

**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование  
Российской Федерации**

---

**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 высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

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

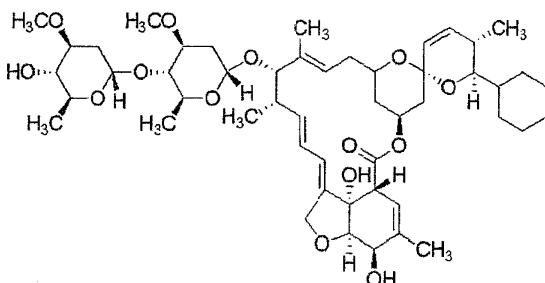
Методические указания могут быть использованы другими лабораторными центрами, осуществляющими контроль качества и безопасности пищевых продуктов и аккредитованными в установленном порядке.

#### **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:



$C_{50}H_{74}O_{14}$

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 ( $\lambda_{возб.}=360$  нм,  $\lambda_{эм.}-470$  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 ( $p = 0,95$ ,  $n = 10$ )**

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 (% от среднего значения)	0,017 (22,6)	0,078 (15,6)
Предел повторяемости, $r$ , мг/кг (% 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

ТУ 6-09-4521

Вода дистиллированная

ГОСТ 6709

Натрия гидрокись, квалификации осч

ГОСТ 4328

Аммиак водный (25—30 %  $\text{NH}_4\text{OH}$ )

квалификации осч

ГОСТ 24147

Триэтиламин, ≥ 99,0 % (Sigma), CAS: 121-44-8

Трифтормуксусный ангидрид, ≥ 99,0 % (Sigma)

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

### 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 октадецили-

ликагелем  $250 \times 4,5$  мм, 5 мкм (например,

Phenomenex Luna C18 или аналогичная)

## МУК 4.1.2480—09

Микрошиприц объемом 25 мкл для ВЭЖХ  
(Hamilton, США)

Шприц для инъекций, пластиковый,  
объемом 25 см<sup>3</sup>

Виалы стеклянные с закручивающейся  
крышкой «для автосамплиera» (в крышке  
окошко, герметично закрытое резиновой  
вкладкой), объемом 2—4 см<sup>3</sup>

Аппарат для встряхивания проб типа АВУ-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 см<sup>3</sup> ГОСТ 25336

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

ГОСТ 1770

Колбы грушевидные с конусом 14/23

вместимостью 100 см<sup>3</sup> ГОСТ 25336

Цилиндры по ГОСТ 1770 вместимостью 100 см<sup>3</sup>

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 реагентов 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 об-  
разцы продуктов замораживаются и хранятся при -18 °C 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 хро-  
матографической колонки. В мерную колбу вместимостью 1 000 см<sup>3</sup>  
помещают 530 см<sup>3</sup> ацетонитрила, 270 см<sup>3</sup> тетрагидрофурана, 200 см<sup>3</sup>  
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.*  $0,050 \pm 0,001$  г кристаллического дорамектина количественно переносят в мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$ , растворяют в  $50 \text{ см}^3$  ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки и тщательно перемешивают. Получают основной стандартный раствор в ацетонитриле с массовой долей дорамектина  $0,5 \text{ мг/см}^3$ .

Для построения градиуровочной кривой методом последовательного разбавления ацетонитрилом готовят рабочие стандартные растворы с содержанием дорамектина  $0,100, 0,010, 0,001$  и  $0,0001 \text{ мг/см}^3$ . Отбирают аликовты стандартных растворов, упаривают их на ротационном испарителе при температуре не более  $40\text{--}45^\circ\text{C}$ . Дорамектин переводят во флюоресцирующее производное, хроматографируют в трех повторностях (объем пробы  $10 \text{ мм}^3$ ). Строят график зависимости средних площадей пиков от концентрации дорамектина в  $\text{мг/см}^3$ .

Основной и рабочие стандартные растворы дорамектина хранят в стеклянной посуде (мерной колбе) с притертой пробкой в прохладном месте (при температуре около  $4^\circ\text{C}$ ). Сроки годности основного раствора 12 месяцев, рабочих — 2 месяца.

