ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

ТАМАҚ ӨНІМДЕРІ

Балық өнімдеріндегі гистаминнің мөлшерін анықтау әдісі

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах

ҚР СТ 2787-2015

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Тамақ өнімдері

БАЛЫҚ ӨНІМДЕРІНДЕГІ ГИСТАМИННІҢ МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ ӘДІСІ

ҚР СТ 2787-2015

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 «КазВод-Консалтинг» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі **ӘЗІРЛЕП ЕНГІЗДІ**

2 Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті Төрағасының 2015 жылғы 30 қарашадағы № 250-од бұйрығымен **БЕКІТІЛІП, ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗІЛДІ**

3. Осы стандарт ӘН 4.05.017-97 «Балық өнімдеріндегі гистаминнің құрамын анықтау бойынша әдістемелік нұсқаулар» ескеріліп әзірленді

4. Осы стандартта Қазақстан Республикасының 2004 жылғы 9 қарашадағы №603-II «Техникалық реттеу туралы» Заңының, Қазақстан Республикасының 1997 жылғы 11 шілдедегі №151-I «Қазақстан Республикасындағы тіл туралы» Заңының нормалары іске асырылды

5 БІРІНШІ ТЕКСЕРУ МЕРЗІМІ **2022 жыл**
ТЕКСЕРУ КЕЗЕҢДІЛІГІ **5 жыл**

6 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

Осы стандартқа енгізілетін өзгерістер туралы ақпарат жыл сайын басып шығарылатын «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар» ақпараттық сілтемесіне, ал өзгерістер мен түзетулердің мәтіні ай сайын басып шығарылатын «Ұлттық стандарттар» ақпараттық сілтемесіне жарияланады. Осы стандарт қайта қаралған (ауыстырылған) немесе жойылған жағдайда, тиісті хабарлама ай сайын басып шығарылатын «Ұлттық стандарттар» ақпараттық сілтемесіне жарияланады

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитетінің рұқсатынсыз ресми басылым ретінде Қазақстан Республикасы аумағында толықтай немесе бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Тамақ өнімдері

БАЛЫҚ ӨНІМДЕРІНДЕГІ ГИСТАМИННІҢ МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ ӘДІСІ

Енгізілген күні 2017-01-01

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт гистаминді этиологияның тағамнан уланудың алдын алу кезінде балық өнімдеріндегі гистаминнің мөлшерін анықтау әдісін белгілейді.

Осы стандарт [1], [2] сәйкес қауіпсіздікті қамтамасыз ету мақсатында гигиеналық бейінді институттардың және тұтынушылар құқықтарын қорғау органдарының зертханаларына арналған.

2 Нормативтік сілтемелер

Осы стандартты қолдану үшін мынадай сілтемелік нормативтік құжаттар қажет:

ҚР СТ 1174-2003 Нысандарды қорғауға арналған өрт сөндіру техникасы. Негізгі түрлері, орналасуы және жабдықталуы.

ГОСТ 12.1.004-91 Еңбек қауіпсіздігі стандарттарының жүйесі. Өрт қауіпсіздігі. Жалпы талаптар.

ГОСТ 12.1.005–88 Еңбек қауіпсіздігі стандарттарының жүйесі. Жұмыс аймағының ауасына қойылатын жалпы санитарлық-гигиеналық талаптар.

ГОСТ 12.1.007–76 Еңбек қауіпсіздігі стандарттарының жүйесі. Зиянды заттектер. Жіктелуі және жалпы қауіпсіздік талаптары.

ГОСТ 12.1.019-79 Еңбек қауіпсіздігі стандарттарының жүйесі. Электр қауіпсіздігі. Жалпы талаптар және қорғаныс түрлерінің номенклатурасы.

ГОСТ 1341-97 Өсімдік пергаменті. Техникалық шарттар.

ГОСТ 1770-74 Зертханалық өлшегіш шыны ыдыс. Цилиндрлер, өлшеуірлер, құтылар, шыны сынауықтар. Жалпы техникалық шарттар.

ГОСТ 2603–79 Реактивтер. Ацетон. Техникалық шарттар.

ГОСТ 3118-77 Реактивтер. Тұз қышқылы. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4025-95 Тұрмыстық еттартқыштар. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4328-77 Реактивтер. Натрий гидрототығы. Техникалық шарттар.

ГОСТ 6552-80 Реактивтер. Ортофосфорлық қышқыл. Техникалық шарттар.

ГОСТ 6709-72 Дистилденген су. Техникалық шарттар.

ГОСТ 6995-77 Реактивтер. Метанол-у. Техникалық шарттар.

ГОСТ 7631-2008 Балық, балық емес нысандар және олардан жасалған өнімдер. Органолептикалық және физикалық көрсеткіштерді анықтау әдістері.

ГОСТ 7730-89 Целлюлоза қабықшасы. Техникалық шарттар.

