

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

Всероссийский научно-исследовательский институт
гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров
и пластических масс

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕСТИЦИДОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ
СРЕДЫ И В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ УКАЗАНИЙ И РЕКОМЕНДАЦИЙ

К И Е В - 1 9 9 0 г.

Министерство здравоохранения СССР

**ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МЕТИЛ- И ЭТИЛМЕРКУРХЛОРИДА В ПИЩЕВЫХ
ПРОДУКТАХ, КУЛИНАРНО ОБРАБОТАННЫХ ПИЩЕВЫХ
РАЦИОНАХ, КОРМАХ И ПОЧВЕ**

Москва — 1977

Краткая характеристика соединений

В настоящее время ртуть и ее соединения в результате промышленной и сельскохозяйственной деятельности человека могут поступать в ощутимых количествах во внешнюю среду и загрязняют ее. Алкильные соединения ртути и, в частности, метилртуть значительно более токсичны, особенно при хроническом воздействии в сравнении с другими органическими (арильными, алкоксилалкильными) и неорганическими соединениями ртути. Это объясняется особенностями метаболизма и, в частности тем, что алкильные соединения легче проходят плацентарный и гемато-энцефалический барьер и в большей степени накапливаются в головном мозге, чем другие соединения ртути. Обладая выраженными кумулятивными свойствами эти вещества могут вызывать сравнительно быстрое и тяжелое нарушение функций центральной и вегетативной нервной системы.

Алкилсоединения ртути легко образуют соли. Хлористые соли, метил- и этилртути представляют собой белые кристаллические вещества со специфическим запахом. Они летучи, в особенности метилмеркурхлорид, сильно раздражают слизистые оболочки глаз. Соединения хорошо растворяются в спирте, бензоле, толуоле и хлорорганических растворителях. Температура плавления метилмеркурхлорида - $169,2^{\circ}\text{C}$, а этилмеркурхлорида - 192°C . Эти вещества легко реагируют с тиосодержащими соединениями. Этилмеркурхлорид является основным действующим началом многих ртутьорганических протравителей семьи (грамазан, меркурак, меркургоксан, меркурбензол, криптодин, комбисан и др.).

В организм человека ртуть может поступать главным образом ионизированно и с пищевыми продуктами. По литературным данным (Смарт, 1968) средний уровень остаточного содержания ртути в

продуктам растительного происхождения (груши, яблоки, картофель, зерновые, бобовые культуры и др.) весьма низкий и не превышает, как правило, 0,075 мг/кг. Из продуктов животного происхождения наиболее загрязнена рыба и морские продукты (моллюски, ракообразные). Концентрация ртути в некоторых видах рыб достигает 0,5-16,0 мг/кг. Чаще и в больших количествах обнаруживается метилртуть (В.Н. Богомолова, А.И. Штенорг, 1976), что обусловлено высокими кумулятивными свойствами этого соединения, а также способностью живых организмов (бактерий, рыб, растений) трансформировать неорганические соединения ртути в метилртуть.

В Советском Союзе остаточное содержание ртути в продуктах питания, а также кормах для сельскохозяйственных животных не допускается. Для контроля за содержанием ртутьорганических соединений (метил-, этилпроизводных) Министерством здравоохранения СССР утвержден в качестве официального (22 сентября 1975 г. № 1350-75 г.) газохроматографический метод определения метил- и этилртути в пищевых продуктах, кулинарно обработанных пищевых рационах, кормах и почве, разработанный в Институте ветеринарной санитарии (В.В. Ермаков) и Институте питания АМН (В.Н. Богомолова).

Принцип метода

Вариант I.

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 неопентилглицольсукцинате при 130°C или полидиметиленглицольсукцинате при 110°C. Метод позволяет определять 0,005 мг

алкилртути в 1 кг объекта с ошибкой до 25%. Этот вариант метода может быть использован для определения метил- и этилмеркурхлорида в мясе, рыбе, яйцах, молоке, кормах и почве.

Вариант II.

Метод основан на извлечении органических соединений ртути из подкисленных гомогенатов пищевых продуктов бензолом, перераспределении их в водный раствор $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ -цистемна, повторный экстракции бензолом и количественном определении посредством газо-жидкостной 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.

