



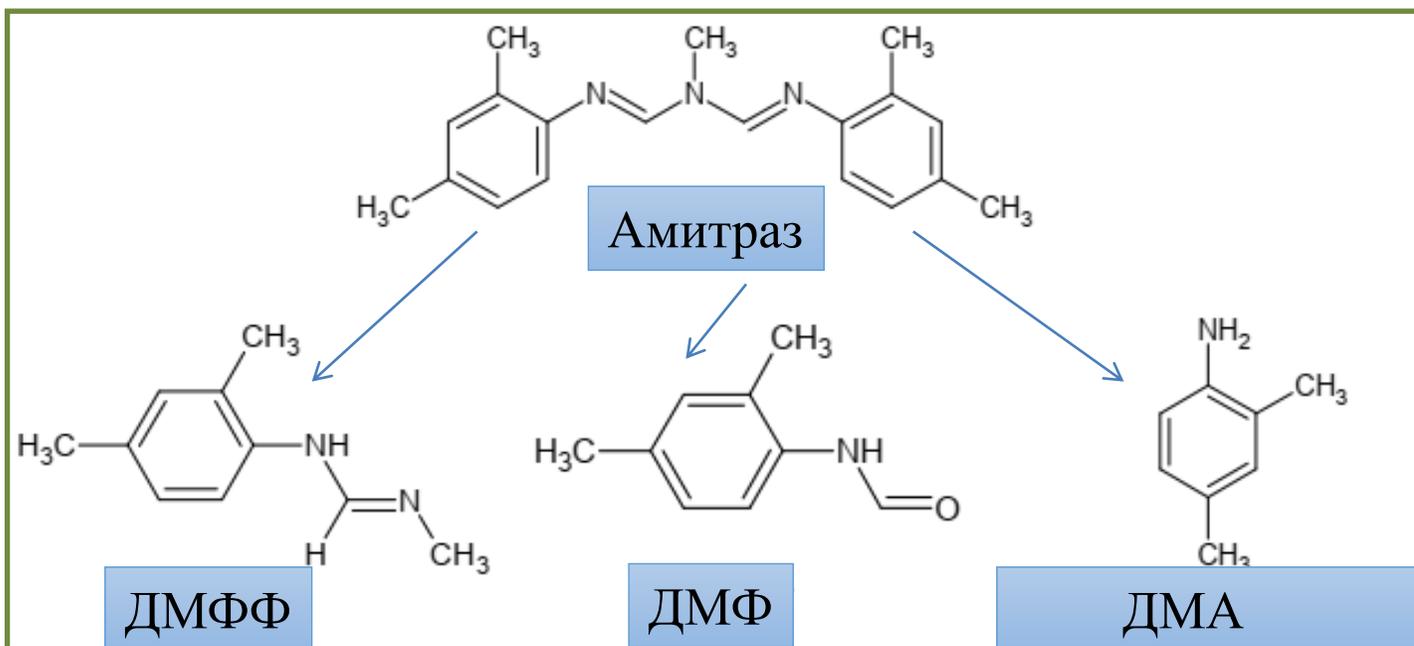
МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ ДОЛИ АМИТРАЗА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА И МЕДЕ (МВИ.МН 6330-2020)

Разработчики: Полянских Е.И., Бельшева Л.Л., Булгакова О.А.



Сфера применения: контроль безопасности пищевой продукции;

Назначение: количественное определение амитраза и его метаболитов (2,4-диметиланилин (ДМА), N-(2,4-диметилфенил)-N'-метилформамина (ДМФФ) и 2,4-диметилформамина (ДМФ)) в продукции животноводства и меде;



Амитраз используется для лечения варроатоза у сельскохозяйственных животных и пчел. Остаточное количество амитраза и его метаболитов может присутствовать в продукции животноводства и меде.

Предельно допустимый уровень (**ПДУ**) для амитраза и суммы метаболитов: от **0,01** до **0,40** мг/кг в зависимости от вида пищевой продукции



Оптимизированные условия хроматографирования

Хроматограф Agilent 1200 и масс-спектрометрический детектор Agilent 6410

Неподвижная фаза:	колонка хроматографическая Poroshel НРН-С ₁₈ (4,6 мм × 100 мм), зернение 2,7 мкм,
Подвижная фаза состава:	А (0,1 % водный раствор муравьиной кислоты), В (0,01 % ацетонитрильный раствор аммиака)
Условия подачи подвижной фазы:	градиентное элюирование
Скорость подачи подвижной фазы:	0,5 см ³ /мин
Температура термостата колонки:	40 °С
Объем вводимой пробы:	10 мм ³

