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 14

МОСКВА 2010

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 14

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, 2010.—76 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.

Настоящие «Методические указания» предназначены санитарно-эпидемиологических станций Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрохимических, контрольно-токсикологических лабораторий Минсельхоза СССР к лабораторий других министерств и ведомств занижающихся анализом остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

«Методические указания» подготовлены Главным санитарно-эпидемиологическим управлением Министерства здравоохранения СССР, Государственной комиссией по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками при Министерстве сельского хозяйства СССР, Всесоюзным научно-исследовательским институтом гигиены и токсикологии пестицидов (лаборатория аналитической химии пестицидов и лаборатория кибернетических исследований пестицидов в окружающей среде), Всесоюзным научно-исследовательским институтом химических средств защиты растений (сектор анализа пестицидов).

ББК 51.23

Технический редактор Г. И. Климова

Подписано в печать 18.02.10

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,75

Тираж 200 экз. Заказ 14

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

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

© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

Содержание

Методические указании по определению сульфидоюса в мясе, молоке и кормах методом тонкослойной хроматографии....4

Нормативы и методы микробиологического контроля продуктов детского питания, изготовленных на молочных кухнях системы здравоохранения....16

Методические указания по выделению, идентификации и количественному определению насыщенных, моно-, би-, три- и ряда полициклических ароматических углеводородов в пищевых продуктах: № 4721—88....23

Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания деэоксиниваленола (вомитоксина) и зеараленона в зерне и зернопродуктах....31

Временые методические указания по определеню митака в растительном материале, почве, воде, органах, тканях и молоке животных методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии....45

Методические указания по обнаружению и определению содержания общей ртути в пищевых продуктах методом беспламенной атомной абсорбции....52

Атомно-абсорбционные методы определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье....60

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Главного
государственного санитарного
врача СССР
Л. И. Заиченко
12 мая 1983 г.
№ 2786—83

Временные методические указания по определению митака в растительном материале, почве, воде, органах, тканях и молоке животных методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии

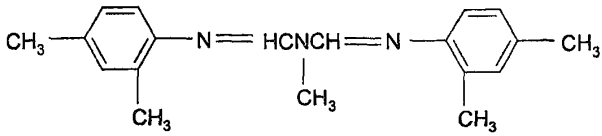
1. Краткая характеристика препарата

1.1. Митак (амитрац)

1.2. Химическая формула:

1,3-Ди (2,4-ксилилимино)– 2 – метил-2-азапропан

1.3. Структурная формула



М.м. 293,4

1.4. Митак – белое кристаллическое вещество, Т.пл. 86—87 °С.

Растворимость в воде 1 мг/л, в ацетоне и толуоле 300 г/л. С кислотами дает соли, сильные кислоты быстро разрушают митак.

Митак является специфическим акарицидом, активен против большинства видов растительноядных клещей. Выпускается в виде э.к. содержащего 200 г/л действующего вещества и 125 г/л для применения на животных. $ЛД_{50}$ для крыс 800 мг/кг, для мышей 1600 мг/кг.

2. Методика определения митака

2.1. Основные положения

2.1.1. Методика основана на извлечении митака из проб органическим растворителем, очистке экстрактов путем вымораживания воска и жира колоночной хроматографией и последующем определении тонкослойной и газожидкостной хроматографией с термоионным детектором.

2.1.2. Метрологическая характеристика методов

Нижний предел обнаружения	ГЖХ	ТСХ
	1 нг	1–3 мкг
Нижний предел обнаружения	ГЖХ	ТСХ
вода	0,001 мг/л	0,006 мг/л
почва	0,01 мг/кг	0,02 мг/кг
растительный материал	0,01 мг/кг	0,01 мг/кг
органы и ткани		0,02 мг/кг
молоко		0,01 мг/кг
Диапазон измеряемых концентраций	ГЖХ	ТСХ
вода	0,001–0,5 мг/л	0,006–0,6 мг/л
почва	0,01–1 мг/кг	0,06–6мг/кг
растительный материал	0,01–1 мг/кг	0,06–6 мг/кг
молоко	–	0,02–5 мг/кг
органы и ткани	–	
Среднее значение определения %		
вода	95	
почва	80	94,8
растительный материал	72	89,5
органы и ткани		91,5
молоко		95,0
Стандартное отклонение в %		
вода	3,5	
почва	6,7	2,5
растительный материал	7,5	2,5
органы и ткани		2,5
молоко		2,0
Доверительный материал среднего в % при n = 5		P = 0,95
вода	95 ± 4,4	
почва	80 ± 8,4	94,8 ± 2,5
растительный материал	72 ± 9,4	89,5 ± 2,5
органов и тканей		91,5 ± 2,5
молоко		95 ± 2,0

2.1.3. Избирательность метода

Метод специфичен, другие фосфорорганические и ХОС в данных условиях хроматографирования определению не мешают.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, ч, ГОСТ 2603–79
Бензол, чда, ГССТ 5955–75
Н-гексан, ч, ТУ 6-09-3375–78
Хлороформ, хч, ГОСТ 1277–63
Натрий хлористый, чда, ГОСТ 4233–77
Натрий сернокислый безводный, чда, ГОСТ 4171–76
Калий йодистый, чда, 4232–74
Крахмал водорастворимый, ч, ГОСТ 10163–76
Этанол, ТУ 19–11–39–69
Калий марганцевый, ч, ГОСТ 20490–75
Соляная кислота, чда, ГОСТ 3118–77
Эфир диэтиловый (для наркоза, Фармакопея СССР)
Окись алюминия, ч, ТУ 6–09–3916–75
Силикагель АСК (Воскресенского химкомбината, Моск. обл.).

