

А. В. Николаев



*теория
и практика
химико-
токсикологического
анализа
в ветеринарии*

А. В. Николаев,
кандидат химических наук

**теория
и практика
химико-
токсикологического
анализа
в ветеринарии**



ИЗДАТЕЛЬСТВО „КОЛОС“
Москва—1968

Теория и практика химико-токсикологического анализа в ветеринарии
А. В. Николаев, 1968

Данная книга является пособием по химико-токсикологическому анализу, включающим все имеющиеся основные методики исследования патологического материала, кормов, продуктов животного происхождения, овощей и фруктов. В нем также приводятся сведения о новых химических методах анализа, как, например, распределительной хроматографии на бумаге, осадочной и тонкослойной хроматографии, капельном и дробном анализе и др.

В ней впервые делается попытка объединить отдельные разрозненные методики и некоторые теоретические сведения по химико-токсикологическому анализу, описанные в журналах и справочниках, в единое целое и представить как самостоятельный раздел ветеринарной токсикологии.

В книге в первую очередь даны официальные методы и методы выдерживающие критическую оценку в отношении точности, специфичности, воспроизводимости, простоты и доступности в выполнении.

Описанию методов предшествуют краткие сведения о физико-химических свойствах описываемых ядохимикатов и дается краткая токсикологическая характеристика их.

Книга предназначена как практическое пособие для ветеринарных врачей-токсикологов, работающих в республиканских, краевых, областных и городских ветеринарных лабораториях. Она может быть полезной для токсикологов-химиков, агрономов и студентов ветеринарных институтов.

Рисунков — 14, таблиц — 4, приложений — 4, библиография — 205 названий.

ПРЕДИСЛОВИЕ

В настоящее время значительно возросло количество химических веществ, применяемых в сельском хозяйстве для защиты растений и животных от многочисленных вредителей и болезней, а также для повышения урожайности в земледелии и продуктивности в животноводстве.

При таком широком применении различных химических средств необходимо соблюдать условия, обеспечивающие безопасное их использование, так как многие из этих препаратов, накапливаясь на растениях и в различных пищевых и кормовых продуктах, вызывают отравления человека и животных.

Особенно опасны препараты, способные накапливаться в организме.

Осуществлять контроль за накоплением остатков пестицидов в кормах обязаны республиканские, краевые и областные ветеринарные лаборатории.

Однако ветеринарные работники лабораторий не имеют достаточно полных, отвечающих в какой-то мере запросам практики руководств и пособий по проведению химико-токсикологического анализа.

В данном руководстве использован и обобщен многолетний опыт работы в области химико-токсикологического анализа, накопленный Лабораторией фармакологии и токсикологии Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии, опыт и достижения ведущих ученых Советского Союза и зарубежных стран.

В руководстве описаны официальные методы и методы, выдерживающие критическую оценку в отношении точности, чувствительности, специфичности, воспроизводимости, простоты и доступности в выполнении. Описанию методов предшествуют краткие сведения о физико-химических свойствах описываемых ядохимикатов.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ВЕТЕРИНАРНОМ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ПРАВИЛА ЕГО ПРОВЕДЕНИЯ

Содержание, цели и задачи ветеринарного химико-токсикологического анализа. Ветеринарный химико-токсикологический анализ — это раздел ветеринарной токсикологии о химических и биологических методах исследования. Цель его состоит в разработке и изучении физико-химических, химических и биологических методов исследования объектов ветеринарной службы для обнаружения и определения в них ядовитых веществ.

В настоящее время особенно важное значение приобретает обнаружение и определение остаточных количеств различных химических веществ — пестицидов в кормах и продуктах животноводства.

Ветеринарный химико-токсикологический анализ позволяет своевременно и обоснованно проводить профилактические и лечебные мероприятия при отравлениях сельскохозяйственных животных.

Основной задачей ветеринарного химико-токсикологического анализа является проведение (выполнение) химических исследований кормов, патологического материала и других объектов ветеринарной службы на содержание в них ядовитых веществ, которые могут вызвать отравления сельскохозяйственных животных.

Предметами исследования в основном являются органы животных, содержимое желудка и кишечника, корма, растения и т. п.

Исследовать химическими методами указанные объекты трудно, так как в их состав входят многочисленные органические соединения (белки, жиры, углеводы и др.), которые мешают проведению химических анализов на искомые ядовитые вещества. Существующие аналитические методы позволяют обнаруживать или определять эти вещества только после того, как они выделены в чистом виде. Например, определять алкалоиды можно только после того, как они будут отделены от белков и белковых компонентов, которые дают с общими алкалоидными реактивами те же реакции, что и алкалоиды, а обнаруживать и определять металлические яды химическими реакциями можно только тогда, когда они будут изолированы и отделены от

В нем впервые делается попытка объединить два самостоятельных развивающихся направления прикладной аналитической химии — собственно химико-токсикологический анализ и анализ пестицидов. Эти два направления имеют свои специфические особенности в методах и приемах, но в то же время их объединяет общая задача — обнаружение и определение ядовитых веществ в продуктах питания, кормах и патологическом материале с целью предупреждения и лечения отравлений людей и сельскохозяйственных животных.

Руководство рассчитано на ветеринарных врачей-токсикологов, работающих в республиканских, краевых, областных, городских и межрайонных ветбаклабораториях, а также на научных сотрудников НИВИ и НИВС.

Оно может быть полезным для токсикологов-химиков, биохимиков, токсикологов, агрономов и др. Им могут пользоваться также студенты ветеринарных вузов.

Приношу благодарность заведующей кафедрой токсикологической химии фармацевтического факультета I МОЛМИ профессору М. Д. Швайковой за помощь, оказанную при работе над рукописью.

Автор

органических веществ, т. е. после разрушения органических веществ до углекислого газа и воды.

Существует пять способов изолирования искомым ядовитых веществ:

- 1) изолирование после разрушения органических веществ;
- 2) изолирование подкисленным спиртом или подкисленной водой;
- 3) изолирование перегонкой с водяным паром;
- 4) изолирование из биологического материала диализом;
- 5) изолирование особыми методами.

Выделение ядовитых веществ в чистом виде значительно усложняет проведение химико-токсикологического анализа и требует много времени.

Новые методы микрохимического, капельного и хроматографического анализа позволяют проводить дробные исследования, т. е. обнаруживать и определять искомое вещество в присутствии других веществ (Н. А. Тананаев).

Дробный анализ позволяет разрабатывать быстрые, экспрессные методы анализа, на выполнение которых затрачивается мало времени и реактивов. К сожалению, экспрессные методы на основе дробного анализа медленно внедряются в ветеринарный химико-токсикологический анализ.

Правила взятия и пересылки проб. Для химического исследования в лабораторию направляют патологический материал от павших в результате отравления животных (содержимое желудка, кишечника и кусочки их стенок); кусочки паренхиматозных органов (печень, почки, сердце, моча, рвотные массы); образцы кормов и воды (не менее 0,5 кг каждого), которые давали животным незадолго до заболевания, и образцы веществ, подозрительных на содержание ядов, обнаруженных на пастбище или на скотном дворе.

Каждую пробу помещают в отдельную чистую банку, закрывают ее притертой пробкой и на банку наклеивают этикетку с указанием наименования материала и его количества. Каждую банку опечатывают сургучной печатью или пломбируют. В сопроводительном документе указывают: наименование хозяйства, вид, пол и возраст животного, анамнестические и клинические данные, благополучие хозяйства по инфекционным болезням и название применявшихся пестицидов. К сопроводительному документу прилагают акт патологоанатомического вскрытия животного и опись высылаемых материалов с указанием их веса.

Патологический материал направляют в лабораторию сразу после взятия. Если сделать это невозможно, то консервируют его ректификованным спиртом. Вместе с пробами высылают 50—100 г спирта, которым консервировали материал. Прибавлять в посылаемый материал денатурированный спирт, формалин, сулему, глицерин и другие вещества нельзя, так как результаты исследования могут быть неточными.

Поступивший в лабораторию материал распределяют на части в зависимости от характера предполагаемого исследования. Одну из частей опечатывают и сохраняют для контроля в случае возникновения спорных вопросов.

При острых отравлениях в первую очередь исследуют рвотные массы, содержимое зоба, желудка, кишечника и испражнения.

При хронических отравлениях целесообразнее вначале исследовать паренхиматозные органы — печень, почки и другие органы, а затем уже содержимое желудка и кишок, так как искомого яда они могут и не содержать.

Поступившие на исследование материалы регистрируют в специальном журнале.

Порядок и правила проведения ветеринарных химико-токсикологических исследований. Прежде чем начать анализ материала, химик-токсиколог должен подробно ознакомиться с документами, присланными вместе с пробами, тщательно сверить надписи на банках и упаковках с данными, указанными в сопроводительных документах, проверить целостность укупорки и печатей и убедиться в том, что проведено бактериологическое исследование и исключены инфекционные болезни.

После этого химик-токсиколог осматривает упаковки и материал, подлежащий исследованию; подробно описывает и взвешивает содержимое каждой упаковки. При описании отмечает, консервирован ли присланный материал, его внешний вид, морфологический состав, цвет, запах и наличие посторонних включений, давая им характеристику. Особое внимание обращает на акт патологоанатомического вскрытия и на данные анамнеза: применяли ли в хозяйстве или на окружающих пастбищах какие-либо ядохимикаты для обработки животных, растений и т. п.

После ознакомления с документами, их регистрации, осмотра и описания материала химик-токсиколог должен составить точный и подробный план анализа.

Если в документах есть указания о применении каких-то ядовитых веществ, то химик-токсиколог в первую очередь исследует материал на содержание в нем упомянутых веществ.

Исследовать присланный материал нужно в день получения, так как при хранении некоторые токсические вещества могут разлагаться (синильная кислота, атропин и др.).

Для проведения химико-токсикологического анализа берут лишь часть доставленного материала, оставшуюся пробу сохраняют для возможного проверочного испытания или количественного определения.

Все химические исследования по одному делу от начала до конца выполняет один химик-токсиколог. При этом все основные операции (изолирование тех или иных веществ, обнаружение и количественное определение их) он должен выполнять лично. Каждую пробу материала исследуют по методикам количествен-

ного определения. Это делают для того, чтобы в случае необходимости на любой стадии анализа можно получить нужный ответ. Материал для всех анализов берут по весу, а полученные дистилляты, фильтраты, вытяжки измеряют.

При проведении химико-токсикологического исследования применяют только проверенные методы и реакции, с которыми химик-токсиколог хорошо знаком, знает все условия проведения их, овладел ими и может учесть все возможные ошибки.

Во всех исследованиях, где это возможно, необходимо проводить несколько различных реакций. Совпадение данных их результатов свидетельствует о правильности полученных данных. В некоторых случаях целесообразно результат той или иной реакции сопоставить с данными реакции, проведенной с заведомо известным веществом.

Иногда при положительных ответах на наличие ядовитых веществ, химические реакции обнаружения которых недостаточно специфичны (атропин, никотин, стрихнин и др.), дополнительно проводят биологическое исследование на животных.

Химико-токсикологическое исследование производится как количественное, если имеются соответствующие методики определения. Количества найденных веществ относятся к 100 г исследуемого объекта и выражаются в весовых единицах.

О ходе проведенных операций, реакций и итогах наблюдения подробно записывают в рабочем журнале. В нем же регистрируют данные и расчеты, связанные с количественными определениями.

Чтобы не перепутать данные нескольких исследований, химик-токсиколог одновременно может производить один, максимум два анализа. Необходимо на всех чашках, колбах, стаканах делать соответствующие надписи, чтобы не было ошибок.

Документация и составление акта химико-токсикологического исследования. Каждая экспертиза заканчивается составлением акта химико-токсикологического исследования. Основным материалом для его составления служит рабочий журнал, в который ежедневно делают записи, связанные с исследованием присланных материалов. Юридическим документом произведенных химико-токсикологических исследований служит акт химико-токсикологического исследования, который составляется по определенной форме.

Акт химико-токсикологического исследования. Акт составляет химик-токсиколог, производивший анализ. В нем он должен отразить следующие моменты исследования:
введение — указать, когда, кем, где и что исследовалось;
предварительный осмотр доставленного материала — подробно описать все доставленные объекты: тару, упаковку, надписи, печати, состояние их и характер содержимого; описать данные предварительного испытания и простейших микроскопических и биологических исследований;

химические исследования — подробно изложить ход всех операций.

Описание должно быть ясным, точным и давать полную картину произведенного исследования. Кроме того, нужно описать испытание реактивов на чистоту.

Заключение. В заключении пишут: «На основании вышеописанного следует заключить, что в доставленных объектах (следует их перечислить) не найдено». . . — и перечисляют вещества, на которые производилось исследование с отрицательными результатами. Далее перечисляют вещества, найденные при исследовании, и приводят количества их (или на весь доставленный объект, или найденные вещества выражают в процентах). В акте указывают, какими методами проводили исследование.

Акт подписывают химик-токсиколог, производивший исследование, и ответственное лицо.

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

При исследовании того или иного материала проводят качественный (обнаружение тех или иных искомым веществ с помощью качественных реакций) и количественный анализ (определение количества вещества).

Все реакции, применяемые в качественном анализе, должны быть чувствительными и специфичными, быстрыми и по возможности простыми по выполнению.

Ф. Файгль предложил характеризовать чувствительность качественных реакций величиной открываемого минимума (ОМ).

Открываемым минимумом (ОМ) называют наименьшее количество вещества (иона), выраженное в миллионных долях грамма, которое можно при определенных условиях открыть данным реактивом.

Однако в микрокристаллоскопии, капельном анализе и макроанализе мы имеем дело с различными объемами анализируемого раствора. Поэтому открываемый минимум необходимо дополнить указанием на степень разбавления. Оценка чувствительности реакций в зависимости от объема позволяет сравнивать разнообразные химические реакции (макрореакции, капельные, микрокристаллоскопические и др.). Чувствительность реакций характеризуется также и предельной концентрацией вещества. Под предельной концентрацией понимают наименьшую концентрацию вещества в растворе, при которой в известном объеме этого раствора еще может протекать положительная реакция. Предельная концентрация выражается отношением одной части определяемого вещества к количеству растворителя, выраженному в тех же единицах. Например, при микрореакции

образования PbJ_2 предельная концентрация равна 1 : 5000, т. е. если в 5000 г воды находится 1 г свинца, то в одной капле от действия реактива йодида калия еще выпадает осадок йодида свинца. Реакция тем чувствительнее, чем меньше предельная концентрация.

Открываемый минимум и предельная концентрация величины взаимно связаны. Зная объем раствора, взятого для реакции, можно по одной из этих величин вычислить вторую, пользуясь следующими формулами:

$$1 : C = 1 : \frac{V \cdot 10^6}{OM}; \quad OM = \frac{V \cdot 10^6}{C}; \quad V = \frac{C \cdot OM}{10^6},$$

где 1 : C — предельная концентрация;

OM — открываемый минимум, в мкг;

V — объем раствора, требующийся для выполнения одной реакции, в мл.

Под специфичностью понимают способность применяемого реактива давать с искомым веществом такие характерные изменения (появление окраски, осадка, выделение газа и т. п.), которые возникают при взаимодействии только с одним или несколькими ионами или соединениями.

Реакции, отвечающие понятию специфичности в указанном смысле, идеальны (в отношении специфичности). В настоящее время таким идеальным реагентом можно считать только крахмал, применяемый для открытия йода (йодо-крахмальная реакция, окрашивание крахмала в синий цвет).

Избирательный, или селективный, реактив дает сходные реакции с группой различных по своему составу ионов. Например, избирательным реагентом является перекись водорода, которая образует растворимые окрашенные соединения с ионами ряда металлов (титана, ванадия, молибдена и др.), каждое из которых имеет специфическую окраску.

Если избирательный реактив выделяет в осадок большую группу ионов или дает с ними цветную реакцию, его называют групповым реактивом. Типичным групповым реактивом считается сероводород, образующий труднорастворимые осадки сульфидов со многими катионами металлов.

ТОЧНОСТЬ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При проведении количественных определений неизбежны ошибки (случайные или систематические), в связи с чем полученное значение величины будет отличаться от истинного значения ее. Если провести ряд определений данной величины и сравнить каждый результат определения с истинным значением ее, то разность значений покажет абсолютную ошибку, допущенную при каждом определении. Если же найденную вели-

чину сравнить с истинной, то разность их будет составлять относительную ошибку (выражается в процентах). Величины абсолютной и относительной ошибки характеризуют точность проведенного определения. Например, выражение точность определения равна $\pm 2\%$ означает, что результаты определения данным методом могут отличаться от истинного значения определяемой величины на 2% в большую или меньшую сторону.

Для более точного суждения о достоверности произведенных наблюдений результаты определений (полученные данные) подвергают математической обработке.

Например, при титровании кислотой одного и того же объема щелочи было израсходовано различное количество кислоты: 15,26; 15,18; 15,22; 15,36; 15,43; 15,43. Из полученных данных выводим средние арифметические значения измеряемой величины, приближающиеся к их истинному значению.

Среднее арифметическое значение результатов наблюдений равно сумме полученных величин, деленной на число наблюдений.

Для указанного выше случая среднее арифметическое значение объема кислоты выразится следующим числом:

$$M = \frac{15,26 + 15,18 + 15,22 + 15,36 + 15,43 + 15,43}{6} = \frac{91,88}{6} = 15,31.$$

Для общего случая, если имеется ряд результатов $m_1, m_2, m_3, m_4, m_5, \dots$, среднее арифметическое определяют по формуле:

$$M = \frac{m_1 + m_2 + m_3 + \dots}{n} = \frac{\sum M}{n}, \quad (1)$$

где M — среднее арифметическое;

n — число наблюдений.

Отдельные результаты наблюдения могут более или менее отклоняться от среднего значения. Величина этих отклонений характеризуется ошибкой наблюдения.

Абсолютной ошибкой наблюдения называют разность между результатом наблюдения (m) и средним арифметическим (M):

$$f = m - M. \quad (2)$$

Для нашего примера ошибки наблюдения будут иметь следующие значения (в мл):

$$\begin{aligned} \hat{f}_1 &= 15,26 - 15,31 = -0,05; \\ \hat{f}_2 &= 15,18 - 15,31 = -0,13; \\ \hat{f}_3 &= 15,22 - 15,31 = -0,09; \\ \hat{f}_4 &= 15,36 - 15,31 = +0,05; \\ \hat{f}_5 &= 15,43 - 15,31 = +0,12; \\ \hat{f}_6 &= 15,43 - 15,31 = +0,12. \end{aligned}$$

Если среднее значение вычислено правильно, то сумма всех ошибок должна быть равна нулю:

$$\sum f = 0. \quad (3)$$

Для характеристики точности всей серии наблюдений вычисляют среднее значение ошибки всей серии. В простейшем случае она может быть вычислена как среднее арифметическое отдельных ошибок без учета знака ошибки:

$$f_{\text{ср}} = \frac{\sum f}{n}; \quad (4)$$

$$f_{\text{ср}} = \frac{0,05 + 0,13 + 0,09 + 0,05 + 0,12 + 0,12}{6} = \frac{0,56}{6} = 0,09.$$

Если хотят получить более точное представление о характере ошибки, вычисляют среднюю квадратичную ошибку наблюдения.

При вычислении квадратичных ошибок избегают влияния знака, так как при возведении в квадрат всегда получаются положительные числа; кроме того, при этом выявляется роль ошибок в наблюдениях, значительно отличающихся от среднего значения измеряемой величины.

Квадратичную ошибку отдельного измерения данной серии наблюдений вычисляют по формуле:

$$F_m = \sqrt{\frac{\sum f^2}{n-1}},$$

а квадратичную ошибку среднего значения данной серии по формуле:

$$F_M = \sqrt{\frac{\sum f^2}{n(n-1)}}. \quad (5)$$

Вычислим квадратичную ошибку среднего значения для примера, приведенного выше:

$$F_M = \frac{0,05^2 + 0,15^2 + 0,09^2 + 0,05^2 + 0,12^2 + 0,12^2}{6 \cdot 5} = \frac{0,0617}{6 \cdot 5} = 0,04.$$

В соответствии с законами математической статистики грубыми ошибками считают те, для которых

$$f > 3F_M,$$

т. е. если абсолютная ошибка измерения больше утроенной средней квадратичной ошибки.

Среднее значение результатов наблюдения с учетом средней квадратичной ошибки вычисляют по формуле:

$$M_{\text{ср}} = M \pm F_M. \quad (6)$$

В случае нашего примера истинное значение объема кислоты, расходуемой на титрование щелочи, лежит в пределах:

$$15,27 < M_{\text{ср}} < 15,35, \text{ или } M_{\text{ср}} = 15,31 \pm 0,04.$$

Средняя квадратичная ошибка характеризует точность определений. Если они сделаны не точно, то полученные значения измеряемых величин резко отличаются друг от друга, а квадратичная ошибка слишком велика.

Для оценки точности определения по квадратичной ошибке среднего значения сравнивают ее с точностью отсчетов на применяемых приборах.

Если она лежит в пределах точности отсчетов, то измерения проведены удовлетворительно.

В приведенном выше примере $F_M = 0,04$. На бюретках отсчеты могут быть сделаны с точностью до 0,02 мл. Следовательно, квадратичная ошибка превышает точность отсчетов по бюретке: измерения проведены с недостаточной точностью.

Практически для проверки точности нового метода исследования часто поступают так: сравнивают результаты определений, получаемые по новому методу, с результатами, полученными по заведомо апробированному методу как точному для этих же исследований.

При совпадении результатов новый метод признают точным. Желательно, чтобы оба метода основывались на различных принципах.

Для оценки точности количественных химических методов можно поступать следующим образом: к навеске продукта, заведомо свободного от вещества, которое нужно определить при помощи данного метода, прибавляют точно известное количество химически чистого искомого вещества и проводят определение. Полученные результаты сравнивают с первоначальными и вычисляют абсолютную и относительную ошибки метода, устанавливая тем самым точность нового метода.

ПРАВИЛА ПРИ ВЫЧИСЛЕНИИ ПРИБЛИЖЕННЫХ ЧИСЕЛ

При всех измерениях (длины, массы, времени и т. д.) мы никогда не получаем точных чисел, а всегда лишь приближенные.

Поэтому при вычислениях с приближенными числами необходимо соблюдать следующие правила:

1. Результаты измерений или вычислений должны содержать строго определенное число значащих цифр, причем последняя цифра должна быть сомнительной, а предпоследняя — достоверной.

2. Если отбрасываемая цифра равна 5 или больше 5, надо к последней сохраняемой цифре прибавить единицу.

3. Точность результата зависит от точности измерительных приборов, точности метода и тщательности исходных измерений и не может быть в дальнейшем повышена путем различных арифметических действий над результатами наблюдений. Поэтому, если в цепи вычислений имеется какое-либо не очень

надежное число, то точность конечного измерения не может быть большей, чем точность наименее надежного числа в цепи вычислений.

4. Все цифры, кроме нуля, значащие. Ноль считается значащей цифрой, если стоит между другими значащими цифрами. Например, в числе 0,0105 первые два нуля слева незначащие, а ноль между 1 и 5 — значащий. Нули, написанные в правом конце числа (целого или дробного), также нужно рассматривать как значащие. Например, мы можем написать число 5000, если при измерении учитываются не только сотни и десятки, но и единицы. Если же мы учитываем только тысячи, тогда то же число следует написать в виде $5 \cdot 10^3$. Приближенное число, содержащее незначащие цифры, принято записывать в виде произведения двух множителей, первый из которых представляет собой число, состоящее только из значащих цифр, а второй — десять в соответствующей степени:

$$a_1 = 9\,724\,000 = 9,72 \cdot 10^6 \quad (3 \text{ значащие цифры});$$

$$a_2 = 9\,724\,000 = 9,724 \cdot 10^6 \quad (4 \text{ значащие цифры}).$$

5. При сложении и вычитании приближенных чисел следует сохранять в окончательном результате после запятой не больше знаков, чем их имеется в наименее достоверном числе:

$$97,0 + 10,37 = 107,4 \quad (\text{правильно});$$

$$97,0 + 10,371 = 107,371 \quad (\text{неправильно}).$$

6. При умножении и делении приближенных чисел результат следует округлять до такого числа значащих цифр, сколько их имеет приближенное число с наименьшим числом значащих цифр, например:

$$\text{а) } 12,853 \times 3,5 = 45;$$

$$\begin{array}{l} 5 \text{ значащих} \\ \text{цифр} \end{array} \times \begin{array}{l} 2 \text{ значащие} \\ \text{цифры} \end{array} = \begin{array}{l} 2 \text{ значащие} \\ \text{цифры} \end{array}$$

$$\text{б) } 9,43 : 2,358 = 39,995 = 40,0$$

$$\begin{array}{l} 3 \text{ значащие} \\ \text{цифры} \end{array} : \begin{array}{l} 4 \text{ значащие} \\ \text{цифры} \end{array} = \begin{array}{l} 3 \text{ значащие} \\ \text{цифры} \end{array}$$

$$\text{в) } 454 : 75 = 6,1 \quad (\text{а не } 6,05 \text{ и не } 6).$$

7. Если некоторые данные имеют больше десятичных знаков (при сложении и вычитании) или больше значащих цифр (при умножении, делении), чем другие, то их предварительно следует округлить, сохраняя лишь одну лишнюю цифру по сравнению с наименьшим достоверным числом.

8. Если в окончательном результате — в произведении или в частном — первая значащая цифра 1; 2; 3 или 4, рекомендуется сохранить на одну цифру больше, чем это требуется правилом 6.

9. При возведении в квадрат или куб в результате следует сохранять столько значащих цифр, сколько их имеет возводимое в степень приближенное число.

10. При извлечении квадратного и кубического корней в результате нужно брать столько значащих цифр, сколько их имеет подкоренное число.

11. Точность измерений какой-либо величины должна быть одна и та же, т. е. все числа в одной графе должны кончаться на одном общем разряде. Например, нужно писать не 5,434 и 5,4, а 5,43 и 5,40, если измерения проводили с точностью до сотых долей.

12. Точность измерения разных величин (помещаемых в разных графах) может быть различна и определяется точностью применявшихся в экспериментах измерительных приборов.

ОБЪЕМНЫЙ АНАЛИЗ

В химико-токсикологическом анализе многие исследования заканчиваются определением искомых ядов методом объемного анализа.

Объемным анализом называют количественный химический анализ, основанный на измерении объема раствора с точно известной концентрацией реактива, требующегося для реакции с данным количеством определяемого вещества.

Метод заключается в том, что к раствору определяемого вещества постепенно прибавляют раствор реактива известной концентрации, пока его количество не станет эквивалентным количеству реагирующего с ним определяемого вещества.

При выполнении объемного анализа требуется меньше времени, чем при выполнении весового, поэтому его применяют при производстве химических исследований, когда ответ желательно получить быстро. На определение объемным методом затрачиваются минуты.

При производстве объемного анализа работа заключается в измерении объемов исследуемых растворов и растворов контрольных с известной концентрацией. Зная соотношение между ними и учитывая характер химической реакции, происходящей при определении, можно легко узнать концентрацию исследуемого раствора.

Точку эквивалентности устанавливают по показаниям специальных приборов или пользуясь индикаторами. Момент, когда изменяется цвет индикатора, называют точкой конца титрования.

Растворы известной концентрации, которые служат исходным материалом для работы, называются титрованными, т. е. растворами с известным титром. Титр — это содержание вещества в граммах в 1 мл раствора. Процесс определения концентрации исследуемого раствора называют титрованием.

Концентрацию титрованного раствора реактива обычно выражают в граммах на миллилитр (г/мл) или в единицах нормальности.

Поскольку вся работа при производстве объемного анализа сводится к измерению объемов, необходимо пользоваться специально предназначенной для этого мерной посудой (пипетки, бюретки, мерные колбы), которую перед употреблением нужно калибровать.

При расчетах в объемном анализе не принято выражать концентрации растворов в процентах, а пользуются нормальными растворами, что значительно сокращает все вычисления. Но нормальные растворы слишком концентрированы, поэтому употребляют 0,2 н., 0,1 и 0,01 н. растворы.

После цифры, указывающей нормальность раствора, вместо слова нормальность обычно пишут букву н.

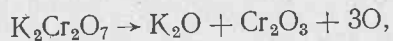
Нормальными называют растворы, содержащие в 1 л 1 грамм-эквивалент данного вещества. Грамм-эквивалент — это количество вещества, выраженное в граммах и соответствующее 1 грамм-атому водорода. Например, грамм-эквивалент серной кислоты равен ее грамм-молекуле (98,086 г), деленной на 2:

$$\frac{\text{H}_2\text{SO}_4 (98,086)}{2} = 49,043 \text{ г,}$$

азотной кислоты:

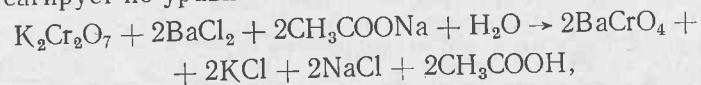
$$\frac{\text{HNO}_3 (63,008)}{1} = 63,008 \text{ г.}$$

Этот способ вычисления применим не всегда, так как в зависимости от характера реакций, протекающих при данном определении, приходится грамм-эквивалент вычислять по-разному. Например, если двухромовокислый калий ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) применяется как окислитель, то его грамм-эквивалент равен $\frac{294,2}{6} = 49,03$ г, так как при восстановлении он распадается по уравнению:



т. е. 1 молекула $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ соответствует 3 атомам О или 6 атомам водорода.

При анализах же методом осаждения двухромовокислый калий реагирует по уравнению:



откуда следует, что грамм-молекула $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ осаждает 2 грамм-атома бария, соответствующие 4 грамм-атомам водорода. Поэтому грамм-эквивалент $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в данном случае равен $\frac{294,2}{4} = 73,55$ г.

Таким образом, при вычислении грамм-эквивалента необходимо принимать во внимание характер реакций, протекающих при определениях.

Общие правила приготовления титрованных растворов. При приготовлении растворов точно известной концентрации необходимо соблюдать исключительную точность и аккуратность в работе.

Существует несколько способов приготовления титрованных растворов:

1) приготовление титрованного раствора по точной навеске исходного вещества;

2) установка титра раствора при помощи установочных веществ;

3) установка титра раствора при помощи другого титрованного раствора;

4) приготовление титрованных растворов по фиксаналу.

При установке титра стандартного раствора исходного реактива нужно соблюдать следующие правила:

а) исходное вещество, применяемое для титрованного раствора, должно быть по возможности химически чистым, легко и быстро реагировать с титруемыми веществами;

б) раствор исходного вещества должен сохраняться долгое время без изменения;

в) процесс титрования должен заканчиваться быстро и четко, а конечная точка титрования определяться легко и точно;

г) при установке титра проводить титрование до тех пор, пока не будет получено по крайней мере три одинаковых результата;

д) титрованные растворы нужно сохранять так, чтобы они не загрязнялись и не поглощали влагу из воздуха. Титры растворов не должны изменяться при хранении;

е) точность, с которой выполняют титрование, измеряют объемы и производят последующие вычисления, должна соответствовать точности взвешивания. Навески исходных веществ следует взвешивать только на аналитических весах.

В объемном анализе количество определяемого вещества или его концентрацию рассчитывают несколькими способами.

По нормальности титрованного раствора (н.). Вычисления проводят, исходя из правила эквивалентности, согласно которому один грамм-эквивалент любого вещества (реактанта В) полностью реагирует с одним грамм-эквивалентом другого вещества (определяемого компонента А).

Чтобы вычислить содержание определяемого вещества А (в граммах), число грамм-эквивалентов его необходимо умножить на величину грамм-эквивалента:

$$g_A = \frac{\vartheta_A n_B V_B}{1000},$$

или в процентах:

$$X = \frac{g_A \cdot 100}{a} = \frac{\vartheta_A \cdot n_B V_B}{1000} \cdot \frac{100}{a},$$

где X — содержание определяемого вещества (А), в %;
 a — навеска анализируемого вещества, в г;
 g_A — общее содержание определяемого вещества в исследуемом продукте, в г;
 \mathcal{E}_A — грамм-эквивалент определяемого вещества;
 n_B — нормальность стандартного раствора;
 V_B — объем стандартного раствора, в мл.

При определении концентрации раствора вычисления производят, исходя из положения, что в точке эквивалентности объемы прореагировавших растворов реактива и определяемого вещества обратно пропорциональны их нормальностям:

$$\frac{V_B}{V_A} = \frac{n_A}{n_B}$$

Отсюда можно сделать заключение, что растворы одинаковой нормальности реагируют друг с другом в равных объемах или растворы, реагирующие друг с другом в равных объемах, имеют одинаковую нормальность.

Если $n_B = n_A$, то $V_B = V_A$.

По титру исходного стандартного (титрованного) раствора реактива (T_B). Предположим, что при титровании для анализа было растворено a граммов вещества А. Полученный раствор был оттитрован стандартным раствором реактива В, титр которого равен T_B . На титрование пошло V_B мл стандартного раствора. Требуется вычислить процентное содержание вещества А.

При вычислении учитывают, что один грамм-эквивалент вещества А полностью реагирует с одним грамм-эквивалентом вещества В.

Количество граммов реактива В, пошедшего на реакцию с определяемым компонентом А, равно:

$$g_B = T_B \cdot V_B$$

Составляют пропорцию:

$$\mathcal{E}_B - \mathcal{E}_A g_A = \frac{\mathcal{E}_A}{\mathcal{E}_B} \cdot g_B,$$

$$g_A - g_B g_A = \frac{\mathcal{E}_A \cdot T_B \cdot V_B}{\mathcal{E}_B},$$

или в процентах:

$$X = \frac{\mathcal{E}_A \cdot T_B \cdot V_B}{\mathcal{E}_B} \cdot \frac{100}{a}$$

При массовом определении одинаковых веществ удобнее выражать титр исходного стандартного раствора в граммах определяемого вещества А ($T_{B/A}$), количество которого соответствует

1 мл стандартного раствора реактива В, т. е. титр стандартного (титрованного) раствора выражают в граммах определяемого вещества.

Для того чтобы вычислить количество определяемого компонента А, требуется только умножить величину титра ($T_{B/A}$) на объем израсходованного стандартного раствора V_B (в мл).

Расчет содержания определяемого вещества при помощи поправочного коэффициента. Поправочный коэффициент (K_B)* показывает, во сколько раз практическая нормальность, или практический титр, данного титрованного раствора больше или меньше теоретической нормальности, или теоретического титра, этого раствора определенной концентрации:

$$K_B = \frac{n_{\text{практ.}}}{n_{\text{теор.}}} = \frac{T_{\text{практ.}}}{T_{\text{теор.}}}$$

Поправка больше единицы указывает на то, что нормальность данного раствора больше теоретической, а поправка меньше единицы указывает на то, что нормальность данного раствора меньше теоретической.

Зная величину поправочного коэффициента, можно рассчитать общее содержание определяемого компонента по теоретическому титру, или нормальности, так как произведение теоретической нормальности, или теоретического титра, на поправочный коэффициент выражает соответственно величину практической нормальности, или практического титра: $n_{\text{теор.}} \times K_B = n_{\text{практ.}}$; $T_{\text{теор.}} \cdot K_B = T_{\text{практ.}}$

Приготовление 0,1 н. раствора соляной и серной кислот. Ареометром определяют плотность х. ч. концентрированной соляной или серной кислот и по справочным таблицам находят соответствующее содержание H_2SO_4 или HCl . На основании полученных данных вычисляют количество миллилитров исходной кислоты, необходимое для приготовления заданного количества кислоты соответствующей концентрации.

Пример.

Соляная кислота HCl , молекулярный вес 36,465; $\mathcal{E} = 36,465$. Нужно приготовить 20 л 0,1 н. раствора соляной кислоты. Предположим, что удельный вес кислоты, имеющейся в лаборатории, согласно определению ареометром, 1,19. По таблицам находим, что соляная кислота с удельным весом 1,19 содержит 443,1 г/л HCl . На 1 л 0,1 н. раствора HCl требуется 3,6465 г HCl .

Следовательно, на 20 л соляной кислоты требуется $3,6465 \cdot 20 = 72,93$ г HCl . В 1000 мл исходной кислоты 443,1 г HCl , а 72,93 г HCl в X :

$$X = \frac{72,93 \cdot 100}{443,1} = 164,59 \text{ мл.}$$

Следовательно, для того чтобы приготовить 20 л 0,1 н. раствора HCl , нужно взять 165 мл HCl с удельным весом 1,19, разбавить их 20 л дистиллированной водой и тщательно перемешать раствор.

* Иногда его называют «коэффициентом-поправкой», с чем нельзя согласиться. Можно его также называть просто «поправкой».

Установка титра растворов кислот (соляной и серной) по тетраборату натрия (по буре). $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 2\text{HCl} = 4\text{H}_3\text{BO}_3 + 2\text{NaCl}$. Если реактив влажный, его сушат на воздухе между листами фильтровальной бумаги до тех пор, пока отдельные кристаллы не перестанут прилипать к стеклянной палочке.

Берут 3—4 навески высушенной буры приблизительно по 0,5 г каждая с точностью до 0,0002 г и переносят их в конические колбы емкостью 250 мл. Бюкс с оставшейся бурой снова взвешивают. Разность между результатами обоих взвешиваний показывает величину навески. Взятую буру растворяют в 30—60 мл теплой воды при энергичном взбалтывании, добавляют 1—2 капли раствора метилового красного и титруют кислотой до изменения желтого цвета раствора в оранжево-розовый.

Поправочный коэффициент рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{a}{V \cdot 0,019072},$$

где a — навеска буры, в г;
 V — объем 0,1 н. раствора кислоты, израсходованного на титрование, в мл;
 0,019072 — количество буры, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора кислоты, в г.

Проверка титра 0,1 н. растворов кислот (соляной или серной) по титрованному раствору едкого натра (NaOH). Из бюретки берут три пробы по 25—30 мл 0,1 н. раствора NaOH в конические колбы емкостью 250 мл, приливают туда 1—2 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н. раствором кислоты до перехода желтого окрашивания в оранжевое.

Поправочный коэффициент рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{V \cdot K_1}{V_1},$$

где V_1 — объем 0,1 н. раствора едкого натра, взятого для титрования, в мл;
 K_1 — поправочный коэффициент 0,1 н. раствора едкого натра;
 V — объем 0,1 н. раствора кислоты, израсходованной на титрование, в мл.

Приготовление 0,1 н. раствора едкого натра (не содержащего карбоната). NaOH, молекулярный вес 39,997, $\mathcal{E} = 39,997$. Вначале готовят насыщенный раствор щелочи. Едкий натр х. ч. или ч. д. а. растворяют в равном по весу количестве воды. Раствор при этом сильно разогревается, щелочь добавляют постепенно при перемешивании. Охлажденный раствор оставляют на 2—3 недели в склянке или в цилиндре, закрытом резиновой пробкой; примесь карбоната натрия при этом оседает на дно цилиндра.