ГОСТ 8273-75 Орауыш қағаз. Техникалық шарттар.

ГОСТ 8756.0-70 Консервіленген тамақ өнімдері. Сынамаларды іріктеу және оларды сынаққа дайындау.

ГОСТ 9147-80 Зертханалық фарфор ыдыс және жабдық. Техникалық шарттар.

ГОСТ 12026-76 Сүзгіден өткізілген зертханалық қағаз. Техникалық шарттар.

ГОСТ 17308-88 Баулар. Техникалық шарттар.

ГОСТ 23932-90 Зертханалық фарфор ыдыстар мен жабдықтар. Жалпы техникалық шарттар.

ГОСТ 24104-2001 Зертханалық таразылар. Жалпы техникалық талаптар.

ГОСТ 25336-82 Зертханалық шыны стақандар және жабдық. Титері, негізгі параметрлері және өлшемдері.

ГОСТ 29227-91 Зертханалық шыны ыдыс. Бөліктелген тамызғыштар. 1-бөлім. Жалпы талаптар.

Ескертпе - Осы стандартты пайдалану кезінде сілтемелік стандарттар мен жіктеуіштердің қолданысын ағымдағы жылдағы жай-күйі бойынша жыл сайын басылып шығарылатын «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар» ақпараттық сілтемесі бойынша және ағымдағы жылда жарияланған тиісті ай сайын басылып шығарылатын ақпараттық сілтемелер бойынша тексерген дұрыс. Егер сілтемелік құжат ауыстырылса (өзгертілсе), онда осы стандартты пайдалану кезінде ауыстырылған (өзгертілген) стандартты басшылыққа алу керек. Егер сілтемелік құжат ауыстырылмай жойылса, онда оғансілтеме берілген ереже осы сілтемені қозғамайтын бөлікте қолданылады.

3 Терминдер мен анықтамалар

Осы стандартта [3], [4], ҚР СТ 2.1 сәйкес терминдер мен анықтамалар қолданылады.

4 Әдістің мәні

4.1 Гистаминді анықтаудың сандық әдісі дайындалған үлгіні метанолмен экстракциялауға, одан кейін сығындыны ион алмасқыш хроматография әдісімен тазалауға және калибрлеуші қисық салуға негізделген.

4.2 Әдістің табу шегі - 0,1 мг/кг, салыстырмалы стандартты ауытқу - 0,20 - 0,30. Үлгіге қосылған гистаминді алу дәрежесі 65 %-дан 85 %-ға дейін. Талдау ұзақтылығы - 3 сағ.

5 Өлшеу құралдары, қосалқы құрылғылар, реактивтер мен материалдар

5.1 Өлшеу құралдары

5.1.1. ГОСТ 24104 бойынша техникалық таразылар.

5.1.2. ГОСТ 24104 бойынша аналитикалық таразылар.

5.1.3. Флуоресценцияны анықтауға арналған өлшегіш салмасы бар спектрофотометр. Жарық сүзгілер: біріншісі λ = 365 нм тең, екіншісі λ = 465 нм тең. Мынадай сипаттамалары бар флуориметрді пайдалануға жол беріледі: жарық сүзгілер - біріншісі λ = 365 нм, екіншісі λ = 470 нм.

5.1.4. Қолданыстағы нормативтік құжаттамаға немесе өндірушінің құжаттамасы бойынша температуралар диапазоны 0 °С-тан 100 °С-қа дейінгі термометр.

5.1.5 ГОСТ 1770 бойынша номинал сыйымдылығы 50; 100; 250 $см^3$ өлшеуіш құтылар.

5.1.6. ГОСТ 1770 бойынша номинал сыйымдылығы 50 $см^3$ өлшеуіш цилиндрлер.

5.1.7. ГОСТ 29227 бойынша 2-2-2; 2-2-5; 2-2-10 бір белгісі бар тамшуырлар.

5.2 Қосалқы жабдықтар мен материалдар

5.2.1. ГОСТ 4025 бойынша еттартқыш.

5.2.2. Қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша ТР-2, РАТШ 64.1.-1505-63 типті тін микроүккіші немесе ГОСТ 9147 бойынша келісі бар фарфор ұнтақтағыш.

5.2.3. Қыздырғышты су моншасы.

5.2.4. Хроматографиялық шыны колонка 60 × 30 мм;

5.2.5. ГОСТ 23932 бойынша номинал сыйымдылығы 50; 100 $см^3$ түбі тегіс конустық

құтылар.

5.2.6. ГОСТ 23932 бойынша дефлегматорлық саптама;

5.2.7. ГОСТ 25336 бойынша номинал сыйымдылығы 600 $см^3$ химиялық стақандар.

5.2.8. ГОСТ 23932 бойынша диаметрі 60 мм химиялық құйғыштар.

5.2.9. ГОСТ 12026 бойынша сүзгіш қағаз.

