ГОСУДАРСТВЕННОЕ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СБОРНИК

МЕТОДИЧЕСКИХ ДОКУМЕНТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКОНА ОТ 12.06.08 №88-ФЗ

«Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 7

МОСКВА 2009

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Сборник методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 7

ББК 51.23
С23

С23 **Сборник** методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию»:.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—80 с.

ISBN 5—7508—0771—1

В сборник включены методические документы, содержащие правила и методы исследований (испытаний) и измерений, а также правила отбора образцов для проведения исследований (испытаний) и измерений, в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 08.12.2008 № 67.

ББК 51.23

Технический редактор Г. И. Климова

Подписано в печать 13.04.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 5,0

Тираж 200 экз. Заказ 26

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

ISBN 5—7508—0771—1

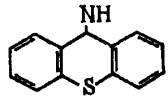
© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

Содержание

Определение амидофоса в молоке и мясе тонкослойной хроматографией 4
Определение ДДТ, ДДЭ, ДДД, линдана и ТХМ-3 в молоке и молочных продуктах газожидкостной хроматографией 8
Определение ДДВФ в молоке и воде газохроматографическим и колориметрическим методами 12
Определение диазинона и дурсбана в молоке и тканях животных газожидкостной хроматографией 18
Определение метил- и этилмеркурхлорида в продуктах животного происхождения, кормах и почве газожидкостной хроматографией 21
Определение альфа- и гамма-изомеров гексахлорциклогексана в кормах и продуктах животноводства газожидкостной хроматографией 26
Определение гамма- изомера гексахлорциклогексана и фенотиазина в продуктах животного происхождения тонкослойной хроматографией 29
Ускоренное определение ДДТ в пищевых продуктах 34
Определение полихлоркамфена в кормах, продуктах животноводства и птицеводства газожидкостной хроматографией 38
Определение байтекса в молоке и мясе тонкослойной хроматографией 41
Колориметрическое определение хлорофоса в продуктах растительного происхождения (капуста, картофель, зерно, огурцы, яблоки) и молоке 45
Определение хлорофоса в воде, фруктах, овощах, молоке, мясе и кормах хроматографией в тонком слое 51
Определение остаточных количеств севина в молоке и молочных продуктах методом газожидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов 56
Методика определения варбекса в молоке и тканях животных с помощью газо-жидкостной хроматографии 61
Методические указания по определению ДДВФ в молоке и воде методом газо-жидкостной хроматографии 64
Методические указания по определению метил- и этилмеркурхлорида в пищевых продуктах, кормах и почве методом газовой хроматографии 67
Методические указания по определению хлорорганических пестицидов в сырье для производства детских сухих молочных смесей 72
Методические указания по определению диквата в воде, молоке фотометрическим методом 76

Определение гамма- изомера гексахлорциклогексана и фенотиазина в продуктах животного происхождения тонкослойной хроматографией

Химически чистый препарат фенотиазина (тиофениламин, дибензоимазин) представляет собой бесцветное или слегка желтоватое кристаллическое вещество. Относительная молекулярная масса 199,26. Температура плавления фенотиазина (180—181 °С. Он хорошо растворяется в ряде органических растворителей (хлороформ, диметилформамид, бензол, ацетон), мало растворим в этаноле, петролейном эфире, практически нерастворим в воде.



Фенотиазин

Фенотиазин легко окисляется, особенно на солнце и во влажных условиях. Такие окислители, как перекись водорода, марганцово-кислый калий, гипохлорит калия, хромовый ангидрид, нитрит натрия, окисляют фенотиазин до сульфоксидов и сульфонов. При взаимодействии фенотиазина с дымящей азотной кислотой образуются динитропроизводные (2,7-динитрофенотиазин и др.). Поступающие в продажу препараты фенотиазина обычно содержат 1 % нетоксичного продукта окисления, который имеет зеленый цвет.