Перед приготовлением титрованного раствора отбирают пипеткой 1 мл прозрачного раствора, переносят его в колбу, добавляют 25 мл воды, 2 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н. раствором соляной или серной кислоты до перехода желтого окрашивания в оранжево-розовое.

Концентрацию C исходного насыщенного раствора щелочи (в г/л) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{V \cdot K_1 \cdot 0,004 \cdot 1000}{V_1} = \frac{4 \cdot V \cdot K_1}{V_1},$$

где V — объем 0,1 н. раствора кислоты, израсходованного на титрование, в мл;
 K_1 — поправочный коэффициент 0,1 н. раствора кислоты;
 V_1 — объем испытуемого раствора, в мл;
 0,004 — количество NaOH, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора кислоты, в г.

На основании полученных данных рассчитывают, сколько нужно взять насыщенного раствора щелочи, чтобы приготовить заданное количество титрованного раствора соответствующей нормальности.

Титр щелочей устанавливают по исходному веществу (сульфаминовая, янтарная и другие кислоты) или проверяют по титрованному раствору соляной или серной кислоты соответствующей концентрации.

Установка титра 0,1 н. раствора едкого натра по титрованному раствору 0,1 н. раствора соляной кислоты. Из бюретки берут 3—4 пробы по 25—30 мл 0,1 н. раствора едкого натра в колбы емкостью 250 мл, приливают 3—4 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором соляной кислоты до исчезновения розовой окраски. Затем добавляют 1—2 капли раствора метилового оранжевого и титруют до перехода желтого окрашивания в оранжево-розовое.

Поправочный коэффициент при титровании щелочи по фенолфталеину равен:

$$K = \frac{V \cdot K_1}{V_2},$$

а при титровании по метиловому оранжевому:

$$K = \frac{V_1 \cdot K_1}{V_2},$$

где V — объем 0,1 н. раствора HCl, израсходованного на титрование с фенолфталеином, в мл;
 V_1 — объем 0,1 н. раствора HCl, израсходованного на суммарное титрование с фенолфталеином и с метиловым оранжевым, в мл;

K_1 — поправочный коэффициент 0,1 н. раствора соляной кислоты;

V_2 — объем 0,1 н. раствора едкого натра, взятого для титрования, в мл.

Расхождение между поправками щелочи, установленной по метиловому оранжевому и по фенолфталеину, свидетельствует о загрязненности щелочи карбонатами. Максимально допустимое расхождение в пределах 0,4%.

Приготовление 0,1 н. раствора тиосульфата натрия. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, молекулярный вес 248,19, $\mathcal{E} = 248,19$.

Для получения 0,1 н. раствора берут 25 г тиосульфата натрия ч. д. а., помещают в мерную колбу, растворяют в свежeproкипяченной и охлажденной дистиллированной воде, добавляют туда 0,2 г карбоната натрия, доводят до метки и оставляют стоять 10—15 дней. Затем при помощи чистого йода определяют титр раствора. Тиосульфат натрия реагирует с йодом по следующей схеме: $2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{J}_2 \rightarrow \text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6 + 2\text{NaJ}$. Одна молекула тиосульфата натрия эквивалентна одному атому йода.

Продажный йод бывает обычно загрязнен хлором и бромом. Для очистки йода растирают 5—6 г этого препарата и 2 г йодида калия. Смесь переносят в сухой стакан емкостью около 300 мл и накрывают круглодонной колбой, наполненной водой комнатной температуры. Стакан заворачивают в асбест и осторожно нагревают на асбестовой сетке над маленьким пламенем горелки. Йод возгоняется и осаждается в виде кристаллов на дне колбы. Возгонку прекращают, когда в стакане полностью исчезнут фиолетовые пары (или их останется мало).

После охлаждения образовавшиеся кристаллы йода осторожно снимают стеклянной палочкой и снова возгоняют, но уже без йодида калия и при возможно низкой температуре. Полученные кристаллы йода растирают в агатовой ступке, высыпают на часовое стекло и в течение суток сушат в эксикаторе над хлоридом кальция.

Для установки титра тиосульфата в 2—3 бюкса насыпают по 2—2,5 г чистого йодида калия* и приливают по 0,5 мл воды. Закрытые стаканчики взвешивают на аналитических весах, прибавляют по 0,3—0,4 г чистого йода, тотчас закрывают и взвешивают. По разности между взвешиваниями находят вес йода.

После этого, открыв крышку, осторожно опускают бюксу в пол-литровый стакан с 200 мл воды и 1 г йодида калия. Полученный раствор йода титруют из бюретки тиосульфатом до тех пор, пока раствор не окрасится в слабо-желтый цвет, затем прибавляют 1—2 мл раствора крахмала и титруют до исчезновения синей окраски. Определение повторяют 2—3 раза. Разделив вес йода на количество миллилитров тиосульфата, израс-

* Йодид калия не должен содержать свободного йода.

ходованного на титрование, находят титр тиосульфата по йоду, т. е. вычисляют количество граммов йода, эквивалентное 1 мл приготовленного раствора тиосульфата. Полученное число делят на 0,01269* и находят поправочный коэффициент (поправку).

Титр тиосульфата натрия можно также установить посредством бихромата калия. Если к кислому раствору йодида калия прибавить бихромат калия, то двухромовая кислота восстанавливается количественно в соль окиси хрома зеленого цвета, освобождая эквивалентное количество йода:



Точно 0,1 н. раствор готовят растворением 4,9033 г очищенного и высушенного при 130° бихромата калия в мерной колбе объемом 1 л. Для этого можно взять также ампулу фиксанала, в которой находится готовая навеска бихромата калия.

К 10 мл 10%-ного раствора йодида калия прибавляют 10 мл 0,1 н. раствора бихромата калия, 5 мл разбавленной (1:3) соляной кислоты и оставляют стоять 1—2 минуты, накрыв колбы часовыми стеклами. Затем в смесь наливают 200—300 мл дистиллированной воды и титруют выделившийся йод тиосульфатом натрия до получения желтой окраски. После этого прибавляют 1—2 мл 1%-ного раствора крахмала и продолжают прибавлять тиосульфат натрия до перехода синей окраски в слабо-зеленую (соли хрома). Разделив количество миллилитров тиосульфата натрия, пошедшего на титрование, на десять (количество миллилитров бихромата калия), вычисляют поправку.

Приготовление 0,1 н. раствора бихромата калия. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, молекулярный вес 294,19, $\mathcal{E} = 49,031$.

Готовят 0,1 н. раствор х.ч. бихромата калия из расчета 4,90 г на 1 л раствора, хорошо перемешивают и устанавливают титр по 0,1 н. раствору тиосульфата натрия.

К 30—40 мл раствора бихромата калия (из бюретки), взятых в коническую колбу емкостью 500 мл с притертой пробкой, прибавляют 2 г йодида калия и 8 мл концентрированной соляной кислоты или 10 мл серной кислоты (1:2). Раствор хорошо перемешивают, разбавляют водой до 400 мл и титруют выделившийся йод 0,1 н. раствором тиосульфата натрия до тех пор, пока цвет раствора из коричневого не станет желтовато-зеленым. Затем прибавляют 1,5—2 мл раствора крахмала и титруют до тех пор, пока цвет раствора из синего не станет изумрудно-зеленым.

Параллельно проводят холостое титрование, для чего к 50 мл воды добавляют 2 г йодида калия и 8 мл концентрированной соляной кислоты или 10 мл серной кислоты (1:2), разбавляют

* 0,01269 — точный титр 0,1 н. раствора йода.

водой до 400 мл, добавляют раствор крахмала и титруют, как описано выше.

Поправочный коэффициент K раствора бихромата калия рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{(V - V_1) \cdot K_1}{V_2},$$

где V — объем 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование, в мл;

V_1 — объем 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованного на холостое титрование, в мл;

V_2 — объем 0,1 н. раствора бихромата калия, взятого для титрования, в мл;

K_1 — поправочный коэффициент 0,1 н. раствора тиосульфата натрия.

Установка титра 0,1 н. раствора перманганата калия, KMnO_4 , молекулярный вес 158,04, $\mathcal{E} = 31,608$.

Для приготовления 0,1 н. раствора перманганата калия отвешивают 3,16 г х. ч. перманганата калия, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе емкостью 1 л, доводят раствор до кипения и продолжают нагревать при температуре, близкой к точке кипения, еще один час. Если выпадает осадок MnO_2 , раствор фильтруют через тигель с пористой стеклянной пластинкой или через стеклянную вату.

Растворы перманганата калия сохраняют в бутылках темного стекла. Следует избегать соприкосновения раствора с резиновыми трубками или пробками; при титровании пользоваться бюретками только со стеклянными кранами. Краны на бюретках нельзя смазывать вазелином, можно слегка смазывать их концентрированной серной кислотой.

Навеску оксалата натрия в количестве 0,2—0,25 г, взятую с точностью до 0,0002 г, помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, растворяют в 100 мл горячей (80—90°) воды, прибавляют 10 мл разбавленной (1:1) серной кислоты и титруют 0,1 н. раствором перманганата калия до появления слабо-розового окрашивания. Вначале титруют медленно, не прибавляют следующую каплю раствора до полного обесцвечивания первой. Титрование считают законченным, когда появившаяся розовая окраска раствора не исчезает в течение одной минуты.

Поправочный коэффициент K раствора перманганата калия рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{a}{V \cdot 0,0067},$$

где V — объем 0,1 н. раствора перманганата калия, израсходованного на титрование, в мл;

a — навеска оксалата натрия, в г;

0,0067 — количество оксалата натрия, соответствующее 1 мл точно 0,1 н. раствора перманганата калия в г.

Установка титра 0,1 н. раствора нитрата серебра, AgNO_3 , молекулярный вес 169,87, $\mathcal{E} = 169,87$.

Требуемое количество нитрата серебра (из расчета 17 г на 1 л раствора) растворяют в соответствующем объеме воды, хорошо перемешивают раствор и устанавливают титр по хлориду натрия. Растворы нитрата серебра защищают от действия света, сохраняя их во флаконах из темного стекла.

Титр нитрата серебра устанавливают следующим образом. Исходным веществом для установки титра нитрата серебра служит х. ч. хлорид натрия, предварительно очищенный и перекристаллизованный. Для этого готовят насыщенный раствор хлорида натрия и пропускают через него хлористый водород, полученный из соляной и серной кислот. Выделившийся хлорид натрия отсасывают, промывают несколько раз холодной дистиллированной водой, просушивают и прокаливают в тигле (500—600°) до постоянного веса.

Три навески хлористого натрия по 0,2—0,3 г каждая, взятые на аналитических весах в химических стаканах, растворяют в 50 мл дистиллированной воды, прибавляют 1 мл 10%-ного раствора хромата калия (индикатор) и приливают раствор нитрата серебра до появления отчетливой, не исчезающей при встряхивании красно-коричневой окраски.

Поправочный коэффициент K нитрата серебра рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{a}{V \cdot 0,005844},$$

где a — навеска хлорида натрия, в г;

V — объем 0,1 н. раствора нитрата серебра, израсходованного на титрование, в мл;

0,005844 — количество хлорида натрия, соответствующее 1 мл точно 0,1 н. раствора нитрата серебра, в г.

Установка титра 0,1 н. раствора роданида аммония, NH_4SCN , молекулярный вес 76,12, $\mathcal{E} = 76,12$.

Требуемое количество роданида аммония х. ч. (из расчета 7,6 на 1 л раствора) растворяют в соответствующем объеме воды, хорошо перемешивают и устанавливают его титр по 0,1 н. раствору нитрата серебра.

В коническую колбу емкостью 250 мл наливают из бюретки 20—25 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра, затем прибавляют 1,5—2 мл раствора железо-аммонийных квасцов, 5 мл азотной кислоты (1:1) и титруют раствором роданида аммония, приливая его медленно небольшими порциями при постоянном взбалтывании. Под конец происходит коагуляция коллоидного раствора роданида серебра, и мутный раствор над осадком становится прозрачным. Титрование заканчивают после появления не исчезающего при энергичном взбалтывании коричневатого окрашивания раствора.

Поправочный коэффициент K роданида аммония рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{V \cdot K_1}{V_1},$$

где V — объем 0,1 н. раствора нитрата серебра, взятого для титрования, в мл;

K_1 — поправочный коэффициент раствора нитрата серебра;

V_1 — объем раствора роданида аммония, израсходованного на титрование, в мл.

Установка титра 0,1 н. раствора нитрата ртути (II). $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$, молекулярный вес 333,61, $\mathcal{E} = 166,805$.

Требуемое количество нитрата ртути (II) (из расчета 17 г на 1 л раствора) переносят через воронку в бутылку, в которую налита азотная кислота (2 : 3) из расчета 20 мл на каждый литр раствора. После растворения соли раствор разбавляют дистиллированной водой до требуемого объема и тщательно перемешивают. Раствор годен к употреблению через 1—2 дня, устойчив при хранении в склянках коричневого стекла.

Титр раствора устанавливают по хлориду натрия в присутствии индикатора — нитропруссиды натрия или дифенилкарбазона.

Берут 3—4 навески хлорида натрия в отдельные бюксы примерно по 0,15—0,18 г с точностью до 0,0002 г и высушивают при 120° до постоянного веса. Затем переносят их в конические колбы емкостью 250 мл и растворяют в 25 мл воды. Бюкс со следами оставшегося хлорида натрия снова взвешивают и по разности определяют навеску, взятую для титрования. К раствору хлорида натрия прибавляют 0,3 мл 10%-ного раствора нитропруссиды натрия или 5 капель 2%-ного спиртового раствора дифенилкарбазона и титруют 0,1 н. раствором нитрата ртути (II). Конец титрования определяют по появлению не исчезающей мути от образования нитропруссиды ртути или по появлению не исчезающего синего окрашивания раствора (если в качестве индикатора применяли дифенилкарбазон).

Поправочный коэффициент K раствора нитрата ртути (II) рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{a}{V \cdot 0,005844},$$

где a — навеска хлорида натрия, в г;

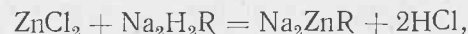
V — объем 0,1 н. раствора нитрата ртути (II), израсходованного на титрование, в мл;

0,005844 — количество хлорида натрия, соответствующее 1 мл точно 0,1 н. раствора нитрата ртути (II), в г.

Установка титра 0,1 н. раствора трилона Б. Трилон Б (18,6 г) растворяют в воде; если нужно, фильтруют и разбавляют водой до 1 л.

Титр 0,1 н. раствора трилона Б определяют по металлическому цинку.

Трилон Б образует с ионами цинка в аммиачной среде (рН около 10) прочный комплекс:



где R — радикал этилендиаминтетрауксусной кислоты.

В качестве индикатора применяют хромоген черный, который с ионами цинка образует соединение, окрашенное в вишнево-красный цвет, с трилоном Б дает синее окрашивание.

Раствор хлорида цинка: точную навеску 3,269 г чистого металлического цинка, содержащего не менее 99,95% цинка, помещают в мерную колбу емкостью 1 л и растворяют в разбавленной (1 : 1) соляной кислоте (50—60 мл). После того как металл растворится, раствор охлаждают и разбавляют водой до метки. Получается точно 0,1 н. раствор хлорида цинка.

Буферный раствор: 54 г хлорида аммония растворяют в 100—200 мл воды, смешивают с 350 мл 25%-ного раствора NH_4OH и разбавляют водой до 1 л.

Титрование: 25 мл 0,1 н. раствора хлорида цинка помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, нейтрализуют раствором аммиака до пожелтения раствора (в присутствии метилового красного), добавляют 2 мл буферного раствора, до 100 мл воды, вносят индикатор хромоген черный и титруют трилоном Б до сине-сиреневого окрашивания. К концу титрования добавляют еще некоторое количество индикатора и дотитровывают до синего окрашивания.

Поправочный коэффициент K раствора трилона Б рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{V}{V_1},$$

где V — объем раствора хлорида цинка, взятого для титрования в мл;

V_1 — объем раствора трилона Б, израсходованного на титрование, в мл.

Приготовление растворов индикаторов, применяемых в объемном анализе. Метилоранж (метилоранж; 4-диметиламиноазобензол-4'-сульфокислота, натриевая соль, гелиантин, оранже III), $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{N}_3\text{SNa}$, молекулярный вес 327,34, интервал перехода окраски при рН от 3,1 до 4,4. Изменение окраски от красной к оранжево-желтой.

Оранжево-желтые листочки или порошок; легко растворяется в горячей воде, нерастворим в спирте.

0,1 г препарата растворяют в 80 мл горячей воды, по охлаждению доводят водой до 100 мл — раствор А.

50 мл раствора А разбавляют водой до 100 мл, раствор Б применяют как рабочий раствор.

Метилловый красный (метилрот; п-диметиламиноазобензол-о-карбоновая кислота), $C_{15}H_{15}O_2N_3$, молекулярный вес 269,29. Интервал перехода окраски при рН от 4,2 до 6,2. Изменение окраски от красной к желтой.

Блестящие красновато-фиолетовые кристаллы или краснобурый порошок; растворим в воде и в спирте (бурая окраска).

Препарат (0,1 г) растирают в фарфоровой ступке с 18,6 мл 0,02 н. раствора едкого натра и после растворения доводят водой объем раствора до 250 мл.

Фенолфталеин 2,2-бис (п-оксифенил) - фталид, $C_{20}H_{14}O_4$, молекулярный вес 318,31. Интервал перехода окраски при рН от 8,2 до 10. Изменение окраски от бесцветной к красной.

Это мелкокристаллический порошок белого или слегка желтоватого цвета, растворяется в спирте и не растворяется в воде.

Препарат (0,1 г) растворяют в 100 мл 95° этилового спирта.

Крахмал растворимый. Крахмал растворимый — это продукт неполного кислотного гидролиза крахмала.

2,5 г растворимого крахмала и 0,01 г хлористого цинка (консервант) растирают в небольшом количестве воды, полученную пасту вливают при помешивании в 500 мл кипящей воды; кипячение продолжают до тех пор, пока раствор не станет прозрачным, и фильтруют горячим или дают отстояться; в последнем случае пользуются верхней частью отстоявшейся жидкости.

Разведенный раствор йода после прибавления крахмала должен окрашиваться в синий цвет; появление бурой окраски указывает на порчу крахмального раствора.

Дифениламин, $C_{12}H_{11}N$, молекулярный вес 169,22. Нормальный окислительный потенциал $\epsilon = +0,76$ в. Окисленная форма — фиолетовая, восстановленная — бесцветная.

Дифениламин — белые мелкие кристаллы со слабым характерным запахом, легко растворимые в спирте и эфире, нерастворимые в воде на холоду. При хранении окраска препарата изменяется до сероватой. 0,085 г препарата растворяют в 100 мл серной кислоты х. ч. с удельным весом 1,84 при энергичном перемешивании. Серная кислота не должна содержать окислителей, придающих раствору дифениламина синюю окраску. Допустимо лишь слабо-голубое окрашивание.

Хромат калия (калий хромовокислый), K_2CrO_4 , молекулярный вес 194,20.

Это мелкие кристаллы золотисто-желтого цвета.

При титровании нитратом серебра в качестве индикатора применяют 10%-ный водный раствор хромата калия или насыщенный на холоду раствор.

Железо-аммонийные квасцы, $(NH_4)_2SO_4 \cdot Fe_2(SO_4)_3 \cdot 24H_2O$, молекулярный вес 964,39.

К 42 г квасцов, хорошо растертых в ступке, прибавляют

3—5 мл концентрированной азотной кислоты и растворяют их в 100 мл холодной воды. Если нужно, раствор фильтруют.

Дифенилкарбазон, $C_{13}H_{12}ON_4$, молекулярный вес 240,26.

Оранжево-красный кристаллический порошок. Нерастворим в воде; растворим в спирте, хлороформе и бензоле.

1 г дифенилкарбазона растворяют в 100 мл 95° этилового спирта. Раствор хранят в темной склянке. Годен в течение 2—3 недель.

Нитропруссид натрия (мононитрозопентацианоферриат натрия), $Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$, молекулярный вес 297,95.

Применяется в меркуриметрии.

Нитропруссид натрия — кристаллическое вещество темно-гранатового цвета, хорошо растворяется в холодной воде. С солями двухвалентной ртути образует малорастворимый нитропруссид ртути (II). Конец титрования определяют по появлению мути. Применяют 10%-ный водный раствор.

Ализариновый красный S (ализарин S; ализарин-сульфонат натрия; 1,2-диоксидантрахинон-3-сульфо-кислота, натриевая соль), $C_{14}H_7O_7SNa \cdot H_2O$, молекулярный вес 360,27. Интервал перехода окраски: при рН 3,7—5,2 от желтой к фиолетовой, при рН 10—12 от фиолетовой к бледно-желтой.

Это оранжево-желтые иглы или желто-оранжевый порошок. Хорошо растворим в воде и спирте при нагревании. Водный раствор буровато-желтый. Аммиачный раствор фиолетового цвета.

Приготовление: 0,1 г индикатора растворяют в 100 мл воды.

Хромоген черный (специальный ET-00, эриохром черный T), $C_{20}H_{12}O_7N_3S$, молекулярный вес 438.

Применяют при установке титра раствора трилона Б по магнию или цинку.

Хромоген черный — порошок черного цвета.

Приготовление: 0,25 г индикатора тщательно растирают с 50 г нитрата калия х. ч. или хлорида натрия х. ч. Хранят в темной банке с вставленной в пробку палочкой-лопаточкой.

Для титрования берут щепотку смеси (0,1 г) до получения розового окрашивания. Смесь пригодна для употребления в течение 10—12 месяцев.

Кроме сухой смеси, пользуются растворами. 0,5 г хромогена черного и 4,5 г солянокислого гидросиламина растворяют в 100 мл этилового или метилового спирта.

Раствор пригоден не более 10—12 дней при хранении в склянке из темного стекла.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Хроматографический метод основан на неодинаковой адсорбируемости веществ, химически различных по своему составу или строению.

Процесс хроматографического разделения заключается в следующем. Раствор смеси нескольких компонентов пропускают через слой сорбента, помещенного в стеклянную колонку с отверстием в нижней конце. Отдельные компоненты раствора адсорбируются неодновременно, в результате на сорбенте образуется первичная хроматограмма, состоящая из перекрывающихся зон сорбированных компонентов.

В верхней части колонки находятся вещества, сильнее сорбируемые данным сорбентом, а в нижней части — наименее сорбируемые.

Первичную хроматограмму промывают чистым растворителем, первоначально образованные зоны постепенно перемещаются вниз, разделяясь на ряд четких полос, соответствующих компонентам исходной смеси. Полученную хроматограмму называют промытой хроматограммой.

Промытые зоны хроматограммы для их выявления обрабатывают соответствующим реагентом путем пропускания его через слой сорбента. Этот процесс, называемый проявлением хроматограммы, дает возможность обнаруживать неокрашенные вещества.

Таким образом, путем различных комбинаций сорбентов и растворителей можно разделять смеси близких по свойствам веществ, которые с большим трудом могут быть разделены другими методами.

В настоящее время хроматографический метод подразделяется на следующие виды хроматографии в зависимости от того, какой процесс лежит в основе разделения веществ: адсорбционная (молекулярная) хроматография, ионообменная, распределительная, осадочная (химическая), тонкослойная и газовая хроматография.

Адсорбционная (молекулярная) хроматография использует явление избирательной молекулярной адсорбции, неодинаковой для различных веществ.

К молекулярным хроматограммам относится большинство хроматограмм органических соединений из неводных растворов.

Ионообменная хроматография основана на явлении обмена между ионами, находящимися в растворе, и ионами, адсорбированными твердым адсорбентом, как, например, обмен ионов натрия на ионы кальция (чем пользуются для умягчения воды). Ионный обмен подчиняется закону химических эквивалентов и закону действия масс. Реакция ионного обмена обратима.

Хроматограммы при ионообменной хроматографии образуются вследствие разной способности к обмену различных ионов хроматографируемого раствора.

В ионообменной хроматографии наблюдаются многократные повторения актов ионного обмена. В зависимости от того, происходит ли обменная сорбция положительно заряженных ионов (катионов) или отрицательно заряженных ионов (анионов),

ионообменники (иониты) делят соответственно на катиониты и аниониты. Иониты с подвижными ионами водорода принято называть катионитами, а иониты с подвижными ионами гидроксила — анионитами.

Химические реакции, происходящие при ионном обмене, можно определить следующими уравнениями:

Катионообменный цикл:



Анионообменный цикл:



где R — остаток, образующий вместе с ионогенной группой элементарную ячейку ионита;

An^{-} — неподвижный анион, связанный с твердым сорбентом;

kt^{+} — неподвижный катион, связанный с твердым сорбентом.

Основные вопросы, которые решаются при помощи ионообменной хроматографии, заключаются в разделении сложных смесей и поглощении отдельных компонентов их.

Вещества, употребляемые в качестве ионообменных сорбентов, могут быть как неорганическими, так и органическими.

Наиболее часто в качестве неорганических сорбентов применяют окись алюминия, карбонат кальция, окись магния, силикагель, пермутит, активированный уголь и др. В качестве органических сорбентов употребляют целлюлозу, крахмал и большую группу синтетических ионитов.

В настоящее время синтезируются иониты, обладающие как кислотными, так и основными свойствами.

Различают четыре группы ионитов:

1) сильнокислотные катиониты, содержащие сульфокислотные, фосфорнокислотные группы — это катиониты КУ-1, КУ-2, СДВ и др.;

2) слабокислотные катиониты, содержащие карбоксильные, фенольные и другие группы — КБ-2, КБ-4 и др.;

3) сильноосновные аниониты, содержащие четвертичные аммонийные или пиридиниевые группировки — это аниониты АВ-17, АВ-18, АВ-19 и др.;

4) слабоосновные аниониты, содержащие первичные, вторичные или третичные аминогруппы — АН-23, АН-2ф и др.

В зависимости от приемов и целей ионообменную хроматографию делят на фронтальный анализ, вытеснительную хроматографию и элюэнтную хроматографию. При фронтальном анализе исследуемую смесь все время подают в верхнюю часть колонки и следят за появлением «фронтов» отдельных компонентов в вытекающем растворе. В этом методе разделение на фракции не достигается. По двум другим методам разделяемую смесь вначале адсорбируют в верхней части колонки, а затем

Элюируют соответствующим растворителем (элюэнтная хроматография) или раствором (вытеснительная хроматография).

Распределительная хроматография — метод разделения компонентов смеси, основанный на различии в распределении компонентов между двумя несмачивающимися жидкостями — жидкими фазами — подвижным и неподвижным растворителями.

Неподвижный растворитель удерживается носителем, подвижный передвигается вдоль носителя. При движении подвижного растворителя через участок колонки со смесью разделяемых веществ происходит распределение компонентов между подвижным и неподвижным растворителями.

Распределительные хроматограммы получают либо в колонках, либо на бумаге.

Использование в качестве пористого материала фильтровальной бумаги сделало ненужным приготовление инертного носителя и дало возможность уменьшить объемы исследуемых веществ.

Фильтровальная бумага (носитель) удерживает в порах молекулы воды (неподвижный растворитель), сорбируя их из воздуха. При соприкосновении подвижного растворителя с участком бумаги, содержащим анализируемую смесь, происходит разделение компонентов вследствие различия в них коэффициентов распределения между подвижным и неподвижными растворителями.

В бумажной хроматографии наиболее характерной величиной является коэффициент R_f :

$$R_f = \frac{X}{X_f},$$

где X — величина смещения зоны (путь, пройденный компонентом);

X_f — смещение фронта растворителя (путь, пройденный подвижным растворителем).

Коэффициент R_f характеризует скорость перемещения компонента по бумаге и не зависит от присутствия посторонних компонентов и концентрации определяемого вещества, а зависит только от его природы и определяется коэффициентом распределения и параметрами бумаги.

Коэффициенты R_f разделяемых компонентов должны быть не очень большими и не очень малыми. При больших величинах R_f вещества не успевают разделиться, при малых — процесс разделения происходит слишком медленно.

В настоящее время существуют следующие виды и способы получения распределительных хроматограмм на бумаге: одномерные и двумерные (восходящие и нисходящие), круговые и электрофоретические.

Все эти виды и способы получения распределительных хроматограмм на бумаге имеют свои достоинства и недостатки и

применяются в зависимости от поставленных задач и характера исследуемого объекта.

Простейшим примером для получения восходящей хроматограммы является стеклянная камера (цилиндр) с корковой пробкой, к которой булавкой прикрепляется полоска бумаги. Графитовым карандашом на расстоянии 3—4 см от края отмечают начальную точку развития хроматограммы, на которую затем капилляром наносят каплю исследуемого раствора объемом 0,001—0,005 мл. Бумажную полоску закрепляют на пробке и осторожно погружают в камеру, на дно которой наливают подвижный растворитель, предварительно насыщенный неподвижным растворителем. Камеру герметично закрывают пробкой и оставляют стоять до тех пор, пока растворитель не достигнет нужной высоты. Полоску бумаги вынимают, отмечают карандашом фронт растворителя, подсушивают и проявляют хроматограмму соответствующим реагентом.

Распределительная хроматография впервые была с успехом применена Мартином и Синджем (1941). Позже Кондсен, Гордон, Мартин (1944) разработали метод распределительной хроматографии на бумаге.

Распределительная хроматография на бумаге стала одним из важнейших методов химического анализа, который широко применяется в практике.

Осадочная (химическая) хроматография основана на неодинаковой растворимости в данном растворителе образующихся осадков. Раствор смеси веществ в растворителе пропускают через носитель, предварительно пропитанный осадителем, а затем проявляют хроматограмму соответствующим растворителем.

При этом отдельные компоненты смеси осаждаются в порядке, соответствующем величине их различной растворимости.

Осадочные хроматограммы могут быть получены как в колонках, так и на бумаге.

Основными факторами осадочно-хроматографического разделения служат процессы образования осадков и закрепление (фиксация) их в месте образования.

Процесс образования осадков является причиной формирования осадочных хроматограмм и определяет разделение веществ в порядке увеличения растворимости выделяющихся осадков. Растворимость осадков выступает как основной закон осадочной хроматографии.

Расположение осадков сверху вниз по колонке или на бумаге от центра хроматограммы к периферии определяется отношением произведений растворимости осадков (или произведений активностей ионов).

Осадочная хроматография в колонках. Первичной принято называть хроматограмму, полученную непо-

средственно после пропускания раствора через колонку. Для этого в колонку, содержащую смесь носителя и осадителя, вносят исследуемый раствор в определенном объеме.

Для наилучшего разделения осадков в колонке первичную хроматограмму следует промыть чистым растворителем, пропускаемая его через колонку.

В случае бесцветной осадочной хроматограммы или содержащей осадки, имеющие нехарактерные окраски, хроматограмму проявляют, обрабатывая ее соответствующим реагентом.

Осадочная хроматография на бумаге. Первичную осадочную хроматограмму получают нанесением нескольких капель исследуемого раствора на бумагу, предварительно пропитанную осадителем и высушенную на воздухе.

По мере впитывания раствора образуется хроматограмма, осадки в которой размещаются в виде колец, располагающихся от центра к периферии, в порядке увеличения их растворимости. Полученную первичную хроматограмму промывают и, если нужно, проявляют реагентом-проявителем.

Осадочная хроматография особенно пригодна для проведения качественного анализа смеси различных веществ. Качественный анализ смеси веществ может быть осуществлен при помощи ряда приемов:

1) определение проводят при помощи цветных реакций с осадителем. По специфической окраске, свойственной данному соединению, судят о наличии в растворе тех или иных веществ;

2) определение проводят при помощи проявителей. В результате проявления образуется ряд окрашенных зон, по специфической окраске которых можно предполагать наличие в исследуемом растворе тех или иных веществ.

Анализ бесцветных осадочных хроматограмм можно провести в ультрафиолетовом свете, если образующиеся в хроматограмме осадки флуоресцируют. Можно также добавить к носителю люминофоры в количестве 2—3% от массы смеси в колонке.

Осадочная хроматография высокочувствительна, вследствие чего ее можно применять для определения микропримесей веществ в различных объектах.

В последнее время осадочную хроматографию применяют не только для качественного и количественного определения веществ, но и для разделения и выделения веществ, концентрирования растворов и т. д.

Широкому использованию осадочной хроматографии способствует доступность и простота эксперимента без применения дорогостоящей сложной аппаратуры, незначительный расход реактивов и достаточно точное определение.

Многие из описанных в капельном анализе капиллярционные хроматограммы можно отнести к осадочным хроматограммам.

Тонкослойная хроматография. Широкое распространение получил метод тонкослойной хроматографии — разделение веществ в тонком слое адсорбента, нанесенного на стекло.

Преимущества тонкослойной хроматографии: быстрота прохождения растворителя, возможность проявления хроматограммы реактивами, разрушающими бумагу, значительно большая чувствительность, чем на бумаге.

В настоящее время при разделении веществ в тонком слое сорбента применяют не только адсорбционную, но и распределительную и ионообменную хроматографию.

Простота, эффективность и универсальность хроматографического анализа обусловили широкое применение хроматографии в неорганической и органической химии, биохимии, медицине, физике и во многих других отраслях науки и техники.

Хроматографический метод применяют для:

1) разделения сложных смесей органических (алкалоидов, витаминов, аминокислот, пептидов, нуклеиновых кислот и др.) и неорганических соединений на компоненты, разделения растительных и животных пигментов, изотопов, редкоземельных элементов и т. п.;

2) определения остатков пестицидов в растительных и животных продуктах;

3) очистки веществ от примесей;

4) выделения из сложных смесей индивидуальных веществ: витаминов, гормонов, антибиотиков, канцерогенных веществ и т. д.;

5) концентрирования веществ из сильно разбавленных растворов;

6) определения идентичности веществ;

7) анализа неорганических и органических соединений;

8) исследованием молекулярной структуры некоторых соединений установлением определенной связи между сорбируемостью и строением данного вещества.

Тонкослойная хроматография имеет значительные преимущества перед бумажной хроматографией. С ее помощью можно быстрее разделить вещества (вместо десятков часов в бумажной хроматографии требуется десятки минут в тонкослойной хроматографии), слой более устойчив по отношению к агрессивным проявителям и нагреванию, метод значительно чувствительнее, чем на бумаге, и позволяет обнаруживать ничтожно малые количества веществ (порядка от 0,1 до 0,005 мкг).

Метод тонкослойной хроматографии заключается в следующем: на одну сторону небольшой стеклянной пластинки наносят сорбент тонким слоем. На него, так же как на бумагу в бумажной хроматографии, наносят пробы вещества на стартовую линию и край пластинки, ниже стартовой линии, погружают в систему растворителей. По мере продвижения жидкости по пластинке происходит разделение смеси веществ. Линию фронта

(граница подъема жидкости) отмечают, пластинку сушат и про-являют для обнаружения веществ в виде окрашенных пятен. Отмечают положение пятен, отвечающих исследуемым веществам и находящейся между линией старта и линией фронта жидкости. Отношение расстояния от стартовой точки до центра пятна к расстоянию от стартовой линии до линии фронта обозначают через константу R_f , характеризующую положение вещества на данной хроматограмме. Величина R_f характерна для данного соединения в условиях проведения опыта и почти не зависит от температуры.

Для надежности идентификации веществ при определении R_f часто применяют метчики («свидетель»). На пластинке вместе с разделяемой смесью веществ хроматографируют известное вещество («свидетель»), а положение пятен на хроматограмме выражают в виде отношения значения R_f исследуемого вещества к значению R_f «свидетеля» (R_s):

$$R_s = \frac{R_f}{R_f} \text{ («свидетеля»)}.$$

Тонкослойную хроматографию с успехом применяют для разделения и анализа самых разнообразных как неорганических, так и органических соединений: алкалоидов, терпенов, углеводов, аминокислот и пептидов, нуклеиновых оснований, стероидов, витаминов, антибиотиков, антиоксидантов, пестицидов и др.

КАПЕЛЬНЫЙ И ДРОБНЫЙ АНАЛИЗ

Капельный анализ. При капельном анализе одну каплю реактива прибавляют к капле испытуемого раствора для получения окрашенного пятна, указывающего на присутствие искомого элемента. Пользуясь этим методом, открывают искомый ион в присутствии других сопутствующих ему ионов, не выделяя его предварительно из раствора. Это возможно при наступившем пространственном разделении ионов, вследствие чего одни ионы располагаются в центре пятна, другие на периферии или в промежуточных зонах. При этом исключаются операции выделения осадков, фильтрования и промывания, применяющиеся в классическом анализе.

Разделение ионов обуславливает возможность их дробного открытия в различных частях поверхности одного и того же куска бумаги.

Открытие каждого иона капельным методом занимает 1—2 минуты. Реакции, проводимые капельным методом на бумаге, характерны, отчетливы и более чувствительны, чем пробирочные. Кроме того, на проведение анализа затрачивается значительно меньше времени, чем при пробирочном анализе, расходуется мало реактивов, а применяемые приборы просты. В капельном анализе исключается применение сероводорода.

В капельном анализе применяют три варианта взаимодействия реагента и исследуемого раствора:

1) капли исследуемого раствора и реагента наносят на бумагу или фарфоровую пластинку и наблюдают их взаимодействие; 2) бумагу предварительно пропитывают соответствующим реагентом и наносят капли испытуемого раствора; 3) капли реагента наносят непосредственно на поверхность исследуемого образца (бесстружковый метод Н. А. Тананаева) и наблюдают результаты взаимодействия.

Многие капельные реакции являются топохимическими, т. е. протекают на поверхности или в ограниченной зоне реагирующих веществ. Обычные же реакции протекают во всем объеме. В методе капельного анализа широко используют капиллярные и поверхностные явления в пористых телах, поэтому он при-мыкает к хроматографическому анализу.

При нанесении на поверхность бумаги капли раствора какого-либо окрашенного вещества центр получающегося пятна окрашивается, а периферия остается бесцветной. Это объясняется сорбцией растворенного вещества на стенках капилляров в толще бумаги. Чем сильнее удерживается вещество, тем меньше диаметр окрашенного пятна по сравнению с диаметром всего пятна. Это свидетельствует об отставании движения фронта частиц окрашенного вещества от движения фронта частиц растворителя (воды). То же наблюдается при нанесении на поверхность бумаги капель, содержащих взвесь какого-либо осадка или капель коллоидно растворенных веществ. При нанесении на фильтровальную бумагу капли раствора, содержащего несколько окрашенных веществ, образуется пятно с несколькими различно окрашенными концентрическими зонами, по периферии окруженные зоной чистого растворителя. Это объясняется различной избирательной сорбцией растворенных веществ бумагой. Труднорастворимые осадки, частично впитываясь в поверхность бумаги, сразу же отфильтровываются, задерживаясь в центре пятна, а фильтрат диффундирует к периферии.