5.2.10. 2°С-тан минус 10 °С дейінгі температурада сынамаларды сақтауды қамтамасыз ететін тұрмыстық тоңазытқыш.

5.3 Реактивтер

5.3.1. Қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша Анионит АРА-12п (Cl-нысан; фракция 0,25 - 0,10 мм) ион алмасқыш шайыр.

5.3.2. Қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша «т» фтальды альдегид.

5.3.3. ГОСТ 3118 бойынша тұз қышқылы, тұт;

5.3.4. ГОСТ 6552 бойынша ортофосфорлық қышқыл, т;

5.3.5. ГОСТ 4328 бойынша ащы натр, тұт.

5.3.6. ГОСТ 6995 бойынша метил спирті, хт.

5.3.7. Қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша гистамин немесе гистамин хлоргидраты.

5.3.8. ГОСТ 2603 бойынша ацетон.

5.3.9. ГОСТ 6709 бойынша дистилденген су.

Ескертпе – Ұқсас немесе одан жақсы метрологиялық сипаттамаларға ие, басқа нормативтік-техникалық құжаттама бойынша дайындалған, оның ішінде импорттық, басқа түрлі өлшеу құралдарын, басқа ыдысты, қосалқы жабдықты, реактивтерді және материалдарды пайдалануға жол беріледі.

6 Қауіпсіздік талаптары

6.1 Талдаулар жүргізу кезінде талаптарды сақтау қажет:

- ГОСТ 12.1.007 бойынша химиялық реактивтермен жұмыс істеу кезіндегі қауіпсіздік техникасы;
- ГОСТ 12.1.019 бойынша электр қондырғылармен жұмыс істеу кезіндегі электр қауіпсіздігі.

Жұмыс аймағының ауасындағы зиянды заттектердің құрамы ГОСТ 12.1.005 бойынша жол берілген шекті коонцентрациялардан аспау керек.

Зертхана бөлмесі ГОСТ 12.1.004 бойынша өрт қауіпсіздігі талаптарына сәйкес болу керек және ҚР СТ 1174 бойынша өрт сөндіру құралдары болу керек.

Жұмысшылардың еңбек қауіпсіздігіне оқытату ГОСТ 12.0.004 бойынша ұйымдастырылу керек.

6.2 Пайдаланылған ерітінділер кәсіпорында белгіленген тәртіп бойынша кәдеге жаратылады.

6.3 Реактивтермен және ерітінділермен жүргізілетін барлық жұмыстар желдету қосылған сорып шығатын шкафта жүргізіледі.

6.4 Экологиялық қауіпсіздік бойынша қосымша талаптар қойылмайды.

7 Оператордың біліктілігіне қойылатын талаптар

Өлшеулерді жүргізуге және олардың нәтижелерін өңдеуге жоғары немесе арнайы химиялық орта білімі бар, немесе химиялық зертханада жұмыс тәжірибесі бар, сәйкес нұсқаулықтан өткен, талдау әдісін меңгерген және өлшеулер дәлдігін бақылау процедурасынан оң нәтижемен өткен маманға рұқсат береді.

8 Өлшеулер жүргізу шарттары

Өлшеулерді қоршаған ортаның жағдайлары мынадай болғанда жүргізген жөн:

- ауа температурасы (20 ± 5) °С;
- атмосфералық қысым 84,0 кПа-дан 106,7 кПа дейін (630 с.б.мм-нен 800 с.б.мм дейін);
- ауа ылғалдылығы 25 °С температурада 80 %-дан артық емес;
- желі кернеуі (220 ± 10) В;
- айнымалы ток жиілігі (50 ± 1) Гц.

9 Өлшеулер жүргізуге дайындық

9.1 Сынамаларды іріктеу және сақтау талаптары

9.1.1 Сынамаларды ГОСТ 7631, ГОСТ 8756.0 бойынша іріктеу.

9.1.2 Балықтың, балық өнімдерінің, теңіз сүтқоректілерінің және омыртқасыздардың іріктелген үлгілері ГОСТ 1341 бойынша жеке-жеке пергаменттік қағазға немесе ГОСТ 7730 бойынша целлофанға оралып, ГОСТ 8273 бойынша қалың орауыш қағазға оралып, ГОСТ 17308 бойынша баумен байлану керек.

Ескертпе - Қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша берік кептелген шыны немесе тығыз қыртыс тығыны бар таза шыны құтыларды пайдалануға жол беріледі.

9.1.3 Үлгілер іріктелген соң бірден зертханаға жеткізілуге, ұзақ уақыт тасымалданатын жағдайда олар 2 °С-тан минус 4 °С-қа дейінгі температураға дейін салқындатылуға тиіс.

9.1.4 Осы мақсатта ГОСТ 26678 және басқа қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша тұрмыстық тоңазытқыштар немесе сәйкес құралдар пайдаланылуға тиіс.

