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 СОДЕРЖАНИЯ ГИСТАМИНА В РЫБОПРОДУКТАХ*

В основе метода определения гистамина лежит измерение интенсивной флуоресценции производного, полученного при взаимодействии гистамина с о-фталевым альдегидом.

Предел обнаружения метода — 0,1 мг/кг, относительное стан-

---

* — Временные гигиенические нормативы и метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах СанПиП 42-123-4083-86, утв, МЗ СССР 27.03.86 г.

дартное отклонение — 0,20—0,30. Степень извлечения добавленного к образцу стандарта гистамина — 65—85%. Продолжительность анализа — 3 часа.

Метод включает следующие этапы:

— подготовку образца к анализу;
— экстракцию метанолом;
— очистку экстракта с помощью ионообменной хроматографии;
— построение калибровочной кривой;
— количественное определение гистамина.

1. Оборудование и материалы

1. Мясорубка по ГОСТ 4025-83Е.
2. Микроразмельчитель тканей РТ-2 по МРТУ 64.1.1505-63.
3. Весы технические по ГОСТ 24104-80Е.
4. Весы аналитические по ГОСТ 24104-80Е.
5. Спектрофотометр «Спекол» (Карл Цейсс ИЕНА) с измерительной приставкой для определения флуоресценции. Светофильтры: первичный с длиной волны 365 нм, вторичный с длиной волны 465 нм. Возможно использование отечественного флоуриметра БИАН-130 (светофильтры: первичный с длиной волны 365 нм, вторичный с длиной волны 470 нм).
6. Баня водяная с нагревателем.
7. Термометр 0—100° С по ГОСТ 2045-71.
8. Колонка хроматографическая стеклянная 60 × 30 мм.
9. Колбы конические плоскодонные на 50 мл с НШ 14,5; на 100 сл с НШ 29 по ГОСТ 23932-79Е.
10. Колбы мерные на 50, 100, 250 мл по ГОСТ 1770-74Е.
11. Дефлегматорная насадка по ГОСТ 23932-79Е.
12. Стаканы химические на 500 мл.
13. Цилиндры мерные на 50 мл по ГОСТ 1770-74Е.
14. Воронки химические диаметром 60 мм по ГОСТ 23932-79Е.
15. Пипетки на 2, 5, 10 мл по ГОСТ 20292-74Е.
16. Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026-76.
17. Ионообменная смола Анионит АРА-12п (Cl-форма; фракция 0,25—0,10 мм) по ТУ 6-09-10-818-73. Для перевода смолы в ОН-форму 100 г ее помещают в химический стакан, заливают 150 мл 2 н. едкого натра, перемешивают и оставляют на 30 минут. Сливают жидкость и вновь добавляют щелочь. Повторяют процедуру промывания дважды. Тщательно отмывают смолу дистиллированной водой до pH 7—8. Смолу хранят под водой.

После проведения анализа смолу регенерируют следующим образом: заливают 1 н. соляной кислотой, выдерживают 10—15 минут, раствор сливают. Обработку смолы кислотой повторяют дважды. Промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции и переводят смолу в ОН-форму как описано выше.

18. Фталевый альдегид «ч» по МРТУ 6-09-5387-68.

19. Соляная кислота «чда» по ГОСТ 3118-77.
20. Ортофосфорная кислота «ч» по ГОСТ 6552-80.
21. Натр едкий «хч» по ГОСТ 4328-77.
22. Метиловый спирт «хч» по ГОСТ 6995-77.
23. Гистамин или хлоргидрат гистамина.
24. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

2. Подготовка образца к анализу

2.1. Отбор образцов для анализа и хранение их

От правильности осуществления этого этапа контроля в значительной степени зависят достоверность полученных данных по содержанию в анализируемом продукте гистамина и объективность гигиенической оценки его. При исследовании рыб, продуктов из них, пищевых продуктов из морских животных эта задача является весьма важной и требует соответствующей предварительной подготовки. Как известно, отбор проб пищевых продуктов слагается из нескольких этапов: отбора транспортных упаковок, отбора пробы и навесок для анализа. Каждая из перечисленных операций должна производиться в строгом соответствии с требованиями ГОСТов на исследуемые продукты: ГОСТ 7631-73 «Рыба, продукты из рыбы, морских млекопитающих и беспозвоночных» (с. 12—17) и ГОСТ 8756-70 «Продукты пищевые консервированные» (с. 1—5).

Отобранные в соответствии с указанным, образцы рыбы, продуктов из рыб, морских млекопитающих и беспозвоночных, подлежащих исследованию, упаковывают каждый в отдельности в пергаментную бумагу или в целофан, затем в плотную оберточную бумагу и перевязывают бечевкой, для этой цели можно использовать также чистые стеклянные банки с притертыми стеклянными или плотными корковыми пробками. Образцы доставляют в лабораторию сразу же после отбора, в случае длительной транспортировки их охлаждают до температуры +2—4° С, используя для этой цели холодильники или соответствующие приспособления.

К исследованию образцов следует приступить в день доставки их в лабораторию. При отсутствии такой возможности образцы должны храниться при температуре, предусмотренной для хранения данной продукции, не более 3-х суток со времени отбора среднего образца.

2.2. Подготовка образца к исследованию

Рыбу, отобранную для исследования, размораживают, счищают от механических загрязнений и чешуи. Обмывание рыбы не допускается.

