ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

# ОВОЩИ, КОРМА И ПРОДУКТЫ ЖИВОТНОВОДСТВА

## Определение ртутьорганических пестицидов хроматографическими методами

**СТ РК 2040-2010**

**Издание официальное**

**Комитет технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан (Госстандарт)**

**Астана**

gost.e-ecolog.ru

## Предисловие

**1 ПОДГОТОВЛЕН И ВНЕСЕН** республиканским государственным предприятиям «Казахстанский институт стандартизации и сертификации», Товарищество с ограниченной ответственностью «Magzoom central group».

**2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан от 22 ноября 2010 года № 523-од

**3 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ** 2017 год
**ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ** 5 лет

**4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений - в ежемесячных информационных указателях «Государственные стандарты». В случае пересмотра (отмены) или замены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Государственные стандарты»*

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

# ОВОЩИ, КОРМА И ПРОДУКТЫ ЖИВОТНОВОДСТВА

## Определение ртутьорганических пестицидов хроматографическими методами

**Дата введения 2012-01-01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на овощи, корма и продукты животноводства и устанавливает метод определения ртутьорганических пестицидов с использованием хроматографии.

Метод определения ртутьорганических пестицидов основан на реакции их йодистых солей с дитизоном, образовании окрашенных в оранжевый цвет дитизонатов алкил- и арилртути, которые разделяют в тонком слое окиси алюминия.

## 2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия;

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия;

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия;

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия;

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры;

ГОСТ 25336-82 Воронка лабораторная

ГОСТ 29169-91 (ИСО 648-77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой;

ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

ПРИМЕЧАНИЕ При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по ежегодно издаваемому информационному указателю «Указатель нормативных документов по стандартизации» по состоянию на текущий год и соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям,

**Издание официальное**

опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку

## 3. Принцип метода определения

Идентификация ртутьорганических пестицидов основана на:

- реакции их йодистых солей с дитизоном,

- образовании окрашенных в оранжевый цвет дитизонатов алкил- и арилртути, которые разделяют в тонком слое окиси алюминия.

Для извлечения соединений ртути из биологических материалов применяют два способа.

Первый способ заключается в экстрактивной перегонке алкил-ртути из солянокислой среды и последующей экстракции веществ толуолом.

Второй способ основан на жидкость-жидкостном распределении. Ртутьорганические пестициды извлекают смесью 1 н. соляной кислоты с этанолом, а из вытяжки вещества экстрагируют бензолом. Степень обнаружения добавок 1 мкг фенилртути составляет 55% - 60 %, а 1 мкг метил-, этил- и метоксиэтилртути составляет 80% - 90 %.

Полнота метода определения составляет 90 %. Относительная ошибка определения при полуколичественной оценке составит 30% - 40 %. Чувствительность метода 0,5 мкг органической ртути в пробе массой 50 г (10 мкг/кг).

## 4 Порядок подготовки к проведению метода определения

### 4.1 Приготовление растворов и реактивов

4.1.1 Приготовление 0,05 М раствора тиосульфата натрия.

Готовят из фиксанала и хранят в темной склянке.

4.1.2 Приготовление рабочего 0,0025 М раствора тиосульфата натрия.

Готовят перед употреблением, смешивая 5 мл 0,05 М раствора, 45 мл дистиллированный воды и 50 мл этилового спирта.

4.1.3 Приготовление 0,02 %-ного раствора дитизона в хлороформе.

В делительной воронке растворяют в хлороформе 50 мг дитизона, прибавляют 200 мл дистиллировано воды и 5 мл-10 мл концентрированного аммиака. Смесь энергично встряхивают 2 мин. После разделения слоев хлороформный слой отбрасывают, водный раствор дитизона промывают 20 мл хлороформа, слой хлороформа отбрасывают. Трубку делительной воронки высушивают фильтровальной бумагой, прибавляют в воронку 200 мл хлороформа и разбавляют (1:1) соляную кислоту до отчетливо кислой реакции. Смесь встряхивают до тех пор, пока дитизон не перейдет в

хлороформ (слой хлороформа окрашивается в темно-зеленый цвет, водная фаза обесцвечивается). Хлороформный слой отделяют в другую делительную воронку и промывают тремя порциями воды по 50 мл. Раствор дитизона в хлороформе сливают в темную склянку и хранят в темноте на холоде. Раствор устойчив в течение месяца

4.1.4 Приготовление 0,002 %-ного раствора дитизона.

Готовят перед употреблением путем разбавления основного раствора хлороформом в 10 раз.