9.1.5 Үлгілерді зертханаға жеткізген күні оларды зерттеуге кірісу қажет. Ондай мүмкіндік болмаған жағдайда, үлгілер осы өнімді сақтау үшін қарастырылған температурада, бірақ орташа үлгіні іріктеу уақытынан бастап 3 тәуліктен аспайтын мерзімге сақталуға тиіс.

9.2 Үлгіні зерттеуге дайындау

9.2.1 Зерттеу жүргізу үшін іріктелген балықтың мұзын ерітеді, механикалық ластанулар мен қабыршағынан тазалайды. Балықты жууға жол берілмейді.

9.2.2 Ірі балықты зерттеу үшін терісі мен сүйектері жоқ еті ғана пайдаланылады. Ұсақ балықты тұтастай зерттейді.

9.2.3 Әрбір бөлектелген балық данасының салмағы 500 г жоғары болғанда, бөлектеген соң әрі қарай ұсақтау үшін балықтың бір ғана бойлық жартысын алады.

9.2.4 Балықтың бір бойлық жартысының салмағы 1 кг артық болғанда, оны ені 2 см-ден 4 см-ге дейін бойлық кесектерге кеседі және талдау үшін еттің барлық кесектер санының жартысынан бір кесектен кейінгі кесегі алынады.

9.2.5 Балықтың іріктелген үлгісін неғұрлым тездетіп екі рет еттартқыштан өткізеді, фаршты жақсылап араластырады және әртүрлі жерінен таңдалған әдістің жазылуына сәйкес навеска таңдайды.

9.2.6 Балық консервілерін немесе теңіз жануарларының консервілерін зерттеу кезінде орташа үлгі ретінде таңдалған барлық құтылардың ішінен, құрамдас бөліктерінің (сұйық және қатты) қатынасын анықтаған соң, бір жалпы сынама дайындайды:

а) дәмдеуіштер (пияз, бұрыш және т.б.) балықтан алынып тасталу керек;

б) консервілердің қатты бөлігін ГОСТ 4025 бойынша тездетіп екі рет еттартқыштан өткізеді, сұйық бөлігімен араластырады және ГОСТ 4127 бойынша фарфор ұнтақтағышта бөлектеп, біртекті масса қалпына дейін ұнтақтайды. Құймасы, тұздығы бар консервілерді қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша тіндерді микроүккіште ұсақтауға жол беріледі. Осылайша дайындалған сынамадан келесі анықтаулар үшін өлшенділер іріктеп алынады.

9.2.7 Өнімнің орташа үлгілері талдау аяқталғанға дейін; белгіленген гигиеналық нормадан жоғары мөлшерде гистамин анықталған жағдайда, зерттеулер нәтижелерін сәйкес мекемелерге тапсырғанға дейін және қажетті профилактикалық шаралар қолданылғанға дейін тоңазытқышта сақталады.

9.3 Реактивтер ерітінділерін дайындау

9.3.1 Анионита АРА-12п (Cl-нысан; фракция 0,25 - 0,10 мм) ион алмасқыш шайырды дайындау.

9.3.1.1 Шайырды ОН-нысанға ауыстыру үшін оның 100 г химиялық стақанға салады, үстінен 150 мл 2 н ащы натр құяды, араластырады және 30 мин қалдырады. Сұйықтықты төгеді және қайтадан сілті қосады. Шаю процедурасын екі рет қайталайды. Дистилденген сумен pH 7 – 8 дейін шайырды жақсылап шаяды. Шайырды судың астында сақтайды.

9.3.1.2 Талдау жүргізген соң шайырды келесідей регенерациялайды: 1 н тұз қышқылын құяды, 10-15 мин ұстайды, ерітіндіні төгеді. Шайырды қышқылмен өңдеуді екі рет қайталайды. Бейтарап реакцияға дейін дистилденген сумен шаяды және жоғарыда көрсетілген тәсілмен шайырды ОН-нысанға ауыстырады.

9.3.2 Негізгі ерітіндіні дайындау

9.3.2.1 Құрамында 10 мкг/мл гистамині бар негізгі ерітінді дайындау үшін 2,5 мг гистаминді 250 мл өлшеуіш колбада 0,1 н тұз қышқылында ерітеді. 1, 2 және 3 мл негізгі ерітіндіні 100 $см^3$ өлшеуіш колбаға салады, 0,1 н тұз қышқылымен белгіле дейін толтырады және концентрациялары сәйкесінше 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, және 0,3 мкг/мл жұмыс ерітінділерін алады.

9.3.2.2 Гистаминнің негізгі ерітіндісін тоңазытқышта бір апта сақтайды, жұмыс ерітінділері күнделікті дайындалады.

9.4 Өлшеулер жүргізу

9.4.1 Шайғындау

9.4.1.1 Дайындалған үлгінің 10 навескасын (дәлдігі 0,01 г) тіндерді микроұсақтау құтысына салады, ГОСТ 6995 бойынша 25 $см^3$ метанол қосады және 5 мин араластырады.

