Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2009—4.1.2021—05

Издание официальное

Москва, 2009

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации,
Г.Г. Онищенко
«17» октября 2005 г.
Дат д ния: момента утверждения.

4.1.МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

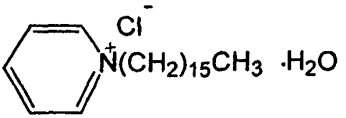
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЦЕТИЛПИРИДИНИЙ ХЛОРИДА В МЯСЕ КУР И ПРОДУКТАХ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ

Методические указания
МУК 4.1.2009-05

Настоящие методические указания устанавливают хроматографическую методику выполнения измерений массовой концентрации цетилпиридиний хлорида (ЦПХ) в мясе кур и продуктах его переработки и предназначены для проведения лабораторных исследований мяса кур и продуктов его переработки учреждениями Роспотребнадзора Российской Федерации, на предприятиях и в организациях, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и продуктов питания в соответствии с СанПин 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

1. Краткая характеристика препарата

Общепринятое название: цетилпиридиний хлорид (ЦПХ).
Название по номенклатуре ИЮПАК: N-цетилпиридиний хлорид.
Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{21}H_{38}NCl$, моногидрат. М.м. 339,5
Физические свойства: белый порошок, без запаха, температура плавления 77-83°С, pH 1%-ого водного раствора 6,0–7,0. Хорошо растворим в воде, спирте и хлороформе, нерастворим в эфире.
Торговая марка: технологическое вспомогательное средство «Секур» («Secure»).
Фирма-производитель: «Safe Food Corporation», США.
Форма выпуска: водный раствор цетилпиридиний хлорида и пропиленгликоля.
Область применения. Технологическое вспомогательное средство «Секур» предназначено для использования в пищевой промышленности для противомикробной обработки поверхности сырых тушек домашней птицы. Средство распыляется на сырые тушки домашней птицы перед погружением в охладитель в количестве не более 0,66 грамм ЦПХ на килограмм тушки.
Гигиенические нормативы. Установленная предельно допустимое содержание остатков ЦПХ составляет 4,0 мг на кг птицы.

2. Методика определения остаточных количеств ЦПХ в мясе кур и продуктах его переработки методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении остаточных количеств ЦПХ в мясе кур и продуктах его переработки методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектированием при длине волны 260 нм после водно-спиртовой экстракции ЦПХ из анализируемых проб и обезжиривании экстракта. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологические характеристики метода

Таблица 1.

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 10$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандарт. отклон., S	доверит. интервал среднего результата, %,±
Кожа и мясо кур	0,02	0,08-5	86,6	3,4	86,6±2,1

Таблица 2.

Полнота определения цетилпиридиний хлорида в коже и мясе кур
(5 повторностей для каждой концентрации)

Анализируемый объект	Добавлено ЦПХ, мг/кг	Обнаружено ЦПХ, мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
Кожа кур	5	4,63	0,05	92,6
	2	1,67	0,04	83,5
	0,8	0,70	0,01	87,5
	0,2	0,16	0,01	80,0
	Среднее:			85,9
Мясо кур	5	4,83	0,04	96,6
	2	1,69	0,04	84,5
	0,8	0,66	0,01	82,5
	0,2	0,17	0,02	85,0
	Среднее:			87,2

2.2. Реактивы

Спирт этиловый ректификованный технический, ГОСТ 18300;
Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3534-74;
Н-Гексан, х.ч., по ТУ 6-09-4521-84;
Вода дистиллированная, ГОСТ 6709;
Кислота трифторуксусная >99,8%, х.ч., ГОСТ 18270-72;
Цетилпиридиний хлорид моногидрат, Zeeland Chemicals Inc., (США).

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Жидкостной хроматограф высокого давления с подачей растворителя от 0,1 до 5,0 см^3/мин., оборудованный спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны (Jasco) и системой для сбора и обработки хроматографических данных Мультифром 1.5х (Амперсенд, Россия).

Колонка для ВЭЖХ PLRP-S (Polymer Labs, США) с размером частиц 5 мкм; длина колонки - 25 см, внутренний диаметр колонки - 0,46 см;

Микрошприцы обемом 10 и 25 мкл для жидкостной хроматографии (Hamilton, США).

Спектрофотометр СФ-26 или подобный, позволяющий проводить измерения при длинах волн 200- 350 нм, с допустимой абсолютной погрешностью измерений коэффициента пропускания не более 1%;

Аппарат для встряхивания проб типа АВУ-6С, ТУ 64-1-2451-78.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г и погрешностью ±0,0001 г.

Ротационный испаритель ИР-1М или аналогичный, ТУ 25-11-917;

Дистиллятор

Блендер

Баллон с сжатым азотом квалификации ПНГ;

Воронка делительная на 250 см3 по ГОСТ 10054;

Колбы мерные наливные 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 1-1000-2 по ГОСТ 1770;

Колбы грушевидные по ГОСТ 25336 с конусом 14/23 вместимостью 100 $см^3$;

Цилиндры по ГОСТ 1770 вместимостью 100 $см^3$;

Пипетки 4-1-2 или 5-1-2, 4-2-10 или 5-2-10, 4-2-25 или 5-2-25 по ГОСТ 29227.

Фильтры обеззольные ФО-ФС-15 «Красная лента» и «Синяя лента» по ТУ 2642-001-42624157-98;

Допускается использование приборов и посуды с метрологическими характеристиками и реактивов квалификацией не ниже указанных в МУК.

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ 6687.0. Для длительного хранения пробы мяса и кожи птицы замораживаются и хранятся при –18°С.

Перед анализом снятую кожу или отделенное мясо кур перемалывают на мясорубке и тщательно перемешивают в блендере.