4.1.5 Приготовление 3 М раствора йодистого калия.

10 г соли растворяют в 20 мл воды и добавляют 2 капли 1 н. раствора гидроокиси натрия. Применяют свежий раствор.

4.1.6 Приготовление 1 н. раствора соляной кислоты.

50 мл концентрированной соляной кислоты (плотностью 1,19) смешивают с 550 мл дистиллированной воды.

Смесь 1 н. соляной кислоты с этанолом (7:3 по обьему).

4.1.7 Приготовление 0,5 М раствор хлорной меди в 2,5 н. соляной кислоте.

Можно использовать хлористую медь (5 г соли растворяют в 20 мл концентрированной соляной кислоты и добавляют и 80 мл дистиллированной воды).

4.1.8 Приготовление стандартных растворов ртутьорганических пестицидов.

10 мг метилмеркурйодида, этилмеркурхлорида, метоксиэтилмеркурацетата или фенилмеркурацетата растворяют в 10 мл бензола.

Можно использовать препаративные формы пестицидов (взвешивают количество препарата, эквивалентное 10 мг действующего вещества, и вносят в 10 мл бензола). Растворы хранят на холоде. Могут храниться в течение трех месяцев.

4.1.9 Приготовление рабочих растворов ртутьорганических соединений (2 мкг/мл).

0,1 мл основного раствора пестицида вносят в колбу вместимостью 50 мл доводят обьем до метки ацетоном. Растворы устойчивы две недели.

4.1.10 Реактивы:Бензол, толуол, хлороформ х.ч. или д.а.

4.1.11 Приготовление метилртути.

В круглодонную колбу вместимостью 50 мл вносят 5 мл йодистого метила и 7 г металлической ртути. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, смесь помещают на 6 ч – 10 ч под УФ-лампу низкого давления, чтобы смесь затвердела в виде желтой массы.Метилмеркурйодид экстрагируют ацетоном, фильтруют, концентрируют и перекристаллизовывают из метанола или ацетона. Температура плавления синтезированной метилртути 140,5 °С.

4.1.12 Приготовление этилмеркурхлорида.

К 100 г розового гранозана в сухой колбе вместимостью 1 л добавляют 250 мл горячего 1 н раствора соляной кислоты. Содержимое колбы взбалтывают 1 ч на механическом встряхивателе. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр в колбу вместимостью 750 мл, осадок промывают 150 мл горячей 1 н. соляной кислоты. К фильтру добавляют 100 мл бензола, колбу помещают в встряхиватель на 1 ч. Содержимое колбы переливают в делительную воронку вместимостью 500 мл. Нижнюю солянокислую фазу сливают в колбу вместимостью 1 л, а бензольный экстракт фильтруют через воронку со стекловатой и хлористым натрием (слой толщиной 1 см) в фарфоровую чашку для выпаривания. Фильтр промывают 10 мл бензола, который присоединяют к экстракту. Растворитель отгоняют в струе воздуха (под тягой). Для удаления воды чашку оставляют на ночь. На следующий день остаток снимают со стенок чашки, растирают и используют в качестве стандарта. Выход продукта составляет 50 % при содержании действующего вещества 97,4 %.

ПРИМЕЧАНИЕ Допускается применять другие оборудования, лабораторные посуды и химические реактивы с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных.

## 5 Приготовление пластинок

50 г окиси алюминия II степени активности (для хромотографии), просеянной через сито 100 меш, смешивают в фарфоровой ступке с 3,5 г просеянного и прокаленного гипса. Смесь высыпают в колбу вместимостью 500 мл и добавляют 60 мл воды. Смесь встряхивают 2 мин. Свободную от пузырьков воздуха массу распределяют на пластинках 9 см х 12 см (по две чайные ложки) и высушивают на воздухе. Перед употреблением пластинки со слоем адсорбента прокаливают 2 ч в сушильном шкафу при $105^0$ С. Хранят пластинки в эксикаторе над безводным хлористым кальцием

## 6 Оборудование и лабораторная посуда

Аппарат для дистилляции на шлифах, состоящий из реакционной колбы вместимостью 250 мл, холодильника длиной 15 см - 20 см и делительной воронки (приемника) вместимостью 250 мл.

Гомогенизатор.

Механический встряхиватель.

Хроматографическая камера вместимостью 1-2 л.