Параметры масс-спектрометрического детектирования

Аналит	«Родительский» ион, m/z	«Дочерние» ионы, m/z	Напряжение на фрагментаторе, В	Энергия соударений, В
Амитраз	294,2	163,1	25	13
		122,1		34
Амитраз-D3	297,2	166,1	30	14
		122,1		38
ДМА	122,1	107,1	70	18
		79,1		26
ДМФФ	163,1	122,1	85	18
		107,1		26
ДМФ	150,1	107,1	85	23
		132,1		13



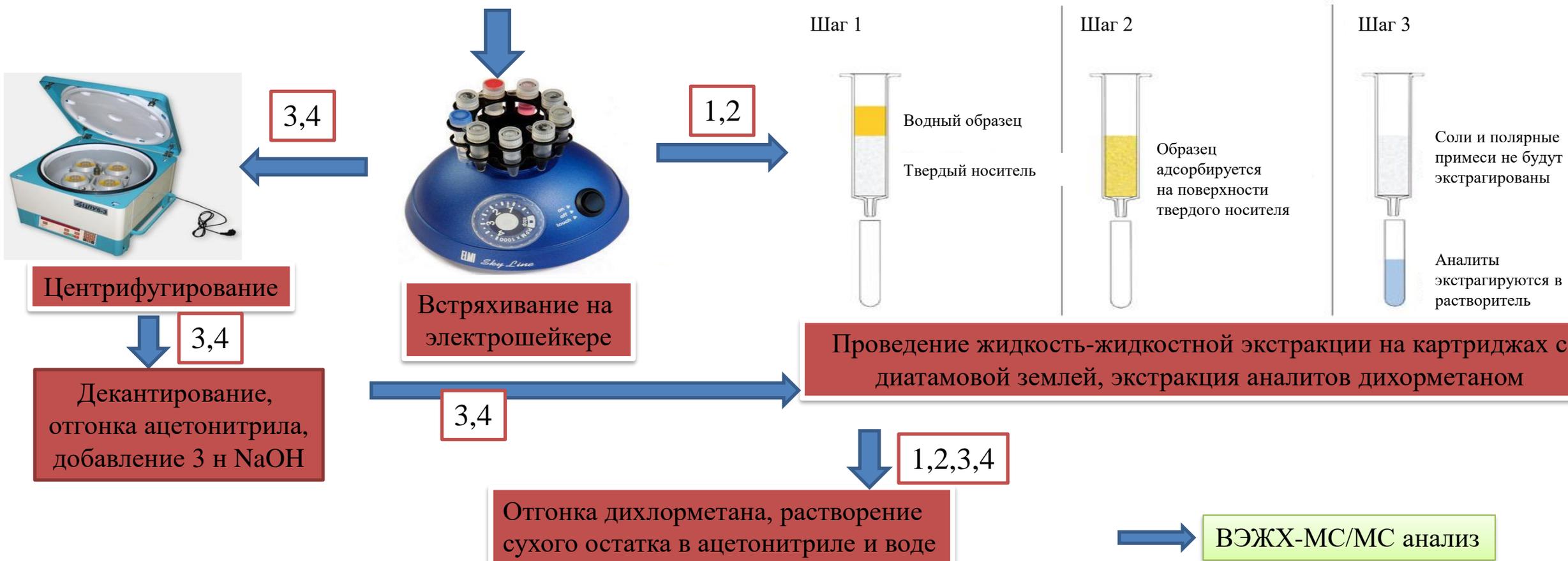
Оптимизированные условия пробоподготовки

1) 1 г меда + воды + внутренний стандарт + 3 н NaOH

2) 5 г молока + внутренний стандарт + 3 н NaOH

3,4) 1 г гомогенизированной пробы (печень, почки) + вода + внутренний стандарт + ацетонитрил

Виды пищевой продукции: 1) мед;
2) молоко;
3) почки, печень;
4) жир-сырец





Предложенные условия позволяют:

- **достичь максимального отклика и удовлетворительного хроматографического разделения** амитраза и его основных метаболитов ДМФФ, ДМФ, ДМА за счет использования хроматографической колонки заполненной обращеннофазным сорбентом, устойчивым к деструкции в широком диапазоне рН, а также подвижной фазы состоящей из водного раствора муравьиной кислоты и ацетонитрильного раствора аммиака в градиентном режиме подачи элюентов;
- **достичь максимального извлечения** четырех аналитов из пищевой продукции и максимальной очистки экстракта от интерферирующих примесей за счет проведения стадии жидкость-жидкостной экстракции аналитов из водных растворов проб меда на картриджах, заполненных диатомовой землей при использовании в качестве экстрагента дихлорметана;
- **достичь концентрирования** аналитов за счет отгонки растворителя и растворении сухого остатка в ацетонитриле и воде меньшего объема.

