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 9

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 9

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.—72 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 14.05.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,5

Тираж 200 экз. Заказ 36

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

Энзиматическое агар-диффузное определение фосфорорганических инсектицидов в продуктах животного происхождения 4

Определение полихлорпинена и полихлоркамфена в воздухе, воде, почве, картофеле и свекле, мясе, молоке, тканях внутренних органов животных, крови, моче тонкослойной хроматографией 8

Определение севина в молоке и молочных продуктах газожидкостной хроматографией 17

Определение фосфамида в молоке и тканях животных газожидкостной хроматографией 20

Определение фталофоса в молоке и мясе тонкослойной хроматографией 22

Методические указания по определению метилнитрофоса в мясе, яйцах, молоке методом газожидкостной хроматографии 25

Методические указания по определению абата (дифоса) в мясе и молоке методом хроматографии в тонком слое 27

Методические указания по определению кельтана в молоке газохроматографическим методом 30

Методические указания по определению фоксима (валексона) в молоке и тканях животных методом газожидкостной хроматографии 32

Газоадсорбционный метод определения хлорофоса в молоке, органах и тканях животных и яйцах кур 34

Определение фозалона в молоке и тканях животных, траве, свекле, картофеле и комбикорме с помощью тонкослойной хроматографии 37

Определение пропоксура и фенеткарба в молоке и мясе методом тонкослойной хроматографии 41

Газохроматографический метод определения валексона в молоке, органах и тканях животных 45

Хроматографические методы определения остаточных количеств 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в воде, почве, фураже, продуктах питания растительного и животного происхождения 48

Методические указания по определению оксамата в молоке и тканях животных методом газожидкостной хроматографии 59

Методические указания по определению содержания общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах, шоколаде, почве колориметрическим способом или при помощи тонкослойной хроматографии 62

Энзиматическое агар-диффузное определение фосфорорганических инсектицидов в продуктах животного происхождения

Принцип метода. В основу метода* положен принцип количественного определения антибиотиков, модифицированный Санди для определения остатков фосфорорганических пестицидов в растениях. Фосфорорганические пестициды диффундируют в содержащий холинэстеразу слой агара и угнетают фермент. Затем слой с агаром обрабатывают ацетилхолином, при энзиматическом расщеплении которого образуется уксусная кислота. Она изменяет окраску содержащегося в агаре индикатора – бромтимолового синего. Диаметры или площади участков агара с измененной окраской зависят от концентрации инсектицида в растворе. Сильные ингибиторы холинэстеразы могут быть определены сразу, а слабые (эфиры тио- и дитиофосфорной кислот) – после активации.

Реактивы и растворы

Хлороформ
Спирт этиловый 96°-ный
Ацетон, ч.д.а.
Агар
Бромтимоловый синий (индикатор)
Едкий натр
Нормальная лошадиная сыворотка
Насыщенный водный раствор брома
0,1 М раствор тиосульфата натрия
Ацетилхолин
Индикаторная бумага (pH 6,6—8,1) или pH-метр
Стандартные растворы инсектицидов в этиловом спирте или ацетоне

Приборы и посуда

Гомогенизатор
Водяная баня
Ножницы
Стеклянные воронки
Кругло донные колбы на 25, 50, 100 и 1000 мл

---

* А. А. Непоклонов, В. К. Метелица (ВНИИВС).

Делительные воронки на 100 мл
Бюксы на 25 и 50 мл с пришлифованными крышками
Стеклянные мерные цилиндры разных размеров
Чашки Петри
Пипетки на 0,1; 1, 5 и 10 мл
Пробковые сверла диаметром 8—10 мл.

Ход анализа. *Приготовление среды на основе агара.* 16 г агара растворяют при постоянном помешивании в 800 мл кипящей дистиллированной воды. Раствор фильтруют через марлевый фильтр, охлаждают до +50 °С и определяют pH. Обычно pH колеблется от 5,6 до 7,7 и может постепенно снижаться. Для получения более стабильной реакции в среду добавляют 10 %-ный водный раствор едкого натра: при pH 5,6—5,9 добавляют 3 мл, при pH 6,3—6,7 – 0,5 мл, при pH 7,5—7,7 – 0,3 мл. После перемешивания среду оставляют на 20—24 ч, затем расплавляют путем подогревания и доводят температуру до +50 °С. Добавляют 100 мг бромтимолового синего, растворенного в 2 мл 0,1 н. едкого натра, и 20 мл лошадиной сыворотки, разведенной до 200 мл дистиллированной водой. Измеряют pH среды и доводят до 7,8—8,0. Необходимо все время поддерживать температуру среды на уровне +50 °С. Готовую среду разливают в чашки Петри (примерно 35 мл в чашку), чтобы образовался слой толщиной 5—6 мм.

