

ПОЛНОТЕКСТОВЫЙ КОНСПЕКТ ЛЕКЦИИ

по дисциплине «Токсикологическая химия»

4 Курс, 8 семестр, лекция № 4

Тема лекции: «Неорганические и органические соединения ртути. Классификация, токсикокинетика, изолирование. Обнаружение и количественное определение соединений ртути.»

Свойства и токсикологическое значение.

Ртуть - серебристо-белый металл, в парах - бесцветный. Это единственный жидкий металл и летучий при комнатной температуре. Металлическую ртуть используют для изготовления катодов при электрохимическом получении едких щелочей и хлора, для полярографов, в производстве ртутных вентилях, газоразрядных источников света (люминесцентных и ртутных ламп), приборов (термометров, барометров, манометров) и т.д.

Из неорганических соединений ртути находят применение ее соли и оксиды. Эти соединения применяют для приготовления электродов сравнения, в качестве катализаторов органических реакций, для синтеза ртутьорганических соединений, в люминесцентных лампах, как антисептики, протрава для семян, для дубления кож, при изготовлении катодов и для других целей.

Соединения ртути являются высокотоксичными веществами. В организм они могут проникать через кожные покровы, ЖКТ и легкие. Смертельной дозой хлорида ртути(II) считают 0,2-0,3 г.

Органические соединения ртути имеют общую структуру $R-Hg-R_1$, они токсичнее неорганических соединений ртути, так как являются липидорастворимыми и легко проникают через гистогематические барьеры, в том числе через гематоэнцефалический, в мозг, через плаценту в организм плода. Опасны растворимые соли ртути. Хлорид и нитрат ртути(II) более токсичны, чем хлорид ртути(I) и сульфид ртути(II). Соли ртути взаимодействуют с жирными кислотами салных желез и проникают через кожный барьер.

Ртуть в виде паров легко всасывается через легкие, и после ферментативного окисления циркулирующая в крови «ионизированная» ртуть вступает во взаимодействие с белковыми молекулами. В первую очередь ионы ртути реагируют с сульфгидрильными, карбоксильными и аминными группами тканевых белков. В результате образуются более или менее прочные комплексы - металлопротеиды. При этом поражаются тиоловые (сульфгидрильные) ферменты. В организме возникают глубокие нарушения функций ЦНС, особенно ее высших отделов. Вначале возбудимость коры больших полушарий повышается. Это связано с ослаблением активного внутреннего торможения, а затем возникает инертность корковых процессов. Позже развивается запредельное торможение.

В организме ртуть длительно задерживается. Она накапливается в виде соединений с белком (альбуминатов) в различных органах, главным образом в

печени, почках, желчи. Выводятся соединения ртути через почки, желудочно-кишечный тракт, слюнные и молочные железы.

Острые отравления могут возникнуть при вдыхании паров металлической ртути или пыли ртутьсодержащих пестицидов. Признаки отравления проявляются через 1-2 дня или через несколько часов. Ощущается общее недомогание, головная боль, металлический вкус во рту, покраснение и набухание десен с появлением на них темной каймы (ртутный стоматит) за счет образования сульфида ртути. Возникает озноб, и процесс протекает по типу «металлической лихорадки», позже - токсический отек легких. Смерть наступает от острой сердечнососудистой недостаточности или тяжелой уремии.

При приеме внутрь соединения ртути глубоко проникают в ткани за счет образования рыхлого альбумината и оказывают прижигающее действие на слизистые оболочки пищеварительного аппарата, ощущается жжение пищевода, желудка, рвота с кровью, боли, диарея. Через 2-3 дня наступает тяжелое повреждение почек с развитием анурии и уремии, с массовым некрозом почечных канальцев.