Диапазон определяемых значений массовой доли амитраза и его метаболитов составляет:

для молока от 0,001 до 0,012 мг/кг,

для меда, печени, почек, жира-сырца – от 0,025 до 0,250 мг/кг.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»



Виртуальная выставка научных разработок «Гигиеническая безопасность»



220012, г. Минск,
ул. Академическая, 8
Факс: +375 17 272-33-45



rspch@rspch.by
edu@rspch.by



www.rspch.by
www.certificate.by

Научно-организационный отдел
+375 17 310 72 91

**Международный образовательный
центр МОЦНА**
+375 17 399 87 24

**Подробную информацию можно
получить у разработчиков:**

**Лаборатория химии пищевых
продуктов**
+ 375 17 379-13-80

chf@rspch.by



СВИДЕТЕЛЬСТВО № 1280/2020
об аттестации методики (метода) измерений

Методика измерений массовой доли аммиака и его метаболитов (2,4-диметилоформидина (ДМА), N-2,4-диметилоформидина (ДМФ) и 2,4-диметилоформидина (ДМО)) в пищевой продукции животного происхождения (в молоке, масле, говядине, печени, жире-сыр) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, разработанная Республиканским унитарным предприятием «Научно-практический центр гигиены», и регламентированная в МНММ 6330-2020 «Массовая доля аммиака и его метаболитов в пищевой продукции животного происхождения. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием», аттестована в соответствии с ГОСТ 8.010-2013.

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке и экспериментальному исследованию методики измерений.

В результате аттестации установлено, что методика измерений соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками при принятой доверительности вероятности P=0,95:

Аналит	Диапазон измерений массовой доли, мкг/г	Стандартное отклонение погрешности n, %	Стандартное отклонение пропускной способности n, %	Пределы погрешности	
				г, %	пропускной способности n, %
аммиак	0	4	4	23	23
ДМА	0	3	3	8	8
ДМО	0	4	4	6	10
ДМФ	0	6	6	10	16

Аналит	Диапазон измерений массовой доли, мкг/г	Стандартное отклонение погрешности n, %	Стандартное отклонение пропускной способности n, %	Пределы погрешности	
				г, %	пропускной способности n, %
аммиак	13	21	21	37	60
ДМА	3	3	3	9	9
ДМО	5	5	5	13	13
ДМФ	6	6	6	10	16

Установленные значения относительной расширенной неопределенности (P=0,95, k=2) результатов измерений аммиака и его метаболитов в пробках молока

Аналит	Массовая доля, мкг/г	
	От 1,0 до 3,0 мкг	От 3,0 до 10,0 мкг
аммиак	13	24
ДМА	15	13
ДМО	27	14
ДМФ	30	19

Установленные значения относительной расширенной неопределенности (P=0,95, k=2) результатов измерений аммиака и его метаболитов в пробках мяса, печени, молока

Аналит	Массовая доля, мкг/г	
	От 15,0 до 80,0 мкг	От 80,0 до 250,0 мкг
аммиак	61	33
ДМА	37	16
ДМО	20	17
ДМФ	46	17

