ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РОССИЙСКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ
ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

(Сборник нормативных материалов)

Москва, 1994 г.

gost.e-ecolog.ru

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РОССИЙСКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ
ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

(Сборник нормативных материалов)

Москва, 1994 г.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение пищевых продуктов токсичными чужеродными веществами является частью глобальной проблемы загрязнения окружающей среды, поэтому в настоящее время очень важным аспектом является определение микропримесей загрязняющих веществ в продуктах питания и снижение их содержания. В последние годы все больший приоритет приобретают исследования по определению таких токсикантов как различные микотоксины (афлатоксины, патулин, зеараленон, вомитоксин, трихотецены и др.), соли тяжелых металлов, нитриты, нитраты, N-нитрозамины и др.

Настоящий сборник включает в себя ранее изданные Методические указания по определению наиболее приоритетных загрязнителей пищевых продуктов, разработанные научно-исследовательскими институтами медицинского профиля и утвержденные Главным санитарно-эпидемиологическим управлением Минздрава СССР и ГКСЭН РФ.

В соответствии с Постановлением Госкомсанэпиднадзора Российской Федерации от 06.02.92 г. № 1 «О порядке действия на территории Российской Федерации нормативных актов бывшего Союза ССР в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения» на всей территории Российской Федерации действуют общесоюзные санитарные правила и нормативные акты впредь до принятия соответствующих нормативных актов Российской Федерации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Сборник предназначен для санитарно-гигиенических лабораторий центров Госсанэпиднадзора, НИИ и учреждений гигиенического профиля, кафедр гигиены питания медицинских институтов и институтов усовершенствования врачей, а также может быть использован лабораториями других организаций, занимающихся исследованиями пищевых продуктов.

Будем признательны за все критические замечания и пожелания, направленные на улучшение данного Сборника или составление аналогичных Сборников по другим разделам исследований пищевых продуктов.

Л. Г. Подунова

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЭСТРАДИОЛА-17β В ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОВОДСТВА (химический метод)*

Принцип метода

Метод основан на экстракции эстрадиола-17β диэтиловым эфиром, очистке экстрактов адсорбционной хроматографией и количественном измерении (в зависимости от имеющихся условий с применением ГЖХ или радиоиммунологического анализа).

Реактивы

Хлороформ, ГОСТ 3160-51, перегнанный
Эфир диэтиловый, медицинский или ГОСТ 6255-52
Этанол, х. ч., перегнанный
Бензол, х. ч., для хроматографии
Этилацетат, х. ч.
Натрий сернокислый, безводный, ГОСТ 4166-76, х. ч.
Окись алюминия для хроматографии, 150—200 меш.
Силикагель для тонкослойной хроматографии, 200 меш.
Ангидрид гептафтормасляный или трифторуксусный, х. ч.
2,5-Дифенилоксазол сцинтилляционный, х. ч.
1,4-Ди-[2,-(5-фенил)-оксазолил]-бензол, х. ч.
Эстрадиол-17β, крист. стандартный препарат, хроматографически чистый (по поводу приобретения стандарта обращаться в Институт питания АМН СССР — 109240, Москва, Устьинский проезд 2/14)
Набор для радиоиммунологического определения эстрадиола-17β: поставляется для учреждений Минздрава СССР Ленинградским межреспубликанским отделением В/О «Изотоп» (196002, Ленинград, Загородный проспект, 13), а также НИИ экспериментальной патологии и терапии АМН СССР (384900, г. Сухуми, гора Трапеция)

Оборудование и лабораторная посуда

Скоростной смеситель типа РТ-1
Ротационный испаритель типа ЛГ-108
Центрифуга типа ЦЛЗ 31М
Газовый хроматограф типа «Цвет»
Сцинтилляционный счетчик типа «Бета-1» или «Бета-2»
Насос водоструйный, ГОСТ 10969-75
Сушильный шкаф типа 2В-151
Баня водяная типа ТУ 64-1-432-72

---

* — Определение химическим методом остаточных количеств эстрадиола-17β в продуктах животноводства, утв. МЗ СССР 17.01.85 № 3208-85

Камера для тонкослойной хроматографии с притертой крышкой, например, стеклянный четырехугольный сосуд 195 × 195 × 200 мм завода «Дружная горка»