По новейшим исследованиям фильтровальная бумага не является совершенно инертной по отношению к реагентам. При выделке бумаги в составе вещества бумаги образуются карбоксильные группы ($-\text{COOH}$), которые обуславливают отрицательные заряды волокон бумаги и некоторую способность к обмену ионов водорода карбоксильной группы на катионы различных металлов.

Существенным преимуществом проведения капельных реакций на фильтровальной бумаге является возможность обогащения центра пятна продуктами реакции вследствие избирательного их поглощения бумагой. В этих условиях продукты реакции легче заметить, чем в пробирочном опыте, потому что они собраны на меньшей поверхности и пространственно разделены.

Применение капельного метода повышает чувствительность многих качественных реакций, что видно из следующих примеров: в пробирочном опыте ион трехвалентного железа можно открыть при действии железистосинеродистого калия при предельном разбавлении 1:400 000, а в капельном анализе — при разбавлении 1:700 000; реакция диметилглиоксима с ионом никеля в пробирочном опыте заметна при предельной концентрации 1:700 000, а при капельном анализе — 1:3 300 000.

Дробный анализ — это метод химического анализа, позволяющий открытие каждого иона проводить в присутствии других ионов.

В отличие от капельного анализа дробный анализ проводят в пробирках в небольшом объеме растворов — от 0,5 до 3,0 мл. Преимущество дробного анализа заключается в том, что при исследовании не нужно выпаривать жидкости, прокаливать вещества и применять сероводород. Кроме того, на выполнение анализа нужно всего 5—10 минут. Особенно удобен дробный анализ тогда, когда нужно открыть несколько (не более 5) различных ионов в их смеси. Дробными реакциями можно отделить какой-либо ион от всех других ионов, находящихся вместе с ним в растворе. Дробные реакции позволяют проводить полуколичественные определения по объему выделившегося осадка или по интенсивности окраски раствора.

Открытие каждого иона проводят в два приема: сначала подходящей реакцией осаждают все мешающие ионы и фильтруют, после чего исследуют фильтрат на присутствие искомого иона, применяя характерную реакцию. На открытие одного иона требуется не больше одного фильтрования.

Метод дробного анализа Н. А. Тананаева отвечает развитию в аналитической химии способов открытия и определения присутствующих элементов без предварительного их разделения, т. е. разработке способов экспресс-анализа.

МЕТОДЫ ЭКСТРАКЦИИ И ОЧИСТКИ ПЕСТИЦИДОВ

Перед определением в растительном или животном материале остаточных количеств пестицидов прежде всего их нужно изолировать из этого материала с помощью экстракции органическими растворителями. При этом из растительного или животного субстрата не должно извлекаться большое количество других, интерферирующих веществ.

Многие из современных методов анализа пестицидов основаны на реакциях образования окрашенных продуктов. Экстракты из тканей растительного и животного происхождения могут препятствовать реакции пестицида с реагентом или давать с ним окрашенные продукты (желтого или коричневого цвета).

Для получения удовлетворительных результатов большую часть таких мешающих анализу веществ нужно удалить.

Выбранные растворители иногда можно применить без больших изменений к самым различным субстратам.

ЭКСТРАКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ

Прежде чем приступить к анализу, следует тщательно подобрать растворитель. Например, пробы, предназначенные для анализа на гексахлоран по методу Шехтера и Хорнштейна, не следует экстрагировать бензолом, поскольку он и является тем веществом, которое определяется в конечной стадии анализа. Когда пользуются методом анализа, основанным на реакции Фудживара, нельзя применять для экстракции хлороформ, так как он дает реакцию Фудживара.

В анализе, в основу которого положено определение общего содержания органически связанного хлора, нельзя использовать растворители, являющиеся хлорорганическими соединениями.

Растворители перед употреблением рекомендуется очистить перегонкой.

Экстракция встряхиванием с растворителем. Этот метод можно применить для обнаружения пестицидов на переработанных фруктах и овощах, когда остатки препарата не поглощены растительной тканью, а находятся на поверхности ее.

Для этого фрукты или овощи нарезают кусочками размером 2,5 см², помещают в экстрактор с растворителем, взятым в равном объеме или вдвое превышающем взятую пробу. Смесь встряхивают или вращают, чтобы растворитель и материал соприкасались друг с другом. Время экстракции около 30 минут. Полученный экстракт для освобождения от воды фильтруют через бумагу или безводный сульфат натрия. При этом обращают внимание, чтобы высушивающий материал не поглощал самого пестицида.

Экстракция гомогенизацией с одним или несколькими растворителями. Пестициды лучше извлекать гомогенизацией субстрата с растворителями, особенно если применять два растворителя.

К 1 части материала добавляют 2 части бензола и 4 части спирта (изопропилового или этилового). Смесь гомогенизируют 4—5 минут, переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют. Затем жидкость сливают в делительные воронки емкостью в 1 л. В одну воронку наливают 300—400 мл надосадочной жидкости, 100 мл насыщенного раствора хлорида натрия (для разрушения эмульсии) и до 1 л доливают водой. Воронку встряхивают, ждут, когда отделится бензольный слой, а воду сливают. Бензольный экстракт промывают водой и сушат небольшими количествами безводного сульфата натрия.

Экстракция органическими хлорсодержащими растворителями. Для некоторых фосфорорганических пестицидов, как, например, метилмеркаптофос, М-74 и фонат, лучшим растворителем считается хлороформ. Применяя его, можно из растительных тканей извлечь и продукты метаболизма пестицида. Для этого растительный материал смешивают со свежеперегранным хлороформом (2—4 части хлороформа на 1 часть пробы) и смесь центрифугируют. Воду, находящуюся сверху, осторожно сливают, а хлороформный экстракт сушат, пропуская через бумажный фильтр.

Экстракцию пестицидов из жиров и масел проводить довольно трудно. Лучше в этом случае применять ацетонитрил. Масло смешивают с ацетонитрилом в гомогенизаторе, полученную смесь центрифугируют, отделяют слой ацетонитрила, а слой масла опять помещают в гомогенизатор для повторной экстракции. Так повторяют 3 раза. Наилучшее соотношение: 2 части ацетонитрила и 1 часть масла.

Из говяжьего жира пестициды экстрагируют так же, но ацетонитрил отделяют от жира фильтрованием через складчатый фильтр. Хорошие результаты можно получить при извлечении пестицида из жира двумя растворителями, например гексаном и ацетонитрилом.

Если в лаборатории нет данных о стабильности технического пестицида в растворе, то полученные экстракты следует как можно быстрее подвергать анализу.

МЕТОДЫ ОЧИСТКИ ЭКСТРАКТОВ

Способ и степень очистки материала, подлежащего исследованию, часто зависят от того, каким методом будет проведен анализ экстракта. Очистка должна быть особенно тщательной, если для анализа экстракта будет применен способ, при котором любое постороннее вещество будет мешать определению.

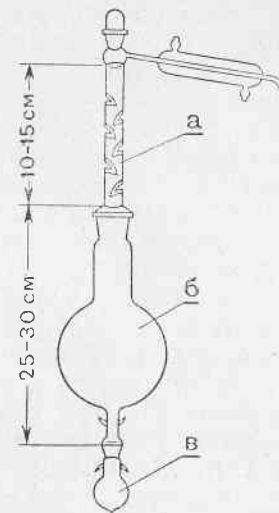
Например, при определении гербицида 2,4-Д в заключительной стадии применяют раствор хромотроповой кислоты в горячей серной кислоте для получения цветной реакции. Несомненно, что в этом случае очистка экстрактов должна быть самой тщательной.

При оценке какого-либо способа очистки следует учитывать, что должно быть извлечено 75—80% определяемого пестицида.

Концентрация извлеченного из растительного или животного субстрата пестицида, как правило, небольшая, поэтому полученный экстракт необходимо предварительно сконцентрировать, удалив растворитель выпариванием. Выпаривание проводят либо пропусканием струи теплого воздуха над пробой, либо пропусканием профильтрованного сухого воздуха или азота над пробой, нагреваемой на водяной бане. Температура бани не должна превышать 50°, а в некоторых случаях должна быть

Рис. 1. Выпариватель-концентратор:

а — слotted дефлегматор на шлифах, верхний шлиф имеет внутренний диаметр 14,5 мм; нижний шлиф — 20 мм; б — круглодонная или коническая колба с керном, припаянным ко дну (внутренний диаметр керна 14,5 мм); в — грушевидная колба на 25 мл с нормальным шлифом, имеющим внутренний диаметр 14,5 мм.



ниже. Следы растворителя лучше удалять током воздуха при комнатной температуре.

Для выпаривания экстрактов, содержащих пестициды, можно применять выпариватель Кудерна—Даниша (рис. 1).

Если пестициды чувствительны к нагреванию, экстракты выпаривают под вакуумом. В испарителе Ринко экстракты наносят тонкой пленкой на большую вращающуюся поверхность и одновременно воздействуют вакуумом.

В основе очистки экстрактов лежит принцип распределения их между двумя несмешивающимися растворителями. Нужно, чтобы пестицид частично растворялся в обоих растворителях, а величина коэффициента распределения была больше единицы. Перешедший в экстракт биологический материал должен иметь коэффициент распределения меньше единицы. Необходимо, чтобы оба растворителя не растворяли друг друга, имели низкие температуры кипения, различались по плотности, при смешивании образовывали два слоя.

Например, пестициды из растительной ткани экстрагируют n-гексаном, а затем раствор пестицида в гексане обрабатывают ацетонитрилом. При этом пестициды переходят из гексана в ацетонитрил, тогда как большая часть жиров, восков и пигментов остается в слое гексана. Слой ацетонитрила переносят в новую делительную воронку, добавляют воду и гексан и встряхивают, при этом пестициды переходят в гексан. Слой воды и ацетонитрила отбрасывают, а гексан сушат и подвергают анализу.

Для отделения пестицидов от жиров в качестве растворителя применяют холодный ацетон. Экстракт пробы выпаривают и остаток растворяют в небольшом количестве ацетона. Затем раствор охлаждают. Жиры и воски выпадают в осадок, не увлекая с собой пестицида. Осажденные вещества отфильтровывают, пестицид остается в фильтрате ацетона.

В некоторых случаях очистку пестицида осуществляют перегонкой с водяным паром самого пестицида (например, гексахлоргексана) или продуктов его гидролиза. Это очень хороший способ очистки, им можно пользоваться для изолирования пестицида или продукта его гидролиза из большого количества

растительной или животной ткани, благодаря чему достигается повышение чувствительности метода анализа.

Хроматографические методы очистки экстрактов включают адсорбционную хроматографию, хроматографию на бумаге, ионообменную хроматографию с использованием ионообменных смол, тонкослойную и газовую хроматографию.

Для очистки экстрактов используют многие адсорбенты, в том числе окись алюминия, флоризил (силикат алюминия), силикагель, окись магния и др. Можно применить также активированные угли. Однако адсорбционная способность их различна, поэтому, перед тем как начать анализ проб, необходимо получить ряд контрольных калибровочных данных и сведений о достигаемой степени извлечения пестицида.

Распределительная хроматография на бумаге применяется главным образом для разделения пестицидов, после того как экстракт уже очищен.

Применение ионообменной хроматографии ограничивается разделением и очисткой веществ, способных в растворах давать ионизированные соединения.

Катионообменная смола ДАУЭКС-50 была использована для адсорбции аминотриазола из водно-метанольного экстракта растительной ткани. Анионные смолы в некоторых случаях могут применяться для адсорбции кислотных гербицидов из водных экстрактов растительных тканей. Однако количественное выделение таких веществ, как 2,4-Д, из анионных смол затруднительно.

Тонкослойная хроматография. За последние годы метод тонкослойной хроматографии вследствие быстрого разделения, возможности применения агрессивных проявителей и нагревания, большей чувствительности, чем на бумаге, нашел широкое применение и является одним из наиболее эффективнейших способов очистки и разделения многокомпонентных смесей веществ.

Благодаря высокой способности разделения этот метод позволяет использовать для анализа неочищенные экстракты из растительных и животных тканей.

М. А. Клисенко получила удовлетворительные результаты при определении севина и некоторых фосфорорганических соединений при нанесении неочищенных экстрактов из растительных и животных субстратов на пластинку и дальнейшем хроматографировании.

В. В. Петровский при определении севина в молоке также пользовался неочищенным эфирным экстрактом при хроматографировании в тонком слое.

В. Т. Голубев с сотрудниками методом тонкослойной хроматографии проводил очистку и отделение от примесей экстрактов ДДТ, гептахлора и линдана. Измельченный материал экстрагировали петролевым эфиром, экстракт сгущали, наносили на

трапецевидную пластинку со слоем сорбента и хроматографировали. Слой сорбента, содержащий пестицид, собирали и элюировали н-гексаном, сгущали до 0,5 мл, наносили на прямоугольную пластинку со слоем силикагеля и затем хроматографировали.

Газовую хроматографию за последние годы стали применять для разделения, идентификации и определения пестицидов. Разработана аппаратура, при помощи которой можно разделить экстракты растений и определить в них содержание хлорированных и серосодержащих пестицидов.

Метод разделения состоит в том, что экстракт пропускают через газовый хроматограф и на выходе потока газов из прибора вымораживают или поглощают пестицид. Затем его идентифицируют по инфракрасному спектру, а также химическим или биологическим путем.

Для большинства газохроматографических методов рекомендуется очищать экстракты до хроматографирования. Предварительная очистка обеспечивает лучшее разделение вещества и увеличивает срок службы колонки.

РЕАКТИВЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ, И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К НИМ

При проведении химико-токсикологического анализа нужно следить за тем, чтобы в исследуемый материал случайно не попали ядовитые или сильнодействующие вещества, обнаружить которые должен эксперт-химик в пробе.

На результат исследования могут влиять примеси, которые иногда содержатся в реактивах, химической посуде, приборах и аппаратах, применяемых в процессе исследования. Это надо учитывать.

Выпускаемые промышленностью химические реактивы содержат те или иные примеси в различных количествах в зависимости от квалификации. Выпускают реактивы следующих квалификаций: чистый (ч.), чистый для анализа (ч. д. а.) и химически чистый (х. ч.). Однако даже наиболее чистые реактивы квалификации химически чистый могут содержать мышьяк и свинец в таких количествах, которые могут повлиять на результат химико-токсикологического анализа. Поэтому в химико-токсикологическом анализе следует применять реактивы квалификации для судебно-химических целей. Химик-токсиколог обязан лично проверить чистоту применяемых реактивов и в ряде случаев подвергнуть их очистке, а иногда даже получить реактив нужной ему степени чистоты.

Под судебно-химически чистыми реактивами понимают реактивы, не содержащие в качестве примесей тех веществ и

в таких количествах, которые эксперт будет определять с их помощью в исследуемом материале.

Исключить возможность внесения тех или иных химических веществ в объект исследования иногда можно постановкой так называемого слепого опыта. Это такой опыт, когда параллельно химико-токсикологическому исследованию материала исследуют все реактивы, применяемые в анализе, при тех же условиях, теми же способами и в тех же количествах, что и химико-токсикологическое исследование. Разница между слепым опытом и химико-токсикологическим исследованием заключается только в том, что в одном реактивы добавляют к исследуемому материалу, а в другом все химические операции проводят только с реактивами.

Наиболее важные для анализа реактивы (соли, кислоты, металлический цинк и др.) исследуют на чистоту при получении новых партий их. Дистиллированная вода, соляная кислота, щелочи при хранении могут загрязняться, например, соединениями мышьяка, извлекаемыми из стекла, поэтому их нужно проверять и во время хранения (периодически).

Все реактивы, используемые в химико-токсикологическом анализе, можно подразделить на растворители, кислоты, щелочи, соли и металлы.

Кислоты. При химико-токсикологических исследованиях наиболее часто применяют серную, азотную, соляную, виннокаменную, уксусную и щавелевую кислоты. К ним можно отнести также раствор сероводорода в воде, к чистоте которого предъявляются особо высокие требования.

Серная кислота. В качестве загрязнений серная кислота может содержать мышьяк, селен, свинец, азотную и азотистую кислоты. Очистить ее в лабораторных условиях очень трудно. Для судебно-химических целей можно применять серную кислоту, полученную контактным способом.

Испытание на мышьяк. 20 мл разведенной кислоты (8 объемов воды на 1 объем кислоты) помещают в колбочку прибора для определения мышьяка, прибавляют 2—3 г цинка (без мышьяка) и производят определение (см. стр. 66).

Испытание на свинец. При смешивании серной кислоты с винным спиртом (1:3) выпадает осадок или появляется муть сульфата свинца (наблюдается после суточного стояния). При насыщении сильно разбавленной серной кислоты сероводородом в присутствии свинца образуется потемнение или выпадает осадок сернистого свинца.

Испытание на селен. Продажная серная кислота может содержать селен, который мешает обнаружению мышьяка. Отсутствие селена устанавливают следующим образом:

1) на фильтровальную бумагу помещают немного порошкообразной тиомочевины и смачивают ее испытуемой разбавленной кислотой, не должно быть оранжево-красного окрашивания;

2) фильтровальную бумагу пропитывают 10%-ным раствором аскорбиновой кислоты и высушивают; при нанесении на такую бумагу капли разбавленной кислоты не должно появляться оранжево-красного пятна (А. В. Николаев).

Испытание на окислы азота (азотную и азотистую кислоты). Концентрированную серную кислоту (1—2 капли) смешивают в фарфоровой лунке с дистиллированной водой (1—2 капли) и сюда же стеклянной палочкой вносят 1—2 капли раствора нескольких кристаллов дифениламина в концентрированной серной кислоте, не содержащей окислов азота — посинения испытуемой жидкости не должно наблюдаться.

Азотная кислота может содержать примеси тяжелых металлов, свинец, мышьяк, соляную и серную кислоты.

Испытание. Азотную кислоту (50 мл) выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане. Остаток нагревают на огне в небольшом количестве серной кислоты до появления паров серной кислоты и разбавляют водой. Полученный раствор проверяют реакцией с дифениламином на отсутствие окислов азота и одну часть испытывают на мышьяк (см. стр. 66), а другую насыщают сероводородом: раствор не должен темнеть или давать осадок сульфидов металлов.

Соляная кислота. В зависимости от способа получения соляная кислота может содержать мышьяк, соли тяжелых металлов (ртути, свинца, железа), свободный хлор, ионы серной и сернистой кислоты.

Испытание на свободный хлор. 1. 10 мл соляной кислоты, разведенной 1:1 свежепрокипяченной и охлажденной водой, смешивают с 1 мл раствора йодида калия и 1 мл хлороформа — после взбалтывания и разделения слоев не должно наблюдаться порозовения или окрашивания в фиолетовый цвет слоя хлороформа, находящегося на дне сосуда.

2. 10 мл кислоты, разведенной водой 1:1, смешивают с 10%-ным раствором йодида калия (не должен содержать примесь йодата калия) и разведенным крахмальным клейстером — раствор не должен окрашиваться в синий цвет.

Испытание на мышьяк. Соляную кислоту разбавляют водой 1:3 и определяют мышьяк по Зангер — Блеку (см. стр. 66) (вместо серной кислоты берут соляную). Если соляная кислота содержит мышьяк, ее очищают фильтрованием через активированный уголь. Для этого берут стеклянную трубку длиной 60—70 см и диаметром 3—4 см с оттянутым одним концом. В него закладывают стеклянную вату (чтобы не сыпался активированный уголь), насыпают в трубку мелко истолченный активированный уголь и фильтруют через него 500 мл концентрированной соляной кислоты. После фильтрации соляную кислоту проверяют на мышьяк.

Испытание на ртуть. 100—150 мл концентрированной соляной кислоты смешивают с таким же количеством дистиллированной

воды. В полученную смесь опускают 8 спиралей из медной проволоки каждая длиной 10 см и диаметром 0,2 мм. Через 72 часа спирали вынимают, последовательно промывают водой, этиловым спиртом и этиловым эфиром. Затем их помещают в специальные пробирки с дважды сублимированным йодом и возгоняют. Этой обработке спирали подвергают независимо от того, произошло или не произошло изменение их цвета (см. стр. 54).

Соляная кислота не должна содержать мышьяка и ртути, если она применяется для химико-токсикологических исследований. Сероводород всегда загрязнен мышьяковистым водородом.

Очистка его основана на том, что сухой металлический йод не действует на сухой сероводород, но полностью разлагает мышьяковистый и сурьмянистый водород.

Сероводород промывают в двух склянках Тищенко с водой, сушат пропусканием через колонку с хлоридом кальция и пропускают через трубку (длина 40 см, диаметр 1 см), наполненную стеклянной ватой или асбестом, обсыпанным крупнорастертым йодом (несколько граммов) для очистки от мышьяковистого и сурьмянистого водорода. Пары йода удерживаются пробкой из стеклянной ваты, смоченной концентрированным раствором йодида калия. Затем сероводород снова пропускается через воду.

Соли. Из солей в химико-токсикологическом анализе применяют карбонаты натрия, аммония, калия; нитраты натрия, калия и аммония; хлорат калия (бертолетова соль), сульфит натрия и др.

Карбонаты натрия, аммония и калия. Особенно сильно на результат химико-токсикологического исследования влияют соединения мышьяка и солей тяжелых металлов, находящиеся в карбонатах.

Отсутствие мышьяка и металлов проверяют следующим образом: 10 г любой соли нагревают с разбавленной серной кислотой до начала выделения белых паров серного ангидрида. Остаток разбавляют водой и испытывают на мышьяк и металлы, как это делают при испытании кислот.

Нитраты натрия, калия и аммония применяют для изолирования соединений мышьяка, солей тяжелых металлов и органических объектов исследования. Поэтому соли должны быть свободными от этих примесей.

Нитраты испытывают на мышьяк и тяжелые металлы так же, как карбонаты, с той лишь разницей, что после обработки серной кислотой нагревание с повторным разбавлением водой продолжают до полного удаления окислов азота (проба с дифениламином).

Металлы. Металлический цинк. Продажный цинк, выпускаемый с пометкой «химически чистый», может содержать мышьяк, поэтому перед применением его нужно прове-

рить на содержание мышьяка. Для исследования берут 5 г цинка, помещают в колбочку прибора Зангер — Блека и проводят определение мышьяка, пользуясь серной кислотой, свободной от мышьяка (см. стр. 66).

Если цинк загрязнен, его можно очистить от мышьяка сплавлением с безводным хлористым магнием. Цинк плавят в тигельной печи № 1. К расплавленной массе прибавляют куски безводного хлористого магния при непрерывном помешивании. Куски хлористого магния прижимают стеклянной палочкой к дну тигля. На каждые 100 г цинка берут 20—30 г хлорида магния. Операция длится 2—3 часа, после чего цинк выливают тонкой струей в холодную воду и проверяют его на содержание мышьяка пробой Зангер — Блека. В зависимости от степени загрязнения цинка мышьяком очистку можно повторить.

Сущность способа заключается в обменной реакции между мышьяком и хлористым магнием:



Образующийся хлористый мышьяк, как летучее соединение, при нагревании испаряется. Металлический магний остается в цинке. Цинк, содержащий магний, очень легко реагирует с кислотами, так что обрабатывать цинк сульфатом меди с целью его активации не следует.

Щелочи — едкий натр, едкое кали, водный раствор аммиака, сода — часто употребляют при химико-токсикологических исследованиях.

Раствор аммиака. Особенно часто применяют 10%- и 25%-ные водные растворы аммиака для нейтрализации жидкости, полученной после минерализации органических веществ, для создания щелочной среды, осаждения гидратов оксидов металлов и многих других химических операций.

В зависимости от способа получения водный раствор аммиака может содержать мышьяк, тяжелые металлы, цианиды, роданиды, пиридин и его гомологи.

Испытание на мышьяк и тяжелые металлы. Водный раствор аммиака (100—50 мл) досуха выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане. Остаток смачивают водой, прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты, разбавляют водой 1:10 и испытывают: на мышьяк (см. стр. 66) и на тяжелые металлы насыщением сероводородом.

Для очистки продажного водного раствора аммиака от мышьяка берут 2,5%-ный раствор аммиака и 22%-ный раствор железоаммиачных квасцов, смешивают в равных объемах и взбалтывают. Образующийся осадок гидрата окиси железа отделяют и промывают холодной водой. Подлежащий очистке аммиак сильно и долго взбалтывают с осадком гидрата железа и через час фильтруют.

Испытание на пиридин. Аммиак (100 мл) повторно взбалтывают в делительной воронке с небольшими порциями хлороформа. Хлороформные вытяжки сливают вместе, фильтруют через сухой фильтр и хлороформ испаряют при комнатной температуре. Остаток растворяют в нескольких каплях подкисленной воды и испытывают реактивами на алкалоиды. Пиридин и его гомологи дают с реактивами на алкалоиды осадки.

Едкое кали и едкий натр могут содержать в качестве примесей мышьяк, тяжелые металлы и хлориды.

Испытание на мышьяк и тяжелые металлы. 10 г едкого натра растворяют в 20 мл дистиллированной воды, подкисляют разбавленной серной кислотой и разливают на две порции. Одну порцию испытывают на мышьяк (см. стр. 66), другую насыщают сероводородом и через сутки наблюдают появление осадка или потемнение, что укажет на присутствие тяжелых металлов.

Испытание на хлориды. Едкий натр всегда содержит хлориды, которые открываются нитратом серебра при подкислении азотной кислотой. Если нужна щелочь, не содержащая хлоридов, готовят алкоголят растворением металлического натрия в этиловом спирте и разлагают его водой.

Растворители. Дистиллированная вода, применяемая для химико-токсикологических исследований, должна удовлетворять следующим требованиям: иметь нейтральную реакцию на лакмус; не давать реакции на свинец, олово, медь, ртуть и другие соединения тяжелых металлов; не содержать примесей органических веществ и углекислоты при приготовлении титрованных растворов тиосульфата натрия, едкого натрия или калия.

Испытание дистиллированной воды на тяжелые металлы, хлориды и сульфаты. Воду в количестве 2 л выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане до 20 мл, затем разливают в два цилиндра с притертыми пробками, слабо подкисляют соляной кислотой и в одном цилиндре насыщают воду сероводородом. Через сутки сравнивают окраску жидкости в обоих цилиндрах: жидкость должна остаться прозрачной. Затем жидкость, насыщенную сероводородом, подщелачивают аммиаком, снова насыщают сероводородом и снова сравнивают. Прозрачность жидкости свидетельствует об отсутствии тяжелых металлов.

Жидкость в другом цилиндре испытывают на хлориды раствором нитрата серебра при подкислении азотной кислотой и на сульфаты раствором хлорида бария при подкислении соляной кислотой.

Этиловый эфир в качестве примеси может содержать перекиси, виниловый эфир и уксусный альдегид. Присутствующая в эфире перекись может служить причиной взрывов при перегонке эфира даже на слабо нагретой водяной бане.

Испытание на перекиси. 25—30 мл эфира взбалтывают в течение 1—2 минут с 1 мл 10%-ного свежеприготовленного раствора йодида калия. Слой эфира не должен окрашиваться в желтый цвет.

Для освобождения эфира от перекисных соединений его смешивают с подкисленным 10%-ным раствором сульфата закисного железа и оставляют стоять в течение 24 часов, после чего эфир подкисляют и перегоняют. Хранить эфир следует в термостате, лучше в склянках оранжевого стекла (во избежание образования перекисей), заполненных не больше чем на $\frac{3}{4}$ объема, беречь от огня.

Этиловый спирт в качестве примесей может содержать тяжелые металлы, хлориды, сульфаты, сивушные масла, альдегиды, дубильные вещества, органические (пиридиновые) основания, следы метилового спирта. Примесь дубильных веществ и органических оснований недопустима.

Испытание на дубильные вещества. К 10 мл этилового спирта добавляют небольшое количество 10%-ного раствора аммиака — окрашивания появляться не должно.

Испытание на пиридиновые основания. К 10 мл спирта прибавляют 2 капли разбавленной серной кислоты и выпаривают досуха на водяной бане. Остаток растворяют в нескольких каплях дистиллированной воды и к раствору добавляют 1 мл концентрированного раствора едкого натра — при легком нагревании не должно ощущаться запаха аммиака и пиридиновых оснований.

Обычно спирт содержит следы уксусного альдегида. Для очистки от альдегида к спирту прибавляют едкий натр; при стоянии альдегид осмоляется, а спирт затем отгоняют.

Для получения безводного спирта его смешивают с 25—50% негашеной извести (CaO). Спирт с известью кипятят (водяная баня) в течение 2 часов с обратным холодильником, снабженным хлоркальциевой трубкой, оставляют на сутки и отгоняют в приемник с хлоркальциевой трубкой.

Абсолютный спирт можно также получить настаиванием 95° спирта в течение 2—3 дней с обезвоженным медным купоросом. На 1 л 95° спирта берут сульфат меди, приготовленный обезвоживанием (500 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); после 2—3 дней стояния спирт фильтруют через сухой фильтр в сухую склянку с притертой пробкой и хранят.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Наиболее сложным разделом ветеринарного химико-токсикологического анализа является исследование материала, взятого от трупов животных для обнаружения в нем ядовитых веществ.

Ядовитыми называют (условно) такие вещества, которые, будучи введены в организм животного в малых количествах и действуя при определенных условиях, вызывают развитие патологического процесса, иногда обуславливающего гибель животного.

Очень часто одни и те же химические вещества (соединения мышьяка, ртути, морфин, стрихнин и др.) в зависимости от ряда факторов (дозы, состояния организма, условий применения и др.) могут быть и лекарственными веществами и ядами.

Действие ядовитых веществ на организм животных изучает ветеринарная токсикология.

В задачу же химика-токсиколога входит обнаружение и определение в трупном материале и других объектах химическими, физико-химическими, физическими и биологическими методами тех химических веществ, на которые токсикология указывает как на ядовитые вещества. Эта задача не всегда легко выполнима.

При попадании в организм ядовитое вещество распределяется по органам и, как правило, неравномерно. Из организма некоторое количество его выводится с рвотными массами, с мочой, калом и т. п. Почти все вещества, введенные в организм, подвергаются различным изменениям, превращаются в новые вещества, часто являющиеся естественными составными частями организма. Например, конечными продуктами превращения фосфора, введенного в организм, является фосфорная кислота, входящая в состав тканей организма.

Задача токсиколога-химика осложняется тем, что многие вещества, являющиеся ядами, содержатся в исследуемом материале в качестве макро- или микроэлементов (Zn, Cu, As и др.). Поэтому для того чтобы дать правильную, научно обоснованную оценку результатам химико-токсикологического анализа, исследователь должен провести количественное определение искомого веществ.

В заключении своего исследования токсиколог-химик никогда не должен говорить об отсутствии того или иного яда в объекте исследования, он должен сказать лишь о том, обна-

ружено или не обнаружено то или иное вещество в материале, а если обнаружено, то сколько.

Решение вопроса о том, было ли найденное ядовитое вещество причиной отравления животного или нет, принадлежит не химику, а эксперту — ветеринарному врачу-токсикологу, а иногда и комиссии из нескольких специалистов.

Прежде чем приступить к выполнению химико-токсикологического исследования, необходимо составить план его проведения.

План химико-токсикологического исследования определяется:

1) вопросами, которые ставят перед токсикологом-химиком хозяйственные организации или судебные органы. Эти вопросы в первую очередь определяют, в каком направлении будет проводиться исследование: нужно ли только обнаружить яд или определить его количественно или же необходимо установить подлинность тех или иных химических веществ, применявшихся в хозяйстве;

2) данными препроводительных документов: обстоятельства дела, клиническая картина отравления, акт патологоанатомического вскрытия трупа и т. п.;

3) наружным осмотром проб, присланных на исследование: их окраской, специфическим запахом, инородными включениями и др.;

4) предварительными испытаниями.

При исследовании очень важно правильно (экономно) расходовать присланные пробы (содержимое желудка, паренхиматозные органы, кал, рвотные массы, корма и т. п.), так как взять их повторно часто бывает невозможно.

НАРУЖНЫЙ ОСМОТР И ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Количество химических веществ, которые при определенных условиях рассматриваются как вещества, ядовитые для животного организма, чрезвычайно велико, химическая природа их необычайно разнообразна. Одни из них (многие) относятся к органическим соединениям сложного строения, другие — к неорганическим.

Количество ядовитых веществ, рассматриваемых ветеринарным химико-токсикологическим анализом, все же ограничено и определяется имеющимися в распоряжении токсиколога-химика соответствующими методами исследования.

Ветеринарный химико-токсикологический анализ осуществляет обнаружение, изолирование и определение только тех ядовитых веществ, которые более или менее часто встречаются в ветеринарной практике. Например, в последнее время в связи

с широкой химизацией сельского хозяйства стали применять много новых химических веществ.

Перед тем как начать исследования полученного материала, токсиколог-химик должен познакомиться с актом патологоанатомического вскрытия, клинической картиной отравления, осмотреть объект исследования и провести предварительные испытания.

Если в сопроводительных документах нет специальных и наводящих указаний, химик-токсиколог должен провести полный химико-токсикологический анализ по указанной схеме на следующие ядовитые вещества:

- 1) металлические яды Hg, Cu, Zn, Ba, Pb и мышьяк, изолируемые минерализацией;
- 2) алкалоиды, изолируемые подкисленной водой;
- 3) синильную кислоту и ее соли, изолируемые перегонкой с водяным паром;
- 4) нитраты, нитриты и хлорид натрия, изолируемые извлечением водой;
- 5) фосфид цинка;
- 6) фтористые соединения;
- 7) фосфорорганические ядохимикаты (хлорофос, метилмеркаптофос, фосфамид, трихлорметафос-3 и др.);
- 8) хлорорганические ядохимикаты (ДДТ, гексахлоран, полихлорпинен);
- 9) карбаматы (севин и тетраметилтиурамдисульфид);
- 10) гранозан.

Перед исследованием патологического материала проводят его наружный осмотр и предварительные испытания, которые дают возможность правильно выбрать и наметить методы исследования присланных объектов. На основании предварительных испытаний токсиколог-химик не может делать заключение о наличии или отсутствии тех или иных веществ. Поэтому для проведения предварительных испытаний нужно брать минимальные количества присланных материалов.

Прежде всего определяют вид материала и присутствие в нем консервирующего вещества.

Если присланный материал консервирован этиловым спиртом, о чем обычно указывается в сопроводительном документе, то вместе с образцами патологического материала должна быть выслана проба его.

Если материал свежий, то многие вещества можно определить по запаху (синильная кислота и ее соли имеют запах горького миндаля, гексахлоран — запах плесени).

Для определения запаха несколько граммов материала помещают в химический стакан, подкисляют разбавленной серной кислотой и нагревают на водяной бане при 40—50°.

По цвету материала иногда можно судить о характере отравления. Желтое окрашивание наблюдается при отравлении

динитроортокрезолом (ДНОК) и другими ядохимикатами, производными нитрофенола, азотной кислотой (ксантопротеиновая реакция на белок); зеленое, синее или фиолетовое — при отравлении солями меди и пр., а черное (обугливание) — при отравлении концентрированной серной кислотой.

Твердые тела, порошки, осадки в жидкостях тщательно осматривают сначала макроскопически, а затем при помощи лупы или микроскопа (с малым увеличением — в 60—100 раз).

Наблюдались случаи, когда на твердых телах находили призматические кристаллы нитрата стрихнина, фарфоровидные крупинки белого мышьяка (мышьяковистого ангидрида).

При исследовании желудка последний вместе с содержимым расправляют и растягивают и при помощи лупы тщательно осматривают всю внутреннюю поверхность его и содержимое. Отбирают кристаллы, остатки растений и другие подозрительные частицы, которые затем подвергают химическому или ботаническому исследованию. Иногда содержимое желудка смывают, жидкость отстаивают, а осадок исследуют.

Порошки после микроскопического исследования смешивают с хлороформом, отстаивают в коническом бокале и исследуют — отдельно осадок (соли тяжелых металлов) и частицы (чаще растительные остатки), плавающие на поверхности.

Определение реакции жидких проб. В фарфоровую чашечку помещают несколько капель испытуемой жидкости; если исследуют содержимое желудка, то прибавляют несколько капель дистиллированной воды. Для контроля в другую чашечку наливают несколько капель дистиллированной воды и в обе чашечки кладут лакмусовые бумажки, через некоторое время сравнивают окраску бумажек.

Кислая реакция на лакмус может быть обусловлена присутствием свободных кислот, кислых солей и солей тяжелых металлов. При кислой реакции на лакмус жидкость испытывают бумажкой конго и растворами тропеолина, диметиламидаозобензола и метилвиолета. В присутствии минеральных кислот при всех концентрациях, а органических только при больших концентрациях наступает посинение конго, покраснение тропеолина и диметиламидаозобензола и позеленение метилвиолета.

Щелочная реакция может быть обусловлена присутствием едких и углекислых щелочей. Для отличия едких щелочей от углекислых несколько капель испытуемой жидкости смешивают в пробирке с 1—2 каплями спиртового раствора фенолфталеина (1:1000) и взбалтывают с избытком хлористого бария. В присутствии едких щелочей окраска не меняется; в присутствии же углекислых щелочей розовая окраска исчезает.

Испытание на свободный аммиак и диагностика отравлений животных карбамидом. Для испытания на аммиак часть

содержимого рубца (желудка) помещают в коническую колбочку и закрывают ее пробкой, к нижней поверхности которой прикреплены красная лакмусовая бумажка и бумажка, смоченная раствором ацетата свинца, и оставляют стоять некоторое время. Посинение красной лакмусовой бумажки указывает на присутствие аммиака. Реакция имеет значение только в том случае, если «свинцовая» бумажка не почернеет (отсутствие сероводорода), что указывает на отсутствие разложения с образованием сероводорода и аммиака. Эта предварительная проба является единственным основным испытанием на введенный в организм аммиак и основной пробой на отравление жвачных животных карбамидом.

При неправильном скармливании карбамида жвачным животным в рубце образуется свободный аммиак, присутствие которого устанавливают по запаху и посинению розовой лакмусовой бумажки. Если аммиак обнаружен, определяют его количество (см. стр. 140).

Испытание на мышьяк и ртуть. При исследовании на мышьяк или ртуть испытуемую жидкость (содержимое желудка) смешивают с концентрированной соляной кислотой в соотношении 1:1. Две свежечищенные спирали из медной проволоки опускают в испытуемую смесь и в течение 30 минут нагревают на водяной бане. В присутствии мышьяка спирали покрываются темно-серым налетом мышьяковистой меди (As_2Cu_3). Чувствительность реакции небольшая, обнаруживаемые количества мышьяка находятся в пределах 0,1—0,2 мг (М. К. Фокина).

Если содержится ртуть, медные пластинки покрываются серебристо-блестящим налетом. Потемнение медной спирали может быть обусловлено также присутствием сульфидов или сероводорода. Поэтому одно потемнение медной спирали без дальнейшего его исследования не должно приниматься во внимание.

