

664.95
MSU

Рр-Хр-200



МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ФОТОМЕТРИЧЕСКОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ
ГИСТАМИНА В РЫБОПРОДУКТАХ



664.98
MSU

Министерство рыбного хозяйства СССР
Всесоюзный научно-исследовательский институт морского
рыбного хозяйства и океанографии
ВНИРО

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ФОТОМЕТРИЧЕСКОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ ГИСТАМИНА
В РЫБПРОДУКТАХ

(Дополнение к документу "Временные гигиенические нормативы
и метод определения содержания гистамина в рыбпродуктах"
СанПиН 42-123-4083-86)

ВНИРО
№ _____
Библиотека

Москва 1988

Методические указания по фотометрическому определению гистамина в рыбопродуктах. (Дополнение к документу "Временные гигиенические нормативы и метод определения содержания гистамина в рыбопродуктах" СанПиН 42-123-4083-86). - М., ОНТИ ВНИРО, 1988.

Методические указания предназначены для использования в учреждениях санэпидслужбы, ведомственного контроля на предприятиях Минрыбхоза СССР и в научно-исследовательских институтах с целью обеспечения безопасности потребления населением рыбы и рыбопродуктов.

Методические указания разработаны:

ВНИРО (зам. директора, канд. техн. наук В.А.Исаев, зав. лаб. контроля производства рыбных продуктов, канд. техн. наук А.Н.Головин, ст. научн. сотр., канд. хим. наук О.А.Галутва);

Институтом питания АМН СССР (зам. директора, доктор мед. наук, профессор В.А.Тутельян, зав. лабораторией пищевой токсикологии, доктор мед. наук А.М.Иваницкий, ст. научн. сотр., канд. хим. наук Г.Ф.Лукова, ст. лаб. Е.В.Крюкова).

Главным санитарно-эпидемиологическим управлением Минздрава СССР (отдел гигиены питания).

Методические указания согласованы с Минрыбхозом СССР 27.03.87 и утверждены Минздравом СССР 31.03.87 № 4274-87.

© Всесоюзный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), 1988 г.

Фотометрический метод определения содержания гистамина в рыбе и рыбопродуктах предполагает использование широко распространенных отечественных колориметров или спектрофотометров.

СУЩНОСТЬ МЕТОДА

В основе фотометрического 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%.

АППАРАТУРА, РЕАКТИВЫ, МАТЕРИАЛЫ

Баня водяная.

Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104-80 с допускаемой погрешностью взвешивания $\pm 0,001$ г.

Весы лабораторные общего назначения 3-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 1 кг по ГОСТ 24104-80 с допускаемой погрешностью взвешивания $\pm 0,1$ 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-1-100-29/32 ТС по ГОСТ 25336-82.

Колбы мерные 1-100-2 или 2-100-2 по ГОСТ 1770-74.

Колориметр фотоселектрический по ГОСТ 12083-78 со светофильтром с $\lambda = 490 \pm 10$ нм, спектрофотометр СФ-26 или аналогичный.

Микроизмельчитель 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.

Пробирки мерные П-2-10 или П-2-15 по ГОСТ 1770-74.

Термометр 0-100°C по ГОСТ 2045-71.

Холодильник бытовой.

Шкаф лабораторный сушильный.

Цилиндры мерные 1-50 или 2-50 по ГОСТ 1770-74.

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, х.ч., 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, ч.д.а., раствор 50 г/дм³ (5%-ный раствор).

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328-77, ч.д.а., раствор 200 г/дм³ (5 н раствор).

Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166-76, х.ч., прокаленный.

Натрий углекислый по ГОСТ 83-79, х.ч., раствор 40 г/дм³ (4%-ный раствор).

Пара-нитроанилин, ч.д.а.

Этилацетат по ГОСТ 22300-76, ч.д.а.

ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

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°C в течение 10-15 мин. 0,1 г перекристаллизованного пара-нитроанилина растворяют в 100 см³ 0,1 н соляной кислоты. Хранят раствор в холодильнике до момента употребления.