Хронические отравления характеризуются симптомами, возникающими при поступлении небольших доз соединений ртути в течение нескольких лет. У человека появляются быстрая утомляемость, слабость, частые головные боли, выпадение волос, шелушение кожи, ломкость ногтей. Развивается «ртутный эретизм»: застенчивость, неуверенность в себе, мнительность, невозможность выполнять работу при посторонних. Появляются стоматит, ртутная энцефалопатия, депрессия, зрительные и слуховые галлюцинации, эмоциональная тупость, судорожные сокращения различных мышц, дрожание рук. Больные умирают через 3-4 года после начала заболевания. Причинами смерти являются паралич жизненно важных центров, острая сердечнососудистая недостаточность (угнетение сердечной деятельности), капилляротоксическое действие ртути и тяжелая уремия («сулемовая почка»).

Патологоанатомическая картина при отравлении препаратами ртути характерна. Наблюдаются типичные изменения внутренних органов: гиперемия слизистой оболочки глотки и пищевода с образованием белесовато-серого струпа, в желудке - некроз слизистой, она сероватая, плотная, напоминает шагреновую кожу, некрозы с образованием язв на месте воздействия яда. При длительности отравления от 5 до 14 дней наблюдается характерная картина «сулемового нефроза». При гибели от хронической интоксикации основные изменения наблюдаются в ЦНС.

Диагноз отравления соединениями ртути затруднен. Острое отравление часто принимают за желудочно-кишечное расстройство. Самым достоверным способом является химическое обнаружение и определение иона ртути в моче, рвотных массах, экскрементах, слюне.

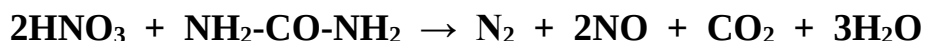
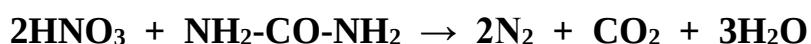
Деструкция биологического материала

Методы минерализации биологического материала азотной и серной кислотами; серной, азотной и хлорной кислотами; простое сжигание; минерализация сплавлением с карбонатом и нитратом натрия непригодны для исследования объектов биологического происхождения на наличие ртути и ее соединений. Пользуясь этими методами, в процессе разрушения биологического материала улетучиваются значительные количества ртути. В связи с недостатками указанных методов А. А. Васильева предложила метод деструкции биологического материала, содержащего ртуть. Этот метод усовершенствовала А. Н. Крылова.

Деструкция - нарушение структуры биологического материала под влиянием азотной, серной и других кислот, обладающих окислительными свойствами, без полного разрушения органических веществ, переходящих в деструктаты. При деструкции твердых частиц биологического материала он разлагается и переходит в жидкую фазу (деструктат). При деструкции в качестве продуктов разложения твердых частиц биологического материала, переходящих в деструктат, являются молекулы белковых веществ и продукты их частичного кислотного гидролиза (пептиды и аминокислоты), липиды и некоторые другие вещества, входящие в состав тканей организма.

Ртуть в биологическом материале находится в связанном виде с сульфгидрильными и некоторыми другими функциональными группами белковых веществ. В процессе деструкции под влиянием сильных кислот при нагревании происходит разрыв прочных ковалентных связей между ртутью и сульфгидрильными или другими функциональными группами белковых веществ. В результате деструкции ртуть переходит в деструктат в виде ионов, которые можно обнаружить и определить с помощью соответствующих реакций и физико-химических методов. Таким образом, после деструкции биологического материала в деструктате в различных количествах находятся ионы ртути, белки, пептиды, аминокислоты, липиды и др.

Для ускорения деструкции к биологическому материалу прибавляют *этиловый спирт*, который является *катализатором* этого процесса. Для удаления из деструктата азотной, азотистой кислот и оксидов азота, образующихся в процессе деструкции, прибавляют мочевины:



Оксиды азота окисляются кислородом воздуха до оксида азота (IV), при взаимодействии которого с водой образуются азотная и азотистая кислоты, разлагающиеся мочевиной.

