МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

Всесоюзный 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.

gost.e-ecolog.ru

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, алкоксиалкильными) 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°С, а этилмеркурхлорида - 192°С. Эти вещества легко реагируют с тиосодержащими соединениями. Этилмеркурхлорид является основным действующим началом многих ртутьорганических протравителей семян (гранозан, меркуран, меркургексан, меркурбензол, криптодим, комбисан и др.).

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

продуктах 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.Штенберг, 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 этилмеркурхлорида 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 неопентилгликольсукцинате при 130°С или полидиэтиленгликольсукцинате при 110°С. Метод позволяет определять 0,005 мг

алкилртути в I 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 ℓ-цистеина, 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, 1Н и 6Н растворы.

Калий йодистый 3М (свежеприготовленный) и 1% раствор в 0,1Н едком натре.

Гипосульфит натрия 0,05М раствор (готовят из фиксанала). Рабочий раствор гипосульфита 0,0025М раствор готовят перед употреблением следующим образом: 5 мл 0,05М 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 сернокислый безводный, промытый бензолом и высушенный.

Хромосорб W или хроматон (80-100 меш) силанизированный диметилдихлорсиланом, 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: навешивают 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.

Делительные 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. IO г. гомогенизированного или растертого образца (мясо, рыба, почва) помещают в круглодонную колбу емкостью IOO мл, куда предварительно добавляют 60 мл IH соляной кислоты и несколько стеклянных шариков или капилляров. Посредством алифа 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 делительную 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 нижнюю водную фазу отбрасывают, а толуольный экстракт переносят, фильтруя через стекловату или обычную вату промытую толуолом, в другую делительную воронку объемом 50 мл. Фильтр промывают 5 мл растворителя. К экстракту добавляют 5 мл 0,0025 М гипосульфита натрия и энергично встряхивают смесь 2 минуты. После разделения фаз нижнюю сливают в третью делительную воронку ёмкостью 50 мл, толуольный экстракт ещё раз обрабатывают 5 мл 0,0025 М раствора гипосульфита натрия. К объединённым этанольным раствором гипосульфита натрия добавляют 2,5 мл 8 М раствора йодистого калия, 5 мл бензола и содержимое встряхивают 2 минуты. Верхний бензольный экстракт промывают IO мл I% раствора йодистого калия в 0,I Н едком натре, сливают в сухую пробирку, доводят объём до 5 мл бензолом, обезвоживают промытым бензолом сульфатом натрия и исследуют на газовом хроматографе, вводя в испаритель 5 мкл экстракта.

Для повышения чувствительности определения алкилртути экстракт концентрируют до I 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, реэкстрагируют 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 коническую колбу. Туда же приливают 50 мл дистиллированной воды (для молока 25 мл), 3 мл 5% раствора хлористой ртути[x], 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 Н 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 расслое

[x] для печени и яиц

ния не удалось достигнуть, оставшуюся эмульсию следует разрушить, добавив выше указанное количество (II мл) 6 Н 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 IO мм/мин, рабочая шкала электрометра $I.IO^{II}$ а/шкалу. Длина стеклянной колонки I м, внутренний диаметр 3 мм. Температурные режимы: испаритель - $I50^{o}C$, колонок - $I30^{o}C$ при использовании неопентилгликольсукцината и $II0^{o}$ С при работе на полидиэтиленгликольсукцинате, детектора - $250^{o}C$. Скорость азота через колонку 75 мл/мин, поддув - I05 мл/мин.

В испаритель вводят 5 мкл экстракта или стандартный раствор пестицидов 2 нг (5 мкл). Время удерживания метилртути I,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,I-2 нг.

Содержание метил- или этилртути в анализируемой пробе (х) в мг/кг или мг/л находят по формуле

$$X = \frac{Hпр \cdot Сст \cdot \mathcal{V}}{Hст \cdot \mathcal{V}a \quad P}$$, где

Hпр - высота пика анализируемой пробы в мм;

Hст - высота пика стандарта в мм;

Сст - содержание пестицида в стандарте в мг;

$\mathcal{V}$ - объем гексана, из которого отбирают аликвоту для введения в хроматограф;

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

P - навеска анализируемого образца в г.

Подготовлено в Институте питания АМН СССР (З.М. Богомолова) и Всесоюзном научно-исследовательском Институте ветеринарной санитарии.

Д-77511. Подписано к печати 2 марта 1977 г.

Отпечатано в ПК ВНИИМИ МЗ СССР Зак.300. Тир. 150

gost.e-ecolog.ru