Воронки для фильтрования диаметром 5-10 см.- по ГОСТ 25336;

Делительные воронки вместимостью 500,250 и 50 мл.- по ГОСТ 25336;

Мерные цилиндры на 25,50 и 100 мл. - по ГОСТ 1770, ГОСТ 25336;

Пипетки на 1,2,5 и 10 мл. – по ГОСТ 25336, ГОСТ 29169, ГОСТ 29227;

Микропипетки на 0,1-0,2 мл. – по ГОСТ 25336, ГОСТ 29169, ГОСТ 29227;

Пробирки вместимостью 10 мл, градуированные, с притертыми пробками - по ГОСТ 1770, ГОСТ 25336;

Чашки фарфоровые для выпаривания № 5 и 10 – по ГОСТ 9147;

Колбы вместимостью 250 и 500 мл. - по ГОСТ 1770, ГОСТ 25336

ПРИМЕЧАНИЕ Допускается применять другие оборудования, лабораторные посуды с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных.

## 7. Процедура проведения анализа

### 7.1 Экстракция метил- и этилмеркурхлорида из пробы

10 г - 20 г гомогенизированной или растертой пробы (зерно, корм, рыба, мясо) помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, добавляют 60 мл - 120 мл 1 н. раствора соляной кислоты, 2 мл 0,5 М раствора хлорной меди и несколько кусочков пемзы или стеклянных капилляров. Сухие образцы увлажняют 10 мл - 20 мл воды. Колбу присоединяют к холодильнику с помощью шлифа и нагревают на электроплитке с асбестовой прокладкой. При появлении пены верхнюю часть колбы охлаждают холодной водой. Как только вспенивание прекратится, нагревание усиливают.

Отгон (дистиллят) в объеме 50 мл - 100 мл собирают в делительную (первую) воронку, куда предварительно наливают 6 мл толуола. Колбу охлаждают, вносят в нее 20 мл толуола, присоединяют к холодильнику и повторяют дистилляцию в ту же делительную воронку. Холодильник промывают 5 мл смеси 1 н. соляной кислоты с этанолом (7:3) и раствор сливают в приемник (делительную воронку ). Отгон энергично встряхивают 5 мин. После разделения слоев нижнюю фазу отбрасывают, а толуольный экстракт промывают 25 мл воды, встряхивая воронку 3-4 раза. Затем экстракт фильтруют через стекловату или промытую толуолом обычную вату во вторую делительную воронку вместимостью 50 мл. Фильтр промывают 5 мл растворителя.

К экстракту добавляют 5 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия в разбавленном этаноле, смесь энергично встряхивают 2 мин. После разделения фаз нижний слой сливают в третью делительную воронку, а толуольный экстракт еще раз обрабатывают 5 мл раствора тиосульфата натрия. К объединенным этанольным растворам тиосульфата натрия добавляют 2,5 мл 3 М раствора йодистого калия и 5 мл бензола

.Содержимое воронки энергично встряхивают 2 мин. Верхний бензольный экстракт сливают в фарфоровую чашку. Если конечный экстракт содержит воду, то бензол осторожно переносят в другую сухую чашку, оставляя водную фазу. Экстракт концентрируют до 0,1 мл - 0,2 мл, предварительно добавив к нему 3-4 капли 0,02 %-ного раствора дитизона. Раствор обычно приобретает зеленоватый оттенок. Если экстракт желтеет, следует добавить еще 3-4 капли раствора дитизона до устойчивой зеленоватой окраски.

### 7.2 Экстракция метил, этил, метоксиэтил и фенилртути.

25 г растертой или гомогенизированной пробы (рыба, мясо) или 50 г овощей, целого зерна, почвы, зеленых кормов помещают в колбу на 250 мл. Приливают 100 мл горячей (80 $^0$C) смеси 1 н. соляной кислоты с этанолом (7:3) и 2 мл раствора хлорной меди. 25г комбикорма в колбе смачивают 20 мл воды.

В колбу вместимостью 250 мл вливают 50 мл молока, добавляют 50 мл спирта, 2 мл раствора хлорной меди и 10 мл концентрированной соляной кислоты. Содержимое колбы быстро перемешивают, добавляют 50 мл кипящей воды и опять перемешивают. Образцы встряхивают в течение часа. Вносят 10 мл 40 %-ного раствора фосфорновольфрамовой кислоты. Содержимое колбы перемешивают и через 10 мин фильтруют через складчатый бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают 50 мл смеси соляной кислоты с этанолом (7:3). Фильтрат собирают в чистую колбу на 500 мл, добавляют к нему 50 мл бензола и встряхивают 1,5 ч. Содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл, используя 10 мл бензола. После разделения слоев отделяют (отбрасывают) нижнюю водную фазу, а экстракт промывают 50 мл воды, слегка перемешивая его 3-4 раза. Нижнюю фазу опять отделяют (отбрасывают), а бензольный экстракт фильтруют через вату, промытую бензолом, в другую делительную воронку.