Реактивы и растворы

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

Спирт этиловый, ректификат.

Соляная кислота, концентрированная, IN и 6N растворы.

Калий иодистый 3M (свежеприготовленный) и 1% раствор в 0,1N едком натре.

Гипосульфит натрия 0,05M раствор (готовят из фиксаналя). Рабочий раствор гипосульфита 0,0025M раствор готовят перед употреблением следующим образом: 5 мл 0,05M 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 конц. и доводят до 500 мл водой.

Натрий хлористый, х.ч., кристаллический.

ℓ -цистеин, 1% водный раствор

Натрий серноокислый безводный, промытый бензолом и высушенный. Хромосорб W или хроматон (80-100 меш) силианизированный 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° в случае неопентилгликольсукцината и при 170°, 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.

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 ротора 2000-2500 об/мин.

ℓ Длительные 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.

Ход определения

Вариант I. 10 г. гомогенизированного или растертого образца (мясо, рыба, почва) помещают в круглодонную колбу емкостью 100 мл, куда предварительно добавляют 60 мл 1N 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 ^сдлительную 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 ^{водную} нижнюю фазу отбрасывают, а толуольный экстракт переносят, фильтруя через стекловату или обычную вату промытую толуолом, в другую ^сдлительную воронку объемом 50 мл. Фильтр промывают 5 мл растворителя. К экстракту добавляют 5 мл 0,0025 M гипосульфита натрия и энергично встряхивают смесь 2 минуты. После разделения фаз нижнюю сливают в третью ^сдлительную воронку емкостью 50 мл, толуольный экстракт ещё раз обрабатывают 5 мл 0,0025 M раствора гипосульфита натрия. К объединенным этанольным раствором гипосульфита натрия добавляют 2,5 мл 8 M раствора йодистого калия, 5 мл бензола и содержимое встряхивают 2 минуты. Верхний бензольный экстракт промывают 10 мл 1% раствора йодистого калия в 0,1 N едком натре, сливают в сухую пробирку, доводят объем до 5 мл бензолом, обезвреживают 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 хло-

риды этил и метилртути (по 2 мкг) вводят в 2 мл толуола, реагируют тиосульфатом, обрабатывают йодистым калием и экстрагируют бензолом.

Вариант II. 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 клинческую колбу. Туда же приливают 50 мл дистиллированной воды (для молока 25 мл), 3 мл 5% раствора хлористой ртути^{х)}, 14 мл конц. соляной кислоты и 10 г хлористого натрия, перемешивают и экстрагируют соединения ртути 40 мл бензола посредством встряхивания в течение 30 мин. 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 6 N 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

^{х)} для печени и яиц

ний не удалось достигнуть, оставшуюся эмульсию следует разрушить, добавив выше указанное количество (II мл) 6 N 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.

Условия хроматографирования

Хроматографируют пробу на газовом хроматографе марки "Цвет"-5 с детектором электронного захвата. Скорость протяжки ленты самописца 10 мм/мин, рабочая шкала электрометра $1 \cdot 10^{11}$ а/шкалу. Длина стеклянной колонки 1 м, внутренний диаметр 3 мм. Температурные режимы: испарители - 150°C, колонок - 130°C при использовании неонентилгликольсукцината и 110°C при работе на полидиэтиленгликольсукцинате, детектора - 250°C. Скорость авота 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 г/кг или мг/л находят по формуле

$$x = \frac{\text{Нпр} \cdot \text{Сст} \cdot V}{\text{Нст} \cdot V_a \cdot P}, \text{ где}$$

Нпр - высота пика анализируемой пробы в мм;

Нст - высота пика стандарта в мм;

Сст - содержание пестицида в стандарте в мг;

V - объем гексана, из которого отбирают аликвоту для введения в хроматограф;

V_a - объем аликвоты, которую вводят в хроматограф (5 мкл);

P - навеска анализируемого образца в г.

Подготовлено в Институте питания АМН СССР
(В.И. Богомолова) и Всесоюзном научно-иссле-
довательском Институте ветеринарной санита-
рии.

Д-775II. Подписано к печати 2 марта 1977 г.

Отпечатано в ПК ВНИИМИ МЗ СССР

Зан. 300. Тир. 150