Первый заместитель директора



N.V. Bakovec



**Информация о всех разработках
Центра доступна по ссылке:**
<https://rspch.by/ru/DevelopedDocuments>



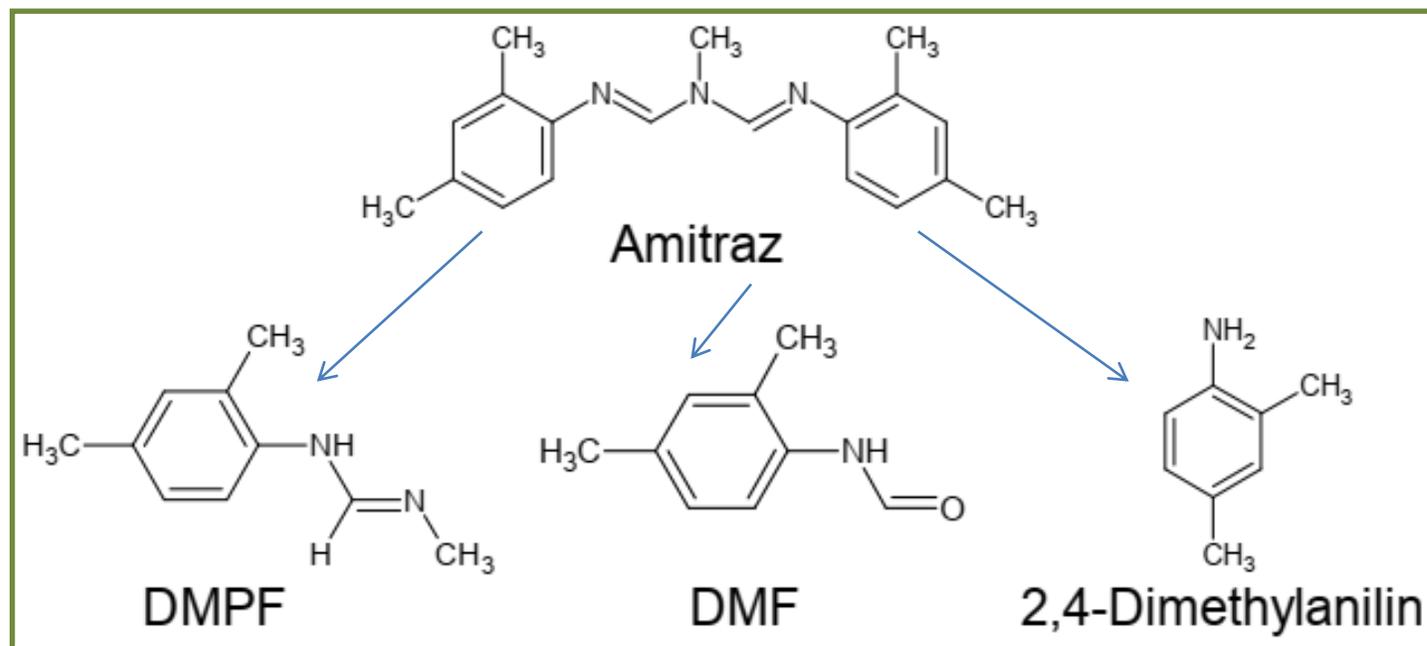
METHOD FOR DETERMINING OF AMITRAZ AND ITS METABOLITES IN ANIMAL PRODUCTS AND HONEY (MVI.MN 6330-2020)

Developers: Palianskikh Alena, Belyshava Ludmila, Bulgakava Volga



Scope of application: food safety control;

Purpose: quantitative determination of amitraz and its metabolites (2,4-dimethylaniline (DMA), N-(2,4-dimethylphenyl) -N'-methylformamidine (DMPF) and 2,4-dimethylformamidine (DMF)) in animal products and honey ;



Amitraz is used to treat varroaosis in farm animals and bees. Residual amounts of amitraz and its metabolites may be present in livestock products and honey.

Maximum permissible level (MPL) for amitraz and the amount of metabolites: from 0.01 to 0.40 mg / kg, depending on the type of food product.



Chromatography conditions

Agilent 1200 Chromatograph and Agilent 6410 Mass Spectrometer Detector

Stationary phase:	chromatographic column Poroshel HPH-C18 (4.6 mm □ 100 mm), grain size 2.7 μm,
Mobile phase of the composition	A (0.1% aqueous formic acid solution), B (0.01% acetonitrile ammonia solution)
Mobile phase supply conditions	gradient elution
Mobile phase feed rate	0,5 ml/min
Column oven temperature	40 °C
Injected sample volume	10 μl

Mass spectrometric detection parameters

Analyte	"Parental" ion, m/z	"Daughter" ions, m/z	Fragment tension, B	Collision energy, B
Amitraz	294,2	163,1 122,1	25	13 34
Amitraz-D3	297,2	166,1 122,1	30	14 38
DMA	122,1	107,1 79,1	70	18 26
DMPF	163,1	122,1 107,1	85	18 26
DMF	150,1	107,1 132,1	85	23 13