Термометр от 0° до 100°, ГОСТ 1770-74

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 мл, ГОСТ 1770-74

Ступка, ГОСТ 2045-71

Стаканы хим. на 250 мл

Стеклянная колонка для хроматографии, размером 0,5 × 30 см

Воронки стеклянные, ГОСТ 868-75

Бюхнеровская воронка, ГОСТ 93-75

Пробирки хим. на 5 и 10 мл с НШ № 14,5 с притертыми пробками ОСТ 10515-75

Колбы для упаривания на 50 и 250 мл с НШ № 14,5 и НШ № 28, ГОСТ 10394-72

Делительные воронки вместимостью 250 мл, ГОСТ 8613-75

Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 250 мл, ГОСТ 1770-74

Колбы плоскодонные на 250 мл с НШ № 14,5 ТУ 48-52

Стеклянный бюкс с притертой крышкой

Пипетки на 2, 5, 10 мл, ГОСТ 20292-74

Микропипетки на 0,1 и 0,2 мл ГОСТ 1770-74

Отдельные стадии метода

5 г ткани мышц, печени или почек тщательно измельчают, растирают в ступке, переносят в скоростной смеситель и гомогенизируют с 20 мл дистиллированной воды в течение 2 мин. Гомогенат переносят в плоскодонную колбу, добавляют 50 мл диэтилового эфира и экстрагируют в аппарате для встряхивания в течение 30 мин. Экстракцию 50 мл диэтилового эфира проводят дважды. Эфирные экстракты объединяют, фильтруют через безводный Na_2SO_4 и выпаривают; сухой остатой растворяют в 3 мл хлороформа и используют в дальнейшем для хроматографии на колонке.

При подготовке колонки для адсорбционной хроматографии, окись алюминия обезвоживают прогреванием в сушильном шкафу при 200° в течение 3 часов и стандартизуют добавлением 10% воды (объем/вес адсорбента). После добавления воды адсорбент тщательно перемешивают и в герметично закрытом бюксе встряхивают в аппарате для встряхивания в течение 30 мин. Затем окись алюминия суспензируют в хлороформе и формируют колонку размером 0,5 × 6,0 см. При использовании каждой новой партии адсорбента необходимо с применением стандарта эстрадиола-17β проводить контрольные исследования условий элюции препарата с колонки.

3 мл хлороформного экстракта наносят на колонку окиси алюминия. Элюцию осуществляют: 10 мл хлороформа (фракция № 1), 15 мл 0,5% этанола в хлороформе (фракция № 2), 20 мл 3% этанола

в хлороформе (фракция № 3, содержащая эстрадиол-17β). Последнюю фракцию выпаривают на роторном испарителе и используют для количественного определения радиоиммунологическим методом или проводят дальнейшую очистку тонкослойной хроматографией при применении ГЖХ.

При наличии набора для радиоиммунологического определения эстрадиола-17β целесообразно применение этого более простого, но высоко специфичного варианта метода. При этом исключается стадия тонкослойной хроматографии, т. к. использование колоночной хроматографии на окиси алюминия позволяет получить степень очистки экстрактов, достаточную для количественного измерения стероида радиоиммунологическим методом. Постановка радиоиммунологической реакции проводится в зависимости от имеющегося набора и в соответствии с инструкцией к нему. Радиоиммунологический метод позволяет выявить от 3 до 20 пг эстрадиола-17β (в зависимости от антисыворотки к данному гормону, предлагаемой в наборе). Предел обнаружения эстрадиола-17β в образце составляет 4 нг/кг.

Применение ГЖХ метода количественного измерения требует более высокой степени очистки экстрактов. При проведении тонкосклойной хроматографии применяют пластины силикагеля 20 × 20 см, толщина слоя 0,4 мм; перед употреблением адсорбент активируют при 120° С 50 мин. Сухой остаток, полученный после выпаривания фракции № 3 с эстрадиолом-17β, растворяют в минимальном объеме смеси: 96% этанол-эфир (3:1) и наносят в левый нижний угол пластины силикагеля на расстоянии 3 см от бокового и 1,5 см от нижнего края пластины. Последующие пробы исследуемых образцов наносят на левую половину пластины на расстоянии 2 см друг от друга. В правый нижний угол пластины также на расстоянии 3 и 1,5 см от бокового и нижнего краев наносят 0,5—1 мкг стандарта эстрадиола-17β. Хроматографируют в системе растворителей: бензол-этилацетат, 2:3. Пластину высушивают, закрывают стеклом левую половину, а правую половину пластины с нанесенным стандартом эстрадиола-17β проявляют, опрыскивая 20% серной кислотой. Слой силикагеля на правой и левой половине пластины разрезают скальпелем, выделяя полосу на 0,8 см выше и ниже центра пятна стандарта. Участки слоя силикагеля, соответствующие исследуемому образцу, снимают с пластины, переносят в плоскодонную колбу объемом 50 мл, заливают 10 мл смеси: 96% этанол-эфир и встряхивают в аппарате для встряхивания в течение 20 мин. Элюцию проводят двукратно. Силикагель отделяют фильтрованием через бумажный фильтр и отбрасывают. Элюаты объединяют и выпаривают досуха на роторном испарителе.