*2.5.3. Подготовка образца.* Измельченный образец, массой  $2,5$  г помещают в  $20 \text{ см}^3$  ацетонитрила, закрывают емкость пробкой или паракильмом, помещают в теплую ( $40\text{--}50^\circ\text{C}$ ) ультразвуковую баню на  $20\text{--}25$  мин. Затем охлаждают, переносят в центрифужную пробирку и центрифицируют при  $5$  тыс. об/мин в течение  $5$  мин. Супернатант декантируют в делительную воронку и обезжирают двумя порциями гексана по  $10 \text{ см}^3$ . Ацетонитрильный экстракт дорамектина собирают в круглодонную колбу и упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше  $40\text{--}45^\circ\text{C}$ .

#### *2.5.4. Получение флуоресцирующего производного дорамектина*

##### A) Приготовление раствора аммиака в метаноле.

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

## МУК 4.1.2480—09

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  $0,05 \text{ см}^3$  трифтормуксусного ангидрида, смесь перемешивают и отдувают в токе азота на водяной бане. К оставшемуся в колбе маслянистому содержимому добавляют  $0,25 \text{ см}^3$  свежеприготовленного 2M раствора аммиака в метаноле, снова отдувают в токе азота на водяной бане, добавляют к содержимому  $0,4 \text{ см}^3$  ацетонитрила (объем пробы  $V_{np} = 0,5 \text{ см}^3$ ). Аликвоту раствора образца  $V_x$  (от 0,005 до  $0,02 \text{ см}^3$ ) вводят в хроматограф.

### 2.6. Выполнение измерений

Условия хроматографического анализа.

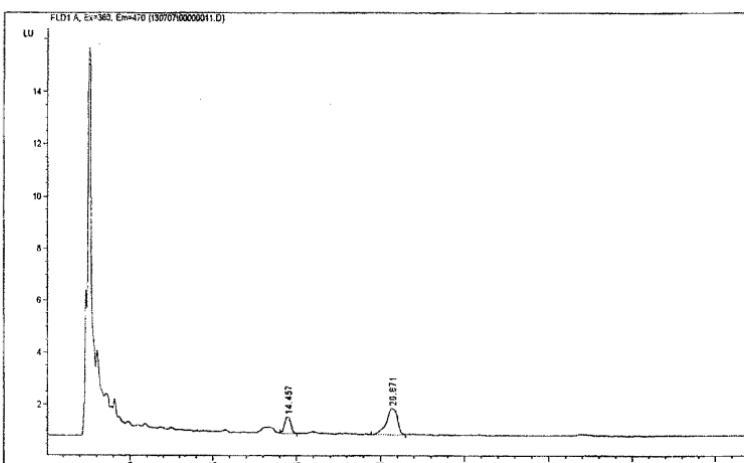
Хроматографическая колонка: колонка для ВЭЖХ, заполненная октадецилсиликагелем (например, Phenomenex Luna C18,  $250 \times 4,5 \text{ мм}, 5 \text{ мкм}$ ).

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

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

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

Объем вводимой пробы 5–20 мкм. 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 аликовты стандартных растворов, упаривают их на ротационном испарителе при температуре не более  $40—45$  °С. Дорамектин переводят во флюoresцирующее производное, хроматографируют в трех повторностях (объем пробы  $10\text{ mm}^3$ ) (п. 2.6). Строят график зависимости средних площадей пиков от концентрации дорамектина в  $\text{мг}/\text{см}^3$ .

Градуировку во всем диапазоне измеряемых концентраций проводят при смене колонки и/или предколонки; при замене стандартного образца и/или реагентов; 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:

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

$X$  – содержание дорамектина в пробе,  $\text{мг}/\text{кг}$ ;

$C_{CT}$  – содержание дорамектина в стандартном растворе,  $\text{мг}/\text{см}^3$ ;

$S_X$  – площадь пика дорамектина в анализируемом образце;

$S_{CT}$  – площадь пика стандарта;

$V_{CT}$  – объем аликовты стандартного раствора дорамектина,  $\text{см}^3$ ;

$V_{OBR}$  – объем образца ( $0,5\text{ см}^3$ );

$V_X$  – объем образца, введенный в хроматограф ( $0,005—0,02\text{ см}^3$ ).

### **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;

$\delta$  – предел относительной погрешности (табл. 1), в %.

При невыполнении условия выясняют причины превышения предела повторяемости, устраниют 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 правилам 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  
дорамектина 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