Для деструкции берут по 20 г измельченных органов трупов (печень, почки). Эти пробы подвергают деструкции отдельно, не смешивая их. Каждый деструктат на наличие ртути исследуют отдельно.

Методика деструкции органов. 20 г измельченных органов трупов вносят в коническую колбу вместимостью 200 мл, в которую прибавляют 5 мл воды, 1 мл этилового спирта и 10 мл концентрированной азотной кислоты.

Затем в колбу малыми порциями прибавляют 20 мл концентрированной серной кислоты с такой скоростью, чтобы оксиды азота не выделялись из колбы. После окончания прибавления концентрированной серной кислоты колбу оставляют на 5-10 мин при комнатной температуре (до прекращения выделения оксидов азота). Затем колбу устанавливают на кипящую водяную баню и нагревают в течение 10-20 мин. Если после нагревания колбы на кипящей водяной бане останутся неразрушенными кусочки биологического материала, то их осторожно растирают стеклянной палочкой о стенки колбы. При бурном протекании реакции с выделением оксидов азота в колбу прибавляют 30-50 мл горячей воды. Полученный горячий деструктат смешивают с двойным объемом кипящей воды и, не охлаждая жидкость, фильтруют ее через двойной увлажненный фильтр. Фильтр, через который фильтровали деструктат, и остатки жира на нем 2—3 раза промывают горячей водой. Промывные воды присоединяют к профильтрованному деструктату. Полученную при этом жидкость собирают в колбу, содержащую 20 мл насыщенного раствора мочевины, предназначенной для денитрации деструктата. Затем деструктат охлаждают, доводят водой до определенного объема и исследуют его на наличие ртути.

Деструкция органических веществ в моче. В моче здоровых людей ртуть и ее соединения отсутствуют. Однако при отравлении ртутью она может поражать почки и выделяться из организма с мочой в виде соединений с белками, аминокислотами и другими органическими веществами. Некоторое количество ртути может переходить в мочу и в виде ионов. Поэтому для обнаружения ртути в моче необходимо производить деструкцию белковых и других ртутьсодержащих соединений, переходящих в мочу.

А.Ф. Рубцов и А.Н. Крылова разработали два способа деструкции органических веществ в моче:

1. В колбу Къельдаля вместимостью 500 мл вносят пробу нефильтрированной суточной мочи объемом 200 мл. К моче прибавляют 35 мл концентрированной азотной кислоты, 2 мл этилового спирта и небольшими порциями в колбу вносят 25 мл концентрированной серной кислоты. Прибавляют эту кислоту так, чтобы не вспенивалась жидкость в колбе и не выделялись из нее оксиды азота. После окончания прибавления концентрированной серной кислоты содержимое колбы нагревают на кипящей водяной бане в течение 40 мин, затем прибавляют 20 мл насыщенного раствора мочевины. Если в деструктате имеется осадок, то его отфильтровывают, фильтр промывают горячей водой. Промывные воды присоединяют к деструктату, который подвергают исследованию на наличие ртути.

2. В колбу Къельдаля вместимостью 500 мл вносят 200 мл нефильтрированной суточной мочи, к которой небольшими порциями прибавляют 25 мл концентрированной серной кислоты, а затем малыми порциями прибавляют 7 г перманганата калия. Содержимое колбы оставляют на 40 мин при комнатной температуре периодически взбалтывая, затем в колбу небольшими порциями прибавляют насыщенный раствор щавелевой кислоты

до исчезновения окраски перманганата калия. Полученный деструктат используют для обнаружения и количественного определения ртути.

Этот способ деструкции белковых веществ в моче более быстрый, чем описанный выше.

Деструкция органических веществ в крови. Для этой цели применяют методику, которая используется для деструкции органов, но к пробе крови не прибавляют воду. На исследование берут по 50-100 мл крови.

