ИНФОРМАЦИОННО-ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ГОСКОМСАНЭПИДНАДЗОРА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Сборник важнейших официальных материалов по санитарным и противоэпидемическим вопросам

В семи томах

Под общей редакцией кандидата медицинских наук
В.М.Подольского

Том V

Санитарные правила и нормы (СанПиН), гигиенические нормативы и перечень методических указаний и рекомендаций по гигиене питания

МП "Рарог"
Москва 1992

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель главного
государственного санитарного
врача СССР
А.И.ЗАИЧЕНКО
N 427 —87
31 марта 1987г.

ДОПОЛНЕНИЕ К ДОКУМЕНТУ "ВРЕМЕННЫЕ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ И МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГИСТАМИНА В РЫБОПРОДУКТАХ"

Необходимость дополнения документа колориметрическим методом определения гистамина обусловлена недостаточной оснащенностью лабораторий рыбоперерабатывающих предприятий спектрофлуориметрами, которые требуются для осуществления контроля гистамина в рыбопродуктах флуориметрическим методом. Колориметрический метод выделения, идентификации и количественного определения гистамина в рыбных продуктах предполагает использование широко распространенных отечественных колориметров или спектрофотометров и прост в использовании.

МЕТОД
выделения, идентификации и количественного определения гистамина в рыбопродуктах (колориметрический метод)

1. Сущность метода

В основе колориметрического метода определения гистамина лежит измерение величины абсорбции окрашенного производного, полученного при взаимодействии гистамина с диазореактивом. Предел обнаружения метода — 10 мг/кг, относительное стандартное отклонение при определении гистамина в интервале концентраций 20—175 мг/кг изменяется от 0,08 до 0,25. Степень извлечения добавленного к образцу стандарта гистамина — 94—99%.

2. Аппаратура, материалы, реактивы

Баня водяная.
Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104—80 с допускаемой погрешностью взвешивания ±0,001 г.
Весы лабораторные общего назначения 3-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 1 кг по ГОСТ 24104—80 с допускаемой погрешностью взвешивания ±01 г.
Воронки В-100-150-ХС; В-35-50-ХС по ГОСТ 25336—82.
Воронки делительные ВД-3-250-29/32 ХС по ГОСТ 25336—82.
Колбы конические $К_н$-1-100-29/32 ТС по ГОСТ 25336—82.
Колбы мерные 1-100-2 или 2-100-2 по ГОСТ 1770—74.
Колориметр фотоэлектрический по ГОСТ 12083—78 со светофильтром с λ= 490±10 нм или спектрофотометр СФ-26 (или другой аналогичный).
Микроразмельчитель тканей РТ-2 по МРТУ 64-1-1505—63.
Мясорубка по ГОСТ 4025—83.
Пипетки 4-1-1 или 5-1-1, 7-1-5 или 7-2-5; 7-1-10 или 7-2-10 по ГОСТ 20292—74.
Пробирки мерные П-2-10 или П-2-15 по ГОСТ 1770—74.
Термометр 0—100°С по ГОСТ 2045—71.
Холодильник бытовой.
Шкаф лабораторный сушильный.
Цилиндры мерные 1-50 или 2-50 по ГОСТ 1770—74.
Электроплитка бытовая по ГОСТ 14919—83.
Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026—76.
н-бутанол по ГОСТ 6006—78, ч.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.
Гистамин или гидрохлорид гистамина.
Кислота соляная по ГОСТ 3118—77, х. ч., раствор 3,75 г/дм^3 (0,1 н раствор).
Кислота трихлоруксусная по ТУ 6-09-1926—77, раствор 50 г/дм^3 (5%-ный раствор).
Натрий азотистокислый по ГОСТ 4197—74, ч.д.а., раствор 50 г/дм^3 (5%-ный раствор).
Натрия гидроокись по ГОСТ 4328—77, ч.д.а., раствор 200 г/дм^3 (5 н раствор).
Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166—76, х.ч., прокаленный.
Натрий углекислый по ГОСТ 83—79, х.ч.,раствор 40 г/дм^3 (4%-ный раствор).
Паранитроанилин, ч.д.а.
Этилацетат по ГОСТ 22300—76, ч.д.а.

3. Подготовка к испытанию.

3.1. Приготовление раствора паранитроанилина

Паранитроанилин очищают путем перекристаллизации в воде. Для этого растворяют его в горячей дистиллированной воде и охлаждают раствор до комнатной температуры. Выпавшие кристаллы отфильтровывают и высушивают при 80°С в течение 10—15 мин, 0,1 г паранитроанилина растворяют в 100 см³ 0,1 н соляной кислоты. Хранят раствор в холодильнике до момента употребления.

3.2. Приготовление диазореактива

Диазореактив получают непосредственно перед использованием путем смешивания 10 см³ раствора 1 г/дм³ паранитроанилина в 0,1 н соляной кислоте и 1 см³ раствора 50 г/дм³ азотистокислого натрия и охлаждают до 0°С.

3.3. Приготовление н-бутанола, насыщенного водой

Для приготовления н-бутанола, насыщенного водой, встряхивают 50 см³ н-бутанола и 20 см³ дистиллированной воды в делительной воронке. После разделения фаз отделяют верхний бутанольный слой.

