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 МЕТИЛ- И ЭТИЛМЕРКУРХЛОРИДА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, КУЛИНАРНО ОБРАБОТАННЫХ ПИЩЕВЫХ РАЦИОНАХ, КОРМАХ И ПОЧВЕ

1. Принцип метода

Вариант 1. Метод основан на извлечении органических соединений ртути толуолом посредством экстрактивной перегонки солянокислого раствора, отделения от примесей раствором тиосульфата натрия, экстракции бензолом с последующим разделением и идентификацией на неподвижных фазах неопентилгликольсукцинате при 130° С или полидиэтиленгликольсукцинате при 110° С. Метод позволяет определить 0,005 мг алкилртути в 1 кг объекта с ошибкой до 25%. Этот вариант метода может быть использован

---

* — Газохроматографический метод определения метил- и этилмеркурхлорида в пищевых продуктах, кулинарно обработанных пищевых рационах, кормах и почве, утв. МЗ СССР 22 сентября 1975 г. № 1350—75

для определения метил- и этилмеркурхлорида в мясе, рыбе, яйцах, молоке, кормах и почве.

Вариант 2. Метод основан на извлечении органических соединений ртути из подкисленных гомогенатов пищевых продуктов бензолом, перераспределении их в водный раствор l-цистеина, повторной экстракции бензолом и количественном определении посредством газожидкостной хроматографии при указанных выше условиях. Чувствительность метода 0,005 мг/кг. Процент обнаружения — 75—85%. Данный вариант метода предназначен для определения метил- и этилмеркурхлорида в продуктах животного происхождения: молоке, сливках, сметане, твороге, сливочном масле, почках, морских продуктах (креветки, кальмары, морские гребешки и др.), а также в кулинарно обработанных суточных пищевых рационах.

2. Реактивы и растворы

Толуол, бензол, х. ч. или ч. д. а., перегнанные

Спирт этиловый, ректификат

Соляная кислота, концентрированная, 1Н и 6Н растворы

Калий йодистый 3М (свежеприготовленный) и 1% раствор в 0,1Н едком натре

Гипосульфит натрия 0,05М раствор (готовят из фиксанала). Рабочий раствор гипосульфита 0,0025М раствор готовят перед употреблением следущим образом: 5 мл 0,05М раствора гипосульфита натрия разбавляют дистиллированной водой до объема 50 мл и добавляют 50 мл этилового спирта. Ртуть двухлористая, 5% солянокислый раствор: 25 г двухлористой ртути растворяют в 85 мл соляной кислоты концентрированной и доводят до 500 мл водой

Натрий хлористый, х. ч., кристаллический

L-цистеин, 1% водный раствор

Натрий сернокислый безводный, промытый бензолом и высушенный

Хромосорб W или хроматон (80—100 меш) силанизированный диметилдихлорспланом, покрытый неопентилгликольсукцинатом или полидиэтиленгликольсукцинатом (5%). При нанесении фазы пользуются методом испарения, растворяя неподвижную фазу в смеси ацетона и хлороформа 1 : 1 по объему. Колонку кондиционируют 4 часа, вводя в испаритель по 2 мкг каждого пестицида и 20 мкл 20% раствора диметилдихлорсилана в толуоле. После чего колонку продувают еще 2 часа азотом (75 мл/мин) при температуре 190° С в случае неопентилгликольсукцината и при 170° С, если используется неопентилгликольсукцинат, а затем присоединяют к детектору.

Стандартные растворы метил- и этилртути: взвешивают по 100 мг хлористых солей и растворяют в 100 мл бензола в мерной

колбе объемом 100 мл. Рабочие растворы алкилртути готовят 1 раз в неделю в концентрации 0,5 мкг/мл.

3. Приборы и посуда

Газовый хроматограф «Цвет-5»

Аппарат для перегонки веществ с парами воды, состоящий из реакционной колбы, объемом 100 мл, холодильника длиной 20—25 см и делительной воронки емкостью 250 мл (приемник)

Центрифуга со скоростью вращения 2000—2500 об/мин.

Делительные воронки на 250, 50 мл

Мерные колбы объемом 100, 25 мл

Воронки для фильтрования

Пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл

Мерный цилиндр на 25 мл

Пробирки с притертой пробкой, градуированные емкостью 10 мл.