Для контроля медные пластинки извлекают из раствора, промывают водой, затем спиртом и эфиром. Одну из спиралей помещают в узкую стеклянную трубочку, запаивая с одного конца, и нагревают. Если есть мышьяк, образуется серый налет, а при его возгонке — белое кольцо, состоящее из заметных под микроскопом кристаллов — мышьяковистого ангидрида. Другую спираль помещают в такую же трубочку, но нагревают ее с маленьким кристалликом йода. В присутствии ртути в холодной части трубочки образуется красный или желтый налет двуокисной ртути.

Пробой Рейнша обнаруживается не весь мышьяк и ртуть, которые содержатся в исследуемом материале, так как часть этих веществ улетучивается после обработки, а часть остается прочно связанной с белками.

Испытание на синильную кислоту. Навеску исследуемого материала (до 100 г) помещают в стакан, подкисляют щаве-

левой или виннокаменной кислотой и стаканы быстро закрывают стеклянной пластинкой, на нижней поверхности которой нанесена всякая капля 1%-ного раствора едкого натра. Через 15—30 минут стеклянную пластинку снимают и к находящейся на ней капле раствора едкого натра добавляют по 1—2 капли растворов $FeSO_4$ и $FeCl_3$ и подкисляют 1%-ным раствором соляной кислоты до слабокислой реакции — образование синего осадка или синего окрашивания указывает на присутствие солей синильной кислоты. Реакция имеет положительное значение только в том случае, если в исследуемом материале нет ферри- и ферроцианидов.

Испытание на фосфид цинка. Часть желудка или зоба с содержимым помещают в коническую колбочку, разбавляют водой и подкисляют серной кислотой. Колбу закрывают пробкой, на нижней поверхности которой укреплен полоска фильтровальной бумаги, пропитанная 5%-ным спиртовым раствором бромной ртути и высушенная, и полоска, смоченная раствором ацетата свинца. Колбу помещают на водяную баню, нагретую до 40° , и оставляют на 2—3 часа в темном месте.

Пожелтение бромнортутиной бумажки указывает на присутствие фосфида цинка. При этом ощущается запах, характерный для фосфида и напоминающий запах озона.

Побурение свинцовой бумажки может произойти в том случае, если в пробе присутствуют сероводород, бромнортутиная бумажка от сероводорода может окраситься в грязно-желтый цвет. В этом случае следует более внимательно и осторожно учитывать результаты анализа.

Испытание на фенолы. Из исследуемого материала делают водное извлечение и фильтруют его. К 1 мл свежеприготовленной формалинсерной кислоты осторожно по стенке пробирки прибавляют фильтрат. В присутствии фенолов в месте соприкосновения жидкостей образуется красное кольцо.

Формалинсерную кислоту готовят прибавлением одной капли формалина к 1 мл концентрированной серной кислоты.

Испытание на формальдегид. Исследуемый материал извлекают водой и фильтруют. Фильтрат осторожно по стенке пробирки прибавляют к 1 мл фенолсерной кислоты. При наличии формальдегида в месте соприкосновения жидкостей образуется красное кольцо.

Фенолсерную кислоту готовят прибавлением одной капли концентрированного раствора фенола к 1 мл концентрированной серной кислоты.

Испытание на сапонины. Пробу (1—2 г) испытуемого материала помещают в пробирку, добавляют 5 мл воды и сильно встряхивают. Образование устойчивой пены свидетельствует о возможном присутствии сапонинов.

Испытание на нитраты (соли азотной кислоты) и нитриты (соли азотистой кислоты). Измельченный материал (5—10 г)

заливают водой, встряхивают в течение 15—20 минут и фильтруют.

Берут 2—3 капли фильтрата и прибавляют к нему несколько капель раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте. Появление синего окрашивания различной интенсивности укажет на присутствие нитратов и нитритов.

К 2—3 мл фильтрата прибавляют 3—5 капель реактива Грисса и 10 минут нагревают на водяной бане при 60—70°. Окрашивание раствора в красный или розовый цвет свидетельствует о содержании в пробе нитритов.

При оценке результатов пробы следует принимать во внимание, что реакция на нитриты с реактивом Грисса очень чувствительна, только темно-красное или красное окрашивание может вызвать подозрение на отравление нитритами и поставить задачу дальнейшего более основательного исследования присланного объекта на нитриты.

Испытание на хлорид натрия. Несколько граммов исследуемого органа подсушивают, выкристаллизовавшиеся кристаллы соли собирают и исследуют.

При внесении кристаллов в пламя горелки оно окрашивается в желтый цвет (натрий).

Кристаллы растворяют в воде, подкисляют раствором азотной кислоты и прибавляют несколько капель раствора азотно-кислого серебра — образование белого осадка, растворимого в аммиаке, указывает на присутствие хлоридов.

При положительных результатах обеих реакций следует провести количественное определение хлорида натрия в исследуемом объекте (см. стр. 137).

Испытание на фтор. К 10 г содержимого желудка прибавляют 10 мл 10%-ного раствора серной кислоты, встряхивают 15 минут и фильтруют. 2—3 капли фильтрата вносят в короткое колено трубки с реактивом, перемешивают и наблюдают за появлением несмачиваемости стенок трубки. В присутствии фтора стенки трубки над жидкостью кажутся «сухими» и при наклоне трубки пленка желтой жидкости сползает по стенке так, как снимается чулок. Чувствительность 2—3 мг в 100 г содержимого желудка.

Реактив: 2—2,5%-ный раствор бихромата калия в концентрированной серной кислоте. Его наливают в трубку так, чтобы была заполнена половина короткого колена.

Реактивная трубка — изогнутая стеклянная трубка диаметром 8—10 мм, длина короткого колена 3,5 см, длинного — 7 см.

Испытание на тетраметиладисульфид (ТМТД). К 10 г содержимого желудка прибавляют 10 мл этилового спирта, хорошо встряхивают 30 минут и фильтруют. Три капли спиртового фильтрата наносят на реактивный силикагель: при наличии ТМТД силикагель окрашивается в салатный цвет. Чувстви-

тельность 20 мг в 100 г содержимого желудка. На ТМТД нужно исследовать только свежее содержимое желудка, при хранении ТМТД разрушается ферментами тканей. Приготовление реактивного силикагеля см. стр. 149.

Испытание на себин. 10 г ткани измельчают и экстрагируют 10 мл ацетона в течение двух часов при частом встряхивании, фильтруют и испаряют на водяной бане при 60—70° до объема 0,5—1 мл. На полоску фильтровальной бумаги наносят 0,05—0,1 мл экстракта так, чтобы диаметр пятна не превышал 7—8 мм, сушат на воздухе и опрыскивают 0,5%-ным раствором парадиазобензосульфокислоты в 5%-ном растворе едкого натра. Если проба содержит себин, пятно окрашивается в розово-красный цвет. Чувствительность 0,1 мг в 100 г ткани. Фосфамид дает такую же реакцию.

Приготовление раствора парадиазобензосульфокислоты. Сульфаниловую кислоту (4,0 г) растворяют в 60 мл 5%-ного раствора карбоната натрия и прибавляют туда же 2,0 г нитрита натрия. В полученный раствор медленно по каплям прибавляют 20 мл 20%-ного раствора соляной кислоты, охлажденной на льду. Выпавший осадок парадиазобензосульфокислоты отфильтровывают, промывают спиртом и сушат фильтровальной бумагой*. Сохраняют в плотно закрытой темной склянке. Для работы готовят 0,5%-ный раствор в 5%-ном растворе едкого натра. Раствор нестойк (Н. И. Жаворонков).

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ПОСЛЕ РАЗРУШЕНИЯ (МИНЕРАЛИЗАЦИИ) ОРГАНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Эта группа ядовитых веществ включает металлические яды — ртуть, медь, свинец, барий, цинк, мышьяк.

Прежде чем проводить качественный или количественный анализ материала на перечисленные выше ядовитые вещества, необходимо этот материал подвергнуть разрушению, или минерализации.

Это обусловлено тем, что соединения тяжелых металлов и мышьяка способны взаимодействовать с белками живого организма и продуктами животного происхождения, образуя довольно прочные комплексы типа альбуминатов. Металлы и мышьяк в этих соединениях прочно связаны и не могут быть обнаружены ионными реакциями без предварительного разрушения органического материала.

Разрушение (минерализацию) можно осуществлять сухим путем, простым сжиганием (сухое озоление) или же окислением

* Сушить парадиазобензосульфокислоту при нагревании нельзя, может быть взрыв.

различными реагентами в присутствии кислот (мокрое озоление, мокрая минерализация).

Минерализация (мокрое озоление или сухое) — окисление органического вещества, входящего в состав объекта исследования, проводится для освобождения искомым ионов из их комплексов с белками.

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ ТРУПНОГО МАТЕРИАЛА СЕРНОЙ И АЗОТНОЙ КИСЛОТАМИ

Серную и азотную кислоты успешно применяют для разрушения трупного материала, пищевых продуктов, кормов и т. п.

Сущность метода заключается в отнятии воды от органических веществ серной кислотой и окислении их азотной и частично серной кислотой.

Материал (100—200 г), освобожденный от спирта (если он был консервирован спиртом), помещают в колбу Кьельдаля емкостью 500 мл и заливают 75—150 мл смеси, состоящей из дистиллированной воды, серной и азотной кислот, взятых в равных объемах. Колбу укрепляют в штативе так, чтобы дно ее находилось на расстоянии 1—2 см от асбестовой сетки, и нагревают. Над колбой укрепляют делительную воронку, содержащую разбавленную 1:1 азотную кислоту.

Вначале нагревают очень осторожно. После разрушения форменных элементов (через 30—40 минут) получается прозрачная желтая жидкость. Колбу с содержимым опускают на асбестовую сетку и усиливают нагревание, не допуская обугливания объекта. Во время нагревания из делительной воронки постоянно добавляют по каплям азотную кислоту. Ее прибавляют осторожно, чтобы бурные пары окислов азота не выходили из колбы. Разрушение считают законченным, когда бесцветная жидкость уже не темнеет при нагревании без добавления азотной кислоты и появляются белые пары серной кислоты. После охлаждения жидкость (минерализат) бывает слегка окрашена в желтый цвет и прозрачна. Для разрушения 200 г материала требуется 5—6 часов.

Остатки окислов азота удаляют (денитрация) формалином. Для этого к минерализату добавляют 10—15 мл дистиллированной воды и смесь нагревают до 110—115°. В нагретую жидкость осторожно при помешивании по каплям вносят формалин, избегая его избытка. Остатки непрореагировавшего формалина удаляют нагреванием жидкости в течение 5—10 минут.

Денитрация считается законченной, если после прибавления к 1—2 каплям минерализата раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте не появляется синего окрашивания.

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ СЕРНОЙ, АЗОТНОЙ И ХЛОРНОЙ КИСЛОТАМИ

В настоящее время для минерализации биологических объектов вместе с серной и азотной кислотой широко применяют хлорную кислоту. Преимуществами ее применения является: сокращение времени минерализации в 2—3 раза, полное окисление органических веществ, меньший расход окислителей.

Измельченный патологический материал помещают в колбу Кьельдаля емкостью 500 мл. Через воронку в колбу прибавляют по 25 мл концентрированной азотной и серной кислоты и 35 мл 57%-ного раствора хлорной кислоты. Нагревание колбы постепенно усиливают и при обугливании минерализата добавляют концентрированную азотную кислоту. Когда обугливание усилится и над поверхностью минерализата появятся пары хлорного ангидрида, нагревание либо прекращают, либо сильно ослабляют и продолжают окисление, добавляя по каплям 35—40%-ную азотную кислоту. Как только минерализат станет прозрачным, проверяют полноту окисления органических веществ, для чего к капле слегка охлажденного минерализата, разбавленного водой, прибавляют в избытке 25%-ный раствор аммиака. Если окисление прошло до конца, раствор должен окраситься в слабо-желтый, но не оранжевый цвет (реакция на трудно окисляемые аминокислоты: фенилаланин, тирозин и триптофан) (В. Д. Яблочкин).

Избыток окислителей удаляют формалином, как описано при минерализации серной и азотной кислотами.

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ СЕРНОЙ КИСЛОТОЙ И ПЕРГИДРОЛЕМ

Исследуемый материал (25—30 г), освобожденный от спирта и воды и тщательно измельченный, помещают в колбу Кьельдаля объемом 500—600 мл, заливают 12,5—25 мл пергидроля, 1—2 минуты перемешивают и осторожно прибавляют 10—20 мл концентрированной серной кислоты при постоянном перемешивании. Содержимое колбы разогревается, и может наступить бурная реакция. Когда она прекратится, колбу осторожно нагревают и периодически прибавляют пергидроль по 1—2 мл до тех пор, пока жидкость не сделается прозрачной, слегка желтоватой и дальнейшее ее нагревание до появления белых паров серного ангидрида не будет вызывать потемнения (обугливание) жидкости. Иногда в процессе сжигания требуется прибавить еще 4—5 мл концентрированной серной кислоты.

Для полного сжигания 25—50 г материала требуется 1½—2 часа, в зависимости от характера исследуемого материала.

Полученную жидкость несколько охлаждают, разбавляют водой в таком же объеме, нагревают до 110—130° и в нагретую жидкость осторожно по каплям прибавляют формалин (без

избытка). Остатки непрореагировавшего формалина удаляют нагреванием жидкости в течение 5—10 минут.

Полноту удаления пергидроля проверяют нанесением на фильтровальную бумагу капли 5%-ного раствора йодида калия, а затем на это же место капли минерализата: при неполном удалении пергидроля пятно окрашивается в буро-коричневый цвет от выделившегося йода, при полном удалении окраска не появляется.

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ СЖИГАНИЕМ

При исследовании материала на содержание в нем солей меди, висмута применяют метод простого сжигания.

Подготовленный к минерализации материал высушивают, обугливают в фарфоровой чашке при осторожном нагревании на песчаной бане или закрытой электрической плитке.

Когда остаток обуглится или даже превратится в пепел, его смачивают концентрированным раствором нитрата аммония или концентрированной серной кислотой, высушивают на водяной бане, помещают в большой фарфоровый тигель и осторожно нагревают на слабом пламени горелки, держа вначале дно тигля высоко над пламенем, чтобы уголь не вспыхивал, а медленно истлевал. Если зола черного или серого цвета, что указывает на неполное озоление, ее снова смачивают раствором нитрата аммония, высушивают на водяной бане и прокаливают.

Золу растворяют при нагревании азотной или соляной кислотой и фильтруют. Фильтрат выпаривают досуха на водяной бане, остаток растворяют в небольшом количестве воды и исследуют на искомый ион.

СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ХОД АНАЛИЗА НА МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ЯДЫ

После минерализации трупного материала вышеописанными методами свинец и барий, если они присутствуют, переходят в осадок в виде сульфата свинца и сульфата бария, которые исследуются по систематическому ходу качественного анализа или анализу с применением дробных методов.

Исследование осадка I после минерализации трупного материала

Для разделения свинца и бария минерализат разбавляют водой 1:3 или 1:4, переносят в стакан, осторожно кипятят 10 минут и, закрыв часовым стеклом, оставляют стоять до следующего дня. Через сутки белый кристаллический осадок, иногда весьма незначительный, отфильтровывают через маленький фильтр или отделяют центрифугированием. Фильтр с осад-

ком промывают небольшим количеством холодной дистиллированной воды, промывные воды и фильтрат собирают.

Фильтрат (I) сохраняют для дальнейшего исследования. Осадок на фильтре еще раз промывают дистиллированной водой, подкисляют 1%-ным раствором серной кислоты и повторно обрабатывают горячим раствором ацетата аммония (насыщенный раствор ацетата аммония разбавляют водой 1:1 и на 1 л раствора прибавляют 30 мл ледяной уксусной кислоты) до полного растворения осадка сульфата свинца. Жидкость, полученную после обработки сульфатов ацетатом аммония, собирают в мерную колбу. Одну часть раствора исследуют на присутствие свинца качественными реакциями, другую оставляют для количественного определения свинца. Растворение сульфата свинца в ацетате аммония происходит вследствие образования растворимой основной соли уксуснокислого свинца.

Сульфат бария остается на фильтре в виде осадка. Его исследуют на барий качественно и количественно.

Обнаружение и определение бария

Качественное обнаружение. 1. На предметное стекло помещают 1—2 капли концентрированной серной кислоты, в нее при помощи платиновой иглы вносят небольшое количество осадка сульфата бария и нагревают. При охлаждении образуются характерные кристаллы сульфата бария в виде мелких крестов и прямоугольных пластинок. Удастся обнаружить 15 мкг бария в 100 г трупного материала при разрушении его азотной и серной кислотами (А. Н. Крылова).

2. Часть осадка нагревают на платиновой проволоке в верхней трети спиртовки или горелки Бунзена (в восстановительной части пламени), сульфат бария при этом восстанавливается до сульфида бария, платиновую иглу с налетом сульфида бария опускают на несколько секунд в 1—2 капли 10%-ного раствора соляной кислоты, помещенной на предметное стекло, и снова вносят в пламя горелки. Эту операцию повторяют 2—3 раза. Пламя горелки окрашивается в зеленый цвет.

3. К солянокислому раствору, находящемуся на предметном стекле, добавляют 1—2 капли раствора йодата калия — образуется характерный кристаллический осадок йодата бария в виде палочек и розеток из них. Чувствительность реакции — 1 мг бария обнаруживается в 100 г трупного материала при разрушении его серной и азотной кислотами.

Количественное определение. Патологический материал (100 г) минерализуют смесью серной и азотной или серной, азотной и хлорной кислот. Выпавший осадок сульфата бария на следующий день после разбавления водой отфильтровывают, промывают и переосаждают из аммиачного раствора трилона Б, для чего сульфат бария растворяют при нагревании в аммиачном 0,05 н. растворе трилона Б. Горячий раствор отфильтровы-

вают, фильтр промывают горячей водой. Фильтрат вместе с промывными водами нейтрализуют серной кислотой по метиловому красному и к нему при нагревании добавляют 5 мл 20%-ного раствора сульфата аммония. Через сутки выпавший сульфат бария озоляют вместе с фильтром во взвешенном тигле, высушивают до постоянного веса и взвешивают.

Вес сульфата бария умножают на 0,5883 и узнают содержание бария в навеске, а затем перечисляют на 100 г объекта. Определяется от 93 до 103% бария.

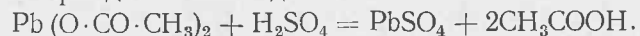
Обнаружение и определение свинца

Качественное обнаружение. Для качественных реакций берут часть раствора, полученного при обработке сульфатов бария и свинца раствором горячего ацетата аммония (см. стр. 61).

1. Часть взятого раствора помещают на часовое стекло и прибавляют к нему каплю сероводородной воды, появляется черный осадок или черная окраска.

Осадок не растворяется в разбавленных серной и соляной кислотах, но растворяется в разбавленной азотной кислоте с выделением окислов азота и элементарной серы.

2. Часть раствора помещают на часовое стекло, стоящее на черном фоне, добавляют к нему 2—5 капель разбавленной серной кислоты — появляется или белая муть или осадок, увеличивающийся при добавлении двойного объема этилового спирта:



Сульфат свинца малорастворим в воде, в спирте он практически нерастворим; значительно растворяется в азотной и соляной кислоте, особенно при нагревании. Осадок сульфата свинца растворяется в растворах едкого натра и калия, ацетата и тартрата аммония в отличие от сульфата бария и стронция.

3. На предметном стекле 1—2 капли исследуемого раствора смешивают с 1—2 каплями насыщенного раствора ацетата меди и осторожно выпаривают досуха. Остаток растворяют в 2—3 каплях 30%-ного раствора уксусной кислоты и добавляют к раствору несколько кристаллов нитрита калия. При наличии свинца через 5—10 минут по всему полю зрения появляются кристаллы $\text{K}_2\text{CuPb}(\text{NO}_2)_6$ в виде черных или коричневых (при малых количествах свинца) кубов. Открываемый минимум свинца при предельной концентрации 1:33 000 — 0,03 мкг, а в 100 г патологического материала 15 мкг (А. Н. Крылова).

Количественное определение. Если свинца значительное количество, определить его можно весовым путем в виде сернокислого свинца*. При меньших количествах свинца (о чем можно судить по качественным реакциям) его определяют объемным йодометрическим методом**.

* А. В. Степанов. Судебная химия. Медгиз, 1951, стр. 141.

**М. Д. Швайкова. Судебная химия. Медгиз, 1959, стр. 296.

Исследование фильтрата I после отделения осадка сульфатов бария и свинца

Фильтрат I после отделения от осадка I (сульфатов бария и свинца) может содержать мышьяк, сурьму, олово, ртуть, медь, висмут, серебро, а также катионы III аналитической группы — хром, марганец, цинк, железо и др. Катионы IV и V аналитических групп отделяют осаждением сероводородом в кислой среде.

Фильтрат I разбавляют 25—50 мл дистиллированной воды и добавляют 25% раствора аммиака до перехода окраски индикатора метилового фиолетового из желтой в светло-зеленую (но не голубую), что соответствует 0,3 н. раствору серной кислоты.

Жидкость наливают в толстостенную коническую колбу, нагревают до 60—70° и закрывают пробкой с двумя проходящими через нее трубками. Одна трубка доходит почти до дна колбы и служит для пропускания сероводорода, другая — подвижная: в начале пропускания сероводорода конец ее находится над жидкостью, а после вытеснения воздуха из колбы опускается в жидкость.

Обычно насыщение фильтрата I сероводородом продолжается 1—2 часа, затем колбу закрывают пробкой и оставляют в вытяжном шкафу до следующего дня.

Полноту насыщения фильтрата I сероводородом проверяют через сутки при помощи свинцово-ацетатной бумажки, поднося ее к отверстию колбы. Если бумажка не чернеет, то жидкость снова насыщают сероводородом и опять оставляют на 24 часа. Образующийся осадок отфильтровывают через небольшой гладкий фильтр из плотной фильтровальной бумаги и промывают сначала сероводородной, а затем дистиллированной водой до тех пор, пока реакция промывных вод не станет нейтральной. Осадок II может содержать мышьяк, сурьму, висмут, ртуть и медь в виде сульфидов.

* Фильтрат II сохраняют для исследования на наличие катионов III группы — цинка, хрома, марганца.

Обработка осадка II. Разделение сульфидов мышьяка, сурьмы, олова, ртути и меди

Не снимая с фильтра, осадок обрабатывают смесью многосернистого аммония и концентрированного аммиака. Когда пройдет первая порция извлечения, ее снова переливают в воронку. Мышьяк, сурьма и олово переходят в раствор (фильтрат III).

В остатке на фильтре могут быть все остальные металлы, осаждаемые сероводородом в кислой среде: свинец (при неполном осаждении в виде сернокислого свинца), ртуть, медь и другие элементы (осадок III).

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЛЬТРАТА III

Жидкость (фильтрат III), полученную после обработок сернистых металлов смесью многосернистого аммония и аммиака, выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане досуха, остаток обрабатывают концентрированной азотной кислотой и снова выпаривают. Остаток смешивают с сухим карбонатом натрия, смачивают водой (небольшое количество), хорошо смешивают и высушивают. Остаток растирают с сухой смесью равных количеств карбоната и нитрата натрия.

В объемистый тигель (30—50 мл) вносят немного нитрата натрия, расплавляют и вносят небольшими порциями приготовленную ранее сухую смесь, не допуская ярких вспышек оставшихся органических веществ. Сплав может содержать мышьяк в виде арсената натрия Na_3AsO_4 , сурьму в виде метасурьмянонатриевой соли NaSbO_3 и медь в виде окиси.

Сплав обрабатывают горячей дистиллированной водой. Арсенат натрия растворяется, получается прозрачный раствор: в присутствии сурьмы образуется белый осадок или муть, а в присутствии меди выпадает черный осадок окиси меди.

Жидкость вместе с осадком помещают в маленькую колбочку и насыщают углекислым газом. Если есть олово, выделяется осадок оловянной кислоты. Его отфильтровывают. Фильтрат (IV), содержащий мышьяк, помещают в небольшую чашку и осторожно добавляют избыток разбавленной серной кислоты, нагревают для удаления углекислого газа и окислов азота и проводят денитрацию формалином, проверяя конец денитрации пробой с дифениламином (см. стр. 58).

Жидкость разбавляют пятикратным количеством воды и испытывают на мышьяк.

Обнаружение и определение мышьяка

Обнаружение и определение мышьяка проводят по систематическому ходу анализа с предварительным отделением его от других катионов. Обнаружение и определение мышьяка дробным методом описано ниже.

Качественное обнаружение. Способ Марша. Мышьяковая кислота восстанавливается водородом в момент выделения до гидрида мышьяка.



Реакция протекает количественно, но требует выполнения ряда условий. Пятивалентный мышьяк восстанавливается труднее трехвалентного. Присутствие окислителей (KClO_3 , HNO_3 и др.), солей меди, железа, ртути, платины задерживает восстановление мышьяка до гидрида мышьяка. Соли магния и особенно олова благоприятно действуют на реакцию восстановле-

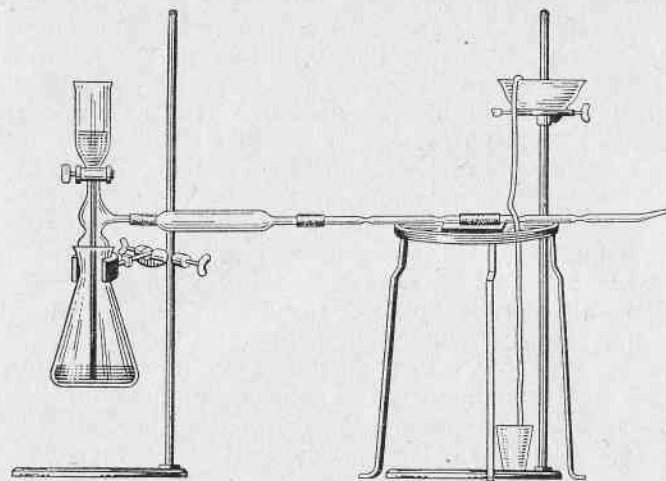


Рис. 2. Прибор Марша для определения мышьяка.

ния мышьяка до гидрида мышьяка и устраняют вредное влияние солей железа, меди, ртути (А. В. Николаев).

Определение проводят в аппарате Марша, который (рис. 2) состоит из колбы емкостью 250 мл, снабженной пробкой с двумя отверстиями — одно для капельной воронки, другое — для трубки, согнутой под прямым углом. Трубка соединяется с хлоркальциевой трубкой. Последняя, в свою очередь, соединяется с восстановительной трубкой из тугоплавкого стекла, имеющей внутренний диаметр 4—5 мм, 2—3 сужения до 1,5 мм и оттянутый, согнутый под прямым углом вверх конец. Удобнее пользоваться прибором, в котором колбочка и капельная воронка соединяются посредством шлифа, как показано на рисунке 2.

В колбу помещают 8—10 г цинка без мышьяка, вливают 20 мл разбавленной серной кислоты (1:9 по объему) без мышьяка и соединяют прибор. Когда из прибора будет вытеснен весь воздух*, выделяющийся из трубки водород зажигают и накаливают восстановительную трубку перед суженными местами до слабо-красного каления. Для охлаждения суженные места обертывают жгутом из ваты, верхний конец которого опущен в чашку с водой, а нижний — в пустой стакан (для стекания воды).

После нагревания в течение часа смотрят, не появился ли серый налет в суженных и охлаждаемых местах восстанови-

* Над вытянутым концом восстановительной трубки помещают опрокинутую пробирку. По вытеснении из нее воздуха ее относят, держа вверх запаянным концом, и зажигают; если водород загорается спокойно, то воздух вытеснен из аппарата.

тельной трубки. Если налета мышьяка нет*, в колбу прибора через капельную воронку небольшими порциями приливают исследуемую жидкость. Когда вся испытуемая жидкость будет прибавлена, прибор оставляют на 1 час. При наличии мышьяка или сурьмы в суженных местах трубки образуется буровато-серый налет. Для подтверждения этого можно, повернув восстановительную трубку кончиком вниз, пропустить выделяющийся водород в 2—5%-ный раствор нитрата серебра, слабо подщелоченный аммиаком. Под влиянием гидрида мышьяка раствор чернеет вследствие выделения металлического серебра.

Восстановительную трубку нагревают в местах налета; мышьяк при этом возгоняется, осаждаясь на холодной части трубки в виде белого налета мышьяковистого ангидрида. Рассматривая белый налет под микроскопом, находят кристаллы мышьяковистого ангидрида — октаэдры и тетраэдры. Налет металлического мышьяка сохраняют как вещественное доказательство.

Сурьма, так же как и мышьяк, образует налет в условиях данного определения. Отличить мышьяк от сурьмы можно по таким признакам:

а) налеты мышьяка растворяются в свежеприготовленном растворе гипохлорита натрия (получается при смешении раствора соды и хлорной извести с последующим фильтрованием), налет сурьмы остается;

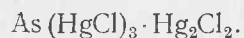
б) налет мышьяка образуется позади накаливаемого места; налеты сурьмы заметны не только позади, но и впереди накаливаемого места;

в) налеты сурьмы исчезают при пропускании хлористого водорода;

г) налеты сурьмы в трубке при возгонке дают аморфные, белые налеты Sb_2O_5 ; под микроскопом не видно октаэдров и тетраэдров.

Метод Зангер — Блека. Все неорганические соединения мышьяка количественно восстанавливаются водородом в момент выделения до гидрида мышьяка (мышьяковистого водорода). Гидрид мышьяка реагирует с хлоридом или бромидом ртути, вследствие чего образуется соединение, окрашенное в желтый или коричневый цвет, в зависимости от количества мышьяка.

По последним данным, образующийся продукт взаимодействия гидрида мышьяка с хлорной ртутью (сулемой) имеет следующий состав:



Происходит замещение водорода в гидриде мышьяка и одновременно восстановление ртути (II) до ртути (I), что и приво-

* Что указывает на чистоту реактивов, взятых для определения.

дит к образованию продукта указанного состава (И. Н. Бирюкова, С. П. Быстров).

Для улавливания выделяющегося гидрида мышьяка на его пути помещают кружочки из фильтровальной бумаги, пропитанные хлорной или бромной ртутью. В присутствии гидрида мышьяка бумажки окрашиваются в желтый или коричневый цвет. Реакция не специфична — ее дает также фосфористый водород. Сероводород окрашивает бумажку в грязно-желтый цвет. Таким способом улавливается до 0,001 мг мышьяка, а при помощи бумажки, пропитанной бромной ртутью, — до 0,0001 мг мышьяка. Чувствительность реакции можно повысить, если пользоваться газывыводящей трубкой меньшего диаметра.

Для открытия мышьяка по этому способу предложены специальные приборы различной конструкции. Мы опишем прибор наиболее простой и удобный для пользования (рис. 3).

Прибор состоит из редукционной колбочки емкостью 100 мл, трубки со шлифом с шарообразным расширением внизу и газывыводящей трубочкой меньшего диаметра сверху, на которую помещают кружок реактивной бумажки. В шарообразное расширение трубки кладут вату, пропитанную 5%-ным раствором ацетата свинца и высушенную для задержки сероводорода.

Обнаружение мышьяка проводят следующим образом.

В редукционную колбу вносят 2 г гранулированного цинка, не содержащего мышьяка, 5—10 мг хлорида олова (на кончике ножа), исследуемую жидкость, 40—50 мл разведенной 1:7 серной кислоты (без мышьяка) и быстро вставляют заранее подготовленные трубки. В шарообразное расширение трубки закладывают пропитанную 5%-ным раствором уксуснокислого свинца и высушенную вату. В верхнюю часть трубки помещают кружок фильтровальной бумаги, пропитанной 5%-ным раствором бромида ртути (II) (кружок фильтровальной бумаги кладут на внутреннюю трубочку и сверху прижимают трубочкой такого же диаметра, пропущенной через пробку). Вата, пропитанная ацетатом свинца, задерживает сероводород, который может образоваться одновременно с гидридом мышьяка. Тампон ваты служит контролем на случай улетучивания сероводорода: если вата окрашивается в серый цвет и окраска появляется по бокам и особенно в верхней части ватного тампона, это служит признаком прохождения сероводорода, и опыт считается неудавшимся.

Прибор оставляют на 1 час. После окончания реакции кружок реактивной бумажки проявляют погружением его вначале в насыщенный раствор йодида кадмия, а затем в насыщенный раствор йодида калия, после чего промывают водой. Окрашивание кружочка реактивной бумаги в коричневый или темно-коричневый цвет указывает на присутствие мышьяка. При пользовании реактивными бумажками, пропитанными бромидом ртути, можно их не проявлять йодидом калия.

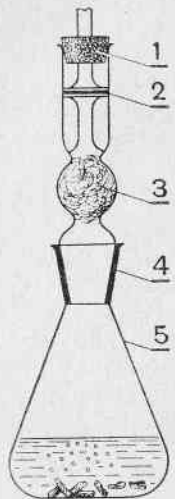


Рис. 3. Прибор для определения мышьяка:
1 — пробка; 2 — кружок реактивной бумаги; 3 — вата, пропитанная
ацетатом свинца; 4 — шлифт; 5 — редуционная колба объемом
100 мл.

Особое внимание следует обращать на чистоту применяемых реактивов. Цинк и серная кислота не должны содержать мышьяка. Прежде чем проводить определения, следует проверить реактивы на чистоту. Для этого ставят контрольные опыты без исследуемой жидкости.

Чтобы результаты исследования были удовлетворительными, требуется соблюдать ряд условий.

Для активации выделения водорода обычно рекомендуется прибавлять сульфат меди, что может, однако, привести к понижению чувствительности реакции. Такие же результаты дают соли железа, особенно вредно оказывается при-

сутствие солей ртути и платины, сильно задерживающих восстановление мышьяка до гидрида мышьяка.

Хлорид магния и особенно хлорид олова, наоборот, оказывают благоприятное действие на реакцию восстановления мышьяка и могут даже устранять вредное влияние катионов Fe^{++} , Cu^{++} , Hg^{++} . Хлорид олова имеет большое значение, и исключать его нельзя (А. В. Николаев).

Бромную бумагу готовят пропитыванием кусочков фильтровальной бумаги 5%-ным спиртовым раствором бромида ртути (II) ($HgBr_2$). Бумагу сушат и сохраняют в темном и сухом месте.

Количественное определение. При определении малых количеств мышьяка можно применять описанный выше способ Зангер — Блека. Нужно только, исходя из определенных количеств мышьяковистого ангидрида, приготовить шкалу, с которой сравнивают интенсивность окрашивания кружка реактивной бумаги и определяют количество мышьяка в исследуемой пробе. Для приготовления шкалы берут 0,1321 г очищенного мышьяковистого ангидрида, растворяют в небольшом количестве (4—5 мл) концентрированного едкого натра, переводят в мерную колбу емкостью 100 мл, нейтрализуют серной кислотой в присутствии фенолфталеина и доводят дистиллированной водой до 100 мл. Такой раствор (I) можно хранить довольно долго. Берут 1 мл раствора и разводят водой в мерной колбе до 100 мл; в 0,1 мл полученного второго раствора (II) будет содержаться 0,001 мг мышьяка, как раз то наименьшее количество, которое еще имеется в ряду стандартных окрасок. Затем берут 0,3 мл раствора (II), соответствующие 0,003 мг мышьяка, 0,5 мл, соответствующие 0,005 мг, и так до 2 мл, а затем посту-

пают, как описано выше при определении мышьяка. Шкалу* заворачивают в черную бумагу и хранят в темном и сухом месте (в эксикаторе с хлористым кальцием**). В таких условиях она сохраняется около месяца и более. Чтобы устранить влияние влаги, рекомендуется покрыть шкалу раствором органического стекла в дихлорэтане, тогда она может сохраняться до 15 месяцев. Для малых количеств мышьяка (до 0,02 мг) отверстие внутренней трубочки, по которой выходит газ и на которую накладывают кружок бумаги, должен быть диаметром 8 мм; для больших количеств берут трубку диаметром 1,6 см, для меньших количеств — 2—4 мм.

Удовлетворительные результаты анализа получаются при соблюдении ряда условий. Например, следует пользоваться редуционной колбой одного и того же размера и трубками для бромной бумаги одного и того же диаметра; для опытов необходимо брать одно и то же количество цинка и серной кислоты; цинк всегда должен быть одной и той же степени дробления, температура постоянной, чтобы реакция шла с одинаковой скоростью. Только соблюдая условия опыта, можно получить достаточно точные и воспроизводимые результаты.

Очистка мышьяковистого ангидрида. Продажный фарфоровидный мышьяковистый ангидрид растворяют в горячей соляной кислоте, разбавленной 1:2, отфильтровывают от нерастворившегося сульфида мышьяка и охлаждают; при этом образуется осадок мышьяковистого ангидрида. Раствор сливают, осадок несколько раз промывают водой, сушат на водяной бане, возгоняют и получают чистый мышьяковистый ангидрид. После 12 часов высушивания в эксикаторе над хлористым кальцием препарат употребляют для приготовления шкалы.

Исследование осадка сульфидов катионов меди и ртути (осадок III)

Для ветеринарной токсикологии из катионов IV аналитической группы представляют интерес Hg^{++} , Cu^{++} и Pb^{++} (обнаружение свинца (см. стр. 62)).

Остаток (осадок III) после обработки многосернистым аммонием с целью извлечения мышьяка и сурьмы и содержащий медь и ртуть смывают водой в фарфоровую чашку. Чашку помещают в водяную баню, раствор выпаривают досуха и при нагревании обрабатывают азотной кислотой, разбавленной 1:1. Остаток (осадок IV), содержащий сульфид ртути, отфильтровывают; фильтрат (IV) содержит медь.

* Ряд окрашенных бумажек, соответствующих определенным количествам мышьяка.

** Пользоваться эксикатором с H_2SO_4 нельзя, так как пары серной кислоты действуют на шкалу и она быстро выцветает.

Остаток, содержащий сульфид ртути, помещают в фарфоровую чашку и при нагревании на водяной бане обрабатывают возможно малым количеством концентрированной соляной кислоты с добавлением нескольких кристаллов хлората калия, а затем выпаривают досуха на водяной бане при температуре 40—50°.

Остаток растворяют в возможно малом количестве горячей дистиллированной воды и исследуют на содержание ртути.

Обнаружение и определение меди

По ходу систематического анализа медь изолируется минерализацией серной и азотной кислотами. Если же требуется провести анализ только на медь, то удобнее изолировать ее сухим сжиганием патологического материала.

Качественное обнаружение. 1. Небольшое количество фильтрата помещают в две фарфоровые чашечки. В одну из них к фильтрату прибавляют аммиак в избытке и сравнивают с фильтратом в другой чашечке. Если в фильтрате содержится медь, он окрашивается в синий цвет.