3.4. Подготовка проб к анализу

Отбор проб проводится по ГОСТ 7631—85 "Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний" и ГОСТ 87.56.0—70 "Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию".

Образцы доставляют в лабораторию сразу же после отбора проб. В случае длительной транспортировки (более 1 ч) рыба-сырец должна транспортироваться в охлажденном состоянии, а мороженая — в замороженном состоянии. Исследование образцов должно проводиться в день доставки их в лабораторию. При отсутствии такой возможности образцы должны храниться при температуре не выше —8°С не более трех суток.

Доставка и хранение образцов консервов и другой продукции должны проводиться с соблюдением режимов, предусмотренных НТД (действующими инструкциями и стандартами).

3.5. Экстракция

Навеску 10 г (с точностью до 0,01 г) приготовленного образца помещают в сосуд микроразмельчителя тканей, добавляют 25 см³ 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и перемешивают 5 мин. Полученную смесь переносят в плоскодонную коническую колбу на 100 см³, ополаскивают сосуд смесителя дважды 5—10 см³ 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты; растворы объединяют. Колбу снабжают воздушным холодильником и выдерживают на водяной бане при 60°С в течение 15 мин. Охлажденную смесь переносят количественно в цилиндр, доводят до 50 см³ 5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты и фильтруют через складчатый бумажный фильтр (фильтрат 1).

3.6. Построение калибровочной кривой

Готовят стандартные растворы гистамина с концентрацией 5,10,20 и 40 мкг/см³ в 5%-ной трихлоруксусной кислоте. Для приготовления основного раствора гистамина с концентрацией 40 мкг/см³ 4,0 мг гистамина помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в 5%-ной трихлоруксусной кислоте и доводят объем до метки. Рабочие растворы гистамина с концентрациями 20,10,5 мкг/см³ получают путем разбавления 5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты основного раствора в 2,4 и 8 раз соответственно. Основной раствор гистамина хранят в холодильнике неделю, рабочие растворы готовят в день проведения анализа.

5 см³ каждого стандартного раствора помещают в пробирки с притертыми пробками, добавляют 1 см³ 20%-ного раствора гидроксида натрия и вносят в раствор при перемешивании безводный углекислый натрий до получения насыщенного раствора. Добавляют 5 см³ н-бутанола, насыщенного водой, и энергично встряхивают пробирки в течение 30 с. После разделения фаз отбирают пипеткой или шприцем 3 см³ верхнего бутанольного слоя и переносят в другую пробирку с притертой пробкой, содержащую 3 см³ 0,1 н раствора соляной кислоты. Встряхивают содержимое пробирки в течение 30 с. После разделения фаз отбирают 2 см³ нижнего водного слоя, переносят в другую пробирку, добавляют 2 см³ 4%-ного раствора углекислого натрия и выдерживают 5 мин при 0°С. Приливают к охлажденному раствору 2 см³ холодного свежеприготовленного диазореактива, встряхивают и вновь выдерживают 5 мин при 0°С. Добавляют 4 см³ этилацетата и энергично встряхивают в течение 30 с. После разделения фаз сухой пипеткой отбирают верхний слой и переносят в пробирку, содержащую безводный сульфат натрия (раствор окрашенного производного в этилацетате должен быть прозрачным). Измеряют величину абсорбции раствора при 495 нм в кювете толщиной 1см. В качестве раствора сравнения используют этилацетат. На основании полученных данных строится калибровочная кривая зависимости величины абсорбции от концентрации гистамина в растворе.

4. Проведение испытаний

5 см³ фильтрата 1, полученного по п. 3.5, помещают в пробирку и проводят процедуру, описанную в п. 3.6, начиная с добавления раствора гидроокиси натрия.

Если образцы содержат гистамина более 200 мг/кг, необходимо разбавить полученный фильтрат 5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты.

Для определения концентрации гистамина в экстракте используется калибровочная кривая.

5. Обработка результатов

Содержание гистамина в образце продукта Г (мг/кг) вычисляют по формуле:

$$Г = \frac{с \cdot У}{м} \cdot Ф,$$

где с — концентрация гистамина, найденная по калибровочной кривой, мкг/см³;

У — объем экстракта, см³ (50 см³);

м — навеска образца продукта, г (10 г);

Ф — фактор разбавления ($Ф = \frac{\text{У фильтрата 1} + \text{У 5\% трихлорукс.к-ты}}{\text{У фильтрата 1}}$).

Вычисление проводят до единиц. За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение результатов трех параллельных определений. Допустимое расхождение между результатами параллельных определений не должно превышать 50% по отношению к среднему арифметическому значению.

Определение гистамина проводится в отдельных видах рыб и рыбных продуктах в пунктах выработки продукции.

Периодичность контроля лабораториями санэпидстанций устанавливается не реже 1 раза в квартал. Содержание гистамина в экспортных и импортных консервах определяется в каждой партии отраслевыми лабораториями. В случае нарушения температурного режима хранения консервов проводится внеочередной контроль.

gost.e-ecolog.ru