Реэкстрагируют соединения ртути двумя порциями по 10 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия в течение 2 мин каждый раз. К реэкстракту добавляют 5 мл 3 М раствора йодистого калия. Ртутьорганические пестициды извлекают 5 мл бензола в течение 2 мин. Бензольный экстракт концентрируют, как и при первом способе, добавив к нему 3-4 капли раствора дитизона, или используют его для газохроматографического анализа.

### 7.3 Приготовление соединений

0,5 мл - 1 мл стандартного разбавленного ацетоном раствора этилмеркурхлорида или других соединений (1 мкг - 4 мкг) вносят в

делительную воронку вместимостью 50 мл, содержащую 10 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия. Раствор перемешивают, добавляют 2,5 мл 3 М раствора йодистого калия и 5 мл бензол. Экстракция соединений ртути продолжается 2 мин. Экстракты упаривают после обработки их 0,02 %-ным раствором дитизона до объема 0,1 мл -0,2 мл.

### 7.4 Хроматографирование

Экстракт проб и свидетели наносят на пластинку микропипеткой или пипеткой Пастера в следующей последовательности:

- свидетель (1 мкг),
- проба (I повторность),
- проба (II повторность),
- свидетель (2 мкг).

Остаток со стенок чашки смывают 0,002 %- ным раствором дитизона в хлороформе и наносят на пластинку. Размер пятна не должен превышать 5мм. Пятна наносят на расстоянии 1,5 см - 2 см от края пластинки. Часть пластинки с пятнами не погружают в растворитель.

В камеру для хроматографирования (эксикатор) наливают 50 мл смеси гексан с ацетоном (4:1), помещают ленту фильтровальной бумаги шириной 5 см, чтобы края ее достигали верхней кромки сосуда. Смачивают ленту смесью растворителей и через 20 мин -30 мин ставят пластинку в вертикальном положении. Камеру герметично закрывают, смазав крышку апиезоном или высоковакуумной смазкой. После того как растворитель поднимется на высоту 9 см - 10 см, пластинку вынимают, отмечают фронт растворителя и высушивают при комнатной температуре.

Органические соединения ртути выявляются в виде желто-оранжевых пятен со следующими значениями $R_f$:

- фенилртуть 0,35±0,02,
- этилртуть 0,45±0,02,
- метоксиэтилртуть 0,42±0,02,
- метилртуть 0,48±0,02

Значение ртутьорганических соединений могут колебаться в зависимости от условий хроматографирования, поэтому идентификацию органической ртути в пробах следует проводить с учетом $R_f$ свидетелей. Количество органической ртути в пробе определяют путем сравнения интенсивности окраски и площадей пятен свидетелей и проб не более чем через час после высушивания хроматограмм (пятна обесцвечиваются).

Для количественного определения веществ с пластинки соскабливают зоны, соответствующие пятнам органической ртути. Адсорбент помещают на промытый хлороформом бумажный фильтр, дитизонаты элюируют 2 мл хлороформа. Измеряют оптическую плотность экстракта с синим

светофильтром на фотоэлектроколориметре или на спектрофотометре при длине волны 485 нм. Параллельно измеряют оптическую плотность свидетелей (1 мкг -5 мкг). Для сравнения используют хлороформ.

**8. Вычисления результатов анализа (расчет).**

Концентрацию органических соединений ртути вычисляют по Формуле:

$$X = \frac{A}{P}, \qquad (1)$$

Где: X- содержание метил, этил, метоксилэтил или фенилртути в исследуемой пробе, мг/ кг;

A - содержание органической ртути в пробе, мкг;

P - масса пробы, г.

**9 Оформление результатов анализа**

Полученные результаты регистрируют в протоколе, в котором указывают:

обозначение настоящего стандарта;

порядковый номер пробы;

отклонения при проведении определения, если таковые имелись, и факторы, отрицательно влияющие на результаты анализа;

дату отбора пробы и проведения анализа;

результат анализа;

фамилию исполнителя.

**УДК 63.6:543.3:006.354** **МКС 65.120**

**Ключевые слова**: Овощи, корма, продукты животноводства, определение ртутьорганических соединений, метод хроматографии.

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Орынбор көшесі, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 79 33 24

gost.e-ecolog.ru