Экстракция. Пробы тканей массой 20 г гомогенизируют или тщательно измельчают ножницами, заливают 20 мл хлороформа и экстрагируют в течение 2 ч. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр, остаток заливают 20 мл хлороформа, перемешивают и фильтруют. Хлороформный экстракт выпаривают в вытяжном шкафу или на ротационном испарителе.

Пробы молока, мочи, крови и других жидких биологических субстратов объемом 20 мл экстрагируют без встряхивания 2 ч в делительной воронке 20 мл хлороформа. Экстракт отделяют, остаток промывают 20 мл хлороформа. Обе порции экстракта объединяют, фильтруют и выпаривают. Остаток растворяют в 1 мл этилового спирта или ацетона.

Активация пестицидов. Производные тио- и дитиофосфорных кислот обладают слабым ингибирующим действием на холинэстеразу *in vitro,* поэтому путем окисления бромом их переводят в сильно ингибирующие дериваты. Для этого к растворенному в 0,5 мл спирта или ацетона экстракту, содержащему инсектицид, добавляют 0,1 мл насыщенного водного раствора брома и оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Нейтрализуют излишек брома 0,1 мл 0,1 М раствора тио-

сульфата натрия, вносят одну каплю 0,05 %-ного раствора бромтимолсинего, растворенного в 0,1 н. растворе NaOH, и добавляют по каплям 0,1 н. раствор едкого натра до появления синей окраски. Общий объем доводят спиртом (ацетоном) до 1 мл.

Проведение анализа. В затвердевшей среде в центре чашки Петри просверливают корковым сверлом отверстие, извлекают высверленный столбик агарового геля и вносят в лунку 0,1 мл раствора экстракта. Чашки накрывают крышками и оставляют на 18—20 ч при комнатной температуре или ставят на 6—8 ч в термостат с температурой 38 °С, чтобы инсектицид диффундировал в агар.

В аналогичных условиях определяют также ингибирующее действие чистых инсектицидов, которые используются для построения калибровочной кривой.

После диффузии в чашки Петри наливают по 15 мл 0,5 %-ного водного раствора ацетилхолина. Чашки переносят в водяную баню с температурой +40 °С на 30 мин. Зона диффузии инсектицида в агаре проявляется в виде ровных кругов интенсивно-синего или сине-зеленого цвета на желтоватом фоне остальной части агара. Диаметры кругов измеряют циркулем и по линейке определяют их размер. Если известно, какой инсектицид находится в исследуемой пробе, то проводят его количественное определение, сопоставляя с калибровочной кривой диаметры или площади кругов. В остальных случаях агар-диффузным методом выясняют, имеются ли в экстракте угнетающие холинэстеразу вещества, и для их идентификации применяют хроматографию или другие методы исследования.

В таблице 17 приведены пределы определения 20 фосфорорганических инсектицидов в продуктах животного происхождения. При более высоких, чем указано в таблице, количествах препаратов в экстрактах требуется разведение. Для построения калибровочной кривой диаметры или площади кругов откладывают на графике против логарифмов концентраций или количеств действующих веществ.

При определении пестицидов в продуктах животного происхождения вносят поправку на полноту извлечения. Хлороформом указанные в таблице пестициды извлекаются из биоматериала в количестве 30—80 %, причем из разных тканей экстракция одного и того же препарата также может быть разной. Поскольку метод высокочувствителен, можно считать, что препараты из биоматериала экстрагируются на 50 %, и соответственно нужно вносить поправку при расчетах.

Таблица 17

Пределы чувствительности определения инсектицидов энзиматическим агар-диффузным методом, мкг в 0,1 мл пробы

Инсектицид	Без активации	С активацией бромом
Хлорофос	0,01—100	
ДДВФ	0,001—100	
Дибром	0,001—100	
Тролен	10—100	0,002—100
Трихлорметафос-3	10—100	0,002—100
Бутонат	0,1—100	
Циодрин	0,001—100	
Байтекс	10—100	0,01—100
Фосфамид		10—100
Этоксифос		0,01—100
Фталофос		1—100
Корал	1—100	0,002—100
Метилнитрофос	10—100	0,01—100
Сумитион		0,01—100
Дитион	10—100	0,002—100
Дурсбан	100	0,002—100
Карбофос		1—100
Цидеал	100	1—100
Метилацетофос	100	2—100
Амидофос	0,1—100	

Количество препарата в органах и тканях животных вычисляют по формуле:

$$X = \frac{20\,000 \cdot A}{P}, \text{ где}$$

X – количество препарата в 1 кг биологического продукта, мг;

A – количество препарата в исследуемой пробе, определенное по калибровочному графику, мкг;

P – масса пробы, г;

20 000 – коэффициент.

gost.e-ecolog.ru