Принцип метода. Метод* основан на извлечении гамма-изомера ГХЦГ и фенотиазина из пищевого продукта органическими растворителями, удалении мешающих определению примесей путем жидкостного перераспределения, очистке экстракта на активированной окиси алюминия и хроматографировании в тонком слое силикагеля. Минимально детектируемое количество в хроматографируемом объеме 0,2 мкг гамма-изомера ГХЦГ и 0,1 мкг фенотиазина. Чувствительность метода для гамма-изомера ГХЦГ и фенотиазина 0,003 мг в пробе или 0,12 мг/кг продукта. Полнота определения 75—80 %. Количественное определение

---

* З. Н. Богомолова, А. М. Тарасова (Институт питания АМН СССР, М.).

с достаточной точностью можно проводить при содержании 20—30 мкг препаратов и пробе.

Реактивы и растворы

Алюминия окись безводная или II степени активности, активированная в течение 4 ч при 600—800 °С и деактивированная перед употреблением водой (5 % воды к массе окиси алюминия) посредством растирания и ступке.

Ацетон хч перегнанный.

н-Гексан хч перегнанный.

н-Гексан хч перегнанный, насыщенный диметилформамидом.

Смесь гексана с ацетоном (2 : 1).

Диэтиловый эфир хч

1 %-ный раствор дифениламина в ацетоне.

Диметилформамид чистый, насыщенный *н*-гексаном.

Натрий серно-кислый безводный чда и его 2 %-ный водный раствор.

Пластинки для хроматографии Силуфол производства ЧССР.

Стандартные растворы гамма-изомера ГХЦГ в гексане (100 мкг/мл и 10 мкг/мл) и фенотиазина и хлороформе (100 мкг/мл и 10 мкг/мл).

Подвижный растворитель (гексан + диэтиловый эфир + уксусная кислота, 75 : 25 : 2).

Уксусная кислота ледяная.

Приборы и посуда

Аппарат для встряхивания.

Воронки делительные вместимостью 150 и 500 мл.

Воронки Бюхнера диаметром 100—120 мм.

Ртутно-кварцевая лампа ПРК-4 или ПРК-2 (источник ультрафиолетового света).

Колбы Бунзена вместимостью 300—500 мл.

Колбы для экстракции на 700—1000 мл.

Колбы круглодонные на 50, 150 и 250 мл.

Колонка хроматографическая стеклянная 470 × 10 мм. В узкий конец колонки помещают ватный тампон и наливают взвесь, 10 г деактивированной окиси алюминия в гексане. После осаждения адсорбента и его уплотнения в результате разрежения, создаваемого вакуумным насосом, насыпают слой безводного сульфата натрия высотой 5—6 см и промывают колонку гексаном.

Микропипетки.

Пипетки Мора.

Пульверизатор стеклянный.

Устройство для удаления растворителей (ротационный испаритель, водоструйный насос и др.).

Центрифуга (2500—4000 об/мин).

Подготовка проб

Мясо (говяжье, куриное). Среднюю пробу массой 0,5 кг измельчают на мясорубке, тщательно перемешивают и берут навеску в 25 г.

Куриные яйца. Средняя проба состоит из 5—10 яиц, в зависимости от их величины. Яйца освобождают от скорлупы, помещают в химический стакан и взбалтывают до однородной массы. Для анализа берут часть смеси, соответствующую половине яйца.

Подготовленные навески растирают в фарфоровой ступке с безводным сульфатом натрия до образования сыпучей массы. Пробы количественно переносят в колбы для экстракции, заливают 200 мл смеси *н*-гексана с ацетоном (2 : 1) и экстрагируют на аппарате для встряхивания 30 мин. Жидкую фазу сливают и повторяют экстракцию со 100 мл смеси. Полученные экстракты объединяют.

Молоко. Из тщательно перемешанной средней пробы молока объемом 0,5 л аликвот объемом 25 мл переносят в колбу, туда же добавляют 50 мл ацетона, перемешивают и приливают 50 мл гексана. Пробу экстрагируют 30 мин на аппарате для встряхивания. Затем смесь центрифугируют при 2500—4000 об/мин, в результате чего достигается хорошее разделение фаз: верхняя – гексановая, средняя – твердая (белковая), нижняя – водно-ацетоновая. Гексановую фазу с помощью пипетки Мора и резиновой груши осторожно переносят в колбу для удаления растворителя и отгоняют его до объема 5—10 мл.