Окись алюминия заливают на несколько часов разбавленной соляной кислотой (1 : 1), промывают проточной водопроводной водой, затем, дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат в сушильном шкафу при 100-120 °С

Хроматон N – AW – ДМСS с 5 % SE–30

Стандартные растворы митака в ацетоне с содержанием 10 мкг/мл в 10 мл (хранится в холодильнике 6 месяцев)

Дата обезжиренная

I-й проявляющий реактив: 50 мл 1 % раствора йодистого калия смешивают с 50 мл 3 % свежеприготовленного, доведенного до кипения, раствора водорастворимого крахмала. К полученной смеси добавляют 20 мл этанола. Раствор хранят на холоде в течение 2-х педель;

II-й проявляющий реактив: 0,5 г йода растворяют в 100 мл хлороформа;

III-й – 0,5 г азотнокислого серебра растворяют в 5 мл дистиллированной воды, прибавляют 7 мл аммиака и доводят до 100 мл ацетоном.

Водород.

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф цвет-106 или аналогичный прибор с ТИД
Аппарат для встряхивания, АВУ–1, ТУ-64-1-1081-33
Прибор для отгонки растворителей под вакуумом, ТУ 25-11-917–74
Колонки для абсорбционной хроматографии размером 300 х 15 мм
Колбы мерные 100 мл, ГОСТ 1770–74
Колба Бунзена, ГОСТ 6514–75
Микропипетки 0,1 мл, 0,2 мл, ГОСТ 20292–74
Воронка Бюхнера, ГОСТ 9147–73
Воронки химические, ГОСТ 8613–75
Водоструйный насос, ГОСТ 10396–75
Прибор для облучения УФ светом с лампой ПРК-4 любого типа
Хроматографическая камера, ГОСТ 10565–74
Пульверизаторы, ГОСТ 10391–74
Камера для опрыскивания хроматограмм, ГОСТ ТУ 11-413–70
Камера с парами хлора (на дно эксикатора помещают 10—15 г $KMnO_4$ и 10—20 мл концентрированной соляной кислоты. Плотно закрывают крышкой, давая накопиться парам, выделяющегося газообразного хлора)
Хроматографические пластинки «Силуфол»
Вата гигроскопическая
Микрошприц на 10 мкл
Бумажные фильтры, ТУ 6-09-1678–77
Холодильник любой марки.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Подготовка колонки для адсорбционной хроматографии

№ 1. В адсорбционную колонку помещают небольшой тампон из гигроскопической ваты, на него насыпают слой безводного сульфата натрия (1 г). Затем в колонку вносят окись алюминия (II степени активности) (2 г), а сверху насыпают силикагель АСК высотой 5 г. Силикагель АСК перед употреблением выдерживают в сушильном шкафу при 140 °С в течение 4-х часов. Колонку предварительно промывают 50 мл гексана или бензола.

№ 2. Можно использовать и другую колонку, которую заполняют следующим образом. Снизу помещают кусочек обезжиренной ваты, затем слой сернокислого натрия (безводного) 1 г и слой окиси алюминия 3—4 г. Через эту колонку пропускают 30 мл бензола.

2.4.2. Отбор и подготовка проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб для определения микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, продуктах питания к объектах окружающей среды», утвержденным Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 г., № 2051–79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Пробу воды 500 мл помещают в делительную воронку, куда добавляют 10 г хлористого натрия. Экстракцию митака проводят бензолом (порциями по 30 мл) или диэтилового эфира (порциями до 50 мл) дважды в течение 3—5 мин. Экстракты объединяют, сушат сернокислым натрием, отгоняют растворители в приборе для отгонки досуха.

2.5.2. Пробу почвы 25 г увлажняют дистиллированной водой (1 : 1) заливают 40 мл ацетона и экстрагируют на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера в колбу Бунзена. Фильтр с почвой переносят в исходную колбу и повторяют экстракцию. Фильтраты объединяют, помещают в делительную воронку, добавляют 200 мл дистиллированной воды, 10 г хлористого натрия и экстрагируют водно-ацетоновую смесь двумя порциями бензола (по 30 мл) и диэтилового эфира (порциями по 40 мл).

Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием (10 г) и отгоняют растворитель на приборе для отгонки растворителей до объема 1,5—2 мл.