4. Ход определения

Вариант 1. 10 г гомогенизированного или растертого образца (мясо, рыба, почва) помещают в круглодонную колбу емкостью 100 мл, куда предварительно добавляют 60 мл 1Н соляной кислоты и несколько стеклянных шариков или капилляров. Посредством шлифа присоединяют колбу к холодильнику и нагревают на слабом огне. При исследовании молока перегоняют 50 мл молока с добавкой 5 мл конц. соляной кислоты. Из воды соединения ртути экстрагируют толуолом, предварительно смешав 500 мл воды с 45 мл конц. соляной кислоты. Отгон (дистиллят) собирают в делительную воронку, куда предварительно наливают 6 мл толуола. Собирают около 50 мл дистиллята, затем колбу охлаждают, вносят в нее 20 мл толуола, вновь присоединяют к холодильнику и отгоняют растворитель в приемник. Полученный дистиллят энергично встряхивают 5 минут. После расслаивания нижнюю водную фазу отбрасывают, а толуольный экстракт переносят, фильтруя через стекловату или обычную вату, промытую толуолом, в другую делительную воронку объемом 50 мл. Фильтр промывают 5 мл растворителя. К экстракту добавляют 5 мл 0,0025М гипосульфита натрия. К объединенным этанольным растворам гипосульфита натрия добавляют 2,5 мм 3М раствора йодистого калия, 5 мл бензола и содержимое встряхивают смесь 2 минуты. После разделения фаз нижнюю сливают в третью делительную воронку емкостью 50 мл, толуольный экстракт еще раз обрабатывают 5 мл 0,0025М раствора гипосульфита натрия добавляют 2,5 мл 3М раствора йодистого калия, 5 мл бензола и содержимое встряхивают 2 минуты. Верхний бензольный экстракт промывают 10 мл 1% раствора йодистого калия в 0,1Н едком натре, сливают в сухую

пробирку, доводят объем до 5 мл бензолом, обезвоживают промытым бензолом сульфатом натрия и исследуют на газовом хроматографе, вводя в испаритель 5 мкл экстракта.

Для повышения чувствительности определения алкилртути экстракт концентрируют до 1 мл и вводят в испаритель 5 мкл. Одновременно готовят стандартный раствор пестицидов. Для этого хлориды этил- и метилртути (по 2 мкг) вводят в 2 мл толуола, реэкстрагируют тиосульфатом, обрабатывают йодистым калием и экстрагируют бензолом.

Вариант 2. Среднюю пробу исследуемого продукта весом 500 г измельчают с помощью мясорубки, тщательно перемешивают, берут навеску 10 г (для молока 25 мл) и помещают ее в коническую колбу. Туда же приливают 50 мл дистиллированной воды (для молока 25 мл), 3 мл 5% раствора хлористой ртути*, 14 мл конц. соляной кислоты и 10 г хлористого натрия, перемешивают и экстрагируют соединения ртути 40 мл бензола посредством встряхивания в течение 30 минут. В случае образования эмульсии для разделения слоев смесь центрифугируют в течение 15—20 мин. при скорости вращения ротора центрифуги 2000—2500 об/мин. Полученный бензольный экстракт переносят с помощью пипетки и резиновой груши в делительную воронку и повторяют экстракцию с 30 мл бензола. Объединенные бензольные экстракты промывают (самотеком) дистиллированной водой (3—4 раза по 8—10 мин.) до нейтральной реакции промывных вод и извлекают соединения ртути 7 мл 0,1% водного раствора l-цистеина посредством встряхивания в течение 3-х минут. После расслаивания фаз нижний водный слой переносят в другую делительную воронку и повторяют экстракцию из органической фазы еще раз в том же порядке. К объединенным цистеиновым экстрактам добавляют 11 мл 6Н соляной кислоты, перемешивают и извлекают органические соединения ртути 5 мл бензола, встряхивая воронку в течение 3 минут. Бензольный экстракт сушат безводным сульфатом натрия и вводят в хроматограф 5 мкл.

В случае образования эмульсии при экстракции цистеином смесь необходимо центрифугировать при указанных выше условиях, после чего отбросить отделившийся бензол. Если полного расслоения не удалось достигнуть, оставшуюся эмульсию следует разрушить, добавив выше указанное количество (11 мл) 6Н соляной кислоты, перемешать и профильтровать смесь через крупнопористый бумажный фильтр в делительную воронку, после чего приступить к извлечению ртутьорганических соединений 5 мл бензола как описано выше.

---

* — для печени и яиц

5. Условия хроматографирования

Хроматогрфируют пробу на газовом хроматографе марки «Цвет-5» с детектором электронного захвата. Скорость протяжки ленты самописца 10 мм/мин., рабочая шкала электрометра 1×10^{11} а/шкалу. Длина стеклянной колонки 1 м, внутренний диаметр 3 мм. Температурные режимы: испарителя — 150° С, колонок — 130° С при использовании неопентилгликольсукцината и 110° С при работе на полидиэтиленгликольсукцинате, детектора — 250° С. Скорость азота через колонку 75 мл/мин, поддув — 105 мл/мин.

В испаритель вводят 5 мкл экстракта или стандартный раствор пестицидов 2 нг (5 мкл). Время удерживания метилртути 1,6 мин., этилртути — 4 мин.

Количественное определение проводят на основании сравнения высоты пика образца с пиком стандарта (до 2 нг). Минимальное детектируемое количество 0,05 нг. Линейность детектирования соблюдается в пределах 0,1—2 нг.

Содержание метил- или этилртути в анализируемой пробе (X) в мг/кг или мг/л находят по формуле:

$$X = \frac{H_{пр.} \times C_{ст.} \times V}{H_{ст.} \times V_a \times P}, \text{ где:}$$

$H_{пр.}$ — высота пика анализируемой пробы, мм;
$H_{ст.}$ — высота пика стандарта, мм;
$C_{ст.}$ — содержание пестицида в стандарте, мг;
V — объем гексана, из которого отбирают аликвоту для ввдения в хроматограф;
V_a — объем аликвоты, которую вводят в хроматограф (5 мкл);
P — навеска анализируемого образца, г.

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