9.4.1.2 Алынған қоспаны ГОСТ 23932 бойынша 100 $см^3$ түбі тегіс конустық құтыға ауыстырады, ГОСТ 6995 бойынша 15 - 20 мл метанолды араластырғыш құтыны шаяды, ГОСТ 23932 бойынша дефлегматормен жабдықталған құтыға төгеді, және 60 °С дейін су моншасында 15 минут қыздырады, содан кейін бөлме температурасына дейін суытады және ГОСТ 12026 бойынша бүктелген қағаз сүзгіден ГОСТ 1770 бойынша 50 $см^3$ өлшеуіш құтыға сүзгілейді.

9.4.1.3 Тұнбаны метанолмен шаяды және сығынды көлемін белгіге дейін келтіреді. Метанол сығындысын тоңазытқышта бірнеше апта сақтауға болады.

9.4.2 Сығындыны тазалау

9.4.2.1 Шыны хроматографиялық колонкаға (60×30 мм) биіктігі 40 мм баған түзілгенге дейін Анионит АРА-12п ион алмасқыш шайырдың суспензиясын құяды және ГОСТ 6709 бойынша 20 мл дистилденген сумен шаяды. Су шайырды үнемі жауып тұру керек.

9.4.2.2 5 мл метанол сығындысын жағады, 5 мл 1 н тұз қышқылын қосады, баған арқылы өткізеді және 35 мл элюат алынғанға дейін дистилденген сумен элюирлейді. Элюатты тоңазытқышта сақтау керек.

9.5 Калибрлеу қисығын құру

9.5.1 10 $см^3$ әрбір жұмыс ерітіндісін 50 $см^3$ құтыларға құяды, 10 $см^3$ 0,1 және тұз қышқылын, 3 мм 1 н ащы натрды қосады және араластырады.

Араластырған кезде о-фтальды альдегидтің 1 $см^3$ 0,1 % метанол ерітіндісін құяды, 4 минуттан соң 3 $см^3$ 3,47 н фосфор қышқылын қосады және бөлме температурасында 1,5 сағатқа қалдырады.

$\lambda_{қозу}$ = 365 нм, $\lambda_{эмиссия}$= 465 нм болғанда, гистаминнің стандартты жұмыс ерітінділерінің флуоресценция қарқындылығын өлшейді.

9.5.2 Алынған деректер негізінде флуоресценция қарқындылығының ерітіндідегі гистаминнің концентрациясына калибрлеуді тәуелділік қисығы салынады. Абсциссалар осінің әрбір бөлігі 1 $см^3$ ерітіндідегі 0,02 мкг гистаминге сәйкес келеді.

9.6 Өлшеулер нәтижелерін есептеу

Балықтағы гистаминнің мөлшері Г (мг/кг) (1) формула бойынша есептеледі:

$$Г = \frac{С \times А \times В \times Ф}{Б \times Р} \qquad (1)$$

мұндағы С – калибрлеу қисығы арқылы табылған, үлгі ерітіндісіндегі гистаминнің концентрациясы, мкг/мл;

Р – талдау үшін алынған үлгінің өлшендісі, г (10 г);

А – метанол сығындысының көлемі, мл (50 мл);

Б – баған арқылы өткізілген метанол сығындысының саны, мл (5 мл);

В - элюат көлемі, мл (35 мл);

Ф- өсіру факторы (2) формуласы бойынша есептеледі:

$$\frac{\text{мл элюата 1 мл 0,1 н HCl}}{\text{мл элюата}} \qquad (2)$$

Библиография

[1] КО ТР 021/2011 Тамақ өнімдерінің қауіпсіздігі туралы (Кеден одағының 2011 жылғы 9 желтоқсандағы № 880 Комиссия шешімімен бекітілген).

[2] Қазақстан Республикасы Үкіметінің Жарғысымен бекітілген 2009 жылғы 19 маусымдағы № 743 «Балық және балық өнімдерінің қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» техникалық регламенті.

[3] Қазақстан Республикасының 2007 жылғы 21 шілдедегі № 301-III «Тамақ өнімдерінің қауіпсіздігі туралы» Заңы.

[4] Қазақстан Республикасының 2000 жылғы 07 маусымдағы № 53-II «Өлшем бірлігін қамтамасыз ету туралы» Заңы.

ӘОЖ 001.4:637.56:006.354 **МСЖ 67.120.30**

Түйінді сөздер: гистамин, балық өнімдері, экстракция, метанол ерітіндісі, негізгі ерітінді, өлшенді, флуоресценция қарқындылығы.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах

СТ РК 2787-2015

Издание официальное

Комитет технического регулирования и метрологии
Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан
(Госстандарт)

Астана

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Товариществом с ограниченной ответственностью «КазВод-Консалтинг»

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан от 30 ноября 2015 года № 250-од

3 Настоящий стандарт разработан с учетом МУ 4.05.017-97 «Методические указания по определению содержания гистамина в рыбопродуктах»

4 В настоящем стандарте реализованы нормы Закона Республики Казахстан «О техническом регулировании» № 603-II от 9 ноября 2004 года, Закона Республики Казахстан «О языках в Республике Казахстан» N 151-I от 11 июля 1997 года.

