Утверждаю
Заместитель Главного
государственного санитарного
врача СССР
А. И. Заиченко
23.01.1975 № 1218—75

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ РТУТЬОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В ОВОЩАХ, ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОВОДСТВА, КОРМАХ И ПАТМАТЕРИАЛЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ*

Краткая характеристика препаратов. Соли алкил-, метоксиэтил- и фенилртути представляют собой белые кристаллические вещества со специфическим запахом. Свойства метил- и этилмеркурхлорида приведены раньше. По сравнению с алкилртутью метоксиэтил- и фенилмеркурацетат — менее летучие соединения. Т. пл. их соответственно 65 и 148°С. Они растворимы в метаноле, ацетоне, бензоле. Фенилмеркурацетат хорошо растворим в воде и этаноле.

Методика определения. Основные положения. Принцип метода. Идентификация ртутьорганических пестицидов основана на реакции их йодистых солей с дитизоном с образованием окрашенных в оранжевый цвет дитизонатов, алкил- и арилртути, которые определяют в тонком слое окиси алюминия. Для извлечения соединений ртути из биологических материалов применяют два способа. Первый — это экстрактивная перегонка алкилртути из солянокислой среды с последующей экстракцией веществ толуолом. В другом варианте применяют жидкость: жидкостное распределение и ртутьорганические пестициды извлекают смесью 1 н. соляной кислоты и этанола, а из вытяжки вещества экстрагируют бензолом.

Метрологическая характеристика метода. Степень определения фенилртути равна 55—60%, а метил-, этил- и метоксиэтилртути — 80—90%. Воспроизводимость метода 90%, относительная ошибка определения при полуколичественной оценке 30—40%. Нижний предел определения 0,5 мкг органической ртути в навеске, т. е. 10 мкг/кг при величине пробы 50 г.

Реактивы и растворы. Тиосульфат натрия, 0,05 М раствор. Готовят из фиксанала и хранят в склянках из темного стекла. Рабочий 0,0025 М раствор тиосульфата натрия готовят перед употреблением, смешивая 5 мл 0,05 М раствора, 45 мл дистиллированной воды, 50 мл этилового спирта. Дитизон, 0,2%-ный раствор (основной) в хлороформе: в делительной воронке на 100 мл хлороформа добавляют 50 мг дитизона, 200 мл дистиллированной воды и 5—10 мл концентрированного аммиака. Смесь энергично встряхивают 2 мин. После разделения слоев хлороформный слой отбрасывают, водный раствор дитизона промывают 20 мл хлороформа. Трубку делительной воронки высушивают фильтровальной бумагой, прибавляя в воронку 200 мл хлороформа и разбавленную (1 : 1) соляную кислоту до отчетливо кислой реакции. Смесь встряхивают до тех пор, пока дитизон не перейдет в хлороформ (слой хлороформа при этом окрашивается в темно-зеленый цвет, водная фаза обесцвечивается). Хлороформный слой отделяют в другую делительную воронку и промывают водой трижды по 50 мл. Полученный раствор дитизона в хлороформе сливают в темную склянку. Хранят ее в темноте на холоде. Раствор устойчив в течение 1 месяца. Дитизон, 0,002%-ный раствор готовят перед употреблением, разбавляя основной раствор хлороформом в 100 раз.

Калий йодистый, 3 М раствор свежеприготовленный (растворяют 10 г соли в 20 мл воды и добавляют 2 капли 1 н. гидроокиси натрия). Соляная кислота, 1 н. раствор (смешивают 50 мл концентрированной соляной кислоты удельной массой 1,9 с 550 мл дистиллированной воды). Смесь 1 н. соляной кислоты и этанола (7 : 3) по объему. Хлорная медь, 0,5 М раствор в 2,5 н. соляной кис-

---

* Методические указания разработаны В. В. Ермаковым (ВНИИВС).

gost.e-ecolog.ru

лоте. Можно использовать хлористую медь, растворяя 5 г соли в 20 мл концентрированной соляной кислоты и добавляя 80 мл дистиллированной воды.

Стандартные растворы ртутьорганических пестицидов: растворяют по 10 мг метилмеркурйодида, этилмеркурхлорида, метоксиэтилмеркурацетата или фенилмеркурацетата в 10 мл бензола. Можно использовать препаративные формы пестицидов. В этом случае взвешивают количество препарата, эквивалентное 10 мг активно действующего вещества, и вносят в 10 мл бензола. Растворы хранят на холоде. Они устойчивы в течение 3 месяцев. Рабочие растворы ртутьорганических соединений в концентрации 2 мкг/мл: 0,1 мл основного раствора пестицида вносят в колбу на 50 мл и доводят объем до метки ацетоном. Растворы устойчивы 2 недели. Бензол, толуол, хлороформ х. ч. или ч. д. а.