2.5. Подготовка к определению

2.5 1 Приготовление стандартных растворов ЦПХ и калибровка хроматографа

0,025 г кристаллического ЦПХ количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, растворяют в 150 $см^3$ 95%-ого этанола, доводят 95%-ым этанолом до метки и тщательно перемешивают. Получают основной стандартный раствор в 95%-ом этаноле с массовой долей ЦПХ 0,1 мг/$см^3$;

Для построения градуировочной кривой методом последовательного разбавления подвижной фазой готовят рабочие стандартные растворы с содержанием ЦПХ 0,01; 0,002; 0,0005 и 0,0002 мг/$см^3$. Хроматографируют по 10-20 мкл всех полученных растворов. Хроматографирование каждого раствора проводят трижды и строят график зависимости средних площадей пиков от концентрации ЦПХ в мкг/мл.

Основной и рабочие стандартные растворы ЦПХ хранят в стеклянной посуде (мерной колбе) с притертой пробкой в прохладном месте (при температуре около 0°С). Сроки годности основного раствора полгода, рабочего – 2 недели.

2.5.2. Приготовление подвижной фазы и кондиционирование хроматографической колонки

Навеску 1 г ± 0,1 г трифторуксусной кислоты (взвешивание производят в закрытой посуде) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, содержащую около 200 мл дистиллированной воды и доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Концентрация полученного раствора - 0,1%.

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 700 см^3 ацетонитрила, примерно 250 см^3 0,1%-ого раствора трифторуксусной кислоты, перемешивают и выдерживают до комнатной температуры. Затем доводят до метки 0,1%-ым раствором трифторуксусной кислоты, тщательно перемешивают. Раствор дегазируют.

Хроматографическую колонку кондиционируют до минимального дрейфа базовой линии.

2.5.3. Подготовка образца

Навеску 10 г ± 0,01 измельченного и перемешанного в блендере образца кожи или мяса птицы помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 95%-ого этанола, встряхивают на аппарате для встряхивания в течение 30 минут.

Экстракт фильтруют через бумажный складчатый фильтр «красная лента» в мерный цилиндр вместимостью 100 см^3, замеряют полученный объем. Фильтрат количественно, порциями переносят в круглодонную колбу для упаривания, смывая остатки экстракта из цилиндра 95%-ым спиртом и затем спирт упаривают в вакууме на ротационном испарителе при температуре 40-45°С. К остатку добавляют 25 мл ацетонитрила и 20 мл гексана. После встряхивания одержимое колбы , количественно переносят в делительную воронку. Колбу для упаривания ополаскивают 5 мл ацетонитрила и 5 мл гексана, перенося содержимое колбы в делительную воронку. Содержимое делительной воронки встряхивают, после разделения слоев отбрасывают верхний гексановый слой. Дважды повторяют обезжиривание ацетонитрильного слоя , встряхивая в делительной воронке с 10 мл гексана, насыщенного ацетонитрилом, каждый раз отбрасыая верхний гексановый слой. Если жидкости расслаиваются с трудом, в воронку добавляют немного сухого хлорида натрия и повторно встряхивают. Обезжиренный ацетонитрильный слой помещают в круглодонную колбу для упаривания и упаривают в вакууме на ротационном испарителе при температуре 40-45°С. Остаток отдувают в токе азота досуха на теплой водяной бане. Остаток растворяют в 3 см^3 подвижной фазы, переносят в пикнометр вместимостью 5 см^3, ополаскивают колбу для упаривания еще 1 см^3 подвижной фазы и доводят объем до метки подвижной фазой, содержимое пикнометра перемешивают и фильтруют через бумажный

складчатый фильтр «синяя лента». При необходимости фильтруют через нейлоновый фильтр. При анализе используют аликвоты 0,005-0,020 $см^3$.

Описание определения

2.5.1. Условия хроматографирования

Хроматографическая колонка: PLRP-S (Polymer Labs), с размером пор 100Å, размером частиц 5 мкм; параметры колонки 250×4,6 мм ID.

Подвижная фаза: ацетонитрил – 0,1% раствор трифторуксусной кислоты 80:20 % об., скорость подачи подвижной фазы 1,0 мл/мин.

Детектирование: УФ, λ=260 нм. Чувствительность 0,01 е.а

Объем вводимой пробы 5-20 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 2-200 нг ЦПХ.

Абсолютное время удерживания ЦПХ – около 8,5 минут.

Каждую анализируемую пробу вводят 3 раза, вычисляют среднюю площадь пика, соответствующего ЦПХ.

Альтернативные условия хроматографитческого разделения: Колонка с силикагелем, химически связанным с цианпропилом (например,Nucleosil-CN) с размером частиц 5 мкм; параметры колонки 250×4,6 мм ID. Подвижная фаза: метанол – водный 8 mM раствор тетрабутиламмоний бромида (45:55 % об.)., скорость подачи подвижной фазы 1,0 мл/мин. Условия детектирования аналогичны. Время удерживания ЦПХ – около 6 минут.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Концентрацию ЦПХ в анализируемом очищенном экстракте образца определяют либо методом градуировочного графика , либо сравнением площадей пиков ЦПХ стандартного раствора и раствора образца.

Для расчета используют стандартный раствор, площадь пика которого наиболее близка к площади пика ЦПХ в образце.

$$X = C_{ст} \times 1000 \times S_x \times V / m \times S_{ст}, \quad \text{где}$$

X – содержание ЦПХ в пробе мяса или кожи птицы, мг/кг;

$C_{ст}$ – содержание ЦПХ в стандартном растворе, мг/мл;

S_x – площадь пика ЦПХ в анализируемом образце;

$S_{ст}$ – площадь пика стандарта;

V – объем очищенного экстракта (5мл), мл

М – навеска образца, г.

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами и электроприборами.