2. В другую чашечку прибавляют уксусную кислоту до слабобокислой реакции, затем по каплям 5%-ный раствор ферроцианида калия (желтой кровяной соли). Если есть медь, появляется красно-бурый осадок или красное окрашивание вследствие образования коллоидального ферроцианида меди.

3. Несколько капель исследуемого раствора помещают на платиновую крышку от тигля. В присутствии меди платина покрывается красным налетом металлической меди.

4. К исследуемому раствору по каплям добавляют 1—2 мл пиридинроданового реактива до получения осадка или мути, затем 1 мл хлороформа — в присутствии меди хлороформ окрашивается в изумрудно-зеленый цвет. Пиридинродановый реактив готовят смешиванием 50%-ного раствора пиридина в воде и 20%-ного раствора роданида аммония в равных объемах.

Количественное определение. Весовое определение. Фильтрат, содержащий медь, насыщают сероводородом и фильтруют. Осадок сернистой меди промывают водой, содержащей сероводород, растворяют в небольшом количестве азотной кислоты, разбавленной 1:2, и выпаривают во взвешенном тигле на водяной бане досуха. Остаток прокаливают до постоянного веса.

Найденный вес окиси меди умножают на 0,7989 и тем самым узнают содержание меди во взятом объеме фильтрата, а затем путем пересчета и во всем объекте.

Объемное определение. Точно отмеренное количество азотнокислого раствора выпаривают досуха, остаток растворяют в 25 мл нормального раствора серной кислоты, прибавляют 0,2 г йодида калия и 10 мл 10%-ного раствора роданида

аммония. Выделившийся йод сейчас же титруют 0,1 н. или 0,01 н. раствором тиосульфата натрия при индикаторе — крахмале.

1 мл 0,1 н. раствора тиосульфата натрия соответствует 0,006357 г меди.

Ртуть, ее обнаружение и определение

Качественное обнаружение. 1. На очищенную медную пластинку наносят 2—3 капли исследуемого раствора. Образование серого пятна, переходящего в серебристо-блестящее при растирании фильтровальной бумагой, указывает на присутствие ртути. Чувствительность 0,05 мг при предельной концентрации 10^{-3} .

2. Каплю раствора смешивают с несколькими каплями 5—10%-ного раствора хлорида олова (SnCl_2) в концентрированной соляной кислоте; получается белый осадок каломели (Hg_2Cl_2), сереющей от выделения металлической ртути.

3. На фильтровальную бумагу (беззольные фильтры «Белая лента») наносят каплю взвеси йодида меди, а через 3—4 минуты — каплю исследуемого раствора. В присутствии ртути появляется красное или розово-оранжевое окрашивание. Открываемый минимум ртути 0,25 мкг при предельной концентрации $5 \cdot 10^{-6}$. Ионы Zn^{++} , Cu^{++} , AsO_4^{---} , SbO_4^{---} в отношении к ртути как 100:1 не оказывают влияния на реакцию. Реакция может быть выполнена в 20—30%-ном растворе серной кислоты (Н. А. Павловская).

4. На фильтровальную бумагу, пропитанную насыщенным раствором гидросульфита натрия и высушенную, наносят каплю исследуемого раствора. При наличии ртути (I) пятно окрашивается в буро-черный цвет, при ртути (II) появляется желтая окраска, медленно переходящая в бурую. Реакция очень специфична, только катион серебра в этих условиях образует желтое, постепенно буреющее пятно. Пятно не образуется, если предварительно на бумагу нанести каплю 25%-ного раствора аммиака.

Присутствие кислот серной, соляной и азотной в 10—25%-ных концентрациях и окислителей в малых количествах не мешает проведению реакции.

Открываемый минимум ртути (I) 3 мкг при предельной концентрации 10^{-4} , а ртути (II) — 12 мкг при предельной концентрации $4 \cdot 10^{-4}$ (А. В. Николаев).

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЛЬТРАТА II

Обнаружение и определение цинка

Качественное обнаружение. Фильтрат II, полученный после отделения сульфидов мышьяка, сурьмы, ртути, меди, насыщают аммиаком, слабо нагревают и насыщают сероводородом

в течение 3—4 часов. Осадок, содержащий цинк, марганец и железо, отфильтровывают, промывают водой и растворяют в разбавленной 1:5 азотной кислоте. Раствор выпаривают в фарфоровой чашке досуха, остаток растворяют в небольшом количестве воды, прибавляют хлорид аммония, аммиак в избытке, затем нагревают и горячий фильтруют.

В осадке VI содержится железо, алюминий, хром, в фильтрате VI — цинк. Фильтрат подкисляют уксусной кислотой и снова насыщают сероводородом; цинк осаждается в виде белого сернистого цинка. Осадок, не снимая с фильтра, растворяют в возможно малом количестве разведенной соляной кислоты, фильтр промывают водой и фильтрат вместе с промывной водой выпаривают в фарфоровой чашечке на водяной бане досуха. Остаток растворяют в возможно малом количестве воды и испытывают на цинк.

1. К нескольким каплям нейтрального или слабокислого раствора, содержащего цинк, добавляют несколько капель сероводородной воды — при наличии цинка появляется белая муть, осадок сульфида цинка.

Осадок сульфида цинка растворяется при добавлении соляной кислоты и вновь выпадает при добавлении ацетата натрия. Из всех металлов только цинк дает в этих условиях осадок белого цвета. Открываемый минимум цинка 1,5 мкг при предельной концентрации $5 \cdot 10^{-5}$.

2. Каплю раствора смешивают с каплей разведенного раствора ферроцианида калия ($K_4Fe(CN)_6$); в присутствии цинка появляется белый осадок или муть, растворяющаяся в едком натре. Открываемый минимум цинка 3 мкг при предельной концентрации 10^{-4} .

3. Каплю раствора смешивают с каплей разбавленного раствора нитрата кобальта $Co(NO_3)_2$. В жидкость опускают кусочек фильтровальной бумаги, который затем сжигают; зола в присутствии цинка окрашивается в зеленый цвет (зелень Ринмана). Открываемый минимум цинка 0,05 мг при предельной концентрации 10^{-3} .

Количественное определение. 1. К раствору соли цинка добавляют 10 мл 4 н. серной кислоты, 1,5 г сульфата аммония и 2 капли 1%-ного раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте, нагревают раствор до 60° и титруют 0,004 М раствором ферроцианида калия. В начале титрования раствор окрашен в усиливающийся синий цвет; перед концом титрования цвет раствора становится зеленовато-желтым, через несколько секунд переходящим в светлый сине-фиолетовый. Затем титруют по каплям до тех пор, пока окраска раствора даже спустя 20 секунд не будет вновь становиться сине-фиолетовой.

1 мл 0,004 М раствора ферроцианида калия соответствует 0,3923 мг цинка.

Для приготовления 0,004 М раствора ферроцианида калия в литровой мерной колбе растворяют 1,6893 г ферроцианида калия и 0,150 г феррицианида калия и доводят водой до метки (Г. И. Кудымов).

2. Метод определения цинка с помощью трилона Б. Индикатор хромоген черный специальный ЕТОО образует с цинком комплекс, окрашенный в фиолетово-красный цвет. При титровании раствором трилона Б этот комплекс, как менее прочный, разрушается, а цинк связывается трилоном Б в комплекс. В эквивалентной точке возникает синяя окраска свободного хромогена черного специального ЕТОО (Н. А. Горбачева).

ДРОБНЫЕ МЕТОДЫ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Как уже указывалось, дробные методы анализа позволяют обнаруживать и определять ядовитые вещества без выделения их по систематическому ходу анализа (без осаждения сероводородом), обнаруживать и определять их в присутствии сопутствующих им ионов и других соединений, что значительно упрощает и ускоряет ход определения и часто делает его экспрессным.

Ниже описаны дробные методы обнаружения и определения мышьяка и металлических ядов, имеющие токсикологическое значение в ветеринарной практике.

Качественное и количественное определение мышьяка. Способ Марша. Дробное обнаружение мышьяка проводят так же, как и при систематическом ходе анализа по способу Марша, но без предварительного отделения его от других катионов. Вредное влияние катионов Cu^{++} , Hg^{++} , Fe^{++} , Fe^{+++} и других веществ на реакцию восстановления мышьяковой кислоты до гидроксида мышьяка почти полностью устраняется прибавлением к реакционной смеси раствора хлорида двухвалентного олова.

В колбу прибора Марша, точнее в делительную воронку, вносят $1/5$ — $1/10$ часть минерализата, полученного после разрушения патологического материала, смешанного с 1—2 мл 10%-ного раствора хлорида олова (II) в серной кислоте, разбавленной 1:3, и дальше проводят определение так же, как и при систематическом ходе анализа.

Метод Зангер—Блека. Метод применим для определения мышьяка в пределах 0,001—0,02 мг. К части (5—20 мл) минерализата прибавляют 1—2 мл 10%-ного раствора хлорида олова (II), приготовленного на разбавленной 1:3 серной кислоте, и проводят обнаружение или определение мышьяка так, как это описано при систематическом ходе анализа.

Качественное и количественное определение ртути. Ртуть входит в состав многих ядохимикатов, широко применяемых

в сельском хозяйстве. Такие препараты, как НИУИФ-1 (этилмеркурфосфат), НИУИФ-2 (этилмеркурхлорид), входят в состав таких важных фунгицидов, как гранозан, меркуран и другие, применяющиеся для протравливания зерна.

При использовании такого зерна не по назначению, в корм животным и птицам, возможны отравления их. Отравления обычно носят хронический характер, и при исследовании на ртуть берут печень и почки. В случае острых отравлений берут также содержимое желудка и его стенки.

При минерализации трупного материала происходят большие потери ртути вследствие ее летучести.

Для сокращения потерь ртути при минерализации патологического материала некоторые авторы предложили полное разрушение органических веществ заменить частичным разрушением (деструкцией) смесью серной и азотной кислот (А. А. Васильева, А. Н. Крылова), а также серной кислотой и пергидролем (А. В. Николаев).

Методы деструктивного разрушения патологического материала и дробное определение ртути

Деструктивное разрушение материала азотной и серной кислотами. 20 г средней пробы исследуемого материала помещают в коническую колбу объемом 300 мл, заливают 10 мл воды, 1 мл этилового спирта и 10 мл азотной кислоты. Затем к смеси органов с жидкостью добавляют по каплям 10 мл концентрированной серной кислоты так, чтобы постоянно поддерживалась реакция разложения азотной кислоты с выделением тепла, но окислы азота при этом не должны выделяться из колбы. По окончании прибавления серной кислоты колбу оставляют на 10—15 минут при комнатной температуре до прекращения бурной реакции выделения окислов азота, а затем нагревают на водяной бане в течение 30 минут. Если при нагревании реакция протекает слишком бурно с выделением бурых паров окислов азота, то добавляют 30—50 мл горячей воды. Горячую жидкость — деструктат — смешивают с горячей водой 1 : 2 и без охлаждения фильтруют через двойной увлажненный фильтр. Фильтр с остатками жира промывают 3—4 раза горячей водой. Промывные воды приливают к деструктату и после охлаждения доводят водой до определенного объема. Половину деструктата разбавляют водой ~ до 300 мл и добавляют к нему 5 мл взвеси йодида меди.

Если окраска взвеси йодида меди не изменяется, то добавляют вторую часть деструктата. Если взвесь окрасится в розовый или ярко-оранжевый цвет, то добавляют еще 35 мл взвеси йодида меди. Через 30 минут взвесь фильтруют через плотный бумажный фильтр и промывают 1%-ным раствором сульфата натрия до тех пор, пока промывные воды не станут нейтраль-

ной реакции и до полного отмывания желтой окраски осадка. Промытый осадок обрабатывают на фильтре 0,35%-ным раствором йода в йодиде калия, взятым в определенном объеме, прибавляя его в зависимости от количества и окраски взвеси, но в количестве не менее 5 и не более 100 мл. К 5 мл фильтрата добавляют 1 мл 0,35%-ного раствора йода в йодиде калия и 4 мл составного раствора. Колориметрирование производят путем сравнения со стандартной шкалой, содержащей от 1 до 20 мкг ртути по трем объемам исследуемого раствора.

Заключение о количестве ртути делают по среднему результату трех колориметрирований.

Пробу и шкалу сравнивают через 10 минут после приготовления. Пробирки перед колориметрированием тщательно встряхивают.

Цвет колориметрируемых смесей зависит от количества ртути: от слабо желтовато-розового до оранжевого. Метод дает возможность определять от 0,001 до 20 мг ртути, при этом в $\frac{1}{20}$ части минерализата, содержащего 0,01—20 мг ртути, определяется до 104% (А. Н. Крылова).

Реактивы. *Поглотительный раствор.* 2,5 г очищенного возгонки кристаллического йода и 30 г йодида калия растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и объем раствора доводят до 1 л.

Составной раствор: в мерный цилиндр к 1 объему раствора хлорида или сульфата меди (7 г $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ или 10 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 100 мл воды) приливают 2 объема раствора сульфита натрия (примерно 2,5 н. раствор $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения образующегося осадка, к прозрачному раствору приливают $1\frac{1}{2}$ объема раствора бикарбоната натрия, содержащего 8 г соли на 100 мл воды, и все снова перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения образующегося осадка. Готовый раствор сразу же переливают в бюретку, из которой им пользуются при анализе. Раствор готовят перед анализом.

Приготовление взвеси йодида меди. Йодид калия (5,3 г) растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, к полученному раствору прибавляют 40 мл 10%-ного раствора сульфата меди, образующийся осадок отфильтровывают и промывают дистиллированной водой до полного обесцвечивания промывных вод. Фильтр с осадком прокалывают иглой, смывают осадок в колбу и дистиллированной водой доводят до 50 мл.

Стандартный раствор, содержащий 0,01 мг металлической ртути в 1 мл. Для получения этого раствора берут 0,1353 г сулемы и растворяют в небольшом объеме поглотительного раствора и им же доводят объем раствора до 1 л. Полученный раствор, содержащий 0,1 мг металлической ртути в 1 мл, разбавляют в 10 раз поглотительным раствором и получают раствор, содержащий 10 мкг ртути в 1 мл.

Дробное обнаружение меди, цинка, бария и свинца методом осадочной хроматографии на бумаге и ртути капельной реакцией на бумаге

Для более быстрого проведения токсикологических исследований в ветеринарных лабораториях при диагностике отравлений сельскохозяйственных животных металлическими ядами (медью, ртутью, цинком, барием и свинцом) разработаны экспрессные (ускоренные) методы обнаружения этих ядов в патологическом материале, кормах, воде и других объектах.

Вышеуказанные металлы входят в состав широко применяемых в сельском хозяйстве ядохимикатов.

Обнаружение металлических ядов — цинка, меди, бария и свинца — основано на применении метода осадочной хроматографии на бумаге.

Этот метод позволяет обнаруживать искомый катион, находящийся в смеси с другими катионами, без выделения его в чистом виде.

Цинк определяют по реакции с дитизоном, медь — рубеоно-водородной кислотой, барий и свинец — родизонатом натрия. Обнаружение ртути проводят при помощи реакции с йодидом меди капельным методом на бумаге.

Для обнаружения бария, свинца, цинка, меди и ртути (каждого в отдельности) при помощи экспрессных химических методов требуется около одного часа, включая разрушение патологического материала, кормов и других исследуемых объектов.

Для определения цинка, меди и ртути применяют экспрессный метод неполного разрушения патологического материала концентрированной серной кислотой и пергидролем; для выделения бария и свинца применяют способ разрушения патологического материала концентрированной соляной кислотой и хлоратом калия (бертолетовой солью). В обоих случаях разрушение патологического материала (20—25 г) происходит за 30—40 минут.

Для обнаружения меди, ртути и цинка берут 20—25 г патологического материала (содержимое желудка, зоба, кишечника со стенками, кусочки паренхиматозных органов, рвотные массы). Часть его сохраняют для исследования на барий и свинец, на другие яды и для контроля. Если материал был консервирован спиртом или содержит много воды (рвотные массы, силос), его помещают в фарфоровую чашку и подсушивают на кипящей водяной бане (для удаления избытка воды).

При исследовании на цинк, ртуть и медь разрушение материала проводят концентрированной серной кислотой и пергидролем (30%-ная перекись водорода). Для этого 20—25 г патологического материала помещают в колбу Кьельдаля объемом 250—300 мл, заливают 10—12,5 мл пергидроля, 1—2 минуты перемешивают и прибавляют постепенно 6—7 мл концентриро-

ванной серной кислоты. Содержимое колбы разогревается, и происходит бурная реакция. Когда она затихнет, колбу осторожно нагревают на электроплитке и понемногу (по 1—2 мл) прибавляют пергидроль до тех пор, пока содержимое колбы не сделается прозрачным (полного разрушения органического материала при этом не происходит — остаются неразрушенными жир и продукты распада белков и углеводов). На разрушение 20—25 г материала требуется примерно 25—40 минут.

При исследовании на барий и свинец разрушение патологического материала проводят концентрированной соляной кислотой и хлоратом калия (бертолетовой солью), чтобы избежать образования труднорастворимых сернокислых солей бария и свинца, выпадающих в осадок. Навеску материала в 20—25 г помещают в колбу Кьельдаля, заливают концентрированной соляной кислотой, нагревают и прибавляют небольшими порциями хлорат калия, пока жидкость не станет прозрачной. Разрушение 20—25 г материала происходит в течение 30—40 минут.

Обнаружение цинка. Часть минерализата (1—2 мл) разбавляют 1:1 дистиллированной водой, берут 2—3 капли его и нейтрализуют концентрированным раствором аммиака (по лакмусу), одну каплю нейтрализованного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанную тиомочевинной и высушенную, держат одну минуту над горлом склянки с концентрированным раствором аммиака, высушивают на воздухе и опрыскивают из пульверизатора раствором дитизона в бензоле.

При наличии цинка на бумаге появляется пятно розовато-красного или малинового цвета.

Для проверки реактивов на содержание цинка параллельно проводят контрольный опыт: вместо минерализата берут дистиллированную воду и проводят все операции основного опыта. Пятно на бумаге не должно окрашиваться в розовый или красно-малиновый цвет. Нормально присутствующий в органах цинк при этих условиях не обнаруживается.

Обнаружение меди. Минерализат (2—3 капли) нейтрализуют концентрированным раствором аммиака. Каплю нейтрализованного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанную раствором кремнекислого натрия и высушенную, держат ее над горлом склянки с концентрированным аммиаком, подсушивают и опрыскивают из пульверизатора раствором рубеоноводородной кислоты. В присутствии меди пятно окрашивается в темно-зеленый цвет.

В случае сомнительной реакции на медь с целью повышения чувствительности метода следует взять 3—5 мл минерализата и выпарить его в фарфоровой или кварцевой чашке на электроплитке, добавляя туда несколько капель пергидроля для обесцвечивания темнеющей жидкости, и сделать реакцию на медь, как указано выше.

Обнаружение ртути. На беззольную фильтровальную бумагу наносят каплю взвеси йодида меди, выжидают 2—3 минуты и наносят на это место каплю разбавленного 1:1 водой минерализата. В присутствии ртути появляется розовое или красно-оранжевое окрашивание. Реакция высокочувствительная, ею можно обнаружить 0,25 мкг ртути в одной капле. Специфичность реакции см. стр. 71.

Обнаружение бария. Минерализат (3—5 капель) нейтрализуют концентрированным аммиаком. Одну каплю жидкости наносят на полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанную 4%-ным раствором виннокислого натрия и высушенную, подсушивают на воздухе и опрыскивают из пульверизатора раствором родизоната натрия, а затем буферным раствором рН 2,8.

В присутствии бария пятно окрашивается в оранжево-красный цвет.

Для дифференциации бария от свинца на оранжево-красное пятно, образовавшееся от родизоната бария, наносят каплю 10%-ного раствора сульфата натрия. Оранжево-красная окраска исчезает. Если же присутствует свинец, цвет пятна не меняется.

Обнаружение свинца. Каплю горячего минерализата (при охлаждении минерализата хлорид свинца может выпадать в осадок) наносят на полоску бумаги, пропитанную 4%-ным раствором тартрата натрия, и высушенную держат над горлом склянки с раствором крепкого аммиака до полной нейтрализации соляной кислоты, подсушивают и опрыскивают из пульверизатора раствором родизоната натрия, а затем буферным раствором рН 2,8.

В присутствии свинца пятно окрашивается в фиолетовый цвет. Если в исследуемом материале содержится незначительное количество свинца, пятно окрашивается в красно-оранжевый цвет.

Дифференциацию свинца от бария проводят по методике, изложенной выше.

Приготовление реактивов. *Раствор дитизона в бензоле* — 5 мл дитизона растворяют в 10 мл бензола. Раствор пригоден для работы в течение дня.

Фильтровальная бумага, пропитанная раствором тиомочевина. Полоски фильтровальной бумаги размером 5×30 см пропитывают 4%-ным раствором тиомочевина, сушат на воздухе и хранят в плотно закрытой банке. Срок хранения 3 месяца.

Раствор рубановодородной кислоты. 0,1 г рубановодородной кислоты растворяют в 10 мл ректификованного спирта. Раствор пригоден для работы в течение 5 дней.

Фильтровальная бумага, пропитанная силикатом натрия. Полоски фильтровальной бумаги размером 5×30 см пропитывают 4%-ным раствором силиката натрия, высушивают на воздухе и хранят в плотно закрытой банке. Срок хранения 1 год.

Йодид меди. 5,3 г йодида калия растворяют в 10—15 мл дистиллированной воды, к полученному раствору прибавляют 40 мл 10%-ного раствора сульфата меди, образующийся осадок отфильтровывают и промывают дистиллированной водой до полного обесцвечивания промывных вод. Фильтр с осадком прокалывают иглой, смывают осадок дистиллированной водой в колбу и доводят до 50 мл. Взвесь йодида меди пригодна для работы в течение 6 месяцев.

Раствор родизоната натрия. 0,05 г родизоната натрия растворяют в 10 мл дистиллированной воды. Раствор пригоден для работы в течение 3 дней.

Фильтровальная бумага, пропитанная тартратом натрия. Полоски фильтровальной бумаги размером 5×30 см пропитывают 4%-ным раствором тартрата натрия, сушат на воздухе и хранят в плотно закрытой банке. Срок хранения 1 год.

Буферный раствор рН 2,8. Раствор А. 35,628 г двухметаллического фосфата натрия ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) растворяют в воде и доводят до 1 л.

Раствор Б. 21,008 г лимонной кислоты растворяют в воде и доводят до 1 л. Для получения буферного раствора рН 2,8 смешивают 1,58 мл раствора А с 8,42 мл раствора Б. Раствор пригоден для работы в течение месяца.

Бромнортутные бумажки. Из беззольной фильтровальной бумаги вырезают кружочки по размерам трубки насадки на колбочку прибора Зангер—Блека. Бумажные кружочки пропитывают 5%-ным спиртовым раствором бромной ртути, сушат на воздухе и хранят в плотно закрытой склянке из темного стекла. Срок хранения 6 месяцев.

Свинцовоацетатная вата. Гигроскопическую вату пропитывают 5%-ным раствором ацетата свинца, сушат и хранят в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 год.

Раствор молибдата аммония. 5 г молибдата аммония растворяют в 100 мл воды, добавляют 35 мл азотной кислоты с удельным весом 1,22 (43%-ный раствор). Срок хранения 3 месяца.

Раствор ацетата бензидина. 0,05 г основного бензидина растворяют в 10 мл концентрированной уксусной кислоты (80%) и доливают водой до 100 мл. Срок хранения 10 дней.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ПЕРЕГОНКОЙ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

В ветеринарном химико-токсикологическом анализе перегонкой с водяным паром пользуются для изолирования ядовитых веществ из трупного материала.

Изолирование ядов перегонкой с водяным паром основано на том, что при этом способе понижается температура перегонки

изолируемого вещества. Как известно, вещество кипит, когда упругость его паров равна атмосферному давлению: при перегонке с водяным паром упругость паров воды складывается с упругостью паров перегоняемого вещества в случае веществ, нерастворимых в воде, и вещество перегоняется при более низкой температуре, чем оно перегонялось бы одно.

Связь между упругостью пара какого-либо вещества и молекулярным весом выражается уравнением:

$$\frac{P_1}{P_2} = \frac{n_1}{n_2} = \frac{W_1 \cdot M_2}{W_2 \cdot M_1},$$

где n_1 и n_2 — число молей;

W_1 и W_2 — вес органического вещества и воды в дистилляте;

M_1 и M_2 — соответствующие молекулярные веса;

P_1 и P_2 — соответствующие упругости паров.

Если вещество в какой-то степени растворяется в воде, то здесь более летучи с водяным паром вещества с большим молекулярным весом и более высокой температурой кипения, чем низшие члены гомологического ряда.

Многие вещества, растворимые в воде, образуют с водой смеси, кипящие при постоянной температуре; температура кипения этих смесей ниже температуры кипения воды. Например, толуол: температура кипения его $110,7^\circ$, а температура кипения постоянно кипящей смеси его с водой $84,1^\circ$. Этиловый спирт кипит при температуре $78,3^\circ$, а температура постоянно кипящей смеси его с водой $78,15^\circ$.

Наиболее важными в токсикологическом отношении представителями ядовитых веществ, перегоняющихся с водяным паром, являются синильная кислота, гексахлорциклогексан (гексахлоран), дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) при определенных условиях, желтый фосфор, точнее первые продукты его окисления (фосфорноватистая и фосфористая кислоты, фосфористый водород), фосфорорганические пестициды.

Перед исследованием патологический материал измельчают, смешивают с водой до консистенции кашицы, помещают в круглодонную колбу, закрывают пробкой с двумя стеклянными трубками; одна доходит почти до дна колбы и соединяется с паробразователем, а другая, короткая — с холодильником. Форштосс холодильника опущен в колбочку, в которую налито 5 мл 50%-ного раствора едкого натра. Когда прибор собран, исследуемый материал подкисляют виннокаменной кислотой. Отдельно нагревают паробразователь до кипения, соединяют его с прибором и начинают подогреть баню под колбой. Перегонка должна быть медленной, что регулируется нагреванием паробразователя (рис. 4).

Первую порцию дистиллята (2—5 мл), собранного в коническую колбу, содержащую 2 мл 5%-ного раствора едкого

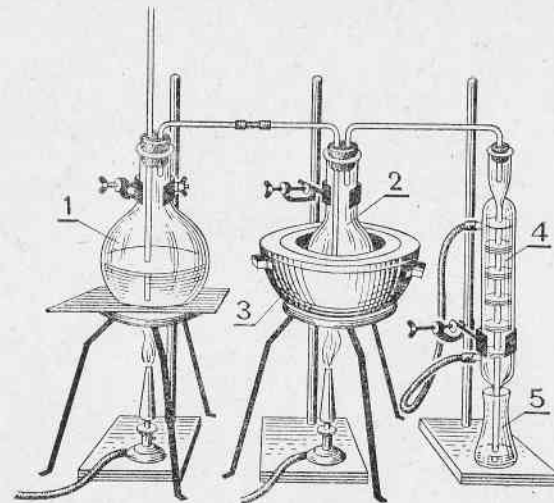


Рис. 4. Прибор для перегонки с водяным паром:

1 — паробразователь; 2 — колба с материалом для исследования; 3 — водяная баня; 4 — шариковый холодильник; 5 — приемник.

натра, испытывают на синильную кислоту, последующие порции (25—50 мл) — на все вышеперечисленные вещества.

Для количественного анализа берут определенную навеску патологического материала и продолжают перегонку до тех пор, пока дистиллят не перестанет давать соответствующие реакции. Полученный дистиллят измеряют, берут из него определенную порцию и в ней определяют искомый яд.

СИНИЛЬНАЯ КИСЛОТА (HCN)

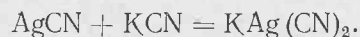
Безводная синильная кислота — это бесцветная жидкость. Температура ее плавления минус $14,8^\circ$; температура кипения $+26,5^\circ$; удельный вес при 20° 0,69; летучесть при 20° 1100 г/м³. С водой, этиловым спиртом, серным эфиром она смешивается в любых соотношениях, легко воспламеняется и горит голубоватым пламенем. Пары синильной кислоты обладают специфическим запахом, напоминающим запах горького миндаля. Вес 1 л паров синильной кислоты составляет 1,266 г; плотность паров относительно воздуха 0,93. Даже слабыми органическими кислотами она омыляется с образованием муравьиной кислоты.



Синильная кислота при некоторых условиях способна к самопроизвольной полимеризации с выделением большого количества тепла и газов (СО и NH₃), сопровождающейся взрывом.

Для стабилизации жидкой синильной кислоты к ней добавляют 0,05% шавелевой или серной кислоты.

Качественное обнаружение. Реакция с азотнокислым серебром. Азотнокислое серебро реагирует с синильной кислотой с образованием белого осадка цианистого серебра, растворимого в избытке синильной кислоты и ее солей:



Цианистое серебро нерастворимо в азотной кислоте и очень легко растворимо в аммиаке.

Роданистая реакция. Реакция основана на способности синильной кислоты переходить в роданистую, присоединяя атом серы. Реакция протекает легко при нагревании цианида с двусернистым аммонием:



Образовавшийся роданид калия открывается реакцией с хлорным железом по образованию роданида железа, имеющего кроваво-красную окраску.

Для выполнения микрореакции на часовом стекле смешивают каплю раствора, содержащего соли синильной кислоты, с каплей двусернистого аммония и осторожно нагревают (не выпаривая досуха) до тех пор, пока по краям жидкости не образуется каемка серы. Затем прибавляют разбавленную соляную кислоту (1—2 капли) и после охлаждения раствор хлорного железа FeCl_3 (1—2 капли). В присутствии цианидов появляется кроваво-красное окрашивание, не исчезающее после внесения соляной кислоты и раствора сулемы.

Реакция специфична. Минимальная обнаруживаемая концентрация цианида 0,03 мг/л.

Реакция на берлинскую лазурь. Синильная кислота и ее соли легко вступают в реакцию с раствором смеси солей закиси и окиси железа с образованием осадка берлинской лазури. Реакция при этом протекает следующим образом:



К 1 мл первой порции дистиллята, содержащего цианиды, имеющего щелочную реакцию, прибавляют 1—2 капли насыщенного раствора сульфата закисного железа (FeSO_4), взбалтывают, нагревают до кипения и подкисляют 10%-ным раствором соляной кислоты. Если в дистилляте содержалась синильная кислота, образуется синий осадок или появляется сине-зеленое окрашивание, при стоянии может образоваться синий осадок берлинской лазури. Чувствительность реакции 20 мкг HCl в 1 мл раствора (сине-зеленое окрашивание).

НЕОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ФОСФОРА

С водяным паром перегоняется желтый фосфор, первые продукты его окисления — фосфорноватистая кислота (H_3PO_2), фосфористая кислота (H_3PO_3) и продукт его восстановления — фосфористый водород (PH_3). Фосфорная кислота H_3PO_4 не перегоняется с водяным паром. Она является естественной составной частью животных организмов.

Качественное обнаружение. Вначале проводят реакции на продукты окисления фосфора (фосфорную кислоту).

Часть дистиллята смешивают с дымящейся азотной кислотой или насыщенной бромной водой, выпаривают на водяной бане досуха, растворяют в небольшом количестве воды и производят реакции.

1. 1—2 мл раствора молибдата аммония* нагревают не до кипения и по каплям добавляют исследуемый раствор. При наличии фосфорной кислоты образуется желтый осадок.

2. Исследуемый раствор нейтрализуют аммиаком без избытка, прибавляют магниезильную смесь**, перемешивают и прибавляют 1/3 объема 10%-ного аммиака. В присутствии фосфорной кислоты выпадает кристаллический осадок.

3. Наиболее чувствительной реакцией на фосфорную кислоту является реакция с молибденовой синью. К испытуемому раствору добавляют несколько капель реактива*** и нагревают. При наличии фосфорной кислоты появляется синее окрашивание. Мышьяковая кислота также дает синее окрашивание.

Если обнаружена фосфорная кислота (после окисления фосфора), дистиллят испытывают на желтый фосфор.

4. Перегонку производят в темноте. Конец холодильника опускают в колбочку с 3—5 мл воды. В присутствии фосфора в холодильнике, колбе и на поверхности жидкости заметно свечение. Дистиллят вместе со следами осадка обрабатывают несколькими миллилитрами свежеперегнанного сероуглерода. Сероуглерод выливают на часовое стекло в темной комнате и после испарения его наблюдают, не появится ли свечение при трении по стеклу стеклянной палочкой.

5. В прибор для определения мышьяка по Зангер—Блеку (см. стр. 66) наливают дистиллят, содержащий фосфор, при-

* 15 г порошкообразного молибдата аммония растворяют в 30 мл воды с добавлением небольшого количества аммиака и доливают водой до 100 мл. Этот раствор медленно вливают при помешивании в 100 мл азотной кислоты с удельным весом 1,185.

** 10 г кристаллического хлорида магния и 14 г хлорида аммония растворяют в 70 мл 10%-ного аммиака и добавляют воды до 150 мл. Через несколько часов фильтруют.

*** К 25 мл 10%-ного раствора молибдата аммония прибавляют 25 мл концентрированной серной кислоты, охлаждают, добавляют 0,35 г медных опилок и доливают водой до 250 мл. В течение часа жидкость взбалтывают и сливают в другую склянку.

бавляют серной кислоты без мышьяка такое количество, чтобы получилась концентрация 1 : 20, прибавляют 2 г цинка и вставляют верхнюю насадку, содержащую вату, пропитанную ацетатом свинца, и кружок реактивной бумажки. Прибор оставляют на 2 часа. В присутствии желтого фосфора или кислородных соединений трехвалентного фосфора реактивная бумажка окрашивается в канареечный цвет. При обработке реактивной бумажки 10%-ным раствором йодида калия желтая окраска переходит в оранжевую и делается более заметной.

Чувствительность 0,001 мг в пробе. Мышьяк и сероводород окрашивают реактивную бумажку, но она отличается от окраски, даваемой фосфором. Сероводород улавливают ватой, пропитанной ацетатом свинца. Мышьяк образует желто-коричневую окраску, которая после обработки раствором йодида калия переходит в коричневую и темно-коричневую.

Количественное определение. 1. Перегонку ведут до тех пор, пока перегоняемые пары не перестанут давать реакцию с азотно-серебряной бумажкой. Перегон окисляют бромной водой, выпаривают досуха, растворяют в 10—20 мл воды и осаждают фосфорную кислоту магниезиальной смесью. Осадок прокалывают и взвешивают пирофосфорнокислый магний $Mg_2P_2O_7$.

Найденное количество пирофосфорнокислого магния умножают на 0,2783 и находят количество фосфора в навеске.

2. Фосфор можно определить колориметрически в приборе Зенгер—Блека, как описано при определении мышьяка. Готовят шкалу из гипофосфита натрия или желтого фосфора, т. е. ряд окрасок, соответствующих 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и т. д. микрограммам фосфора, и сравнивают после окончания реакции окраску реактивной бумажки со шкалой.

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ (ФОС)

За последние годы в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов стали широко применять сложные эфиры фосфорных, особенно фосфорной, тио- и дитиофосфорных кислот.

Фосфорорганические соединения относятся к числу наиболее важных ядохимикатов и занимают одно из первых мест среди химических средств борьбы с вредителями растений и животных.

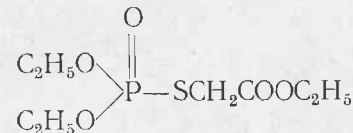
Преимущества их перед другими ядохимикатами заключаются в том, что они являются контактными ядами, способны легко проникать через хитиновую оболочку насекомых. Многие из них обладают свойствами системных или внутрирастительных ядов, т. е. способны всасываться в растения и делать их на какое-то время ядовитыми для сосущих насекомых.

Применение ФОС во всех странах мира неуклонно растет. Наблюдается тенденция замены некоторых хлорорганических ядохимикатов (ДДТ и др.) фосфорорганическими соединениями.

Фосфорорганические соединения в больших количествах при-

меняют для борьбы с вредителями хлопчатника, зерновых, овощных и декоративных культур, плодовых деревьев и лесных насаждений. Некоторые соединения (хлорофос, карбофос, фосфамид, трихлорметафос-3) применяются для борьбы с оводовой пивазией и другими паразитарными заболеваниями сельскохозяйственных животных.

Ацетофос (ацетоксон, 0,0-диэтил-S-карбэтоксиметилтиофосфат), $C_8H_{17}O_5SP$, молекулярный вес 256,12.



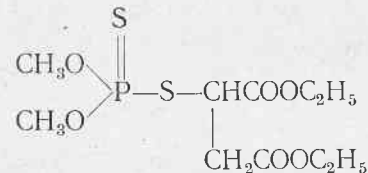
Химически чистое вещество — бесцветная жидкость со специфическим запахом. Температура кипения 120° при 0;15 мм ртутного столба.

Технический препарат — желтая подвижная жидкость, содержащая до 90% действующего вещества.

Ацетофос хорошо растворяется в воде и во многих органических растворителях (спиртах, бензоле, ацетоне и др.). В водных растворах гидролизует. Щелочи разлагают ацетофос.

Препарат является инсектицидом и акарицидом контактного действия. По токсичности для насекомых он не уступает хлорофосу, а для клещей — тиофосу. Эффективен в борьбе со многими вредителями (бурым плодовым, красным цитрусовым и серебристыми клещами, мучнистым червецом, грушевой медяницей, капустной и бахчевыми тлями и др.). Относится к числу среднетоксичных пестицидов для человека и животных, LD_{50} для лабораторных животных — 300—700 мг/кг.

Карбофос [малатион, малатон, 0,0-диметил-S-(1,2-бисдикарбэтоксизтил) дитиофосфат], $C_{10}H_{19}O_6PS_2$, молекулярный вес 330,37.



В чистом виде — это светло-желтое масло, малорастворимое в воде (145 мг/л), со слабым неприятным запахом. Температура кипения $160—170^\circ$ при 3,5 мм ртутного столба. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей, но малорастворим в петролейном эфире.

В кислой среде и в воде карбофос гидролизует медленно, в щелочной среде гидролиз идет значительно быстрее. Известь и известковая вода быстро разрушают его. Окислители разрушают препарат с образованием нетоксических веществ.

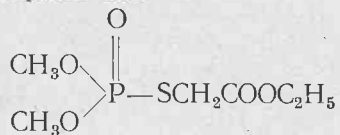
Технический карбофос — это темно-бурая жидкость с неприятным запахом. В качестве основной примеси содержит диметилдитиофосфорную кислоту. Выпускается в виде 35%-ного концентрата, представляющего собой густую жидкость от светло-желтого до темно-коричневого цвета с сильным неприятным запахом.