5 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ **2022 год**
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ **5 лет**

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты»

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах

Дата введения 2017-01-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах при профилактике и пищевых отравлениях гистаминной этиологии.

Настоящий стандарт предназначен для лабораторий институтов гигиенического профиля и органов санитарно-эпидемиологического надзора с целью обеспечения безопасности пищевой продукции в соответствии с [1], [2].

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

СТ РК 1174-2003 Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды, размещение и обслуживание.

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.

ГОСТ 12.1.005–88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.

ГОСТ 12.1.007–76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

ГОСТ 12.1.019-79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ 1341-97 Пергамент растительный. Технические условия.

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 2603–79 Реактивы. Ацетон. Технические условия.

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4025-95 Мясорубки бытовые. Технические условия.

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия.

ГОСТ 6552-80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 6995-77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия.

ГОСТ 7631-2008 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей.

ГОСТ 7730-89 Пленка целлюлозная. Технические условия.

ГОСТ 8273-75 Бумага оберточная. Технические условия.

ГОСТ 8756.0-70 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию.

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия.

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия.

ГОСТ 17308-88 Шпагаты. Технические условия.

ГОСТ 23932-90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие

технические условия.

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические требования.

ГОСТ 25336-82 Стаканы и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

Примечание - При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по ежегодно издаваемому информационному указателю «Указатель нормативных документов по стандартизации» по состоянию на текущий год и соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применяются термины и определения в соответствии с с СТ РК 2.1 и [3], [4].

4 Сущность метода

4.1 Количественный метод определения гистамина основан на экстракции подготовленного образца метанолом с последующей очисткой экстракта методом ионообменной хроматографии и построением калибровочной кривой.

4.2 Предел обнаружения метода составляет 0,1 мг/кг, относительное стандартное отклонение - 0,20 - 0,30. Степень извлечения добавленного к образцу гистамина от 65 % до 85 %. Продолжительность анализа - 3 ч.

5 Средства измерения, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

5.1 Средства измерений

5.1.1 Весы технические с пределом допускаемой абсолютной погрешности по ГОСТ 24104.

5.1.2. Весы аналитические с пределом допускаемой абсолютной погрешности по ГОСТ 24104.

5.1.3 Спектрофотометр с измерительной приставкой для определения флуоресценции. Светофильтры: первичный с λ = 365 нм, вторичный с λ = 465 нм. Допускается использование флуориметра со следующими характеристиками: светофильтры - первичный λ = 365 нм, вторичный λ = 470 нм.

5.1.4. Термометр с диапазоном температур от 0 °С до 100 °С по действующей нормативной документации или по документации производителя.

5.1.5 Колбы мерные номинальной вместимостью 50; 100; 250 $см^3$ с пределом допускаемой абсолютной погрешности по ГОСТ 1770.

5.1.6. Цилиндры мерные номинальной вместимостью 50 $см^3$ с пределом допускаемой абсолютной погрешности по ГОСТ 1770.

5.1.7 Пипетки с одной отметкой 2-2-2; 2-2-5; 2-2-10 с пределом допускаемой абсолютной погрешности по ГОСТ 29227.

5.2 Вспомогательные материалы и оборудование

5.2.1 Мясорубка по ГОСТ 4025.

5.2.2 Микроразмельчитель тканей по действующей нормативной документации или фарфоровая ступка с пестиком по ГОСТ 9147.

5.2.3 Баня водяная с нагревателем.

5.2.4. Колонка хроматографическая стеклянная 60 × 30 мм.

5.2.5. Колбы конические плоскодонные номинальной вместимостью 50; 100 $см^3$ по ГОСТ 23932.

5.2.6 Дефлегматорная насадка по ГОСТ 23932.

5.2.7 Стаканы химические номинальной вместимостью 600 $см^3$ по ГОСТ 25336.

5.2.8 Воронки химические диаметром 60 мм по ГОСТ 23932.

5.2.9. Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

5.2.10 Холодильник бытовой, обеспечивающий хранения проб при температуре от 2 °С до минус 10 °С.

5.3 Реактивы

5.3.1 Ионообменная смола по действующей нормативной документации.

5.3.2 Фталевый альдегид «ч» по действующей нормативной документации.

5.3.3 Соляная кислота, чда, по ГОСТ 3118;

5.3.4 Ортофосфорная кислота, ч, по ГОСТ 6552;

5.3.5 Натр едкий, чда, по ГОСТ 4328.

5.3.6 Метиловый спирт, хч, по ГОСТ 6995.