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°C.

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.

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" и 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 ч) рыба-сырец должна находиться в охлажденном состоянии, а мороженая - 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°C не более трех суток.

Доставка и хранение образцов консервов и другой продукции должны проводиться с соблюдением режимов, предусмотренных нормативно-технической документацией (действующими инструкциями и стандартами).

5. Экстракция. Навеску 10 г (с точностью до 0,01 г) приготовленного образца помещают в сосуд микроразмельчителя тканей, добавляют 25 см³ 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и перемешивают 5 мин. Полученную смесь переносят в плоскодонную коническую колбу на 100 см³, ополаскивают сосуд смесителя дважды 5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты (5-10 см³) и растворы объединяют. Колбу снабжают воздушным холодильником и выдерживают на водяной бане при 60°C в течение 15 мин. Охлажденную смесь переносят количественно в цилиндр, доводят до 50 см³ 5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты и фильтруют через складчатый бумажный фильтр (фильтрат I).

6. Построение калибровочной кривой. Готовят стандартные растворы гистамина с концентрацией 5, 10, 20 и 40 мкг/см³ в 5%-ной трихлоруксусной кислоте. Для приготовления основного раствора гистамина с концентрацией 40 мкг/см³ 4,0 мг гистамина помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в 5%-ной трихлоруксусной кислоте и доводят объем до метки. Рабочие растворы гистамина с концентрациями 20, 10 и 5 мкг/см³ 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 см³ каждого стандартного раствора помещают в пробирки с притертыми пробками, добавляют 1 см³ 20%-ного 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 с. После разделения фаз отбирают пипеткой или шприцем 3 см³ верхнего бутанольного слоя и переносят в пробирку с притертой пробкой, содержащую 3 см³ 0,1 н раствора соляной кислоты. Встряхивают содержимое пробирки в течение 30 с. 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°C. Приливают к охлажденному раствору 2 см³ холодного свежеприготовленного диазореактива, встряхивают и вновь выдерживают 5 мин при 0°C. Добавляют 4 см³ этилацетата и энергично встряхивают в течение 30 с. 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 $\lambda = 495$ 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.

ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ

5 см³ фильтрата I, полученного в результате экстракции (см. п. 5), помещают в пробирку и проводят процедуру, описанную в п. 6., начиная с добавления раствора гидроксида 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.

ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

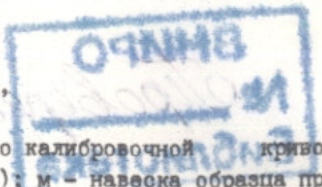
Содержание гистамина в образце продукта Г (мг/кг) вычисляют по формуле:

$$Г = \frac{с \cdot У}{м} \cdot \Phi,$$

где с — концентрация гистамина, найденная по калибровочной кривой, мкг/см³; У — объем экстракта, см³ (50 см³); м — навеска образца продукта, г (10 г); Φ — фактор разбавления.

$$\Phi = \frac{У \text{ фильтрата I} + У \text{ 5\%-ной трихлоруксусной кислоты}}{У \text{ фильтрата I}}$$

Вычисление проводят до единиц. За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение результатов трех параллельных определений. Расхождение между результатами параллельных определений не должно превышать 50% по отношению к среднему арифметическому значению.



СОДЕРЖАНИЕ

Сущность метода.....	3
Аппаратура, реактивы, материалы.....	3
Подготовка к испытанию.....	4
Проведение испытаний.....	6
Обработка результатов.....	6

Методические указания

по фотометрическому определению гистамина в рыбопродуктах

Редактор Т.В. Михальцева
Корректор Н.Г. Зайцева
Наборщик О.В. Седелникова

Подписано к печати 25.04.88

Заказ 209

Объем 0,5 п. л.

Формат 60x84 1/16

Бесплатно

Тираж 125

Ротапринт ВНИРО

107140, Москва, Верхняя Красносельская, 17