Обнаружение ртути в деструктате

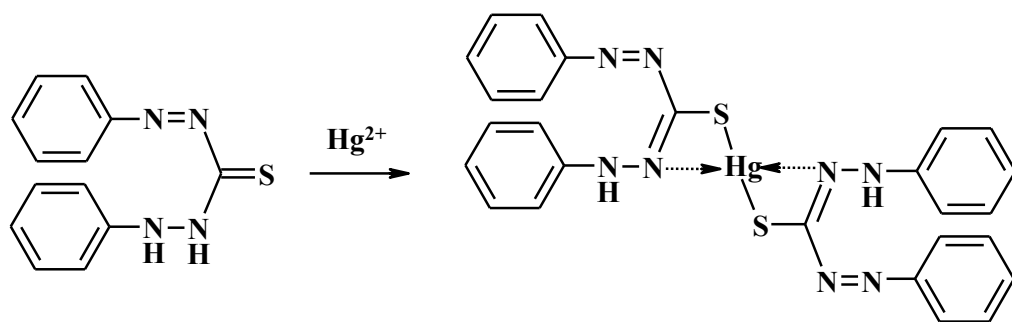
Для обнаружения ртути в минерализате рекомендованы атомно-абсорбционная спектрометрия и химический метод.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение проводится путем выявления в спектре характерной для ртути линии резонансного перехода при длине волны 253,7 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения ртути составляет 15 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

Для обнаружения ртути в деструктате применяют реакции с взвесью иодида меди (I) и с дитизоном. Реакцию с дитизоном также применяют для фотоколориметрического определения ртути, а реакцию с взвесью иодида меди (I) используют и для визуального колориметрического определения ионов этого металла в деструктате.

Реакция с дитизоном (предварительная). Эта реакция основана на том, что при взаимодействии ионов ртути (II) с дитизоном образуется однозамещенный дитизонат этого металла:



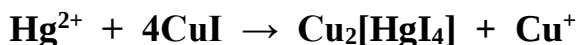
В кислой среде дитизонат ртути имеет оранжево-желтую окраску, а в щелочной или слабокислой — пурпурно-красную. Указанные дитизонаты ртути хорошо экстрагируются четыреххлористым углеродом и хлороформом. Для маскировки мешающих ионов применяют сульфат гидроксиламина, аскорбиновую кислоту и др.

Выполнение реакции. Около половины деструктата вносят в делительную воронку, прибавляют 10 мл хлороформа и взбалтывают в течение 1 мин. Хлороформный слой, в который могут переходить различные примеси из деструктата, отбрасывают. Взбалтывание деструктата с новыми порциями хлороформа (по 10 мл) проводится до тех пор, пока не перестанет окрашиваться хлороформный слой. После этого к очищенному от примесей деструктату прибавляют 10 мл 10 %-го раствора сульфата гидроксиламина или 10 мл

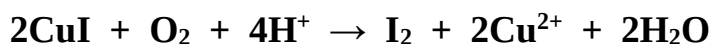
10 %-го раствора аскорбиновой кислоты, 5 мл хлороформа, 0,3 мл и 0,01 н. раствора дитизона в хлороформе, который имеет зеленую окраску, и взбалтывают. Появление желтой или оранжево-желтой окраски хлороформного слоя указывает на наличие ртути в деструктате.

Оценка. Предел обнаружения ртути по данной реакции составляет 0,05 мкг в 1 мл исследуемого раствора. Реакции придается судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция с взвесью иодида меди (I) – подтверждающая основана на том, что при взаимодействии ионов ртути со взвесью иодида меди (I) образуется красный или оранжево-красный осадок $\text{Cu}_2[\text{HgI}_4]$:



Указанной реакции мешают окислители, которые при взаимодействии с CuI выделяют свободный иод, окрашивающий суспензию в бурый или коричневый цвет:



Выполнение реакции. К определенному объему деструктата прибавляют 10 мл взвеси иодида меди (I). Появление красного или оранжево-красного осадка указывает на наличие ртути в деструктате.

