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

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 0,1 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 $К_н$-10-100-29/32 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 в длиной волны 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.

---

* — Дополнение к документу «Временные гигиенические нормативы и метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах» СанПиН 42-123-4083-86 от 27.03.86 г., утв. МЗ СССР 31.03.87 № 4274-87

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.
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, хч, раствор 3,75 г/дм³ (0,1 н. раствор).
Кислота трихлоруксусная по ТУ 6-09-1926-77, раствор 50 г/дм³ (5%-ный раствор).
Натрий азотистокислый по ГОСТ 4197-74, чда, раствор 50 г/дм³ (5%-ный раствор).
Натрия гидроокись по ГОСТ 4328-77, чда, раствор 200 г/дм³ (5 н. раствор).
Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166-76 хч, прокаленный.
Натрий углекислый по ГОСТ 83-79, хч, раствор 40 г/дм³ (4%-ный раствор).
Пара-нитроанилин, чда.
Этилацетат по ГОСТ 22300-76, чда.

3. Подготовка к испытанию

3.1. Приготовление раствора пара-нитроанилина

Пара-нитроанилин 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 пара-нитроанилина 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» по ГОСТ 87-56.0-70 «Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию».

Образцы доставляют в лабораторию сразу же после отбора пробы. В случае длительной транспортировки (более 1 часа) рыба-сырец должна транспортироваться в охлажденном состоянии, а мороженная — в замороженном состоянии. Исследование образцов должно проводиться в день доставки их в лабораторию. При отсутствии такой возможности образцы должны храниться при температуре не выше минус 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 $см^3$ 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и перемешивают 5 минут. Полученную смесь переносят в плоскодонную коническую колбу на 100 $см^3$, ополаскивают сосуд смесителя дважды 5—10-ю $см^3$ 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и 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 $см^3$ 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/$см^3$ в 5%-ной трихлоруксусной кислоте. Для приготовления основного раствора гистамина с концентрацией 40 мкг/$см^3$ 4,0 мг гистамина помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в 5%-ной трихлоруксусной кислоте и доводят объем до метки. Рабочие растворы гистамина с концентрациями 20; 10; 5 мкг/$см^3$ 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 $см^3$ каждого стандартного раствора помещают в пробирки с притертыми пробками, добавляют 1 $см^3$ 20%-ого 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 сек. 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 сек. 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 сек. 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 1 см. 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:

$$\Gamma = \frac{C \cdot V}{M} \cdot \Phi, \text{ где:}$$

C — концентрация гистамина, найденная по калибровочной кривой, мкг/см³;
V — объем экстракта, см³ (50 см³);
M — навеска образца продукта, г (10 г);
Ф — фактор разбавления:

$$\frac{\text{V фильтрата I} + \text{V 5\% р-ра трихлорукс. к-ты}}{\text{V фильтрата I}}$$

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.

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