Приборы и посуда. Гомогенизатор. Механический встряхиватель. Хроматографическая камера объемом 1—2 л. Воронки для фильтрования диаметром 5 и 10 см. Делительные воронки на 500, 250 и 50 мл. Мерные цилиндры на 25, 50 и 100 мл. Пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл. Микропипетки на 0,1—0,2 мл. Пробирки с притертой пробкой, градуированные на 10 мл. Чашки фарфоровые для выпаривания. Колбы на 250 и 500 мл.

Подготовка к определению. Синтез метилртути. В круглодонную колбу на 50 мл вносят 5 мл йодистого метила и 7 г металлической ртути. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и смесь облучают в течение 6—10 ч ультрафиолетовой лампой низкого давления до тех пор, пока смесь не затвердеет в желтую массу. Метилмеркурйодид экстрагируют ацетоном, фильтруют, концентрируют и перекристаллизовывают из метанола или ацетона. Т. пл. вещества 140,5°С.

Получение этилмеркурхлорида из гранозана. 100 г розового гранозана переносят в сухую колбу на 1 л, куда добавляют 250 мл горячего 1 н. раствора соляной кислоты. Содержимое взбалтывают в течение 1 ч на механическом встряхивателе. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр в колбу на 750 мл, а осадок промывают 150 мл горячей 1 н. соляной кислоты. К фильтрату добавляют 100 мл бензола и вновь колбу помещают во встряхиватель на 1 ч. Затем содержимое переливают в делительную воронку на 500 мл. Нижнюю солянокислую фазу сливают в колбу на 1 л, а бензольный экстракт пропускают через фильтровальную воронку со стекловатой и хлористым натрием (слой 1 см) в фарфоровую чашку для выпаривания. Фильтр промывают 10 мл бензола и присоединяют к экстракту. Растворитель отгоняют в струе воздуха (тяга). Для удаления воды чашку оставляют на ночь. На следующий день остаток снимают со стенок чашки, растирают и используют в качестве стандарта. Выход продукта 50% с содержанием основного вещества 97,4%.

Приготовление хроматографических пластинок. Окись алюминия (II степени активности для хроматографии, просеянная через сито 10 мешь) 50 г смешивают в фарфоровой ступке с 3,5 г просеянного и прокаленного гипса, а затем высыпают в колбу емкостью 500 мл. Добавляют 60 мл воды и смесь встряхивают 2 мин. Свободную от пузырьков воздуха массу распределяют на пластинках размером 9×12 см (по 2 чайные ложки) и высушивают на воздухе. Перед употреблением пластинки со слоем адсорбента прокаливают в сушильном шкафу при 105°С в течение 2 ч и хранят в эксикаторе над безводным хлористым кальцием.

Ход анализа. Экстракция метил- и этилмеркурхлорида из пробы и очистка экстракта. Пробу 10 г гомогенизированного или растертого образца (зерно, корм, рыба, мясо, патматериал) помещают в круглодонную колбу на 250 мл, куда добавляют 60 мл 1 н. раствора соляной кислоты, 2 мл 0,5 М раствора хлорной меди, несколько кусочков пемзы или стеклянных капилляров. Сухие образцы увлажняют 10 мл воды. Колбу присоединяют к холодильнику с помощью шлифа и нагревают на электроплитке с прокладкой асбеста. При появлении пены верхнюю часть колбы охлаждают холодной водой. После прекращения вспенивания нагревание усиливают.

Отгон (дистиллят) собирают в делительную воронку, куда предварительно наливают 6 мл толуола. Собирают 60 мл дистиллята. Колбу охлаждают, вносят в нее 20 мл толуола, присоединяют к холодильнику и вновь производят дистилляцию в ту же воронку. Холодильник промывают 5 мл смеси 1 н. соляной кислоты и этанола (7 : 3) и раствор сливают в приемник. Полученный отгон энер-

гично встряхивают 5 мин. После расслаивания нижнюю фазу отбрасывают, а толуольный экстракт промывают 25 мл воды, встряхивая воронку 3—4 раза. Затем экстракт фильтруют через стекловату или обычную вату, промытую толуолом, в делительную воронку на 50 мл. Фильтр промывают 5 мл растворителя. К экстракту добавляют 5 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия в разбавленном этаноле и смесь энергично встряхивают 2 мин. После разделения фаз нижнюю 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, 5 мл бензола и содержимое энергично встряхивают 2 мин. Верхний бензольный экстракт сливают в фарфоровую чашку. Если в конечном экстракте присутствует вода, то бензол осторожно переносят в другую сухую чашку, оставляя водную фазу. Экстракт концентрируют до 0,1—0,2 мл, предварительно добавив к нему 3—4 капли 0,02%-ного раствора дитизона. При этом раствор приобретает зеленоватый оттенок. Если экстракт желтеет, то следует еще раз добавить раствор дитизона до устойчивой зеленоватой окраски.

