

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

**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 и лабораторий других министерств и ведомств занимающихся 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

Тираж 200 экз.

Печ. л. 4,75
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 указания 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 углеводов в пищевых продуктах: № 4721—88.....	23
Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания дезоксиниваленола (вомитоксина) и зеараленона в зерне и зернопродуктах	31
Временные методические указания по определению 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**

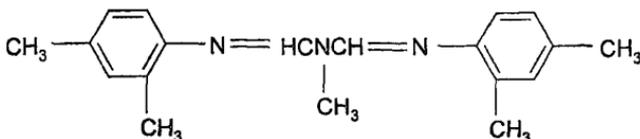
1. Краткая характеристика препарата

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. ЛД₅₀ 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	0,06–6 мг/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	$95 \pm 4,4$	
почва	$80 \pm 8,4$	$94,8 \pm 2,5$
растительный материал	$72 \pm 9,4$	$89,5 \pm 2,5$
органов и тканей		$91,5 \pm 2,5$
молоко		$95 \pm 2,0$

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 серноокислый 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-DMCS 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 недель;

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, АБУ-1, ТУ-64-1-1081-33
Прибор для отгонки растворителей под вакуумом, ТУ 25-11-917-74
Колонки для адсорбционной хроматографии размером 300 x 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. Плотнo 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 объектам 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 $R_f = 0,7$.

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 R_f 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

Стеклоянная колонка длиной 0,5—1 м и внутренним диаметром 3 мм, заполненная хроматоном N-AW-DMCS 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 инъецируемой пробы, мкл;

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

K – калибровочный коэффициент, который определяется по следующей формуле

$$K = \frac{H_{cp}}{B}, \text{ где}$$

H_{cp} – 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 легковоспламеняющимися 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.