Применяется для борьбы с тлями и растительными клещами; действует значительно слабее и медленнее, чем тиофос. Угнетение центральной нервной системы преобладает над возбуждением.

LD₅₀ для белых мышей 400—430 мг/кг, для белых крыс — 450—1400 мг/кг, для кошек — 400 мг/кг.

Предельно допустимая концентрация в воздухе 0,5 мг/м³. Допустимые остаточные количества на продуктах питания (зерновые культуры, овощи и др.) 8 мг/кг.

Метилацетофос (0,0-диметил-S-карбэтоксиметилтиофосфат), C₆H₁₃O₅SP, молекулярный вес 228,10.

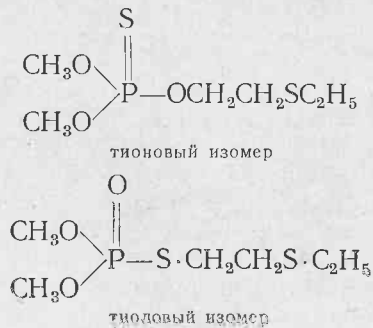


Химически чистое вещество — светлая жидкость со специфическим запахом. Температура кипения 116—120° при 0,35 мм ртутного столба. Хорошо растворяется в воде, спиртах и других органических растворителях. Водой гидролизуется быстрее, чем ацетофос. Разлагается щелочами.

Рекомендуется взамен тиофоса, метилэтилтиофоса и метилмеркаптофоса для уничтожения паутиных клещей, грушевого клеща, личинок и гусениц, бабочек, тлей, трипсов, мучнистых червецов и др. Высоко эффективен для борьбы с мухами.

Метилацетофос относится к среднеотоксичным пестицидам: для белых мышей LD₅₀ находится в пределах 300—1020 мг/кг.

Метилмеркаптофос [метилсистокс, метасистокс, метилдемон, 0,0-диметил-S-2-(этилтио)этилтиофосфат, смесь из 70% тионового и 30% тиолового эфиров], C₆H₁₅O₃PS₂, молекулярный вес 230,29.



Чистый метилмеркаптофос — это светло-желтое, малорастворимое в воде масло со специфическим неприятным запахом, напоминающим меркаптан.

Хорошо растворяется в органических растворителях. Растворимость в воде тионового изомера 0,03%, тиолового — 0,3%.

Летучесть тионового изомера метилмеркаптофоса при 20° и 760 мм ртутного столба равна 0,023 мг/л, тиолового изомера — 0,0044 мг/л. Разрушается щелочами. Конечными продуктами этих реакций являются этиловый спирт, фосфорная кислота и другие малотоксичные соединения.

Технический метилмеркаптофос — это светло-коричневая жидкость, с резким неприятным запахом.

Препарат выпускается в виде 30%- и 50%-ного концентрата в смеси с ОП-7 и другими поверхностно-активными веществами. Инсектицид и акарицид системного и контактного действия, применяется в борьбе с сосущими вредителями хлопчатника (хлопковыми тлями, паутиными клещами, трипсами) и сахарной свеклы (свекловичными клопами, свекловичной тлей, цикадками).

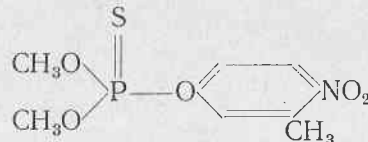
Метилмеркаптофос высокотоксичный препарат, LD₅₀ при введении через рот для белых мышей равна 46—70 мг/кг, для белых крыс — 55—138, для кошек — 30—50, для кур — 115,5 мг/кг.

Коэффициент кумуляции при ежедневном пероральном введении препарата с водой 1/5 LD₅₀ составляет 4,3.

У животных, отравившихся метилмеркаптофосом, отмечается потливость, гиперсаливация, слюнотечение, бронхорея, подергивание, судороги, нарушение координации движений и адинамия.

Предельно допустимые остаточные количества метилмеркаптофоса в плодах равняются 0,7 мг/кг.

Метилнитрофос [фолитион, сумитион, 0,0-диметил-0-(3-метил-4-нитрофенил)тиофосфат], C₉H₁₂O₅N₂SP, молекулярный вес 277,24.



Это светло-желтое масло, нерастворимое в воде, но хорошо растворимое в органических растворителях; температура кипения 109° при 0,1 мм ртутного столба.

По строению и химическим свойствам метилнитрофос близок к метафосу и отличается от него лишь тем, что в положении 3 в бензольном кольце находится метильная группа. Из-за этого существенно меняются свойства препарата: обладая такими же инсектицидными свойствами, он менее токсичен для теплокровных и более устойчив к гидролизу. Разрушается щелочами. При хранении не теряет токсических свойств.

Метилнитрофос лишь незначительно подавляет активность холинэстеразы *in vitro*, в то время как *in vivo* он сильный ингибитор холинэстеразы.

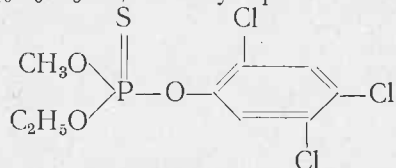
Применяется 30%-ный препарат на вспомогательном веществе ОП-7 (70%).

Контактный инсектицид и акарицид, употребляется для борьбы с тлями, трипсами, клопами, личинками поражающих листья белянок, паутиного клещика, амбарных вредителей и др.

Метилнитрофос относится к пестицидам со средней токсичностью, LD₅₀ для крыс 521—898,8 мг/кг, для белых мышей — 470 мг/кг и для кур — 445 мг/кг. Обладает выраженными кумулятивными свойствами, коэффициент кумуляции равен 1,25—1,15.

Клиническая картина, наблюдаемая при отравлении животных метилнитрофосом, сходна с таковой, отмечаемой у животных при отравлении метилмеркаптофосом.

Трихлорметафос-3 [0-метил-0-этил-0-(2,4,5-трихлорфенил)-тиофосфат], C₉H₁₀O₃Cl₃SP, молекулярный вес 335,57.



Чистый трихлорметафос-3 — маслянистая бесцветная жидкость со специфическим запахом. Удельный вес 1,4345. Температура кипения 125—135° при 0,15 мм ртутного столба.

Технический трихлорметафос-3 — это также маслянистая жидкость от светло- до темно-коричневого цвета. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей, не растворяется в воде. Устойчив при температуре до 60°; в щелочной среде неустойчив.

Трихлорметафос-3 при обработке бромом переходит в соответствующее Р-О-соединение, которое обладает большей, чем Р-S-соединение, способностью подавлять фермент холинэстеразу.

Выпускается промышленностью в виде концентрата эмульсии, содержащей от 30 до 50% действующего вещества, при разбавлении водой легко эмульгируется, в результате чего образуется стойкая белая эмульсия.

Трихлорметафос-3 обладает фумигационным, контактным и кишечным действием. Эффективен по отношению к комнатным мухам, их личинкам и постельным клопам.

Применяется он для борьбы с оводами крупного рогатого скота, северного оленя и другими паразитами сельскохозяйственных животных.

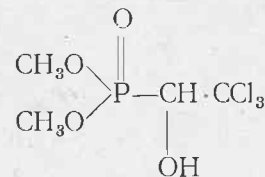
Трихлорметафос-3 относится к ядохимикатам средней токсичности. LD₅₀ для теплокровных животных (для белых крыс) равна 330 мг/кг.

При отравлении животных трихлорметафосом-3 клиническая картина выражается в следующем: через 30—60 минут после введения токсической дозы появляется вялость, слюнотечение, шаткая походка, шерсть взъерошена. Наблюдается нарушение ритма дыхания, фибриллярные подергивания мышц задних конечностей и спины. Через 4—5 часов развивается парез задних конечностей, реакция на свет отсутствует. Если животные не погибают, то общее состояние их нормализуется на 2—5-е сутки, в зависимости от дозы препарата.

Характерной особенностью действия препарата является падение температуры тела у отравленных животных (особенно у крыс).

При введении трихлорметафоса-3 внутрь крысам в дозе 200 мг/кг в первые 24 часа активность холинэстеразы полностью угнетается.

Хлорофос (диптерекс, Байер-Л-13/59, дилокс, трихлорфон, 0,0-диметил-2, 2,2-трихлор-1-оксиэтилфосфонат), C₄H₈O₄Cl₃P, молекулярный вес 257,5.



Химически чистый хлорофос — белый кристаллический порошок с приятным запахом, плавящийся при 83—84°. Температура кипения при 0,1 мм ртутного столба равна 100°.

Препарат растворяется в спирте, бензоле и большинстве хлорированных углеводородов, хуже — в серном эфире и четыреххлористом углероде. В воде при температуре 25° растворяется 15,4 г/100 мл, в нефтяных маслах хлорофос нерастворим.

При комнатной температуре хлорофос очень устойчив. Его водные растворы при длительном хранении становятся кислыми. При pH больше 5,5 хлорофос медленно превращается в диметилдихлорвинилфосфат (ДДФФ).

Технический препарат может иметь различный вид: от твердого белого вещества, напоминающего парафин, до жидкого, напоминающего густой мед серого цвета с резким специфическим запахом. Хлорофос хорошо растворим в воде, в связи с чем применяются в основном водные растворы его.

Отечественная промышленность, кроме жидкого препарата, выпускает технический хлорофос. Это сыпучий порошок белого цвета, смешивается с водой во всех соотношениях.

Хлорофос применяется для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур: клопом-черепашкой, хлебным жуком, жуками хлебной жужелицы, с вредителями садов — грушевой плодожоркой и др.

Препараты хлорофоса эффективны в борьбе с амбарными вредителями: амбарным и рисовым долгоносиком, зерновой молью, гороховой, зерновой хрущаткой и точильщиками.

В ветеринарной практике хлорофос применяется при гиподерматозе крупного рогатого скота и для борьбы с иксодовыми клещами, переносчиками возбудителей болезней крупного рогатого скота.

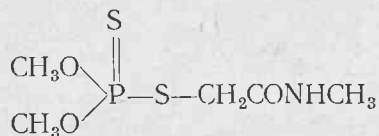
Хлорофос относится к ядохимикатам средней токсичности. LD₅₀ его для теплокровных животных (для белых мышей) при введении через рот равна 500—800 мг/кг, для крыс — 400—1000 мг/кг.

Предельно допустимая концентрация хлорофоса в воздухе 0,5 мг/м³.

Обрабатывать зерновые и плодовые культуры можно не позднее чем за 20 дней до уборки урожая.

Предельно допустимые остаточные количества хлорофоса в пищевых продуктах 1 мг/кг.

Фосфамид (рогор, диметоат, 0,0-диметил-S-(N-метилкарбамидометил)-дитиофосфат, C₅H₁₂O₃NS₂P, молекулярный вес 229,20.



Химически чистый фосфамид — кристаллическое белое вещество с запахом меркаптана, температурой плавления 49—51°. Фосфамид легко растворяется во многих органических растворителях, трудно — в петролейном эфире и лигроине. В 1 л воды комнатной температуры растворяется 39 г препарата. Гидролизуется щелочами, достаточно стабилен к гидролизу водой. Выпускается в виде 40%-ного концентрата желтого цвета с неприятным запахом.

Фосфамид — контактный и системный инсектицид и акарицид. Он легко проникает в растения через корневую систему и подземные органы, распространяется восходящими и нисходящими токами и накапливается в тканях в токсических для вредных насекомых количествах.

Как и метилмеркаптофос, фосфамид эффективен в борьбе со многими сосущими и грызущими вредителями растений (клещами, тлями, цикадками, мучнистыми червецами, минерами).

В ветеринарной практике применяется для борьбы с оводами крупного рогатого скота и другими эктопаразитами сельскохозяйственных животных.

Менее токсичен для человека и животных, чем другие инсектициды и акарициды внутрирастительного действия. При применении внутрь для белых мышей LD₅₀ равна 155—285 мг/кг, для белых крыс — 250—265 мг/кг.

Определение фосфорорганических соединений

Общая (групповая) реакция, качественное обнаружение. Реакция Файгля. В платиновую ложечку, содержащую несколько миллиграммов окиси кальция х. ч., помещают каплю исследуемого раствора или же смешивают с окисью кальция несколько зерен исследуемого вещества. Ложечку нагревают вначале слабо, а затем некоторое время при красном калении. После охлаждения остаток растворяют в двух каплях 2 н. раствора азотной кислоты. На беззольную фильтровальную бумагу наносят каплю раствора молибдата аммония и высыпают содержимое ложечки. Через 1—2 минуты прибавляют каплю раствора бензидина и бумагу держат над склянкой с аммиаком.

В присутствии фосфорорганических ядохимикатов в исследуемом материале после нейтрализации основной части кислоты на бумаге появляется синее пятно, интенсивность окраски которого зависит от содержания фосфора в пробе. Следует провести контрольный опыт для проверки чистоты применяемых реактивов.

Метод позволяет обнаруживать: 2,5 мкг тиофоса, 8 мкг параоксона, 5 мкг октаметила и 3 мкг пирофоса в пробе.

Приготовление реактивов. 1. *Раствор молибдата аммония.* Растворяют 5 г молибдата аммония в 100 мл холодной воды и выливают в 35 мл азотной кислоты (удельный вес 1,2).

2. *Раствор бензидина.* Растворяют 0,5 г бензидина основания или гидрохлорида бензидина в 10 мл концентрированной уксусной кислоты и разбавляют водой до 100 мл (Ф. Файгель).

Обнаружение фосфорорганических соединений в патологическом материале методом тонкослойной хроматографии*

Принцип. Метод основан на изолировании фосфорорганических соединений из патологического материала эфиром, хроматографированием в тонком слое на окиси алюминия с проявлением пятен реактивами: Хейнса — Ишервуда по фосфору на все фосфорорганические соединения, растворами едкого натра и нитрата серебра на эфиры тио- и дитиофосфорных кислот и диазотированной сульфаниловой кислотой в щелочной среде на соединения, имеющие группу CH₂CO.

Изготовление пластинок для хроматографирования. 50 г безводной окиси алюминия хорошо перемешивают с 5 г гипса, добавляют 75 мл дистиллированной воды, тщательно взбалтывают 15—20 минут и наносят слоем 0,3 мм на стеклянные пластинки. Полученной смеси достаточно для покрытия 7—9 пластинок размером 9×12 см. Пластинки сушат 12—16 часов при комнатной температуре.

* Метод разработан М. А. Клисенко.

ния пробы до линии фронта растворителя (R_f) некоторых исследованных фосфорорганических соединений, которые следует принимать во внимание при проведении анализов для определения вида фосфорорганических соединений.

Определение фосфорорганических соединений в патологическом материале энзиматическим методом

Принцип. В основу метода положена способность фосфорорганических соединений угнетать фермент холинэстеразу. О степени активности холинэстеразы судят по скорости расщепления ацетилхолина (или других его эфиров) с освобождением уксусной кислоты, что ведет к понижению pH среды и изменению окраски индикатора бромтимолового синего. Колориметрирование проводят визуально по отношению к стандартному раствору.

Реактивы. 1. Хлороформ х. ч.

2. Основной индикаторно-буферный раствор (раствор № 1): 0,1 г бромтимолового синего растирают в ступке с 2 мл 0,1 н. раствора едкого натра и переносят в мерную колбу объемом 500 мл. В колбу добавляют 8 мл 0,1 н. раствора едкого натра и 25 мл 0,1 М раствора борной кислоты в 0,1 М растворе хлорида калия (3,75 г борной кислоты и 3,1 г хлорида калия растворяют в воде и доводят до 500 мл в мерной колбе). Дистиллированная вода не должна содержать CO_2 . Полученный раствор должен быть насыщенно синего цвета, pH 8,65—8,7. Раствор нужно хранить в склянке из нейтрального стекла.

3. Индикаторно-буферный раствор для приготовления колориметрического стандарта, содержащий 2,5 мкМ HCl в 1 мл (раствор № 2): к 9,85 мл раствора № 1 прибавляют 0,15 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты. Раствор имеет зеленую окраску.

4. Раствор ацетилхолинхлорида, 1%-ный: 0,2 г ацетилхолинхлорида (одна ампула) растворяют в 20 мл дистиллированной воды и усредняют 0,05 н. раствором едкого натра по бромтимоловому синему (2—3 капли раствора № 1) до зеленой или сине-зеленой окраски.

При хранении в холодильнике раствор пригоден для работы в течение 7 дней.

5. Раствор № 3. Индикаторно-буферный раствор ацетилхолинхлорида: 27 мл раствора № 1 смешивают с 3 мл раствора № 4. Раствор должен иметь синюю окраску. Готовят его перед употреблением.

Ход анализа. 20—30 г тщательно измельченного патологического материала помещают в склянку с притертой пробкой, заливают 20—30 мл хлороформа и экстрагируют при периодическом встряхивании в течение одного часа. Экстракт фильтруют, 1 мл отфильтрованного экстракта помещают в пробирку, во вторую (контрольная) вносят 1 мл чистого хлороформа и испаряют

хлороформ в обеих пробирках на водяной бане при 60°. К сухому остатку в обеих пробирках прибавляют по 1 мл дистиллированной воды и пробирки нагревают 15 минут на кипящей водяной бане. В охлажденные до комнатной температуры пробирки вносят по 1 мл 2%-ного раствора холинэстеразы или сыворотки крови лошади, перемешивают и выдерживают при температуре 38—39° в течение 30 минут, затем в две другие пробирки вносят по 0,5 мл содержимого каждой пробирки, прибавляют по 4,5 мл раствора № 3 и отмечают время уравнивания окрасок в контрольной и опытной пробирках с окраской стандартной пробирки.

Для приготовления стандартной пробирки (колориметрического стандарта), соответствующей гидролизу половины взятого в опыт эфира холина, в третью пробирку вносят 0,5 мл содержимого второй (контрольной) пробирки и прибавляют 4,5 мл раствора № 2.

Степень угнетения активности холинэстеразы в результате воздействия пестицида рассчитывают по формуле:

$$У = 100 - \frac{V_{\text{контр.}} \cdot 100}{V_{\text{опыт.}}}$$

где $У$ — степень угнетения холинэстеразы, в %;
 $V_{\text{контр.}}$ — время уравнивания окраски контрольной пробы с окраской стандартной пробы, в мин.
 $V_{\text{опыт.}}$ — время уравнивания окраски опытной пробирки с окраской стандартной пробы, в мин.

Если природа определяемого пестицида неизвестна, то фосфорорганические соединения обнаруживают ориентировочно (группой) и устанавливают степень угнетения активности холинэстеразы. Считают, что если активность фермента угнетена на 30%, это свидетельствует о наличии в патологическом материале малых количеств пестицида; на 50% — средних количеств, а на 70% и выше — больших количеств фосфорорганических пестицидов.

При определении заведомо известного фосфорсодержащего пестицида найденный процент угнетения холинэстеразы сопоставляют с соответствующей калибровочной кривой и находят количество пестицида в исследуемом материале.

Построение калибровочной кривой. Калибровочную кривую строят по тому пестициду, наличие которого предполагается в исследуемом патматериале.

Для этого необходимо иметь химически чистые пестициды или, в крайнем случае, с известным содержанием активно действующего вещества (АДВ).

В 5 навесок патологического материала по 10 г, заведомо не содержащего фосфорорганические соединения, вносят соответственно 1,0; 5,0; 10,0; 20,0 и 50,0 мг пестицида. Через 30 минут каждую навеску заливают 10 мл хлороформа и экстрагируют

один час. Хлороформные экстракты исследуют, как описано выше, и находят степень угнетения активности холинэстеразы для каждой дозы пестицида. На оси ординат откладывают степень угнетения фермента в процентах, на оси абсцисс — количество пестицида в 1 мл в микрограммах. Чувствительность метода 0,1 мкг в 1 мл (Д. Д. Полоз, А. И. Соломаха, Р. Д. Петухов, 1965 г.).

Энзиматические методы определения фосфорорганических пестицидов в самых различных биологических объектах широко применяются как в медицинской, так и в ветеринарной практике.

Как групповой экспрессный метод, простой по своему выполнению, пригодный даже для полевых исследований, энзиматический метод заслуживает самого серьезного внимания. Но в то же время следует указать на ряд его особенностей, которые необходимо учитывать при пользовании им.

Хотя метод является достаточно специфичным для фосфорсодержащих пестицидов, следует иметь в виду, что имеются и другие вещества, способные угнетать холинэстеразу, а именно: физостигмин, прозерин, из пестицидов — карбаматы и некоторые другие вещества.

При применении энзиматического метода для количественных определений с помощью колориметрии следует пользоваться визуальной колориметрией; так, оптическая плотность окрашенных растворов не пропорциональна концентрации определяемого пестицида, т. е. не подчиняется основному закону колориметрии — закону Бугера, Ламберта, Бера.

Имеется также ряд важных условий, которые трудно поддают учету. Например, активность холинэстеразы (сухая или нативная лошадиная сыворотка) может колебаться довольно в широких пределах, что в значительной степени будет влиять на получаемые результаты.

По своему характеру метод является групповым, качественным, позволяющим делать приближенные количественные оценки.

Метод еще недостаточно изучен при определении фосфорорганических соединений в патологическом материале.

Определение фосфамида в трупном материале *

Принцип. Метод основан на извлечении фосфамида из трупного материала хлороформом, минерализации серной и азотной кислотами органического остатка и фотоэлектроколориметрическом определении фосфора по реакции образования фосфорномолибденового гетерополикомплекса.

Реактивы и растворы: хлороформ; серная концентрированная кислота; восстанавливающий раствор; 2,0 г метола,

* Методика разработана О. А. Алимхановым и Л. Г. Икрамовым.

10,0 г кристаллического сульфата натрия, 300 г метабисульфата натрия растворяют в воде и доводят до 1 л; 34%-ный раствор ацетата натрия; молибдат аммония: 50 г молибденовокислого аммония растворяют в 500 мл 10 н. серной кислоты и разбавляют водой до 1 л; 5%-ный раствор соляной кислоты.

Ход определения. К 100 г измельченного патологического материала прибавляют по каплям 5%-ный раствор соляной кислоты, доводя рН материала до 4,0—5,0, и настаивают с 50 мл хлороформа 30 минут, часто взбалтывая. Слой хлороформа отделяют и извлечения хлороформом повторяют 6 раз, беря каждый раз по 50 мл.

Хлороформные извлечения объединяют, фильтруют и растворитель испаряют на водяной бане при температуре 40—50°. Остаток количественно переносят в колбу Кьельдаля, смывая его водой (15 мл), концентрированной серной кислотой (15 мл) и концентрированной азотной кислотой (30 мл). Смесь нагревают до выделения густых белых паров серного ангидрида. Минерализат количественно переносят в мерную колбу емкостью 500 мл. После охлаждения объем доводят водой до метки и 10 мл этого раствора помещают в другую мерную колбу емкостью 100 мл, туда же приливают 40 мл воды, 5 мл восстанавливающего раствора, 10 мл молибдата аммония и через 10 минут 20 мл 34%-ного раствора ацетата натрия, объем доводят дистиллированной водой до метки и колориметрируют на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром. При расчете пользуются градуировочной кривой, построенной с помощью стандартных растворов однозамещенного фосфата калия.

Определение фосфамида в органах и тканях методом тонкослойной хроматографии *

Принцип. Метод основан на извлечении пестицида бензолом, хроматографировании в тонком слое окиси алюминия на пластинке при подвижном растворителе — хлороформе и проявлении пятен пестицида нитратом серебра, в присутствии щелочи. Чувствительность метода 0,5 мкг фосфамида в пробе.

Реактивы: бензол ч. д. а; хлороформ (перегнанный); окись алюминия хроматографическая; гипс; 20%-ный раствор едкого натра; 1%-ный раствор нитрата серебра; фосфамид.

Приготовление пластинок для хроматографирования. Хроматографическую окись алюминия (90,0) смешивают с гипсом (10,0) и тщательно перемешивают. Затем сухую смесь наносят тонким слоем (в 0,3 мм) на стеклянные пластинки размером 13×18 см и опрыскивают дистиллированной водой из пульверизатора. Для смачивания одной пластинки нужно взять 20—25 мл воды. Пластины высушивают в течение 12 часов при комнатной температуре.

* Метод разработан Т. Г. Аббасовым.

Ход определения. Навеску органов в 2,0 г заливают 2 мл бензола и размельчают в гомогенизаторе в течение одной минуты при 1000 об/мин. Гомогенизированную пробу заливают бензолом и экстрагируют в течение 2 часов при частом встряхивании. Экстракт сливают и упаривают на водяной бане при температуре 50—60° досуха. Остаток растворяют в 0,5 мл бензола и наносят микропипеткой в одну точку на расстоянии 1—1,5 см от нижнего края пластинки. Одновременно с пробами на пластинку наносят стандартные растворы, содержащие от 20 до 100 мкг фосфамида в 1 мл бензола. Пластинку помещают в камеру под углом в 45° в подвижный растворитель так, чтобы хлороформ не доходил до точки нанесения проб. Хроматографирование продолжают до тех пор, пока фронт растворителя не поднимется на высоту 10 см. Пластинку вынимают и сушат в вытяжном шкафу 5 минут, чтобы хлороформ испарился. Затем пластинку сначала опрыскивают 20%-ным раствором едкого натра, затем 1%-ным раствором нитрата серебра и нагревают 2 минуты.

В присутствии фосфамида и его метаболитов на пластинке появляются черные пятна, величина которых пропорциональна его количеству. R_f фосфамида 0,37.

Сопоставив размер пятен стандартных растворов фосфамида и размер пятен исследуемых проб, находим количество присутствующего фосфамида*.

Метод позволяет проводить приблизительную, полуколичественную оценку.

Определение карбофоса и фосфамида в крови**

Принцип. Метод основан на колориметрическом определении красителя, образующегося в результате взаимодействия карбофоса или фосфамида с диазотированной сульфаниловой кислотой в щелочном растворе. Ядохимикат экстрагируют из пробы крови этиловым эфиром и очищают от мешающих определению примесей фильтрованием через слой активированного угля.

Реактивы: этиловый эфир; уголь активированный; 25%-ный раствор едкого натра; натрий-сульфат безводный; сульфаниловая кислота диазотированная; 1,25%-ный раствор в 25%-ном растворе едкого натра (приготовление см. определение фосфорорганических соединений в патологическом материале, стр. 92).

Приготовление стандартных растворов. Стандартные растворы готовят растворением 10 мг фосфамида в мерной колбе в 100 мл дистиллированной воды и 10 мг карбофоса в 100 мл этилового эфира с содержанием препарата 100 мкг/мл.

* Измеряют площадь пятен с помощью кальки и миллиметровой бумаги.

** Метод разработан М. А. Клисенко.

Ход определения. Цельную, свежую кровь (0,2—0,5 мл) вносят в пробирку с притертой пробкой и дважды экстрагируют этиловым эфиром (7—10 мл). Эфирные экстракты объединяют и вносят в хроматографическую колонку, заполненную активированным углем. Перед окончанием хроматографирования колонку промывают 12—25 мл эфира. Элюат собирают в колбочку емкостью 20—25 мл и медленно испаряют эфир на водяной бане при 40—45°. К сухому остатку прибавляют 1,5 мл дистиллированной воды и 1 мл 1,25%-ного раствора диазотированной сульфаниловой кислоты. Пробу погружают в кипящую водяную баню на 5 минут, охлаждают и колориметрируют. Если появляется муть, пробу перед колориметрированием центрифугируют 5 минут при 4000 об/мин.

В присутствии фосфамида или карбофоса раствор окрашивается в розовый цвет.

Для количественного определения содержания препаратов одновременно с пробой готовят шкалу стандартов. В ряд колориметрических пробирок вносят 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мл стандартного раствора, что соответствует 0; 10; 20; 30; 40 и 50 мкг препарата. Если вносят эфирные растворы препаратов, то эфир испаряют на водяной бане при температуре 40—45° досуха. Доводят объем жидкости во всех пробирках дистиллированной водой до 1,5 мл, прибавляют по 1 мл диазотированной сульфаниловой кислоты и погружают пробирки в кипящую водяную баню.

При колориметрировании следует пользоваться синим светофильтром. Окраска проб и стандартов устойчива в течение 30—40 минут.

Определение хлорофоса в молоке*

Принцип. Метод основан на экстракции пестицида из створоженного (или упаренного) молока растворителем, извлечении из маслянистого остатка после удаления растворителя водой, окислении хлорофоса смесью бихромата калия с серной кислотой и определении продукта разложения его на основе реакции Фудживара. Чувствительность 0,2 мг/л. Ошибка определения примерно составляет $\pm 10\%$.

Реактивы и растворы: метилхлорид ч.; серная кислота х. ч. (удельный вес 1,84); бихромат калия х. ч.; едкий натр х. ч.; водные растворы едкого натра 2% и 30%-ный; кислота ортофосфорная х. ч. (удельный вес 1,7) или уксусная х. ч., ледяная; сульфат натрия, безводный, свежепрокаленный; пиридин х. ч. или ч.

Если пиридин дает положительную реакцию по Фудживара, его очищают следующим образом: к 250 мл пиридина добавляют 15 мл 2%-ного раствора едкого натра, крупинку перманганата калия и кипятят 30—40 минут с обратным холодильником.

* Методика разработана Л. А. Стемпковской и И. И. Пашковской.

После охлаждения прибавляют едкий натр до образования двух фаз (20 г), отделяют пиридиновый слой и перегоняют, используя для нагревания глицериновую баню.

Приборы и посуда: колбы конические с притертыми пробками емкостью 250 и 500 мл; прибор для гидролиза (круглодонная колба емкостью 50—100 мл с обратным холодильником на шлифе); колбы круглодонные емкостью 50 мл; колба на 500 мл с обратным холодильником; либиховский холодильник; делительные воронки емкостью 50 мл; чашки Петри; стаканы химические емкостью 80—100 мл; воронки химические (8 см); цилиндры мерные емкостью 100 и 250 мл; колориметрические пробирки емкостью 10—15 мл; термометры (на 100 и 200°); резиновая груша; баня водяная; электроплитка; баня глицериновая; фотоэлектроколориметр; фильтры.

Ход определения. Пестицид из молока можно извлекать двумя методами.

1. К 50 мл молока добавляют 0,3 мл концентрированной ортофосфорной (или уксусной) кислоты и 50 г свежепрокаленного безводного сульфата натрия* и экстрагируют хлорофос из полученной смеси 100 мл метиленхлорида (или серного эфира) в течение 10 минут** при энергичном перемешивании. Экстракт отфильтровывают через бумажный фильтр и после замера его объема удаляют растворитель на водяной бане при температуре 45—50°. Следы растворителя выдувают (тщательно!) при помощи резиновой груши.

2. Молоко (50 мл) подсушивают в чашке Петри на водяной бане (или батарее) при температуре не выше 55° до получения творогообразной массы***. Стеклой палочкой полученную массу переносят в химический стакан и экстрагируют хлорофос метиленхлоридом, взятым в количестве 30—40 мл, или серным эфиром, прибавляя последний дробно по 6—8 мл. Смесь при экстракции слегка подогревают (не выше 40°) на водяной бане и энергично помешивают стеклой палочкой. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбочку и удаляют растворитель на водяной бане (температура 45—50°). Следы метиленхлорида удаляют выдуванием при помощи резиновой груши.

Извлечение хлорофоса из полученного жирного остатка производят следующим образом.

В колбочку с маслянистым остатком добавляют 2 мл дистиллированной воды и взбалтывают содержимое 5 минут при подо-

* Во избежание образования комков сульфат натрия добавляют небольшими порциями при тщательном перемешивании смеси.

** Если сульфат натрия плохо прокален, то для улучшения отделения жидкой фазы створоженного молока от растворителя необходимо увеличить объем метиленхлорида до 150—200 мл.

*** При использовании в качестве растворителя серного эфира молоко следует высушивать более тщательно.

гревания на водяной бане (температура не выше 55°). Смесь охлаждают под струей холодной воды (до затвердевания масла) и водный экстракт фильтруют через бумажный фильтр в колбочку со шлифом. Операцию проводят трижды, внося 2 раза по 2 мл дистиллированной воды и 1 раз — 1 мл. Экстракты объединяют.

К объединенному водному экстракту добавляют 1—2 мл серной кислоты (удельный вес 1,84), 0,6—1,0 г бихромата калия и, присоединив к обратному холодильнику, кипятят содержимое колбы 5—6 минут (считая с момента закипания раствора). После 1—2-минутного отстаивания колбу отсоединяют от холодильника и охлаждают под струей воды. Полученный раствор нейтрализуют 30%-ным раствором едкого натра, вводя последний по каплям при охлаждении и перемешивании до перехода желто-бурой окраски в желто-зеленую, добавляют 3—4 мл 30%-ного раствора щелочи и 8 мл пиридина, раствор тщательно перемешивают и нагревают 15 (± 2) минут на водяной бане (температура $70 \pm 5^\circ$). Смесь охлаждают и (после перенесения в делительную воронку) отделяют слой щелочи. К перенесенному в пробирку (через верхнюю часть делительной воронки) пиридиновому слою добавляют 2 мл дистиллированной воды, смесь перемешивают и измеряют оптическую плотность окрашенного раствора на ФЭК-М в кювете толщиной слоя 20 мм при зеленом светофильтре против дистиллированной воды.

Результаты оценивают по калибровочной кривой, для построения которой берут 0,1—1,2 мл стандартного раствора хлорофоса в воде с содержанием 100 мкг/мл.

Содержание хлорофоса в продукте (в мг/л) рассчитывают по формулам:

а) при извлечении хлорофоса из молока по первому методу:

$$X = \frac{a \cdot c}{b \cdot d},$$

б) при извлечении хлорофоса из молока по второму методу:

$$X = \frac{a}{b},$$

где a — количество хлорофоса, найденное по калибровочному графику, в мкг;

b — вес пробы продукта, в г;

c — объем экстрагента, в мл;

d — объем полученного экстракта, в мл.

Если в лаборатории нет фотоэлектроколориметра, оценить полученные результаты с достаточной для практических целей точностью можно по стандартной (имитационной) шкале, построенной из водных растворов хлористого кобальта и кристалл-виолета.

Для раствора, содержащего 100 мкг хлорофоса, характерна окраска, которая может быть имитирована смешением нижеуказанных окрашенных растворов:

- 8,5 мл 0,02 н. $\text{CoCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;
- 0,14 мл 0,025% кристаллвиолета;
- 1,36 мл дистиллированной воды.

Разбавляя данный раствор, получают растворы, содержащие меньшее количество хлорофоса.

Шкала из указанных реактивов весьма устойчива и может храниться длительное время.

Определение трихлорметафоса-3 в молоке *

Принцип. Пробу молока смешивают с ацетоном, фильтруют, ацетон отгоняют, остаток трихлорметафоса-3 экстрагируют н-гексаном. Гексановый экстракт испаряют и проводят гидролиз трихлорметафоса-3 метилатом натрия; образующийся 2,4,5-трихлорфенол, реагируя с 4-аминоантипирином, образует окрашенное в красный цвет соединение, которое определяют колориметрическим методом.

Чувствительность метода 0,4 мг/л.

Приборы и посуда: фотоэлектроколориметр; прибор для перегонки под вакуумом (колба для отгонки и приемная колба емкостью 0,5 л; холодильник); масляный насос; водяная баня; штатив для пробирок; конические колбы емкостью 0,5 л с пробками; цилиндры емкостью 0,25 л; пробирки 17 × 170 мм.

Реактивы: 1%-ный раствор 4-аминоантипирина (хранят в темной склянке и готовят еженедельно);

1,4%-ный раствор феррицианида калия (хранят в темной склянке и готовят еженедельно);

- н-гексан чистый или очищенный;
- ацетон;

1 н. раствор метилата натрия (2,3 г металлического натрия растворяют в метиловом спирте в двугорлой колбе с обратным холодильником), после охлаждения раствор переносят в мерную колбу емкостью 100 мл и доводят до метки метиловым спиртом, хранят в темной склянке;

спирт этиловый 50%-ный;

фосфатный буфер (80 мл 0,7 М раствора двузамещенного фосфата калия) смешивают с 20 мл 0,7 М раствора однозамещенного фосфата калия в мерной колбе емкостью 1 л, добавляют 500 мл дистиллированной воды, 200 мл 96%-ного этилового спирта и доводят до метки водой, рН буфера 7,0—7,2;

раствор трихлорметафоса-3 (100 мг в 100 мл ацетона) для построения стандартного графика. Для этого берут чистый трихлорметафос-3, содержащий 97—100% АДВ.

Ход определения. Молоко (50 мл) переносят в склянку емкостью 0,5 л с притертой пробкой, добавляют 200 мл ацетона, закрывают пробкой и встряхивают 2 минуты. Через 30 минут смесь фильтруют через бумажный фильтр, осадок белка на фильтре дважды промывают ацетоном по 10 мл и смывы приливают к основному раствору. Затем раствор количественно переносят в колбу и отгоняют ацетон при 0,4—0,6 атм. и температуре 25—30°. Остаток в количестве 25—30 мл переносят в делительную воронку, добавляют 100 мл н-гексана и препарат экстрагируют 2 минуты при энергичном встряхивании. Затем воронку помещают в штатив и оставляют в покое для отслаивания. Нижний водный слой сливают, а верхний слой гексана разливают на две равные части, одну из которых переносят в колбу для вакуумной отгонки. Воронку трехкратно по 0,5 мл ополаскивают н-гексаном, смывы приливают к содержимому колбы и сгущают гексан до 1—2 мл в тех же условиях, что и ацетон. Сгущенный экстракт гексана количественно переносят в пробирку, добавляют 4 капли 1 н. раствора метилата натрия, кладут бусинки для равномерного кипения и нагревают на кипящей бане до полного выпаривания гексана. Затем добавляют 1 мл 50%-ного этилового спирта и дополнительно нагревают на кипящей водяной бане 5 минут.

После охлаждения в пробирку вносят 10 мл 0,07 М раствора фосфатного буфера, встряхивают и оставляют в покое на одну минуту. Затем жидкость фильтруют через бумажный фильтр, добавляют 0,25 мл раствора 4-аминоантипирина. Пробирки энергично встряхивают, добавляют 0,25 мл феррицианида калия, опять энергично встряхивают и помещают на 20 минут в темное место. Раствор наливают в кювету с расстояниями между гранями в 10 мм и колориметрируют при синем светофильтре. Раствор предохраняют от попадания в него прямых солнечных лучей.

Для контрольной пробы берут молоко, не содержащее трихлорметафоса-3. Оптическую плотность отсчитывают по левому барабану. Количество трихлорметафоса-3 в испытуемом растворе находят по калибровочному графику, найденное количество трихлорметафоса-3 умножают на 40.

Стандартный график. Для построения стандартного графика наливают в мерные колбы емкостью 100 мл 1—15 мл стандартного раствора трихлорметафоса-3 в ацетоне и доводят до метки н-гексаном. Анализ начинают с прибавления метилата натрия. Опыт повторяют трехкратно. Каждый раз готовят новый стандартный раствор.