Экстракция метил-, этил-, метоксиэтил- и фенилртути экспресс-методом и очистка экстракта. Пробу 25 г растертого или гомогенизированного образца (органы, ткани животных, рыба, мясо, патматериал, яйцо или 50 г овощей, целого зерна, почвы, зеленых кормов) перенести в колбу на 250 мл. Внести 100 мл горячей (80°С) 1 н. соляной кислоты и этанола (7 : 3) и 2 мл раствора хлорной меди. При анализе молока в колбу объемом 250 мл влить 50 мл молока, добавить 50 мл спирта, 2 мл раствора хлорной меди, 10 мл концентрированной соляной кислоты и содержимое быстро перемешать. Затем внести 50 мл кипящей воды и вновь перемешать. Комбикорм (25 г) смочить 20 мл воды. Встряхивать колбы в течение 1 ч. После этого внести 10 мл 40%-ного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты, перемешать и через 10 мин содержимое отфильтровать через складчатый бумажный фильтр.

Осадок промыть 50 мл смеси соляной кислоты и этанола (7 : 3). К фильтрату добавить 50 мл бензола и колбы встряхивать 1,5 ч. Содержимое перенести в делительную воронку на 250 мл, используя 10 мл бензола. Отбросить нижнюю водную фазу, а экстракт промыть 50 мл воды, слегка перемешивая содержимое (3—4 раза). Нижнюю фазу отбросить, а бензольный экстракт перенести в следующую делительную воронку на 250 мл, профильтровав его через вату, промытую бензолом. Реэкстрагировать соединения ртути 0,0025 М раствором тиосульфата натрия (2 раза по 10 мл) в течение 2 мин.

К реэкстракту добавить 5 мл 3 М раствора йодистого калия и ртутьорганические пестициды извлечь 5 мл бензола в течение 2 мин. Бензольный экстракт концентрируют, как и в первом случае, добавив к нему 3—4 капли раствора дитизона, или используют для газохроматографического анализа. В последнем случае 1 мл экстракта встряхивают с 1 мл 1%-ного раствора йодистого калия в 0,1 н. NaOH в течение 1 мин перед анализом.

Приготовление свидетелей. Пробы 0,5—1 мл стандартных разбавленных растворов этилмеркурхлорида или других соединений (1—4 мкг) вносят в делительную воронку на 50 мл, содержащую 10 мл 0,0025 М тиосульфата натрия. Содержимое перемешивают, добавляют 2,5 мл 3 М раствора йодистого калия, 5 мл бензола и экстрагируют соединения ртути 2 мин. Полученные экстракты упаривают, обработав 0,02%-ным раствором дитизона.

Хроматографирование. Пробы или свидетели наносят на пластинку микропипеткой или пипеткой Пастера в следующей последовательности: свидетель (1 мкг), образец (1-я повторность), образец (2-я повторность), свидетель (2 мкг). Остаток в чашке смывают 0,002%-ным раствором дитизона в хлороформе и наносят его на пластинку. Размер пятен не должен превышать 5 мм. Места нанесения проб располагают на расстоянии 1,5—2 см от края пластинки, и они не должны погружаться в растворитель. В камеру для хроматографирования (эксикатор) наливают 50 мл смеси гексана и ацетона (4 : 1), помещают ленту фильтровальной бумаги шириной 5 см так, чтобы края ее достигали верхнего уровня сосуда. Смачивают ленту смесью растворителей и через 20—30 мин помещают пластинку в вертикальном положении. Камеру герметично закрывают, смазывая крышку Апьезоном L или высоковакуумной смазкой, и

после того как растворитель поднимется на высоту 9—10 см, пластинку вынимают, отмечают фронт растворителя и высушивают при комнатной температуре.

Органические соединения ртути выявляются в виде желто-оранжевых пятен со следующим значением Rf: фенилртуть 0,35±0,02, метоксиэтилртуть — 0,42± ±0,02, метилртуть — 0,48±0,02. Значение *Rf* ртутьорганических соединений может колебаться в зависимости от условий хроматографирования, поэтому идентификацию органической ртути в пробах следует проводить с учетом *Rf* свидетелей. Количество органической ртути в пробе определяют сравнением интенсивности окраски и площади пятна свидетелей и образцов не более чем через 1 ч после высушивания хроматограммы, так как в процессе хранения пластинки пятна обесцвечиваются.

Для количественного определения веществ зоны, соответствующие пятнам органической ртути, соскабливают с пластинки. Адсорбент помещают на бумажный фильтр, промытый хлороформом, и элюируют дитизонаты 2 мл того же растворителя. Измеряют оптическую плотность экстракта с синим светофильтром на фотоэлектроколориметре при длине волны 485 нм. Параллельно измеряют оптическую плотность свидетелей (1—5 мкг). Для сравнения используют хлороформ.

Обработка результатов анализа. Содержание метил-, этил-, метоксиэтил- или фенилртути в исследуемом образце (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P},$$

где A — содержание органической ртути в навеске, мкг; P — масса пробы, г.

gost.e-ecolog.ru