Оценка. Предел обнаружения - 1 мкг ртути в исследуемом объеме.

Количественное определение ртути

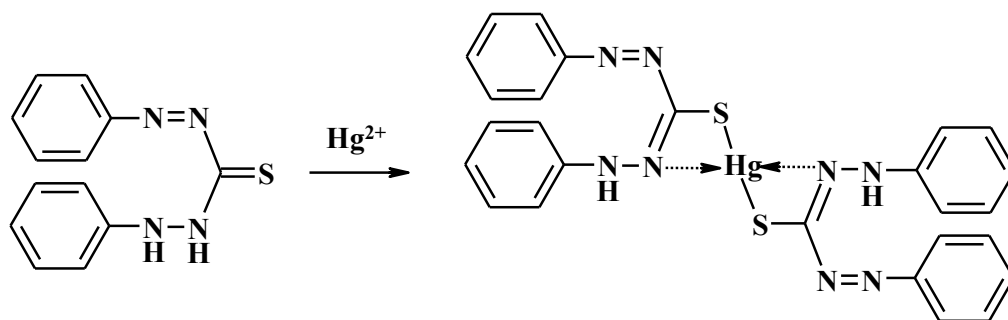
В химико-токсикологическом анализе для количественного определения ртути рекомендованы атомно-абсорбционная спектрометрия, визуальный колориметрический метод, основанный на реакции с иодидом меди (I), и экстракционно-фотоколориметрический метод, основанный на реакции с дитизоном.

1. *Атомно-абсорбционную спектрометрию* проводят по величине светопоглощения при длине волны характерной для ртути линии резонансного перехода при 253,7 нм. Для расчета концентрации используют градуировочный график или метод добавок.

2. *Визуальный метод определения ртути*, основанный на сравнении интенсивности окраски суспензии $\text{Cu}_2[\text{HgI}_4]$ в исследуемой пробе с интенсивностью окраски суспензии в стандартной серии, имеет ряд недостатков. Наличие частиц суспензии в окрашенных растворах мешает сравнению интенсивности их окрасок. Окраска этих растворов зависит от величины частиц суспензии, скорости их оседания и т. д. Поэтому более точным и надежным является экстракционно-фотоколориметрический метод количественного определения ртути.

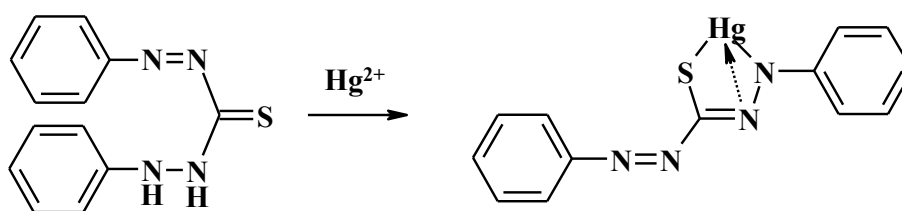
3. *Экстракционно-фотоколориметрический метод.* В качестве реактива для экстракционно-фотоколориметрического определения ртути (II) применяют дитизон. В кислой среде при взаимодействии ионов ртути (II) с

раствором дитизона в хлороформе или в четыреххлористом углероде образуется однозамещенный дитизонат, имеющий оранжево-желтую окраску ($\lambda_{\text{макс}} = 485 \text{ нм}$).



Оптическую плотность однозамещенного дитизоната ртути (II), находящегося в фазе органического растворителя, измеряют при помощи фотоэлектроколориметра или спектрофотометра.

Дитизон с ионами ртути (II) может образовывать и двузамещенный дитизоиат ртути, имеющий пурпурно-красную окраску ($\lambda_{\text{макс}} = 515 \text{ нм}$). Этот дитизонат образуется в щелочной среде, а также при недостатке дитизона.



При фотоколориметрическом определении ртути (II) и ионов некоторых других металлов используются только однозамещенные дитизонаты с более интенсивной окраской и лучшей растворимостью в органических растворителях, чем двузамещенные.