* Методика разработана Г. М. Бошняком и Л. И. Роминой. Авторское свидетельство № 194409 от 17/1 1967 г.

Определение трихлорметафоса-3 в мясе *

Принцип. Метод основан на извлечении пестицида петролейным эфиром, хроматографической очистке экстракта, гидролизе трихлорметафоса-3 с образованием 2,4,5-трихлорфенола и колориметрическом его определении с 4-аминоантипирином. Чувствительность метода 0,4 мкг/кг. При помощи данного метода можно определять 60—90% внесенного трихлорметафоса-3.

Реактивы и растворы: петролейный эфир, фракции с температурой кипения 40—60°; сульфат натрия безводный; окись алюминия для хроматографии первой степени активности, влажностью 5% (3—10%); 1 н. раствор метилата натрия; 1%-ный раствор 4-аминоантипирина; 1,4%-ный раствор феррицианида калия. Фосфатный буфер (80 мл 0,7 М раствора однозамещенного фосфата калия + 20 мл 0,7 М раствора двузамещенного фосфата калия + 200 мл этилового спирта + до 1 л дистиллированной водой (рН буфера 7,2)).

Приборы: хроматографическая колонка; прибор для вакуумной отгонки растворителя.

Ход определения. Мясо (25 г) измельчают ножницами и тщательно растирают в ступке со стеклом. Затем переносят в банку с притертой пробкой, заливают 50—60 мл петролейного эфира и экстрагируют в течение одного часа при температуре 2—4° при периодическом встряхивании.

Хроматографическую колонку заполняют на высоту 3 см (8,0 г) окисью алюминия и сверху на 0,5 см сульфатом натрия безводным. Колонку заполняют под вакуумом. Окись алюминия смачивают эфиром, после чего через колонку пропускают экстракт. Пробу мяса дважды заливают 20 мл петролейного эфира и экстракты, после стекания первой порции, пропускают через колонку. Бесцветный прозрачный элюат переносят в колбу для вакуумной отгонки и отгоняют растворитель при температуре не выше 30° до тех пор, пока в колбе не останется 1—2 мл растворителя. Оставшийся растворитель осторожно сливают из колбы в стеклянный бюкс емкостью 20—30 мл. Колбу 2—3 раза смывают петролейным эфиром (небольшое количество) и сливают его в тот же бюкс. Всего в бюксе должно быть не более 5 мл эфира. К остатку добавляют 5 капель 1 н. раствора метилата натрия, перемешивают и выпаривают досуха. После остывания бюкса к сухому остатку добавляют 10 мл фосфатного буфера. Раствор взбалтывают и фильтруют через бумажный фильтр в пробирки. К полученным фильтратам добавляют 1%-ный раствор 4-аминоантипирина и 1,4%-ный раствор феррицианида калия по 0,35 мл. Пробу ставят в темное место на 20 минут, затем измеряют на фотоэлектроколориметре (ФЭК) в кюветах

* Метод разработан В. А. Серебrenниковой.

с расстоянием между гранями 10 мм, при синем светофильтре, против экстракта из контрольной пробы мяса, не содержащего ядохимиката.

Для контроля берут мясо того же вида животного, не содержащее ядохимикат, и с ним проводят весь анализ. Контрольная проба окрашивается в желтый цвет, а опытные — в розовый в зависимости от концентрации яда в пробе. Количество яда в пробе определяют по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика. Готовят основной раствор трихлорметафоса-3. Для этого 10 мг чистого трихлорметафоса-3 (100%) разводят в мерной колбе емкостью 100 мл петролейным эфиром (1 мл такого раствора содержит 100 мкг трихлорметафоса-3). Из этого раствора готовят рабочие растворы, содержащие в 1 мл 1; 5; 10; 25; 50 и 100 мкг трихлорметафоса-3. В широкие пробирки или химические стаканчики наливают по 1 мл раствора, добавляют по 5 капель метилата натрия и проводят реакцию, как описано выше. Определяют величину оптической плотности растворов на ФЭК. На основании средних данных, полученных из трех параллельных исследований, строят калибровочный график. Каждый опыт проводят со свежеприготовленными стандартными растворами.

ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

К пестицидам, широко применяемым для борьбы с вредителями и болезнями растений и животных, относится большая группа хлорорганических соединений, различных по своему химическому составу, способам получения и действию на вредителей. Сюда входят ароматические хлорпроизводные (ДДТ и его аналоги, эфирсульфонат, гексахлорбензол), производные циклопарафинов (гексахлоран, линдан), циклодиеновые хлорорганические соединения (гептахлор, хлорпроизводные терпенов (полихлорпинен, полихлоркамфен) и др.

Одни из этих веществ типичные инсектициды и лишены акарицидных свойств; другие, напротив, типичные акарициды и лишены инсектицидных свойств.

Среди хлорорганических инсектицидов имеются также вещества с широким диапазоном действия, обладающие инсектицидными и акарицидными свойствами.

Систематическое применение хлорорганических соединений (особенно ДДТ) приводит к возникновению устойчивых популяций вредителей.

Различают высокотоксичные, среднетоксичные и малотоксичные пестициды.

К высокотоксичным относятся гептахлор, линдан, гексахлорбутадиен; к среднетоксичным — технический гексахлоргексан, ДДТ и препараты, приготовленные на его основе, полихлорпинен и полихлоркамфен. Некоторые из этих препаратов способны

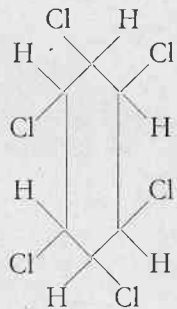
кумулятиваться в организме. Это в первую очередь ДДТ и препараты, приготовленные на его основе, а также технический гексахлорциклогексан. К малотоксичным относят гексахлорбензол и эфирсульфонат. Хлорорганические пестициды малолетучи и стойки во внешней среде, хорошо растворяются в органических растворителях и маслах. Их токсическое действие проявляется при поступлении в организм через органы дыхания, желудочно-кишечный тракт и неповрежденную кожу.

У животных при отравлении хлорорганическими соединениями признаки интоксикации свидетельствуют о нарушении функции нервной системы, поражении паренхиматозных органов, в первую очередь печени и почек.

ДДТ, гексахлоран, гептахлор и другие препараты вызывают длительные остаточные явления, характеризующиеся изменением чувствительности организма к последующему воздействию этих препаратов.

Инсектициды группы ДДТ, гексахлорциклогексан, циклодиеновые соединения особо опасны, так как обладают кумулятивными свойствами.

Гексахлоран (гексахлорциклогексан, ГХЦГ), $C_6H_6Cl_6$, молекулярный вес 290,85.



Технический гексахлорциклогексан — это смесь стереоизомеров, называемых гексахлораном. В его состав входит 55—70% α -изомера, 5—14% β -изомера, 10—15% γ -изомера, 3—5% δ -изомера и др. По внешнему виду представляет собой кристаллы от белого до светло-коричневого цвета, образующие различные по величине комки, маслянистые на ощупь. Запах характерный, напоминающий запах плесени.

В воде нерастворим, хорошо растворяется в органических растворителях.

На огне гексахлорциклогексан плавится и сгорает желтым пламенем с зелеными язычками. Нанесенные на стекло капли раствора гексахлорциклогексана в дихлорэтано быстро испаряются, оставляя беловатое пятно, состоящее из мелких прозрачных бесцветных кристаллов (под микроскопом).

Гексахлорциклогексан получается фотохимическим хлорированием бензола. Описано восемь стереоизомеров гексахлорциклогексана: альфа, бета, гамма, дельта, эпсилон, дзета, эта и тэта.

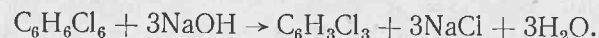
Технический гексахлорциклогексан, кроме перечисленных выше изомеров, содержит гептахлорциклогексан, октахлорциклогексан и некоторые другие соединения.

Для насекомых наиболее токсичен гамма-изомер.

Гексахлоран применяют в виде 12%-ного дуста, 25%-ного порошка на фосфатной муке, 20%-ной минерально-масляной эмульсии. Кроме того, он служит сырьем для изготовления ртурана (этилртуранхлорида, обогащенного гамма-изомером гексахлорана).

Изомеры гексахлорциклогексана отличаются друг от друга по физическим свойствам (температура плавления, растворимость, летучесть и др.). Они устойчивы к воздействию света, различных окислителей и концентрированных кислот (серная, азотная, соляная), даже кипящих.

Под воздействием оснований все изомеры разлагаются с отщеплением хлористого водорода и образованием трихлорбензола:



Реакция протекает особенно легко в органических растворителях, содержащих щелочи.

Гексахлоран применяют для уничтожения жуков, клещей, гусениц, различных вредных насекомых. Для этих целей пригодны эмульсии, водные суспензии, пасты, инсектицидные масла, карандаши и др.

При однократном поступлении в организм гексахлоран обладает средней токсичностью. Средние смертельные дозы ГХЦГ для мышей 500 мг/кг, для крыс 400 и для кошек 300 мг/кг.

Кумулятивные свойства гексахлорана резко выражены. При ежедневном введении кошкам 5 мг/кг этого препарата животные погибали через 4½ месяца (коэффициент кумуляции 1).

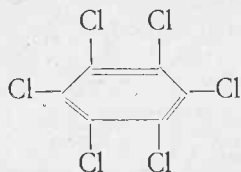
Наиболее чувствительны к гексахлорану телята, лошади и ягнята. Минимальная смертельная доза для лошадей 100 мг/кг, для крупного рогатого скота 200 мг/кг.

Характерными клиническими признаками отравления животных гексахлораном являются: повышенная чувствительность, периодически повторяющиеся приступы судорог, угнетенное состояние, парезы, параличи и конвульсивное откидывание головы, резкое нарушение функций сердца и органов дыхания. Кроме того, наблюдается слюнотечение, обильное отделение мочи, непроизвольное отделение кала, потливость.

В организме гексахлоран накапливается в жировой ткани и частично в мышечной ткани, печени, почках. Выделяется он с мочой, каловыми массами, а у лактирующих животных — с молоком.

Допустимое количество остатков гексахлорана в продуктах — 1 мг/кг.

Гексахлорбензол, C_6Cl_6 , молекулярный вес 284,8.



Гексахлорбензол — это белые пластинчатые кристаллы, нерастворимые в воде, хорошо растворимые в органических растворителях.

Выпускается в виде дуста (порошок светло-серого цвета), содержащего 50% гексахлорбензола в смеси с каолином.

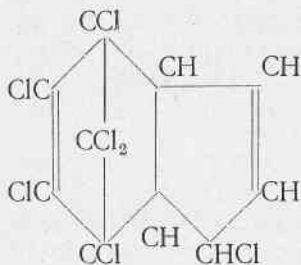
Применяется для протравливания семян зерновых культур (пшеница, рожь) только против твердой головни.

Гексахлорбензол малотоксичен. LD_{50} для белых мышей составляет 4000 мг/кг, для крыс 3500 мг/кг веса животных.

Препарат обладает выраженными кумулятивными свойствами.

Клиническая картина отравления животных гексахлорбензолом проявляется в раздражении слизистых оболочек глаз и верхних дыхательных путей, двигательном возбуждении, сменяющемся угнетением, треморе, нарушении координации движений, клонико-тонических судорогах.

Гептахлор (1, 4, 5, 6, 7, 8, 8-гептахлор-4,7-эндометилен-3а, 4, 7, 7а-тетрагидроинден), $C_{10}H_5Cl_7$, молекулярный вес 373,35.



Это белое кристаллическое вещество со слабым запахом камфары. Температура плавления 92—96°. Летучесть $6 \cdot 10^{-3}$ мг/л при 760 мм ртутного столба.

Технический продукт имеет вид мягкого воскообразного вещества рыжевато-коричневого цвета, содержит до 67% ГПХ и 33% примесей восковидной консистенции, плавится при температуре 45—74°. Практически нерастворим в воде, растворяется в этаноле до 4,5%, хорошо растворим в четыреххлористом углеороде, ксилоле, метилнафталине (до 40%) и в 0-дихлорбензоле.

Гептахлор более устойчив в щелочных средах, чем хлориндан и ДДТ.

Препарат рекомендован в качестве добавки к протравителям и для опрыскивания всходов сахарной свеклы и кукурузы.

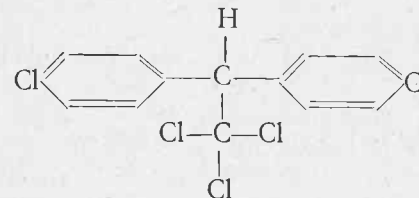
Он высокотоксичен для человека и животных. LD_{50} для крыс 90—350 мг/кг, смертельная доза для кошек 100 мг/кг, пороговая 10 мг/кг.

Гептахлор обладает резко выраженными кумулятивными свойствами.

Основные симптомы острого отравления гептахлором при поступлении через органы дыхания следующие: слюнотечение, рвота, гнойные выделения из глаз и носа, нарушение движений, мышечная атония, клонико-тонические судороги.

Остаточные количества гептахлора в продуктах питания и кормах не допускаются.

ДДТ (4,4'-дихлордифенилтрихлорэтан), $C_{14}H_9Cl_5$, молекулярный вес 354,51.



Технический ДДТ содержит около 80% дихлордифенилтрихлорэтана, $(ClC_6H_4)_2CH \cdot CCl_3$. Это кристаллическое вещество, от белого до светло-коричневого цвета, характерного запаха, образующее различной величины куски, маслянистые на ощупь. На огне плавится и сгорает желтым пламенем. Капли дихлорэтанового раствора ДДТ на стекле испаряются медленно, иногда более суток.

Технический ДДТ, кроме 4,4'-дихлордифенилтрихлорэтана, содержит ряд других веществ, в том числе значительное количество изомера-2,4' и изомера-2,2'.

Из всех продуктов, входящих в состав технического ДДТ, наиболее токсичен для насекомых 4,4'-дихлорфенилтрихлорэтан; изомерный ему 2,4'-дихлордифенилтрихлорэтан менее токсичен.

Чистый 4,4'-дихлордифенилтрихлорэтан — это белое кристаллическое вещество, температура плавления его 108,5—109°, температура кипения с частичным разложением при 1 мм ртутного столба 185°. Технический ДДТ из-за имеющихся примесей плавится при более низкой температуре.

Как чистый 4,4'-дихлордифенилтрихлорметилметан, так и технический ДДТ нерастворим в воде. Лучшими растворителями ДДТ являются кетоны, ароматические углеводороды и галоидопроизводные жирного и ароматического рядов.

ДДТ чрезвычайно стойкое вещество, его токсические свойства сохраняются 7—15 лет.

Гидролиз ДДТ идет медленно, лишь при повышенных температурах он достигает заметной величины. В результате гидролиза образуется 4,4'-дихлордифенилуксусная кислота.

Едкие щелочи в спиртовых растворах быстро и количественно отщепляют от ДДТ одну молекулу хлористого водорода с образованием 1,1-дихлор-2,2 бис-(*p*-хлорфенил)-этилена.

ДДТ выпускается промышленностью в виде дустов, смачивающихся порошков, 20%-ной минерально-масляной эмульсии. Применяется как средство борьбы с многими жуками, личинками, гусеницами, мухами — вредителями плодово-ягодных, овощных, зерновых и технических культур.

При однократном введении внутрь ДДТ обладает средней токсичностью. LD₅₀ для белых мышей 200 мг/кг, для крыс 300 мг/кг.

Кумулятивные свойства ДДТ выражены резко: при многократном введении внутрь суммарное количество его, вызывающее гибель животных, составляет только $\frac{3}{4}$ смертельной дозы, установленной в остром опыте (коэффициент кумуляции 0,75).

ДДТ способен накапливаться в органах и тканях и особенно в жировой ткани. Из организма он выделяется очень медленно с мочой, калом и молоком. Молодняк более чувствителен к ДДТ, чем взрослые животные.

Клинические признаки при отравлении животных ДДТ характеризуются пугливостью животных и повышенной возбудимостью их. У животных нарушается координация движений, появляется слюнотечение, тремор, усиливающийся при движениях и попытках принимать корм. Затем появляются эпилептиформные припадки и клонико-тонические судороги с запрокидыванием головы. Погибает животное от паралича центра дыхания. При хронических отравлениях наблюдается жировое перерождение печени и других органов.

В связи с высокой стойкостью и резко выраженными кумулятивными свойствами ДДТ использование его в сельском хозяйстве ограничено.

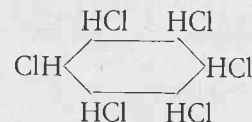
Запрещается: 1) обрабатывать всеми препаратами ДДТ молочный и убойный скот, фуражные культуры и кукурузу, зеленую массу которой используют на корм скоту и силос;

2) обрабатывать масляными эмульсиями, пастами, 30—50%-ными смачивающимися порошками зерновые, бобовые культуры и кукурузу;

3) обрабатывать масляными эмульсиями и пастами овощи и плодоягодные культуры после цветения.

В молоке, масле, муке остаточные количества ДДТ не допускаются. Допустимые остаточные количества в овощах и фруктах — 1 мг/кг.

Гамма-изомер гексахлорциклогексана (линдан, гаммексан), C₆H₆Cl₆, молекулярный вес 290,82.



Гамма-изомер гексахлорциклогексана представляет собой белый кристаллический порошок без выраженного специфического запаха, нерастворимый в воде, но хорошо растворяющийся в органических растворителях. Температура плавления 111,8—112,8°. Устойчив к действию света, окислителей и кислот. Под влиянием щелочей или высокой температуры разлагается с отщеплением HCl и образованием трихлорбензола.

Используется в виде дустов, суспензий и эмульсий для борьбы с гусеницами, личинками, жучками, тлями и растительными клопами.

Токсичность линдана при однократном воздействии в несколько раз выше, чем гексахлорана. LD₅₀ при введении внутрь для мышей 100 мг/кг, для крыс 200 мг/кг.

Кумулятивные свойства у гамма-изомера выражены значительно слабее, чем у технического гексахлорана.

Допустимые остаточные количества в пищевых продуктах — 2 мг/кг.

Полихлорированные терпены

К полихлорированным терпенам относятся: хлортен, хлорфен, полихлорпинен, полихлоркамфен и токсафен.

Их особенностью является универсальность действия на вредителей, они действуют не только как инсектициды, но и как акарициды и достаточно устойчивы. Эти препараты обладают свойствами контактных и кишечных инсектицидов. Проникая в тело насекомых через кожные покровы или кишечник, они действуют на нервную систему. Токсическое влияние проявляется лишь после определенного латентного периода.

В обычных применяемых дозах препараты не опасны для пчел.

Из препаратов этой группы наиболее перспективны полихлорпинен, полихлоркамфен и токсафен.

Полихлорпинен, C₁₀H₁₁Cl₇. Продукт хлорирования пиненовой фракции скипидара, состоящий из сложной смеси хлорированных бициклических соединений с общим содержанием хлора 64—65%.

Это светло-желтая или коричневая сиропообразная жидкость, с запахом терпенов, очень плохо растворяется в воде, хорошо — в органических растворителях.

Выпускается в виде 65%-ного концентрата, содержащего 65% действующего вещества, 20% веретенного или трансформаторного масла и 15% вспомогательных веществ — ОП-7 или ОП-10. С водой смешивается в любых соотношениях, образуя непрозрачные молочно-белые эмульсии.

Применяется преимущественно для борьбы со свекловичным долгоносиком и колорадским жуком, а также с вредителями лесов и для уничтожения рыб нежелательных пород. В животноводстве применяется для лечения овец, пораженных чесоткой, для борьбы с иксодовыми клещами и как репеллент.

При однократном введении внутрь он среднетоксичен, а при поступлении через органы дыхания высокотоксичен. LD₅₀ для крыс 350 мг/кг, для мышей 240 мг/кг, для кур 800 мг/кг.

Концентрация, обуславливающая гибель животных, лишь в 2—3 раза выше концентраций, не вызывающих признаков отравления.

Кумулятивные свойства полихлорпинена выражены слабее, чем у ДДТ, гексахлорана и препаратов диенового синтеза.

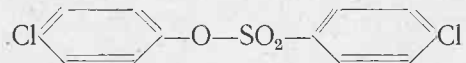
Клиническая картина отравления кур полихлорпиненом характеризуется угнетением, снижением аппетита, поносом, поражением нервной системы: нарушением координации движений, птица с трудом опирается на ноги, отмечается повышенная рефлекторная возбудимость, тремор, судорожное подергивание, мажущие движения. Такое состояние периодически сменяется приступами клонико-тонических судорог.

Остаточные количества полихлорпинена в пищевых продуктах, овощах, фруктах и в кормах, предназначенных для лактирующих животных, не допускаются.

Полихлоркамфен (токсафен, муртокс, мелипакс), C₁₀H₁₀Cl₈. Это продукт каталитического хлорирования камфена. Представляет собой густую жидкость от светло-коричневого до темно-коричневого цвета со слабым специфическим запахом. Хорошо растворяется в маслах, ацетоне, бензоле, толуоле и др. В воде не растворяется. Содержит 67—69% хлора. Разлагается в присутствии щелочей и при действии ультрафиолетового света.

Применяется в борьбе со свекловичным долгоносиком и с другими вредителями сахарной свеклы. Средняя смертельная доза препарата для крыс 350 мг/кг, для собак 15—40 мг/кг.

Эфирсульфонат (овотран, овохлор, хлорфензон, парахлорфенилхлорбензолсульфонат), C₁₂H₈Cl₂SO₂, молекулярный вес 287,06.



Химически чистый парахлорфенилхлорбензолсульфонат — белое кристаллическое вещество со слабым запахом; температура плавления его 87°; практически нерастворим в воде, плохо растворим в парафиновых углеводородах, хорошо — в ароматиче-

ских и галоидопроизводных углеводородах, спиртах, кетонах и эфирах; при комнатной температуре устойчив к действию воды, кислот и оснований.

Технический препарат — кристаллическое вещество коричневого цвета, со слабым эфирным запахом, температура плавления около 65°.

Эфирсульфонат выпускается в виде 50%-ного смачивающегося порошка.

Применяется в борьбе с растительноядными клещами. Обладает овицидными свойствами. Малотоксичен для теплокровных животных. LD₅₀ для белых мышей 1475 мг/кг, для белых крыс 2650 мг/кг.

Клиническая картина острого отравления характеризуется вялостью животного, расширением зрачков, нарушением координации движений, пугливостью, одышкой, тремором, тоническими и клоническими судорогами.

Максимально допустимые остаточные количества в плодах — 5 мг/кг.

Обнаружение и определение гексахлорана

Из патологического материала гексахлоран (гексахлорциклогексан) можно изолировать перегонкой с водяным паром. Для этого 200—300 г материала тщательно измельчают, помещают в колбу емкостью 750—1000 мл, прибавляют дистиллированную воду до образования кашицеобразной массы, подкисляют раствором щавелевой кислоты (по лакмусу) и перегоняют с водяным паром. Берут 300 мл дистиллята, который почти всегда содержит твердые частицы гексахлорана. Таким путем удается изолировать гексахлоран при содержании 25 мг его и более во взятом материале.

После дистилляции паровыводящую трубку и холодильник промывают эфиром. Эфирный раствор смешивают с дистиллятом, который повторно извлекают эфиром, эфирные извлечения соединяют вместе и промывают водой. Эфир отделяют (в делительной воронке), фильтруют через двойной сухой бумажный фильтр, испаряют при комнатной температуре до нескольких миллилитров и испытывают.

Качественное обнаружение. 1. Часть эфирного раствора и небольшое количество водного или спиртового раствора едкого кали или натра помещают в колбу, снабженную обратным холодильником, и в течение часа нагревают на кипящей водяной бане. К жидкости прибавляют разбавленную 1:1 азотную кислоту до кислой реакции и 10%-ный раствор нитрата серебра. Образование белого осадка (или белая муть), растворимого в растворе аммиака, взятом в избытке, и вновь выпадающего в осадок при добавлении азотной кислоты, взятой в избытке, указывает на присутствие хлориона, образовавшегося при

гидролизе гексахлорана раствором щелочи. Параллельно проводят контрольный опыт с одними реактивами. Чувствительность реакции — 0,04 мг.

2. Часть эфирного извлечения смешивают с 7—8 мл этилового спирта, помещают в колбу, закрывают пробкой с обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане. Через холодильник в колбу небольшими порциями вносят металлический натрий. Нагревание и прибавление металлического натрия производят в течение 30 минут (не менее). После этого спирт испаряют на водяной бане, остаток растворяют в нескольких миллилитрах дистиллированной воды и в избытке прибавляют разбавленную 1:1 азотную кислоту и 10%-ный раствор нитрата серебра — выделение белого, творожистого осадка указывает на наличие иона хлора.

Соотношение этилового спирта и металлического натрия должно быть 10:1.

3. Третью часть эфирного извлечения смешивают с 2 мл концентрированной серной кислоты, 0,1 г нитрата натрия и нагревают при 125—130° в течение 10 минут.

Продукты нитрования извлекают эфиром. Эфир испаряют, а к остатку прибавляют спиртовой раствор едкого кали или натра и ацетон. Появление розовой или красно-фиолетовой окраски указывает на присутствие продуктов нитрования гексахлорана. Удастся обнаруживать 3—4 мг вещества в пробе.

Совокупность положительных результатов трех реакций дает возможность сделать заключение о наличии гексахлорана в исследуемом объекте.

Количественное определение. Принцип. Количество гексахлорана определяют по количеству иона хлора, образовавшегося при гидролизе гексахлорана спиртовой щелочью. Ион хлора определяют методом Фольгарда — титрованием избытка нитрата серебра роданистым аммонием в присутствии как индикатора железо-аммонийных квасцов.

Ход определения. Остаток после испарения всей эфирной вытяжки заливают 10 мл 0,3 н. спиртового раствора едкого натра и нагревают на кипящей водяной бане 2 часа. После этого к жидкости прибавляют азотную кислоту в избытке, 1 мл раствора железо-аммиачных квасцов, 30—40 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра и титруют 0,1 н. раствором роданистого аммония до появления красного окрашивания.

1 мл 0,1 н. AgNO_3 соответствует 9,694 мг гексахлорана.

Расчет производят по формуле:

$$X = (a - b) \cdot 9,694,$$

где X — содержание гексахлорана во взятой навеске, в мг;

a — количество миллилитров 0,1 н. раствора нитрата серебра;

b — количество миллилитров 0,1 н. раствора роданистого аммония (М. Д. Швайкова).

Колориметрическое определение гексахлорана в биологических средах (кровь, моча, кал) *

Принцип. Колориметрический метод определения гексахлорана в биологических средах основан на экстракции пестицида из биосубстратов эфиром, хроматографической очистке от мешающих примесей, восстановления гексахлорана цинком в уксуснокислой среде до бензола, нитровании его в динитробензол и определении последнего реакцией со щелочью в эфирно-ацетоновом растворе с образованием соединения, имеющего характерную фиолетовую окраску. Чувствительность метода — 0,01 мг.

Реактивы: уксусная кислота ледяная х. ч. (500 мл кислоты кипятят с 10 г цинка 2 часа, а затем перегоняют); серная кислота х. ч. (удельный вес 1,84); нитрат аммония, высушенный при 80°; 40%-ный раствор едкого натра, слитый с осадка после 12-часового отстаивания; этиловый эфир; нитрующая смесь (10 г нитрата аммония растворяют в 100 мл серной кислоты); эфирно-ацетоновая смесь (30 мл смешивают с 70 мл ацетона, раствор хранят в склянке с хорошо притертой пробкой в темном месте); стандартный раствор гексахлорана в ледяной уксусной кислоте х. ч., содержащий 0,01 мг/мл; порошок цинка х. ч., без мышьяка.

Ход определения. Цельную кровь (0,5—1 мл) экстрагируют этиловым эфиром (5—7 мл) 30 минут, раствор эфира сушат безводным сульфатом натрия (5—10 мг). Высушенный над сульфатом натрия раствор гексахлорана в эфире переносят в колбу реакционного прибора и удаляют эфир на водяной бане, нагретой до 40°. К сухому остатку приливают 2 мл ледяной уксусной кислоты и вносят 0,1 г порошка цинка. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и отводной конец прибора погружают в узкую пробирку с 1 мл нитрующей смеси. Прибор помещают на электрическую плитку и нагревают в течение часа. Через прибор при помощи аспиратора, соединенного с очистительной системой, продувают воздух со скоростью 2—3 пузырька в минуту (рис. 5).

После окончания восстановления нитрующую смесь переносят из пробирки в делительную воронку, промывают пробирку

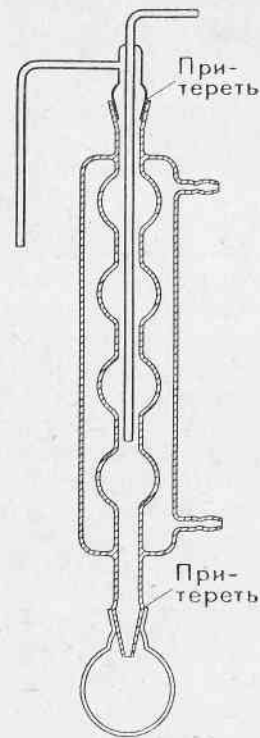


Рис. 5. Прибор для определения гексахлорана.

* Метод Шехтера и Хориштейна в модификации М. А. Клисенко.

6 мл дистиллированной воды и вливают промывную воду в воронку. Затем в воронку наливают 10 мл эфира и встряхивают 3 минуты.

После полного расслаивания смеси слой воды спускают, а слой эфира промывают водой (10 мл). Эфир отделяют от воды, быстро через воронку сливают в колориметрическую пробирку и испаряют на водяной бане до 3 мл. Затем прибавляют 5 мл ацетона, 1 мл 40%-ного раствора едкого натра и раствор энергично взбалтывают 2 минуты. Через 20 минут сравнивают интенсивность окраски пробы со стандартной шкалой. Шкалу стандартов готовят из известных количеств гексахлорана (0,01; 0,02; 0,03; 0,05 мг); обработанных так, как было описано при обработке пробы. При фотоколориметрировании пользуются зеленым светофильтром.

Обнаружение и определение ДДТ

По общему химико-токсикологическому анализу ДДТ не перегоняется с водяным паром. Для извлечения ДДТ из патологического материала рекомендован этиловый эфир и другие органические растворители (бензол, четыреххлористый углерод, спирт и др.).

Экстракт отфильтровывают, органический растворитель испаряют, а остаток исследуют качественными реакциями и проводят количественные определения.

Качественное обнаружение. 1. Часть остатка по испарении органического растворителя кипятят в пробирке с 2—3 мл 3%-ного спиртового раствора едкого кали или натра. После охлаждения жидкость подкисляют азотной кислотой и прибавляют раствор нитрата серебра — появление белой мути или осадка, растворимого в NH_4OH , укажет на наличие иона хлора, т. е. органически связанного хлора.

Параллельно проводят контрольный опыт, но без нагревания (гидролиза ДДТ не проводят).

2. Часть остатка смешивают с 2 мл раствора 0,1 г сухого нитрата натрия в концентрированной серной кислоте и осторожно, избегая обугливания, нагревают при температуре 125—130° в течение 10 минут.

После охлаждения продукт нитрования выливают в воду (10—15 мл) и повторно (2—3 раза) извлекают небольшими порциями эфира. Слой эфира отделяют, фильтруют через маленький фильтр и эфир испаряют в небольшой фарфоровой чашке при комнатной температуре.

При действии на остаток раствором метилата натрия в метиловом спирте (4 г металлического натрия в 100 мл метилового спирта) появляется сине-фиолетовое окрашивание. Чувствительность реакции (на чистом препарате) равна 0,05 мг ДДТ в пробе.

3. При нагревании ДДТ со смесью концентрированной серной и ледяной уксусными кислотами раствор окрашивается в желтый цвет. Чувствительность реакции 0,1 мг.

4. При нагревании ДДТ в безводном пиридине, содержащем ксантгидрол и твердую щелочь, появляется красное окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству ядохимиката. Чувствительность реакции 10 мкг (Stiff, Castillo, 1945).

Количественное определение ДДТ в молоке и мясе на основе метода Шехтера и Галлера *

Принцип. Метод основан на извлечении ДДТ из объекта исследования четыреххлористым углеродом, очистке экстракта серной кислотой, нитровании и обработке нитропродукта этанольным раствором едкого кали с образованием окраски синего цвета.

Реактивы: четыреххлористый углерод х. ч.; бензол х. ч.; эфир этиловый (для наркоза); кислота серная х. ч. (удельный вес 1,84); сульфат натрия безводный; нитрующая смесь (перед употреблением смешивают равные объемы дымящей азотной кислоты и серной кислоты с удельным весом 1,84); едкий натр, 2%-ный раствор; этиловый спирт абсолютный; едкий кали, 5%-ный раствор в этиловом спирте (5 г едкого кали и 2 г мочевины, взятой в качестве консерванта, растворяют в 100 мл абсолютного этилового спирта и кипятят с обратным холодильником на водяной бане 15 минут. После охлаждения раствор фильтруют и хранят в плотно закрытом сосуде. Раствор годен к употреблению в течение недели); кислота азотная, дымящая (удельный вес 1,49—1,5). Азотную кислоту (удельный вес 1,5) готовят перегонкой смеси азотной кислоты (удельный вес 1,4) с серной кислотой (удельный вес 1,82) — 1:1. Если нет реторты, можно взять колбу Вюрца с асбестовой пробкой.

В качестве холодильника используют внутреннюю трубку метрового холодильника Либиха. Из 300 мл азотной кислоты (удельный вес 1,4) отгоняют 80—90 мл кислоты с удельным весом 1,45. Полученную кислоту перегоняют вторично. Из 300 мл азотной кислоты с удельным весом 1,45 получают 100—110 мл кислоты с удельным весом 1,49—1,5. Хранят в темноте в склянке из темного стекла с хорошо притертой пробкой.

Ход определения. Мясо (25 г) измельчают, помещают в коническую колбу объемом 100 мл с притертой пробкой, заливают четыреххлористым углеродом (50 мл), несколько раз встряхивают и оставляют на сутки. Экстракт сливают в делительную воронку емкостью 300 мл. Колбу с исследуемым мясом дважды ополаскивают четыреххлористым углеродом (по 25 мл) и сливают его в ту же делительную воронку.

* Метод разработан Г. П. Вавилиной.

При исследовании молока 25 мл его извлекают 50 мл четыреххлористого углерода в делительной воронке в течение 2—3 минут, оставляют на 30—40 минут и сливают нижний слой. Молоко повторно обрабатывают четыреххлористым углеродом (50 мл) и экстракты объединяют.

В делительную воронку с полученными экстрактами прибавляют небольшими порциями 50 мл серной кислоты с удельным весом 1,84, встряхивают 5 минут, оставляют жидкость расслаиваться и сливают серную кислоту. Экстракт промывают серной кислотой до тех пор, пока слой кислоты не станет бесцветным (3—4 раза). После этого экстракт переносят в круглодонную колбу объемом 150 мл и испаряют четыреххлористый углерод на водяной бане под вакуумом (водоструйный насос).

После удаления четыреххлористого углерода колбу с остатком помещают в сосуд со льдом, добавляют 4 мл охлажденной до 0° нитрующей смеси и нагревают 40 минут на кипящей водяной бане. Колбу охлаждают и содержимое переносят в делительную воронку с ледяной дистиллированной водой (15 мл). Колбу трижды споласкивают этой же водой (всего 25 мл) и сливают ее также в делительную воронку. В воронку добавляют 20 мл этилового эфира и встряхивают 2—3 минуты. Нижний слой воды сливают в другую такую же делительную воронку и извлекают по 10 мл эфира дважды таким же образом. Все делительные воронки дважды промывают эфиром по 5 мл. Все эфирные экстракты и эфир после промывки воронки объединяют.

Объединенный эфирный экстракт промывают 2%-ным раствором едкого натра (25 мл) до тех пор, пока нижний слой не станет бесцветным. Во избежание разложения продукта нитрования ДДТ надо следить, чтобы контакт эфирного экстракта со щелочью был насколько возможно коротким.

К промытому эфирному экстракту в делительной воронке добавляют 1—2 г свежепрокаленного сульфата натрия и оставляют на 10 минут. Высушенный эфирный экстракт переносят количественно в коническую колбу объемом 100 мл и испаряют эфир на водяной бане при температуре 40—45° досуха. Остаток дополнительно сушат в сушильном шкафу 20—30 минут при температуре 80—90°.

В колбу с сухим остатком прибавляют 5 мл бензола, слегка встряхивают ее для растворения остатка и добавляют 2 мл раствора едкого кали в этаноле. После перемешивания раствор в присутствии ДДТ окрашивается в синий цвет. Наиболее интенсивно раствор окрашивается через 5 минут после добавления спиртового раствора едкого кали, после чего интенсивность окраски начинает постепенно уменьшаться.

Колориметрирование проводят всегда через один и тот же промежуток времени после прибавления спиртового раствора едкого кали.

Колориметрирование проводят в кюветах с толщиной слоя раствора 10 мм при длине волны 584 мкм (ФЭК Н-57), шестой светофильтр. По калибровочному графику находят содержание ДДТ в пробе.

Построение калибровочного графика. На аналитических весах взвешивают 20 мг чистого 4,4'-дихлордифенилтрихлорметилметана (температура плавления 108—109°), переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, добавляют 60—70 мл четыреххлористого углерода, встряхивают для растворения навески и доводят объем жидкости четыреххлористым углеродом до метки. В 1 мл раствора содержится 0,2 мг ДДТ. Берут 5 мл этого раствора, переносят в мерную колбу емкостью 50 мл и доводят объем жидкости четыреххлористым углеродом до метки. В 1 мл раствора содержится 20 мкг ДДТ. Берут пипеткой 1, 2, 3, 4 и 5 мл этого раствора, вносят в 25 мл молока (контрольного) и проводят анализ, как было описано выше.

Полученные величины оптической плотности пропорциональны концентрациям ДДТ. Показания оптической плотности, соответствующие определенным количествам ДДТ, выводят как средние результатов 2—3 параллельных анализов. На основании полученных данных строят график, откладывая на оси абсцисс количества ДДТ, а на оси ординат—величины оптической плотности.

Калибровочные графики для определения ДДТ в мясе и молоке расположены под углом в 45° и представляют прямую линию.

Определение ДДТ, γ -ГХЦГ, ДДД, ДДЕ, гептахлора и некоторых других хлорорганических пестицидов в молоке, сливочном масле, рыбе, мясе, крови и желчи*

Принцип. Метод основан на извлечении препаратов из исследуемой пробы органическими растворителями, очистке экстракта и последующем хроматографировании в тонком слое окиси алюминия. Подвижным растворителем служит н-гексан. Пятна определяемых препаратов обнаруживают после опрыскивания раствором нитрата серебра и аммиака в ацетоне с последующим облучением ультрафиолетовым светом. Количество препаратов определяют визуальным сравнением интенсивности окраски и размера пятен проб и стандартных растворов.