В дальнейшем проводят ГЖХ фторпроизводных стероида с использованием детектора электронного захвата. Для получения фторпроизводных сухой остаток (после выпаривания элюата) рас-

творяют в 0,5 мл безводного бензола, добавляют 20 мкл ангидрида (гептафтормаслянного или трифторуксусного) и инкубируют 30 мин при 65°. Смесь высушивают под током азота, сухой остаток растворяют в 0,5 мл бензола и проводят ГЖХ; остатки ангидрида после инкубации могут быть удалены промыванием водой — к 0,5 мл смеси добавляют 0,3 мл дистиллированной воды, встряхивают 0,5—1,0 мин и центрифугируют. Бензольную фракцию отделяют и используют для ГЖХ. При проведении ГЖХ анализа применяют стеклянную колонку, размером 2 м с 3% SE-30 на Хроматоне N-AW-ГМДС; температура испарителя — 230°, колонки — 200°, детектора — 240°; газ-носитель — азот, 40 мл/мин. В этих условиях время удерживания эстрадиола-17β равно 7,6 мин. ГЖХ анализ позволяет определить 0,1—0,2 нг стероида в пробе (в зависимости от использования гептафтормаслянного или трифторуксусного ангидрида и чувствительности детектора хроматографа). Коэффициент вариации равен 10%.

СОДЕРЖАНИЕ

I МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ 1

1. Методика определения афлатоксинов в пищевых продуктах методом ТСХ . . . 3
2. Методика определения афлатоксинов в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии . . . 11
3. Методика определения афлатоксинов в продуктах животного происхождения . . . 19
4. Методика определения содержания патулина в фруктовых и овощных соках и пюре . . . 26
5. Методика определения микотоксина патулина в продуктах переработки плодов и овощей . . . 31
6. Методика определения зараленона в пищевых продуктах . . . 37
7. Методика определения дезоксиниваленола (вомитоксина) в зерне и зернопродуктах . . . 41
8. Методика определения дезоксиниваленола и зеараленона в зерне и зернопродуктах . . . 45
9. Методика определения Т-2 токсина в пищевых продуктах и продовольственном сырье . . . 53
10. Методика определения охратоксина А в пищевых продуктах . . . 57
11. Методики определения микотоксинов: Т-2 токсина, зеараленона (Ф-2) и охратоксина А . . . 63

II. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ 77

12. Атомно-абсорбционные методы определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье . . . 77
13. Методика определения метил-этилмеркурхлорида в пищевых продуктах, кулинарно обработанных . . . 93
14. Методика определения содержания общей ртути в пищевых продуктах методом беспламенной атомной абсорбции . . . 97
15. Методика по определению хрома в овощных консервах . . . 103
16. Методика определения содержания гистамина в рыбопродуктах (флуорометрический метод) . . . 105
17. Метод выделения, идентификации и количественного определения гистамина в рыбопродуктах (колориметрический метод) . . . 110
18. Методика определения нитратов и нитритов в молоке и молочных продуктах . . . 114
19. Методика определения нитратов и нитритов в плодовоощной консервированной продукции . . . 124

III. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ 133

20. Методика определения остаточных количеств Диэтилстильбэстрола в продуктах животноводства и в биологических жидкостях . . . 133
21. Методика определения остаточных количеств Эстрадиола-17β в продуктах животноводства . . . 138
22. Методика определения антибиотиков тетрациклинового ряда методом тонкослойной хроматографии (качественный анализ) . . . 142
23. Методика определения антибиотиков тетрациклинового ряда флуориметрическим методом (количественный анализ) . . . 143
24. Определение летучих N-нитрозаминов в продовольственном сырье и пищевых продуктах . . . 146

Составители: Брагина И. В., Орехова Н. А. — специалисты лаборатории физико-химических методов исследований Российского Республиканского информационно-аналитического центра.
Под редакцией: Подуновой Л. Г. — заместителя Главного государственного санитарного врача РФ, заслуженного врача РФ.

Подписано к печати. 21.11.94.
Формат 60 × 88/16. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 9,8. Усл. кр.-отт. 9,8.
Тираж 1000 экз. Зак. 220.

Изготовлено в Московской типографии № 11 Комитета по печати РФ.
113105, Москва, ул. Нагатинская, 1.

gost.e-ecolog.ru