В качестве реактива для экстракционно-фотоколориметрического определения ртути применяют раствор дитизона в четыреххлористом углероде или в хлороформе. Растворимость однозамещенных дитизонатов металлов, как и самого дитизона, в хлороформе примерно на порядок выше, чем растворимость в четыреххлористом углероде.

При экстракционно-фотоколориметрическом определении ртути (II) водный раствор, содержащий эти ионы, необходимо несколько раз взбалтывать с новыми порциями раствора дитизона в четыреххлористом углероде или в хлороформе, а затем определять оптическую плотность объединенных вытяжек. Объединенные вытяжки дитизоната ртути (II) в хлороформе или в четыреххлористом углероде могут содержать и некоторое количество дитизона, непрореагировавшего с ртутью. Для освобождения раствора дитизоната ртути (II) от несвязавшегося дитизона объединенные вытяжки взбалтывают со слабым раствором аммиака или с 0,2 н. раствором гидроксида натрия, а затем с водой. При этом несвязавшийся дитизон переходит в водную фазу.

Перед определением ртути (II) в соответствующих объектах строят калибровочный график.

Построение калибровочного графика. В ряд делительных воронок вносят по 1 мл 2 н. раствора серной кислоты и по 4 мл воды. Затем в каждую делительную воронку прибавляют разные объемы стандартного раствора (0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,0; 1,1 мл) (1 мл стандартного раствора содержится 100 мкг ртути) и по 3 мл раствора дитизона в хлороформе. Содержимое делительных воронок взбалтывают в течение 2 мин и оставляют делительные воронки для разделения фаз. После этого в колбы вместимостью 50 мл отделяют хлороформный слой из каждой делительной воронки. Взбалтывание водной фазы с новыми порциями хлороформного раствора дитизона (по 3 мл) производят до тех пор, пока не перестанет изменяться зеленая окраска прибавленного раствора дитизона. Объединенные хлороформные вытяжки, содержащие дитизонат ртути, переносят в делительные воронки, в которые прибавляют по 10 мл разбавленного раствора аммиака, и взбалтывают в течение 3 мин. Затем из каждой делительной воронки отделяют водную фазу, а хлороформный слой взбалтывают с 10 мл воды в течение 3 мин. Промытые аммиаком и водой хлороформные вытяжки отделяют от водной фазы и переносят в мерные колбы вместимостью 50 мл. Объемы объединенных хлороформных вытяжек в этих колбах доводят хлороформом до метки. Оптическую плотность полученных хлороформных вытяжек измеряют фотоэлектроколориметром ФЭК-56М в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм, пользуясь зеленым светофильтром, эффективная длина волны которого равна 490 ± 10 нм. В качестве раствора сравнения применяют хлороформ.

На основании результатов измерений оптической плотности дитизоната ртути строят калибровочный график. Светопоглощение окрашенных растворов подчиняется закону Бера в пределах от 10 до 90 мкг ртути в 50 мл конечного объема. *Предел определения: 10 мкг ртути в указанном конечном объеме.*

Определение ртути в деструктате. Определению ртути в деструктате фотоколориметрическим методом, основанным на реакции с дитизоном, могут мешать даже незначительные количества ионов других металлов, которые образуют окрашенные соединения с дитизоном. Для устранения мешающего влияния этих ионов применяют маскирующие средства. В качестве маскирующих средств используют растворы гидрохлорида гидроксилamina или аскорбиновой кислоты.