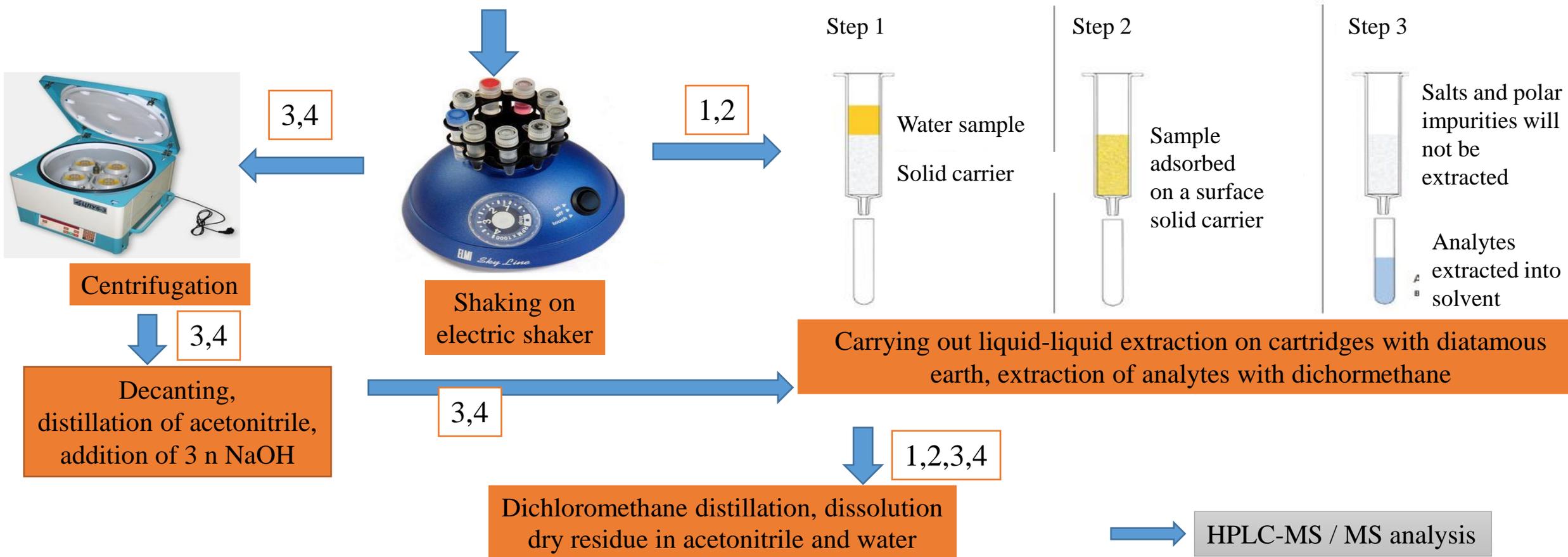
Sample preparation conditions

1) 1 g honey + water + internal standard + 3 n NaOH

2) 5 g milk + internal standard + 3 n NaOH

3,4) 1 g homogenized sample (liver, kidney) + water + internal standard + acetonitrile

Types of food products: 1) honey;
2) milk;
3) kidneys, liver;
4) raw fat





The proposed conditions allow:

- **to achieve the maximum response** and satisfactory chromatographic separation of amitraz and its main metabolites DMFP, DMF, DMA by using a chromatographic column filled with a reversed-phase sorbent resistant to destruction in a wide pH range, as well as a mobile phase consisting of an aqueous solution of formic acid and acetonitrile ammonia solution in a gradient eluent supply mode;
- **to achieve the maximum extraction** of four analytes from food products and the maximum purification of the extract from interfering impurities due to the stage of liquid-liquid extraction of analytes from aqueous solutions of honey samples on cartridges filled with diatomaceous earth using dichloromethane as an extractant;
- **to achieve concentration of analytes** by distilling off the solvent and dissolving the dry residue in acetonitrile and water of a smaller volume.

The range of determined values of the mass fraction of amitraz and its metabolites is:

for milk from 0.001 to 0.012 mg / kg,

for honey, liver, kidneys, raw fat - from 0.025 to 0.250 mg / kg.

Republican Unitary Enterprise «Scientific Practical Centre Of Hygiene»



Virtual exhibition of innovative developments «Hygiene safety»



Republic of Belarus, 220012
Minsk 8, Akademicheskaya Str.
Fax: +375 17 272-33-45

Scientific organization department

+375 17 310 72 91



rspch@rspch.by
edu@rspch.by

Educational centre

+375 17 399 87 24



www.rspch.by
www.certificate.by

Detailed information about the development:

Laboratory of Food Chemistry

+375 17 379-13-80
chf@rspch.by



Information about all developments
of the Centre is available at the link:
<https://rspch.by/ru/DevelopedDocuments>