5.3.7 Гистамин или хлоргидрат гистамина по действующей нормативной документации.

5.3.8 Ацетон по ГОСТ 2603.

5.3.9 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Примечание – Допускается применение других типов средств измерений с аналогичными или лучшими метрологическими характеристиками, другой посуды, вспомогательного оборудования, реактивов и материалов, изготовленных по другой нормативно-технической документации, в том числе импортных.

6 Требования безопасности

6.1 При выполнении анализов необходимо соблюдать требования:

- техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007;
- электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать предельно допустимых концентраций по ГОСТ 12.1.005.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по СТ РК 1174.

Организация обучения персонала, требованиям безопасности труда, должна проводиться по ГОСТ 12.0.004.

6.2 Отработанные растворы утилизируют в установленном на предприятии порядке.

6.3 Все работы с реактивами и растворами проводят в вытяжном шкафу при включенной вентиляции.

6.4 Дополнительных требований по экологической безопасности не предъявляется.

7 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают специалиста, имеющего высшее или среднее специальное химическое образование, или опыт работы в химической лаборатории, прошедшего соответствующий инструктаж, освоившего метод анализа и прошедший процедуры контроля точности измерений с положительным результатом.

8 Условия выполнения измерений

Выполнение измерений следует проводить при следующих условиях окружающей среды:

- температура воздуха (20 ± 5) °С;
- атмосферное давление от 84,0 кПа до 106,7 кПа (от 630 до 800 мм рт.ст.);
- влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С;
- напряжение в сети (220 ± 10) В;
- частота переменного тока (50 ± 1) Гц.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Требования по отбору и хранению проб

9.1.1 Отбор проб по ГОСТ 7631, ГОСТ 8756.0.

9.1.2 Отобранные образцы рыбы, продуктов из рыб, морских млекопитающих и беспозвоночных должны быть упакованы каждый в отдельности в пергаментную бумагу по ГОСТ 1341 или целлофан по ГОСТ 7730, затем в плотную оберточную бумагу по ГОСТ 8273 и перевязаны шпагатом по ГОСТ 17308.

Примечание- Допускается использование чистых стеклянных банок с притертыми стеклянными или плотными корковыми пробками по действующей нормативной документации.

9.1.3 Образцы должны быть доставлены в лабораторию сразу после отбора, в случае длительной транспортировки они должны быть охлаждены до температуры от 2 °С до минус 4 °С.

9.1.4 Для охлаждения образцов используются холодильники бытовые по ГОСТ 26678 и другой действующей нормативной документации или соответствующие приспособления.

9.1.5 К исследованию образцов необходимо приступить в день доставки их в лабораторию. При отсутствии такой возможности образцы должны храниться при температуре, предусмотренной для хранения данной продукции, но не более 3 суток со времени отбора среднего образца.

9.2 Подготовка образца к исследованию

9.2.1 Рыбу, отобранную для исследования, размораживают, очищают от механических загрязнений и чешуи. Обмывание рыбы не допускается.

9.2.2 Для исследования крупной рыбы используют только мясо без кожи и костей. Мелкую рыбу исследуют целиком.

9.2.3 При весе каждого неразделанного экземпляра рыбы свыше 500 г после разделки берут для дальнейшего измельчения только одну продольную половину рыбы.

9.2.4 При весе одной продольной половины рыбы свыше 1 кг ее разрезают на

поперечные куски шириной от 2 до 4 см и берут для анализа мясо от половины всего числа кусков через один.

9.2.5 Отобранный образец рыбы дважды пропускают, как можно быстрее, через мясорубку; фарш тщательно перемешивают и из разных мест отбирают навеску в соответствии с прописью избранного метода.

9.2.6 При исследовании консервов из рыб или морских животных из содержимого всех банок, выделенных в качестве среднего образца, после определения соотношения составных частей (жидкой и твердой) готовят одну общую пробу:

а) специи (лук, перец и др.) должны быть удалены из рыбы;

б) твердую часть консервов быстро пропускают два раза через мясорубку по ГОСТ 4025, смешивают с жидкой частью и растирают по частям в фарфоровой ступке по ГОСТ 4127 до состояния однородной массы. Консервы, имеющие заливку, рассол, допускается измельчать на микроизмельчителе тканей по действующей нормативной документации. Из подготовленной таким образом пробы отбирают навески для последующих определений.

9.2.7 Средние образцы продукции сохраняются в холодильнике до конца анализа; в случае обнаружения гистамина в количестве выше установленной гигиенической нормы - до вручения результатов исследований в соответствующие учреждения и принятия необходимых профилактических мер.

9.3 Приготовление растворов реактивов

9.3.1 Приготовление ионообменной смолы.

9.3.1.1 Для перевода смолы в ОН-форму 100 г ее помещают в химический стакан, заливают 150 мл 2 н едкого натра, перемешивают и оставляют на 30 мин. Сливают жидкость и вновь добавляют щелочь. Повторяют процедуру промывания дважды. Тщательно отмывают смолу дистиллированной водой до pH 7 - 8. Смолу хранят под водой.

