартного образца или пробы добавляют $0,15 \text{ см}^3$ ацетонитрила, $0,1 \text{ см}^3$ триэтиламина и $0,05 \text{ см}^3$ трифторуксусного ангидрида, смесь перемешивают и отдувают в токе азота на водяной бане. К оставшемуся в колбе маслянистому содержанию добавляют $0,25 \text{ см}^3$ свежеприготовленного 2М раствора аммиака в метаноле, снова отдувают в токе азота на водяной бане, добавляют к содержанию $0,4 \text{ см}^3$ ацетонитрила (объем пробы $V_{пр} = 0,5 \text{ см}^3$). Аликвоту раствора образца V_x (от $0,005$ до $0,02 \text{ см}^3$) вводят в хроматограф.

2.6. Выполнение измерений

Условия хроматографического анализа.

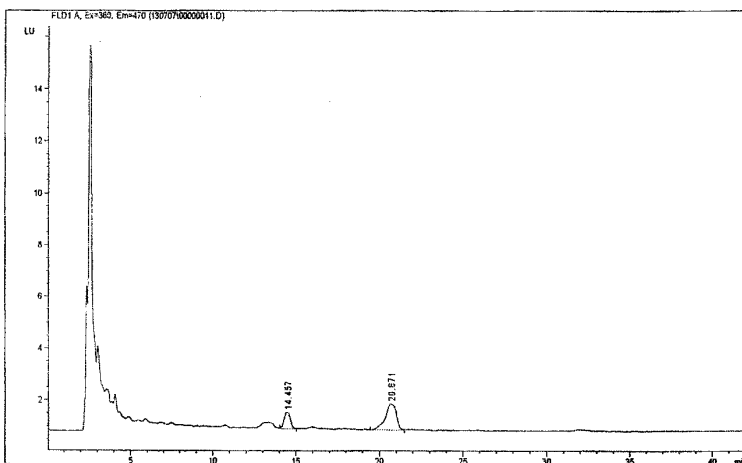
Хроматографическая колонка: колонка для ВЭЖХ, заполненная октадецилсиликагелем (например, Phenomenex Luna C18, $250 \times 4,5 \text{ мм}$, 5 мкм).

Подвижная фаза: ацетонитрил – 53 %, тетрагидрофуран – 27 %, вода – 20 % об.

Скорость подачи элюента: $1,0 \text{ см}^3/\text{мин}$.

Детектирование: флуориметрическое, $\lambda_{\text{возб.}} = 360 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{эм.}} = 470 \text{ нм}$.

Объем вводимой пробы 5—20 мкл. Линейность детектирования сохраняется в пределах $0,1$ — 125 нг дорамектина.



Абсолютное время удерживания дорамектина в приведенных условиях — $14,5 \pm 0,1$ мин.

Хроматограмма образца сала, добавка дорамектина составляет 10 мкг/кг.

Каждую анализируемую пробу вводят 3 раза, вычисляют среднюю площадь пика, соответствующего дорамектину.

2.7. Обработка результатов измерения

2.7.1. *Калибровка хроматографа и построение градуировочной кривой.* Отбирают аликвоты стандартных растворов, упаривают их на ротационном испарителе при температуре не более 40—45 °С. Дорамектин переводят во флюоресцирующее производное, хроматографируют в трех повторностях (объем пробы 10 мм³) (п. 2.6). Строят график зависимости средних площадей пиков от концентрации дорамектина в мг/см³.

Градуировку во всем диапазоне измеряемых концентраций проводят при смене колонки и/или предколонки; при замене стандартного образца и/или реактивов; после проведения ремонта; после длительного простоя хроматографа (2 недели и более);

2.7.2. *Оформление результатов.* Содержание дорамектина можно рассчитать по градуировочному графику или методом внешнего стандарта. В последнем случае для расчетов используют стандартный раствор, площадь пика которого наиболее близка к площади пика дорамектина в образце. Для расчета по методу внешнего стандарта используют формулу:

$$X = 400 \frac{V_{OBR} \times V_{СТ} \times C_{СТ} \times S_X}{V_X \times S_{СТ}}, \text{ где}$$

X — содержание дорамектина в пробе, мкг/кг;

$C_{СТ}$ — содержание дорамектина в стандартном растворе, мг/см³;

S_X — площадь пика дорамектина в анализируемом образце;

$S_{СТ}$ — площадь пика стандарта;

$V_{СТ}$ — объем аликвоты стандартного раствора дорамектина, см³;

V_{OBR} — объем образца (0,5 см³);

V_X — объем образца, введенный в хроматограф (0,005—0,02 см³).

3. Оперативный контроль результатов измерений

3.1. Контроль повторяемости результатов определения

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости:

$$\frac{2 \times |X_1 - X_2| \times 100}{(X_1 + X_2)} \leq \delta$$

X_1, X_2 — результаты параллельных определений, мг/кг;

δ — предел относительной погрешности (табл. 1), в %.

При невыполнении условия выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

4. Требования техники безопасности

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

5. Требования к квалификации операторов

Работу по указанной методике могут выполнять высококвалифицированные специалисты в области газожидкостной хроматографии и санитарной химии. Исполнители должны быть проинструктированы об основных мерах техники безопасности при работе с веществами 1—2 класса опасности, органическими растворителями, а также с правилами безопасности при работе в химической лаборатории (п. 3).

6. Условия измерений

Помещение лаборатории должно соответствовать санитарным нормам проектирования, оборудования, эксплуатации и содержания производственных и лабораторных помещений, предназначенных для проведения работ с веществами 1—2 класса опасности, органическими растворителями. Аналитическая лаборатория должна быть оснащена вентиляционной системой согласно ГОСТ 12.4.021.

**Определение остаточных количеств
дoramектина в пищевых продуктах**

**Методические указания
МУК 4.1.2480—09**

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 31.07.09

Формат 60x88/16

Печ. л. 0,75

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89