Ход анализа. Объединенные экстракты помещают па 1,5—2 ч в морозильную камеру холодильника, а затем фильтруют в колбу Бунзена через воронку Бюхнера с двойным бумажным фильтром, используя при этом водоструйный или вакуумный насос. Колбу дважды ополаскивают порциями охлажденной гексано-ацетоновой смеси (2 : 1). Фильтрат количественно переносят в круглодонную колбу и удаляют растворитель до объема 5—10 мл.

Очистку экстрактов всех продуктов, включая молоко, проводят посредством жидкостного перераспределения в системе гексан–диметилформамид. Для этого объем экстракта доводят гексаном до 25 мл, экстракт переносят в делительную воронку и извлекают из него гамма-

изомер ГХЦГ и фенотиазин посредством трехкратного встряхивания с 10 мл насыщенного гексаном диметилформамида. Гексановую фракцию отбрасывают. Для более полного удаления жира объединенный диметилформамидный экстракт промывают 20 мл гексана, насыщенного диметилформамидом. Гексановый слой отбрасывают, а диметилформамидный слой переносят в другую делительную воронку (0,5 л), в которую предварительно наливают 400 мл 2 %-ного водного раствора сульфата натрия, добавляют 10 мл гексана, встряхивают и оставляют на 15—20 мин для расслоения. Отделяют слой гексана и экстрагируют еще раз 10 мл гексана.

Объединенные гексановые экстракты отгоняют до объема 10 мл и переносят в хроматографическую колонку с окисью алюминия в момент, когда слой гексана, которым промывают колонку, имеет высоту над сульфатом натрия 10 мм. Хроматографирование проводят на первом этапе самотеком. Элюируют гамма-изомер ГХЦГ и фенотиазин 90 мл гексана, который следует вносить в колонку (предварительно ополоснув им колбу, в которой находился экстракт) после того, как высота экстракта над сульфатом натрия достигнет уровня 5—10 мм.

Для ускорения элюирования можно использовать небольшое разрежение, создаваемое водоструйным или вакуумным насосом. Однако разрежение целесообразно лишь после того, как третья порция гексана после экстракции пройдет через колонку.

Из полученного элюата удаляют растворитель досуха. Растворяют сухой остаток в 0,5 мл гексана (следует пользоваться градуированной пробиркой) и наносят аликвоту раствора (20, 40, 60, 100 мкл) микропипеткой на пластинку Силуфол. Рядом, как обычно, наносят различные количества стандартных растворов гамма-изомера ГХЦГ и фенотиазина.

Пластинку помещают в хроматографическую камеру со смесью гексана с диэтиловым эфиром и уксусной кислотой (75 : 25 : 2). После поднятия фронта подвижного растворителя на 10—12 см пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для удаления подвижного растворителя. При этом фенотиазин проявляется в виде четких розовых пятен, которые становятся голубовато-зелеными после опрыскивания 1 %-ным раствором дифениламина в ацетоне и ультрафиолетового облучения. Гамма-изомер ГХЦГ проявляется в виде темно-синих или темно-серых пятен. R_f гамма-изомера ГХЦГ равно 0,36, фенотиазина – 0,18 (для ДДТ – 0,53, для альфа-изомера ГХЦГ – 0,43 при данных условиях).

Количественное определение проводят путем сравнения размеров и интенсивности окраски пятен пробы и стандартных растворов. Для фенотиазина это можно сделать на двух этапах (после извлечения пластинки из камеры и после УФ-облучения), для гамма-изомера ГХЦГ только после облучения.

Расчет проводят по формуле:

$$X = \frac{A}{P}, \text{ где}$$

X – содержание препарата в пробе, мг/кг;

A – количество препарата, найденное путем визуального сравнения размера и интенсивности пятен пробы и стандартных растворов, мкг;

P – масса исследуемой пробы, г.

gost.e-ecolog.ru