Для определения ртути в делительную воронку вносят 10 мл деструктата, прибавляют 1 мл 2 н. раствора серной кислоты, 4 мл воды, 5 мл 10 %-го раствора аскорбиновой кислоты и 3 мл 0,001 %-го хлороформного раствора дитизона. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 2 мин и оставляют делительную воронку на такое же время для разделения фаз, а затем в колбу вместимостью 50 мл отделяют фазу органического растворителя. Водную фазу, оставшуюся в делительной воронке, взбалтывают с новыми порциями 0,001 %-го хлороформного раствора

дитизона (по 3 мл) до тех пор, пока не перестанет изменяться зеленая окраска прибавленного хлороформного раствора дитизона. Объединенные хлороформные вытяжки переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 10 мл разбавленного раствора аммиака и взбалтывают в течение 3 мин, а далее поступают, как указано при описании способа построения калибровочного графика.

Расчет содержания ртути в биологическом материале производят по калибровочному графику, пользуясь формулой:

$$X = \frac{AB \cdot 100}{BG},$$

где X - содержание ртути в 100 г биологического материала, мкг; А - количество ртути, найденное по калибровочному графику, мкг; Б - объем деструктата, взятый для определения ртути, мл; В - общий объем деструктата, мл; Г - масса биологического материала, взятого на анализ, г.

В тех случаях, когда оптическая плотность окрашенного раствора дитизоната ртути во взятой пробе деструктата выходит за пределы калибровочного графика, тогда необходимо повторить опыт, взяв для количественного определения меньший объем деструктата.

Разбавление хлороформом окрашенного раствора, оптическая плотность которого выходит за пределы калибровочного графика, может быть причиной получения неправильного результата количественного определения ртути в деструктате.

Заключение о количестве ртути дают по среднему значению из 3 определений.

Обнаружение и определение ртути в моче

Необходимость анализа мочи на присутствие ртути и определение ее количества возникает во время профилактических осмотров работающих, связанных с вредными условиями труда и при подозрении на контакт больного с ртутью или его препаратами в домашних условиях.

К суточному объему мочи прибавляют 2-5 мл куриного белка и 0,5-1,0 г хлорида натрия. Полученную смесь нагревают на водяной бане при постоянном помешивании.

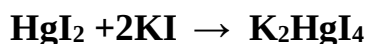
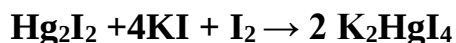
В процессе нагревания белок коагулирует в виде хлопьев, сорбируя на себе ртуть. Полученный альбуминат ртути отфильтровывают, промывают водой и растворяют в концентрированной хлороводородной кислоте. В полученный раствор вносят маленькие медные спиральки. Через сутки спиральки вынимают, промывают водой, спиртом и осушают эфиром. Если в моче содержалась ртуть, на спиральках появляется налет металлической ртути. Спиральки помещают в узкую пробирочку, добавляют 2-3 кристаллика йода. Пробирочку на расстоянии 1-2 см от верхнего края охлаждают с помощью мокрой ваты или фильтровальной бумаги. Затем осторожно

проводят нагрев места пробирочки, где находятся спиральки и йод. При нагревании ртуть и йод возгоняются, образуя йодиды ртути(I и II), которые на месте охлаждения пробирочки образуют кристаллический налет. При рассматривании налета под микроскопом наблюдают красные (HgI_2) и зеленые (Hg_2I_2) ромбической формы кристаллы (рис. 23).

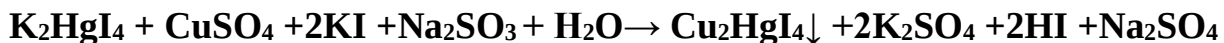


Рисунок 23. Кристаллы иодида ртути (I) и иодида ртути (II).

Для определения содержания ртути в анализируемом объеме мочи полученный возгон в пробирочке обрабатывают раствором йода в йодиде калия.



К полученному раствору тетраiodмеркурата калия добавляют сульфат меди(II), сульфит натрия. Образуется осадок, окрашенный в телесный или розовый цвет.



Полученный осадок тетраiodмеркурата меди сравнивают визуально с калибровочной шкалой, построенной с разными концентрациями ртути, и определяют содержание ртути в исследуемом суточном объеме мочи.