Для исследования крупной рыбы берут только мясо без кожи и костей. Для этого от рыбы отделяют голову и плавники, разрезают

тушку по брюшку и удаляют все внутренности; разрезают продольным разрезом по спинке и удаляют позвоночник и, по возможности, все ребра, а мясо вместе с подкожным жиром тщательно соскабливают с кожи. Мелкую рыбу исследуют целиком.

При весе каждого неразделанного экземпляра рыбы свыше 500 г после разделки берут для дальнейшего измельчения только одну продольную половину рыбы.

При весе одной продольной половины рыбы свыше 1 кг ее разрезают на поперечные куски шириной 2—4 см и берут для анализа мясо от половины всего числа кусков через один.

Мелкую неразделанную рыбу или пробу мяса от крупной рыбы дважды пропускают, как можно быстрее, через мясорубку; фарш тщательно перемешивают и из разных мест отбирают навеску в соответствии с прописью избранного метода.

При исследовании консервов из рыб или морских животных из содержимого всех банок, выделенных в качестве среднего образца, после определения соотношения составных частей (жидкой и твердой) готовят одну общую пробу. Специи (лук, перец и др.) должны быть удалены из рыбы. Твердую часть консервов быстро пропускают два раза через мясорубку, смешивают с жидкой частью и растирают по частям в фарфоровой ступке до состояния однородной массы. Консервы, имеющие заливку, рассол, можно измельчать на аппарате «Измельчитель тканей». Из подготовленной таким образом пробы отбирают навески для последующих определений.

Средние образцы продукции сохраняются в холодильнике до конца анализа; в случае обнаружения гистамина в количестве выше установленной гигиенической нормы — до вручения результатов исследований в соответствующие учреждения и принятия необходимых профилактических мер.

3. Экстракция

Навеску 10 г (с точностью 0,01 г) приготовленного образца помещают в сосуд микроразмельчителя тканей, добавляют 25 мл метанола и перемешивают в течение 5 минут. Полученную смесь переносят в плоскодонную колбу на 100 мл, ополаскивают сосуд смесителя 15—20 мл метанола, сливают в колбу, снабженную дефлегматором и нагревают на водяной бане до 60° С 15 минут; затем охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через складчатый бумажный фильтр в мерную колбу на 50 мл. Осадок промывают метанолом и доводят до метки объем экстракта. Метанольный экстракт можно хранить в холодильнике несколько недель.

4. Очистка экстракта

В стеклянную хроматографическую колонку (60 × 30 мм) заливают суспензию ионообменной смолы Анионит АРА-12п до образо-

вания столбика высотой 40 мм и промывают 20 мл дистиллированной воды. (Вода должна покрывать смолу постоянно).

Наносят 5 мл метанольного экстракта, добавляют 5 мл 1 н. соляной кислоты, пропускают через колонку и элюируют дистиллированной водой до получения 35 мл элюата. Элюат следует хранить в холодильнике.

5. Построение калибровочной кривой

Для приготовления основного раствора, содержащего 10 мкг/мл гистамина, 2,5 мг гистамина растворяют в 0,1 н. соляной кислоте в мерной колбе на 250 мл. 1, 2 и 3 мл основного раствора помещают в мерные колбы на 100 мл, доводят 0,1 н. соляной кислотой до метки и получают рабочие растворы с концентрациями 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл и 0,3 мкг/мл соответственно.

Основной раствор гистамина хранят в холодильнике неделю, рабочие растворы готовятся ежедневно.

10 мл каждого рабочего раствора вносят в колбы на 50 мл, добавляют 10 мл 0,1 н. соляной кислоты, 3 мл 1 н. едкого натра и смешивают. При перемешивании вносят 1 мл 0,1% метанольного раствора 0-фталевого альдегида, через 4 минуты добавляют 3 мл 3,47 н. фосфорной кислоты и оставляют на 1,5 часа при комнатной температуре. Измеряют интенсивность флуоресценции рабочих стандартных растворов гистамина при длине волны возбуждения 365 нм, длине волны эмиссии 465 нм. На основании полученных данных строится калибровочная кривая зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации гистамина в растворе. Каждое деление оси абсцисс соответствует 0,02 мкг гистамина в 1 мл раствора.

6. Количественное определение гистамина в рыбопродуктах

10 мл элюата вносят в колбу на 50 мл, добавляют 10 мл 0,1 н. соляной кислоты и перемешивают. Далее проводят процедуру, описанную в п. 5 «Построение калибровочной кривой».

Если образцы содержат гистамина более 100 мг/кг рыбы, необходимо взять 1 мл элюата, добавить 10 мл 0,1 н. соляной кислоты и далее повторить процедуру количественного определения гистамина.

Для количественного определения содержания гистамина используется калибровочная кривая.

Содержание гистамина в рыбе Г (в мг/кг) вычисляется по формуле:

$$Г = \frac{Co \cdot A \cdot B \cdot Ф}{Б \cdot P}, \text{ где}$$

Co — концентрация гистамина в растворе образца, найденная по калибровочной кривой, мкг/мл;

Р — навеска образца для анализа в г (10 г);
А — объем метанольного экстракта в мл (50 мл);
Б — количество метанольного экстракта, пропущенного через колонку в мл (5 мл);
В — объем элюата в мл (35 мл);
Ф — фактор разведения: $\frac{\text{мл элюата + мл 0,1 н. HCl}}{\text{мл элюата}}$

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