9.3.1.2 После проведения анализа смолу регенерируют следующим образом: заливают 1 н соляной кислотой, выдерживают 10 - 15 мин, раствор сливают. Обработку смолы кислотой повторяют дважды. Промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции и переводят смолу в ОН-форму вышеуказанным способом.

9.3.2 Приготовление основного раствора.

9.3.2.1 Для приготовления основного раствора, содержащего 10 мкг/мл гистамина:

- 2,5 мг гистамина растворяют в 0,1 н соляной кислоте в мерной колбе на 250 мл.;
- 1, 2 и 3 мл основного раствора помещают в мерные колбы на 100 $см^3$, доводят 0,1 н соляной кислотой до метки и получают рабочие растворы с концентрациями 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл и 0,3 мкг/мл соответственно.

9.3.2.2 Основной раствор гистамина хранят в холодильнике неделю, рабочие растворы готовятся ежедневно.

9.4 Выполнение измерений

9.4.1 Экстракция.

9.4.1.1 Навеску 10 г (с точностью 0,01 г), приготовленного образца помещают в сосуд микроразмельчителя тканей, добавляют 25 $см^3$ метанола по ГОСТ 6995 и перемешивают 5 мин.

9.4.1.2 Полученную смесь переносят в плоскодонную коническую колбу на 100 $см^3$ по ГОСТ 23932, ополаскивают сосуд смесителя 15 - 20 мл метанола по ГОСТ 6995, сливают в колбу по ГОСТ 23932, снабженную дефлегматором, и нагревают на водяной

бане до 60 °С 15 минут; затем охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через складчатый бумажный фильтр по ГОСТ 12026 в мерную колбу по ГОСТ 1770 на 50 $см^3$.

9.4.1.3 Осадок промывают метанолом и доводят до метки объем экстракта. Метанольный экстракт можно хранить в холодильнике несколько недель.

9.4.2 Очистка экстракта.

9.4.2.1 В стеклянную хроматографическую колонку 60 × 30 мм заливают суспензию ионообменной смолы до образования столбика высотой 40 мм и промывают 20 мл дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Вода должна покрывать смолу постоянно.

9.4.2.2 Наносят 5 мл метанольного экстракта, добавляют 5 мл 1 н соляной кислоты, пропускают через колонку и элюируют дистиллированной водой до получения 35 мл элюата. Элюат следует хранить в холодильнике.

9.5 Построение калибровочной кривой

9.5.1 По 10 $см^3$ каждого рабочего раствора вносят в колбы на 50 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ 0,1 н соляной кислоты, 3 мм 1 н едкого натра и смешивают.

При перемешивании вносят 1 $см^3$ 0,1%-го метанольного раствора о-фталевого альдегида, через 4 минуты добавляют 3 $см^3$ 3,47 н фосфорной кислоты и оставляют на 1,5 часа при комнатной температуре.

Измеряют интенсивность флуоресценции рабочих стандартных растворов гистамина при $\lambda_{возбуждения}$ = 365 нм, $\lambda_{эмиссии}$= 465 нм.

9.5.2 На основании полученных данных строится калибровочная кривая зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации гистамина в растворе. Каждое деление оси абсцисс соответствует 0,02 мкг гистамина в 1 $см^3$ раствора.

9.6 Вычисление результатов измерений

Содержание гистамина в рыбе Г (в мг/кг) вычисляется по формуле (1):

$$Г = \frac{С \times А \times В \times Ф}{Б \times Р} \qquad (1)$$

где С - концентрация гистамина в растворе образца, найденная по калибровочной кривой, мкг/мл;

Р - навеска образца для анализа в г (10 г);

А - объем метанольного экстракта в мл (50 мл);

Б - количество метанольного экстракта, пропущенного через колонку в мл (5 мл);

В - объем элюата в мл (35 мл);

Ф - фактор разведения вычисляется по формуле (2):

$$\frac{\text{мл элюата 1 мл 0,1 н HCl}}{\text{мл элюата}} \qquad (2)$$

Библиография

[1] ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции (утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 880).

[2] Технический регламент «Требования к безопасности рыбы и рыбной продукции», утвержденный Постановлением Правительства Республики Казахстан от 19 мая 2009 года № 743.

[3] Закон Республики Казахстан от 21 июля 2007 г. № 301-III «О безопасности пищевой продукции».

[4] Закон Республики Казахстан от 07 июня 2000 г. № 53-II «Об обеспечении единства измерений».

УДК 001.4:637.56:006.354 **МКС 67.120.30**

Ключевые слова: гистамин, рыбопродукты, экстракция, метанольный раствор, основной раствор, навеска, интенсивность флуоресценции.

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Орынбор көшесі, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 79 33 24

gost.e-ecolog.ru