2.5.3. 25 г измельченной растительной массы помещают в колбу емкостью 250 мл, заливают 30 мл бензола и экстрагируют на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Экстракцию повторяют дважды. Экстракты сушат безводным сернокислым натрием (10 г) и отгоняют растворитель до объема 1,5—2 мл.

2.5.4. Пробы органов и тканей весом 20 г экстрагируют 50 мл смесью гексан-бензол (1 : 1) в течение одного часа на аппарате для встряхивания. После чего помещают в морозильную камеру на 1 час. После охлаждения содержимое колбы отфильтровывают через бумажный фильтр в фарфоровые выпарительные чашки и растворитель выпаривают досуха.

2.5.5. 20 мл молока помещают в коническую колбу, добавляют 5 г поваренной соли, 30 мл ацетона и перемешивают в течение одного часа. Затем колбу помещают в морозильную камеру холодильника на 30—40 мин. После охлаждения экстракт фильтруют через бумажный фильтр в делительную воронку и добавляют 20 мл хлороформа. Ацетонохлороформный слой упаривают досуха.

Сухой остаток растворяют в 6 мл бензола (2 мл х 3) и переносят на хроматографическую колонку № 1 или па колонку № 2. Элюируют препарат 60 мл бензола. Бензол выпаривают в вакууме или током воздуха досуха.

2.5.6. Условия определения тонкослойной хроматографией.

Сухой остаток растворяют в 0,2—0,3 мл эфира или бензола и количественно наносят на хроматографическую пластинку. Рядом наносят стандартные растворы с содержанием 5, 10 мкг митака. Пластинку с нанесенными растворами хроматографируют в системе гексан-ацетон в соотношении 9 : 1 или бензол-этанол в соотношении 5 : 1. После поднятия фронта растворителя на 10—12 см пластинку вынимают из камеры и высушивают на воздухе.

I вариант – Пластинку помещают на 30—40 сек в камеру с газообразным хлором. Затем пластинку выветривают на воздухе до исчезновения запаха хлора и обрабатывают проявляющим реактивом. Митак проявляется в виде ярких синих пятен на белом фоне Rf = 07.

II вариант – Пластинку опрыскивают 0,5 %-ным раствором йода в хлороформе, затем опрыскивают 0,5 % $AgNO_2$ и облучают УФ-светом до четкого проявления препарата, которые имеют темно-коричневую окраску. Величина Rf митака в данных условиях хроматографирования также 0,7.

2.5.7. Обработка результатов анализа

Количество препарата вычисляют по формуле

$$X = \frac{A}{P}, \text{ где}$$

X – количество препарата мг/кг, мг/л;

A – количество препарата, найденное путем визуального сравнения размера и интенсивности окрашивания пятен пробы и стандартных растворов, миг;

P – навеска исследуемой пробы, мг, мл.

2.5.8. Условия определения газожидкостной хроматографией

После отгонки растворителей к сухому остатку добавляют 1—2 мл ацетона и аликвотную часть раствора (2—5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Условия хроматографирования

Хроматограф Цвет или другой модели с ТИД

Стеклянная колонка длиной 0,5—1 м и внутренним диаметром 3 мм, заполненная хроматоном N –AW–ДМCS с 5 % SE-30

Температура колонки 230 °С

Температура испарителя 270 °С

Расход газов: азота – 40 мл/мин, водорода – 15 мл/мин, воздуха – 300 мл/мин

Скорость протяжки ленты самописца 240 мм/час

Рабочая шкала электрометра $5 \cdot 10^{-11}$А

Время удерживания митака составляет 7,5 мин.

2.5.9. Обработка результатов анализа

Количественное определение препарата проводят путем сравнения высоты (или площади) пика исследуемого раствора митака с высотой или площадью пика эталонному раствору известной концентрации по следующей формуле

$$X = \frac{H \cdot V_1}{K \cdot V_2 \cdot A}, \text{ где}$$

X – количество препарата в пробе, мг/кг;

H - высота пика препарата в анализируемой пробе, мм;

V_1 – объем анализируемой пробы, мл;

V_2 – объем инъектируемой пробы, мкл;

A – навеска пробы, г, объем взятой на анализ вода, мл.

K – калибровочный коэффициент, который определяется по следующей формуле

$$K = \frac{H_{ср}}{B}, \text{ где}$$

$H_{ср}$ – среднее арифметическое высот пиков эталонного раствора, мм;

B – содержание препарата в эталонном растворе введенном в хроматограф, кг.

3. Требования безопасности

При работе соблюдать правила безопасности, принятые для работы с легколетучими и легковоспламеняющими жидкостями, сжатыми газами, а также требования техники безопасности, регламентируемые инструкцией по эксплуатации приборов.

4. Разработчики

Ахунова Н. Ш., Романова Л. Х., УзНИИСТиПЗ, г. Ташкент

Царегородцева Г. Н., Таланов Г. А., ВНИИВС, г. Москва.

gost.e-ecolog.ru