Реактивы и растворы: н-гексан (или петролейный эфир с температурой кипения 40—70°), диэтиловый эфир, хлороформ, четыреххлористый углерод;

окись алюминия для хроматографии второй степени активности или силикагель марки КСК-2, размер частиц 100 меш (0,12—0,15 мм);

* Методическое письмо, составленное М. А. Клисенко и З. Ф. Юрковой, ВНИИГИНТОКС. Киев, 1967.

насыщенный раствор безводного сульфата натрия в серной кислоте с удельным весом 1,84 (100 г безводного сульфата натрия растворяют в 1 л серной кислоты);

проявляющий реактив (растворяют 0,42 г нитрата серебра в 5 мл дистиллированной воды, прибавляют 2,5 мл аммиака с удельным весом 0,9 и доводят объем раствора до 100 мл ацетоном);

сульфат натрия безводный;

стандартные растворы пестицидов (10 мг ДДТ, ГХЦГ или другого пестицида растворяют в 100 мл диэтилового эфира или другого растворителя);

калий едкий х. ч.;

спирт этиловый;

сульфат кальция ч. д. а. (просушивают в сушильном шкафу при температуре 150° в течение 6 часов, хранят в банке с притертой пробкой).

Приборы и посуда: делительные воронки на 100, 250, 500 мл; мерные колбы на 50, 100 мл; конические колбы на 250, 500 мл с притертыми пробками; прибор для отгонки растворителей; колбы круглодонные; пульверизатор стеклянный; камера для хроматографирования; стеклянный сосуд с притертой крышкой (можно использовать эксикатор); медицинский шприц на 1 мл для нанесения стандартных растворов; бани водяные; прибор для встряхивания; ультрафиолетовая лампа марки ПРК-2 или ПРК-4; пластинки для хроматографирования (стеклянную пластинку 9×12 см тщательно промывают содовой водой, хромовой смесью, дистиллированной водой и высушенную покрывают сорбционной массой, которую готовят из окиси алюминия следующим образом: 50 г окиси алюминия, просеянной через сито 100 меш, смешивают с 5 г сульфата кальция в фарфоровой ступке, переносят в коническую колбу, прибавляют 75 мл дистиллированной воды и встряхивают 15 минут на приборе для встряхивания, чтобы удалить пузырьки воздуха. Это количество сорбционной массы наносят на 13 пластинок. 10,0 г сорбционной массы наливают на пластинку и, покачивая, равномерно распределяют по поверхности. Для анализа молока и крови готовят пластинки с более тонким слоем — 5,0 г сорбционной массы. Сушат пластинки при комнатной температуре в течение ночи и хранят в эксикаторе).

Ход определения. *Рыба, мясо.* Мясо пропускают через мясорубку. Рыбу очищают от чешуи и внутренних органов и тоже пропускают через мясорубку. Берут 50 г пробы, заливают 40 мл н-гексана, взбалтывают 1—2 минуты, разбивают образовавшиеся комочки и оставляют стоять 30 минут. Экстракцию повторяют дважды. Экстракты объединяют, переносят в делительную воронку, прибавляют 10 мл насыщенного раствора безводного сульфата натрия в серной кислоте и осторожно встряхивают несколько раз. Отделяют органический слой. Обработку

повторяют, пока кислота не станет бесцветной. Сушат экстракт над безводным сульфатом натрия, переносят в прибор для отгонки и отгоняют растворитель до 0,1 мл.

Молоко. Готовить пробы молока к хроматографированию можно одним из следующих способов.

Первый способ: к 50 мл молока прибавляют концентрированную серную кислоту до почернения пробы (30—40 мл). После охлаждения до 10—15° исследуемый раствор переносят в делительную воронку и экстрагируют н-гексаном 3 раза порциями по 25 мл. Для полного извлечения воронку встряхивают 1—2 минуты и оставляют на 30 минут для разделения слоев. При образовании эмульсии прибавляют 1—2 мл этилового спирта. Экстракты объединяют в делительной воронке, прибавляют 10 мл концентрированной серной кислоты, насыщенной безводным сульфатом натрия, и осторожно встряхивают несколько раз. Отделяют органический слой. Очистку повторяют, пока кислота не станет бесцветной (3—4 раза). Сушат органический слой над безводным сульфатом натрия, переносят в прибор для отгонки растворителя и отгоняют до 0,1 мл.

Второй способ: 50 мл молока выпаривают досуха на кипящей водяной бане. Сухой остаток растирают и экстрагируют н-гексаном 2 раза по 25 мл 30 минут. Экстракты объединяют и встряхивают с 10 мл концентрированной серной кислоты, насыщенной безводным сульфатом натрия. Эту операцию повторяют до тех пор, пока серная кислота не станет бесцветной. После высушивания экстракта над безводным сульфатом натрия растворитель отгоняют до 0,1 мл.

Сливочное масло (20 г) растапливают в круглодонной колбе на водяной бане, прибавляют 50 мл ацетона и тщательно перемешивают до растворения жира. Затем прибавляют 10 мл ледяной дистиллированной воды и охлаждают на льду 15 минут. Ацетоно-водный экстракт сливают и процедуру повторяют 2 раза. Все экстракты сливают в круглодонную колбу и отгоняют ацетон на водяной бане. ДДТ трижды экстрагируют из оставшегося водного экстракта н-гексаном порциями по 10 мл. Гексановые экстракты сливают в делительную воронку и обрабатывают насыщенным раствором безводного сульфата натрия в серной кислоте до тех пор, пока кислота не станет бесцветной (3—4 раза). Очищенный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, упаривают до небольшого объема (0,1 мл).

Кровь, желчь. 0,2—2 мл цельной крови (или желчи) помещают в пробирку с пробкой, наливают 5—10 мл диэтилового эфира и экстрагируют. Экстракцию повторяют 3 раза. Экстракт декантируют. Сливают все порции экстракта, сушат над безводным сульфатом натрия и упаривают до 0,1 мл.

Хроматографирование. На хроматографическую пластинку на расстоянии 1,5 см от края медицинским шприцем наносят исследуемую пробу в одну точку так, чтобы диаметр

пятна не превышал 1 см. Колбочку с экстрактом 2—3 раза промывают серным эфиром (0,2 мл), который затем также наносят на пластинку в центр первого пятна. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные растворы исследуемых препаратов, содержащие 5; 10; 15 мкг препарата. Пластинку с нанесенными растворами помещают в колбу для хроматографирования, в которую за 30 минут до начала хроматографирования наливают *n*-гексан. Край пластинки с нанесенными растворами должен быть погружен в растворитель не более чем на 0,5 см. После того как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Далее пластинку опрыскивают проявляющим раствором, сушат 10 минут и облучают ультрафиолетовым светом 10—15 минут. Пластинки следует располагать на расстоянии 15—20 см от источника ультрафиолетового света. Если в растворе есть хлорорганические пестициды, на пластинке появляются пятна серо-черного цвета. Количество пестицидов определяют путем визуального сравнения интенсивности окраски и размера пятна пробы с интенсивностью окраски и размером пятен стандартных растворов.

Результаты анализа рассчитывают по формуле:

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

где X — содержание исследуемого препарата в анализируемой пробе, в мг/кг;

A — количество препарата, найденное путем визуального сравнения со стандартными растворами, в мкг;

B — навеска исследуемой пробы, в г.

Если не известно, какой из хлорорганических препаратов содержится в анализируемой пробе, параллельно с испытуемым раствором наносят стандартный раствор ДДТ. После проявления рассчитывают величину R_f и R_c . R_f — отношение расстояния от точки нанесения пробы до центра пятна к расстоянию от точки нанесения пробы до линии фронта растворителя; R_c — отношение R_f неизвестного препарата к R_f ДДТ.

По величине R_f и R_c идентифицируют исследуемое вещество. В таблице 2 приводятся R_f и R_c некоторых хлорорганических препаратов.

Величина R_f зависит от размера частиц адсорбента, количества и природы связующего материала, толщины слоя, природы подвижного растворителя, степени насыщения камеры для хроматографирования парами подвижного растворителя, расстояния, пройденного растворителем, температуры, количества и природы коэкстрактивных веществ, поэтому при определении нужно соблюдать постоянство перечисленных факторов.

Чувствительность определения равна 1 мкг веществ в анализируемой пробе, что составляет: ДДТ в рыбе и мясе 0,02 мг/кг, в молоке 0,02 мг/л, в масле сливочном 0,05 мг/кг, ГХЦГ соответственно 0,04 мг/кг, 0,04 мг/л, 0,1 мг/кг.

Точность определения методом хроматографии в тонком слое при втором способе подготовки пробы (упаривание проб молока и т. д.) равна $75 \pm 18\%$ (средняя квадратическая ошибка 0,28%, относительная ошибка 24%), при первом способе подготовки пробы (обработка молока концентрированной серной кислотой и т. д.) — $86 \pm 10,5\%$ (средняя квадратическая ошибка 0,2%, относительная ошибка 12%), процент определения ГХЦГ несколько ниже — 77%. Точность определения заданных количеств ДДТ в рыбе 83% и γ -ГХЦГ — 67%.

Таблица 2

R_f и R_c некоторых хлорорганических препаратов

Препарат	Значение R_f и R_c на окиси алюминия—гипс	
	R_f	R_c
Гексахлорбензол	0,9	1,55
ДДЕ	0,67	1,1
Гептахлор	0,66	1,08
ДДТ (р. р.)	$0,61 \pm 0,03$	1,0
Пертан	0,53	0,87
γ -ГХЦГ	$0,34 \pm 0,024$	0,53
ДДД	0,3	0,47
Метаксихлор	0,15	0,25
Кельтан	0,05	0,08
Тедион	0,03	0,05

Необходимо отметить, что с надежной точностью можно определить только до 20—30 мкг хлорорганических пестицидов в пробе. При большом содержании пестицидов пятна получаются размытыми и это затрудняет сравнение их со стандартом. В этом случае для хроматографирования следует использовать пропорциональные части анализируемых экстрактов.

Определение полихлорпинена в животных тканях *

Принцип. Метод основан на экстракции полихлорпинена диэтиловым эфиром, сернокислотной очистке экстракта и конденсации пестицида с дифениламином в присутствии хлористого цинка с образованием окрашенного в зелено-голубой цвет продукта, определяемого спектрофотометрически. Чувствительность метода — 2 мкг полихлорпинена в пробе.

* Метод разработан В. А. Кленовым и В. Н. Федотовым.

Реактивы: диэтиловый эфир чистый; н-гексан перегнанный; сульфат натрия безводный; серная кислота концентрированная с удельным весом 1,84 (желательно применять кислоту, выдерживающую пробу Саваяля); серная кислота дымящая, с содержанием 15% серного ангидрида; ацетон; 0,5%-ный раствор дифениламина (перекристаллизованный) в ацетоне; 0,5%-ный раствор хлорида цинка в ацетоне (раствор нестойк, сохраняется не более суток).

Построение калибровочного графика. Берут 0,01%-ный раствор полихлорпинена в ацетоне. Если необходимо определить от 100 до 800 мкг полихлорпинена, в четыре пробирки вносят соответственно 1; 3; 5 и 8 мл стандартного 0,01%-ного раствора полихлорпинена. В каждую добавляют по 1 мл раствора дифениламина и хлористого цинка. Контролем служит пробирка без полихлорпинена. Все пробирки помещают в водяную баню, нагретую до 60—70°, и содержащее их выпаривают досуха в токе чистого теплого воздуха (в вытяжном шкафу). После выпаривания осадок с боковых стенок пробирок смывают ацетоном. На дне пробирок образуется зеленоватая пленка сухого остатка (в контрольной пробирке пленка бесцветная). Затем пробирки на 3 минуты помещают в масляную (или глицериновую) баню, нагретую до 205°, охлаждают несколько минут на воздухе и имеющийся в них сухой остаток растворяют в ацетоне (25 мл). Полученный комплекс окрашен в зеленовато-голубой цвет и имеет максимум поглощения в области 660 мкм. Оптическую плотность раствора измеряют через 15 минут после добавления ацетона при помощи спектрофотометра СФ-4.

В пределах концентрации 100—800 мкг получаемая окраска подчиняется закону Бера. Для построения графика в диапазоне от 10 до 100 мкг в испытуемые пробирки вносят соответственно 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 и 1 мл стандартного раствора. Полученный цветной комплекс растворяют в 5 мл ацетона и фотометрируют в той же области спектра.

Ход определения. Животную ткань (30—100 г) тщательно растирают в ступке в безводном сульфатом натрия 1:3 (по весу). Полученную гомогенную массу переносят в аппарат Сокслета и экстрагируют эфиром. Эфирный экстракт выпаривают в токе теплого воздуха. Остаток растворяют в 200 мл н-гексана и переносят в делительную воронку. Затем к раствору добавляют 35 мл смеси, состоящей из равных объемов концентрированной и дымящей серной кислоты. Воронку встряхивают одну минуту и оставляют в покое на 10 минут для разделения фаз. Слой кислоты сливают и для более тщательной очистки экстракт дважды обрабатывают серной кислотой, после чего трижды промывают дистиллированной водой (200 мл) для удаления остатков кислоты, фильтруют, переносят в колбу помещают на водяную баню, нагретую до 60—70° и выпари-

вают досуха (для удаления н-гексана). Остаток растворяют в ацетоне и ведут дальнейший анализ, как описано выше. Параллельно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с такой же тканью, не содержащей полихлорпинена.

Специальными пробами (с добавлением заведомо известного количества полихлорпинена к различным животным тканям) установлено, что при экстракции и очистке экстракта теряется в среднем 25—30% полихлорпинена от имевшегося в пробе.

Переход зеленовато-голубой окраски конечного раствора в буро-зеленую свидетельствует о недоброкачественной очистке экстракта.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ, ИЗВЛЕКАЕМЫХ ПОДКИСЛЕННОЙ ВОДОЙ

Подкисленной водой извлекается большая группа веществ различной химической природы; многоатомные фенолы, нитросоединения, лактоны, органические кислоты, алкалоиды, глюкозиды.

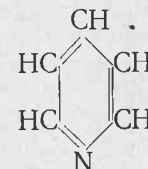
В токсикологическом отношении из этой группы веществ наибольшее значение имеют алкалоиды. Под этим названием объединяют растительные (реже животные) азотсодержащие сложного состава органические вещества, являющиеся основаниями и обладающие сильным фармакологическим действием. Алкалоиды широко применяют в качестве лекарственных препаратов, а некоторые из них (анабазин, никотин) как ядохимикаты и поэтому представляют интерес в токсикологическом отношении. Они содержатся во многих растениях и нередко служат причиной отравления сельскохозяйственных животных.

В растениях алкалоиды редко встречаются в свободном виде, чаще же в виде солей органических кислот (щавелевой, уксусной, молочной, яблочной, винной, лимонной, фумаровой и др.).

Классифицируют алкалоиды по классам органических соединений в соответствии с их структурой, в основу берут гетероциклическое ядро, производными которого они являются.

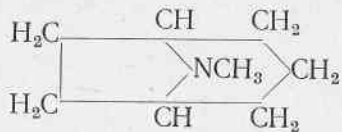
Для ветеринарной токсикологии представляют интерес следующие алкалоиды.

Производные пиридина

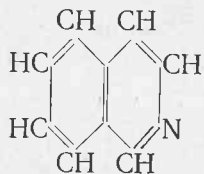


Сюда относятся анабазин, ареколин, кониин и никотин.

Производные тропана

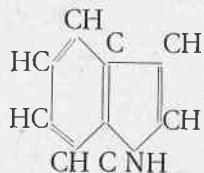


В эту группу входят атропин, гиосциамин и скополамин.
Производные изохинолина



Производными изохинолина являются морфин, кодеин и папаверин.

Производные индола или бензпиррола



К этой группе относят стрихнин и бруцин.

Алкалоиды не установленного строения. К этой группе принадлежат такие важные в токсикологическом отношении алкалоиды, как алкалоиды чемерицы (вератрин) и аконитины.

Большинство алкалоидов в виде оснований являются твердыми веществами и только некоторые (кониин, анабазин, арколин, и никотин) из них жидкостями.

Алкалоиды как основания с кислотами образуют соли по типу солей аммиака или аминов, хорошо растворимые в воде. В виде же оснований алкалоиды в воде не растворяются, но хорошо растворяются во многих органических растворителях, хлороформе, дихлорэтано, эфире и др.

Многие алкалоиды оптически деятельны, вращают плоскость поляризации влево.

Все алкалоиды способны осаждаться танином, фосфорномолибденовой кислотой, кремневольфрамовой и фосфорновольфрамовой кислотами, раствором йода в йодиде калия и др.

Многие алкалоиды дают цветные реакции, которые применяются для определения природы (идентификация) алкалоидов.

Химико-токсикологическое исследование на присутствие алкалоидов относится к числу наиболее сложных и трудоемких, связанных с производством ряда ответственных операций.

Изолирование алкалоидов подкисленной водой

Наиболее часто для изолирования алкалоидов применяют подкисленную воду. Способ основан на извлечении алкалоидов в виде щавелевокислых или виннокислых солей водой, а затем в виде оснований хлороформом.

Трупный материал (100 г) измельчают, заливают дистиллированной водой (200 мл), подкисляют водным раствором щавелевой кислоты до ясно кислой реакции на лакмус и, часто помешивая, оставляют на 2 часа.

Водное извлечение центрифугируют или фильтруют через марлю, сложенную в несколько слоев, остаток на марле несколько раз промывают водой. Мутный, окрашенный (в темно-бурый цвет при извлечении из печени) фильтрат повторно (3—4 раза) экстрагируют хлороформом сначала из кислого, а затем из подщелоченного 10%-ным раствором аммиака водного раствора. Соединенные вместе хлороформные вытяжки из кислого раствора, а также соединенные вместе вытяжки из щелочного раствора каждые в отдельности фильтруют через складчатый фильтр и исследуют на алкалоиды, извлекаемые хлороформом из щелочного раствора.

Метод извлечения алкалоидов подкисленной водой быстрый, более чувствительный по отношению к некоторым алкалоидам. Для его применения не требуется этилового спирта. Недостатком метода является образование стойкой эмульсии при извлечении водного экстракта хлороформом.

Чтобы эти эмульсии не образовывались, к водному извлечению добавляют хлорид натрия в порошок до насыщения, этиловый или амиловый алкоголь или применяют замораживание или центрифугирование.

Изолирование алкалоидов подкисленной водой (по В. Ф. Крамаренко)

В отличие от других методов для подкисления применяют разбавленную серную кислоту и извлечение проводят при pH 2,5. В этих условиях белково-алкалоидные комплексы разрушаются и алкалоиды извлекаются полнее.

Тщательно измельченный патологический материал помещают в колбу и заливают разбавленным раствором серной кислоты так, чтобы все твердые части материала были покрыты жидкостью. Все хорошо перемешивают стеклянной палочкой и, добавляя серную кислоту, доводят pH раствора до 2,5. Через 2 часа, проверив pH (она должна быть 2,5), раствор процеживают через марлю. Операцию извлечения повторяют еще 2—3 раза, каждый раз настаивая 1—2 часа с водой, подкисленной серной кислотой до pH 2,5.

Все водные экстракты соединяют вместе и центрифугируют. При фильтровании значительная часть алкалоидов теряется—

Реактивы для осаждения алкалоидов

адсорбируется на фильтровальной бумаге. Центрифугат осторожно сливают с осадка и к жидкости добавляют кристаллический сульфат аммония до насыщения (для осаждения белков), рН раствора (2,5) должен сохраниться. Осадок отделяют центрифугированием. Кислую вытяжку 1—2 раза взбалтывают с 50 мл эфира. Слой эфира отделяют, а к кислой водной вытяжке осторожно небольшими порциями добавляют раствор едкого натра до тех пор, пока ее рН не будет 8,5—9,0. Едкий натр вступает в реакцию с сульфатом аммония, в результате чего образуется NH_4OH . Вытяжку 4 раза (по $\frac{1}{3}$ объема от водной фазы) экстрагируют хлороформом. Хлороформные вытяжки соединяют вместе и хлороформ отгоняют на водяной бане. Сухой остаток растворяют в хлороформе (несколько миллилитров) и отдельные части раствора исследуют на алкалоиды.

Кроме описанных выше двух основных способов изолирования алкалоидов, некоторые из них — анабазин, никотин, ареолин, конин — можно изолировать перегонкой с водяным паром с последующим экстрагированием алкалоида из дистиллята хлороформом или эфиром.

Применяя все эти способы изолирования алкалоидов, нельзя получить вещество в чистом виде так, чтобы оно могло быть обнаружено и определено обычными аналитическими реакциями и методами. Оно почти всегда загрязнено жирами, жирными кислотами, смолами, белками и продуктами распада их и т. п.

Особое значение имеет очистка алкалоидов, изолированных из трупного материала.

Очистка хлороформного извлечения из щелочного раствора. Хлороформное извлечение очищают в тех случаях, когда осадок велик, сильно загрязнен и т. п. Делают это очень осторожно, так как каждая лишняя операция ведет к потере исследуемого вещества.

Хлороформное извлечение испаряют, остаток обрабатывают 3—5 мл дистиллированной воды, подкисленной 1%-ным раствором виннокислотной кислоты до ясно кислой реакции по лакмусу. Раствор фильтруют через маленький складчатый фильтр, смоченный водой, фильтр промывают водой (2—3 мл), приливая промывные воды к первоначальной жидкости. Жидкость экстрагируют 3—4 раза хлороформом (по 3—5 мл) сначала из кислого раствора, затем из раствора, подщелоченного (по фенолфталеину) 10%-ным раствором аммиака.

Хлороформные вытяжки из щелочного раствора соединяют вместе, фильтруют, хлороформ испаряют при комнатной температуре, а остаток исследуют.

В последнее время для очистки алкалоидов начали применять метод ионообменной хроматографии (путем адсорбции алкалоидов активированным углем и ионообменными смолами (ионитами)).

Остаток, полученный после испарения хлороформа, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, подкисленной 1%-ным раствором соляной кислоты, и испытывают общеалкалоидными осадительными реактивами.

Алкалоиды как вещества основного характера дают с кислотами простые и комплексные соли, часто трудно растворимые в воде. Точно так же ведут себя белки и продукты их распада. Поэтому реакции осаждения алкалоидов имеют значение только в случае отрицательного результата.

Если осадка нет, можно считать, что алкалоиды отсутствуют. При образовании осадка следует проводить дальнейшее исследование патологического материала.

Наиболее часто для обнаружения алкалоидов применяют следующие реактивы.

Фосфорновольфрамовая кислота (реактив Шейблера): 10 г вольфрамата натрия и 7 г фосфата натрия двузамещенного растворяют в 50 мл воды и подкисляют азотной кислотой. Реактив осаждает алкалоиды в виде белых аморфных хлопьевидных осадков.

Фосфорномолибденовая кислота (реактив Зонненшейна): 150 г молибдата аммония растворяют в 1 л воды и раствор постепенно вливают в 1 л разбавленной 1:1 азотной кислоты. Смесь нагревают, затем прибавляют 20%-ный раствор фосфата натрия двузамещенного до тех пор, пока не перестанет образовываться осадок. Смесь оставляют стоять в течение 12 часов, после чего раствор сливают, а осадок промывают несколько раз водой декантацией.

Осадок растворяют в возможно малом объеме 20%-ного раствора соды, раствор выпаривают на водяной бане в фарфоровой чашке досуха и, осторожно прокаливая, удаляют аммонийные соли. Остаток растворяют в воде (90 мл воды на 10 г осадка), раствор фильтруют и подкисляют азотной кислотой до тех пор, пока образующийся вначале осадок снова не растворится.

Реактив образует с растворами алкалоидов желтоватые аморфные осадки.

Пикриновая кислота (насыщенный водный раствор приблизительно 1%-ный).

Танин (свежеприготовленный 10%-ный раствор).

Раствор йода в йодиде калия (реактив Бушарда): растворяют 1 г йода и 2 г йодида калия в 50 мл воды.

Раствор йодида ртути в йодиде калия (реактив Майера): 1,35 г сулемы растворяют в концентрированном растворе 5 г йодида калия и разбавляют водой до 100 мл.

Раствор йодида висмута в йодиде калия (реактив Драгендорфа): 8 г основного нитрата висмута растворяют в 20 г

азотной кислоты, разбавленной 1 : 1, раствор вливают в концентрированный раствор, состоящий из 27,2 г йодида калия. Через несколько дней отфильтровывают его от выделившейся селитры и разбавляют водой до 100 мл.

При пользовании общими реактивами для алкалоидов можно ограничиться тремя-четырьмя, например раствором йода в йодиде калия, раствором йодида висмута в йодиде калия, фосфорномолибденовой кислотой и танином. Чувствительность осадительных реактивов не одинакова по отношению к различным алкалоидам.

Высокой чувствительностью обладает фосфорно-вольфрамовая кислота (реактив Шейблера), затем фосфорно-молибденовая кислота (реактив Зонншейна), реактив Драгендорфа, Бушарда и др.

Наименее чувствительными реактивами являются танин и пикриновая кислота.

Реакция окрашивания

Реакции окрашивания не универсальны: многие алкалоиды не дают цветных реакций. В то же время, несмотря на очистку, в хлороформ всегда переходят некоторые посторонние вещества, дающие окрашивание, что может мешать проведению цветных реакций.

Выполнение реакций окрашивания. Часть хлороформного извлечения из щелочного раствора разливают в 3—4 небольшие фарфоровые чашки (можно использовать крышки от фарфоровых тиглей), хлороформ испаряют при комнатной температуре. На остаток на дне чашек наносят по одной капле каждого реактива. Окрашивание появляется тотчас же или через некоторое время. В случае получения окрашиваний, похожих на окрашивание с тем или иным алкалоидом, параллельно проводят контрольный опыт с чистым алкалоидом.

В качестве реактивов в окрашивания обычно применяют следующие:

концентрированную чистую серную кислоту;

концентрированную азотную кислоту;

реактив Эрдмана — это смесь концентрированной серной кислоты с разбавленной азотной кислотой: к 20 мл концентрированной серной кислоты прибавляют 10 капель разбавленной азотной кислоты (10 капель 30%-ной азотной кислоты в 100 мл воды);

реактив Фреде — концентрированная серная кислота, содержащая молибденовую кислоту; свежеприготовленный насыщенный раствор растертого молибдата натрия или аммония в концентрированной серной кислоте;

реактив Манделлина — концентрированная серная кислота, содержащая ванадиевую кислоту, свежеприготовленный раствор

0,01 г ванадата аммония в 2 мл концентрированной серной кислоты;

реактив Марки — концентрированная серная кислота, содержащая формальдегид: к 1 мл концентрированной серной кислоты прибавляют 1 каплю формалина и охлаждают.

Идентификация алкалоидов осадительными реактивами, микрокристаллическими реакциями и реакциями окрашивания

Анабазин. Каплю маслянистого остатка после испарения хлороформного извлечения из щелочного раствора помещают на предметное стекло и прибавляют каплю реактива Драгендорфа (йодид висмута в йодиде калия). Образуется аморфный осадок, через 2—3 минуты переходящий в кристаллический. Кристаллы красно-оранжевого цвета, собраны в сложные сростки. В очень разведенных растворах образуются ромбические кристаллы.

Ареколин. 1. При прибавлении раствора йодида висмута в йодиде калия (реактив Драгендорфа) к нейтральному или слабокислому раствору ареколина образуется оранжево-красный кристаллический осадок. Чувствительность реакции — 0,002 мг.

2. При физиологическом испытании остаток растворяют в воде (несколько капель) и раствор наносят на конъюнктиву глаза кошки; в присутствии ареколина происходит сужение зрачка. 0,4—0,6 мг ареколина дают еще заметный эффект.

Кониин — жидкость, водный раствор которой имеет щелочную реакцию и обладает запахом, похожим на запах мышиной мочи.

1. К остатку, содержащему кониин, прибавляют 2 капли сероуглерода и 2 мл спирта; кониин образует соль тиокарбаминной кислоты, которая с раствором медного купороса или хлорного железа дает бурое окрашивание.

Реакция не специфична, другие вторичные основания дают такую же реакцию.

2. Основание растворяют в бензоле и прибавляют тетрахлорхинон (хлоранил). В присутствии кониина возникает сначала зеленое окрашивание, через некоторое время выпадают зеленые острые ромбовидные кристаллы с дихроизмом: темно-зеленый — светло-зеленый.

Никотин. 1. Остаток после испарения хлороформного извлечения осмояется и приобретает характерный табачный запах.

2. На предметное стекло помещают капельку маслянистого остатка по испарении хлороформного извлечения из щелочного раствора. На часовое стекло наносят каплю реактива Драгендорфа. Затем стекло переворачивают и покрывают им предметное стекло.

Место соприкосновения часового стекла с предметным тщательно смазывают вазелином. При слабом нагревании предметного стекла при наличии никотина в капле реактива образуются темные игольчатые кристаллы, часто раздвоенные на конце.

3. При физиологическом испытании раствором никотина смачивают спинку лягушки: при этом у нее появляются судороги.

Атропин и гиосциамин. Гиосциамин — левый изомер, а атропин — рацемическая смесь лево- и правовращающего изомеров, поэтому атропин и гиосциамин дают общие реакции.

1. Часть остатка смачивают несколькими каплями дымящей азотной кислоты и выпаривают в водяной бане досуха. Такую обработку повторяют 3 раза. Остаток растворяют в нескольких каплях ацетона и прибавляют каплю спиртового едкого натра. В присутствии атропина возникает стойкое фиолетовое окрашивание. Чувствительность — 1 мкг.

2. Остаток растворяют в 0,5 н. серной кислоте, прибавляют каплю раствора брома в бромистом калии (1 г брома, 2 г бромистого калия и 20 г воды); образуется кристаллический осадок в виде желтых веретенообразных игл и агрегатов из ромбов.

3. При физиологическом испытании остаток растворяют в нескольких каплях разбавленной соляной кислоты, раствор испаряют досуха. Остаток растворяют в воде и наносят на конъюнктиву глаза кошки; наблюдают, появится ли разница в величине зрачков обоих глаз.

Скополамин. Цветные реакции те же, что для атропина и гиосциамин.

Гиосциамин и атропин обладают более сильными свойствами оснований, чем скополамин; с фенолфталеином они дают красное окрашивание; из растворов сулемы выделяют красную или желтую окись ртути, а каломель превращают в черную закись ртути.

Морфин. Морфин не извлекается из растворов, подщелоченных едкими щелочами (KOH и NaOH), так как образует с ними морфолат (щелолят).

1. Реактив Марки дает с морфином характерное фиолетовое окрашивание. Такое же окрашивание дают кодеин и некоторые другие производные морфина.

На фарфоровую пластинку с остатком щелочного извлечения после удаления хлороформа наносят одну каплю реактива Марки — тотчас появляется оранжево-фиолетовое окрашивание. Определяемый минимум 0,05 мкг в пробе.

2. Реактивы Манделина и Фреде дают с морфином фиолетовое окрашивание, переходящее в бледно-розовое.

3. Нейтральный раствор морфина окрашивается в синий цвет от прибавления свежеприготовленного раствора хлорного железа.

Кодеин и другие производные морфина, у которых водород

фенольного гидроксила замещен, не дают реакции с хлорным железом.

Кодеин (метилморфин) — метиловый эфир морфина.

1. Реактив Марки дает с кодеином фиолетовое окрашивание, как и морфин.

2. Реактив Фреде (молибденовая кислота в концентрированной серной кислоте) дает с кодеином лишь желто-зеленое окрашивание (отличие от морфина).

3. Кодеин не дает реакции с хлорным железом в отличие от морфина.

4. Кодеин в отличие от морфина извлекается хлороформом из раствора, подщелоченного едким натром.

Героин — диацетильное производное морфина. При извлечении часть героина, омыляясь, переходит в морфин и дает реакции последнего.

1. Спиртовой раствор героина нагревают на водяной бане с концентрированной серной кислотой. Появление запаха уксусно-этилового эфира укажет на присутствие героина.

Папаверин. 1. Если к раствору папаверина в концентрированной азотной кислоте в количестве 2—3 капель прибавить столько же концентрированной серной кислоты, то в присутствии папаверина образуется красно-оранжевое окрашивание.

2. Папаверин растворяется в формалинсерной кислоте (реактив Марки) с образованием розово-красного окрашивания, постепенно переходящего в бурое.

3. При растворении папаверина в свежеприготовленном растворе молибдата натрия в концентрированной серной кислоте образуется пурпурно-красная окраска.

Апоморфин. 1. Хлороформная вытяжка из щелочного раствора окрашивается в присутствии апоморфина в темно-зеленоватый цвет.

2. Остаток растворяют в воде, слабо подщелачивают карбонатом натрия и осторожно по каплям прибавляют спиртовый раствор йода: появляется зеленое окрашивание. Жидкость взбалтывают с эфиром: последний окрашивается в пурпурно-красный цвет, водный слой сохраняет зеленую окраску.

3. Реактив Фреде дает с апоморфином грязно-зеленое окрашивание. Открываемый минимум 0,1 мкг вещества в пробе.

4. Хлорное железо дает розово-красное окрашивание, переходящее в фиолетовое, затем в черное.

Стрихин как слабое основание частично извлекается хлороформом и из кислого раствора, что надо иметь в виду при его открытии. При pH 9—12 извлекается 92—94% алкалоида.

1. Часть остатка после испарения хлороформа смешивают на фарфоровой пластинке с каплей концентрированной серной кислоты (лучше брать серную кислоту, разбавленную водой 5:1), прибавляют кристаллик бихромата калия и осторожно стеклянной палочкой двигают кристалл бихромата калия:

появляется синее окрашивание в виде характерных струек синего цвета, переходящее более или менее быстро в фиолетовое, красное и затем исчезающее. Чувствительность реакции — 1 мкг в пробе.

2. Такое же окрашивание, но более постоянное дает и реактив Манделина.

3. При физиологическом испытании часть остатка растворяют в 1%-ной соляной кислоте и раствор испаряют досуха на водяной бане. Остаток растворяют в 1 мл воды. Затем, набрав раствор в пипетку, осторожно капают на спинку лягушки. Следующую каплю наносят, когда первая всосется. Таким образом наносят весь раствор. Через $\frac{1}{2}$ —3 часа наблюдается повышение рефлексов, отмечаемое при прикосновении к лягушке каким-либо предметом. Затем начинаются тетанические судороги, сначала при прикосновении к лапкам, затем при всяком сотрясении стакана, в котором находится лягушка.

Бруцин отличается от стрихнина тем, что в нем еще имеются две метоксильные группы ($\text{C}_8\text{H}_7\text{O}$).

1. Концентрированная азотная кислота окрашивает бруцин в кроваво-красный цвет, переходящий в красно-желтый, а затем в желтый. При смешивании такого раствора с раствором двухлористого олова появляется фиолетовое окрашивание.

2. Серная кислота в присутствии азотной дает красное окрашивание, переходящее в желтое. Чувствительность — 20 мкг в пробе.

3. Реактив Зонненшейна (фосфорномолибденовая кислота) дает красное окрашивание, переходящее в желтое.

Вератрин — смесь алкалоидов, получаемая из семян сабадиллы: цевадин ($\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{O}_9\text{N}$) (кристаллический вератрин), цевадиллин ($\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{O}_8\text{N}$), сабадин ($\text{C}_{29}\text{H}_{51}\text{O}_8\text{N}$) и цевин ($\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{O}_8\text{N}$) (А. П. Орехов).

1. Концентрированная серная кислота окрашивает вератрин сначала в желтый цвет, переходящий в оранжевый, красный и приблизительно через полчаса в вишнево-красный.

2. При нагревании вератрина на водяной бане с концентрированной соляной кислотой получается розово-красное окрашивание, характерное для вератрина.

3. При осторожном смачивании 1%-ным раствором спиртового едкого кали желтого остатка, получаемого от выпаривания вератрина с дымящей азотной кислотой, образуется фиолетовое и оранжево-красное окрашивание (реакции Витали).

Аконитин. Надо иметь в виду сильную летучесть его.

1. Часть остатка растворяют на предметном стекле в капле 1%-ной серной кислоты и смешивают с каплей 1%-ного раствора марганцовокислого калия. Через 10—15 минут образуется характерный кристаллический осадок из сростков красно-фиолетовых призм. Чувствительность реакции — 0,02—0,04 мг в пробе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ, ИЗВЛЕКАЕМЫХ ВОДОЙ

Из патологического материала водой можно извлечь минеральные кислоты — серную, азотную, соляную и щелочи — едкий натр, едкое кали, раствор аммиака и щелочные соли — нитрит натрия, нитраты калия, натрия и аммония, хлорид натрия и мочевины (карбамид).

Кислоты в организме могут переходить в соли, а щелочи — в углекислые щелочи, в результате обнаружить их невозможно, так как углекислые щелочи и соли минеральных кислот являются составными частями животных организмов.

Исследуемый материал (содержимое желудка, рвотные массы, остатки пищи и др.) смешивают с небольшим количеством дистиллированной воды, смесь через 1—2 часа фильтруют, а фильтрат исследуют. Для отделения белков смесь подвергают диализу. Диализат стущают до 5—10 мл и используют для исследования.

Определение азотной кислоты

Качественное обнаружение. 1. В испытуемую жидкость кладут шерстяные нитки и выпаривают досуха. Шерсть (белок) окрашивается в желтый цвет, переходящий от аммиака в оранжевый.

2. Каплю исследуемой жидкости смешивают с 2—3 каплями раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте. В присутствии азотной кислоты появляется синее окрашивание.

Реакцию дают азотная и азотистая кислоты, а также другие окислители.

Количественное определение. В испытуемую пробу прибавляют в избытке цинковую пыль. Колбу с пробой соединяют с холодильником и приемником, в который налито 25—30 мл 0,1 н. серной кислоты. Колбу с жидкостью кипятят 30—40 минут. Азотная и азотистая кислоты восстанавливаются в аммиак, поглощаемый титрованным раствором серной кислоты, к которой прибавлен индикатор метиловый красный.

Избыток кислоты оттитровывают 0,1 н. раствором едкого натра и по разности находят количество серной кислоты, вступившей в реакцию с аммиаком.

1 мл 0,1 н. серной кислоты соответствует 0,0017 г аммиака или 0,006302 г азотной кислоты.

Определение нитратов и нитритов

Подготовка материала к исследованию. Исследуемый материал (10 г) измельчают, заливают дистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл и настаивают в течение одного часа,

часто взбалтывая. Затем прибавляют воды в колбу до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр или марлю, сложенную в несколько слоев.

Определение нитратов

Качественное обнаружение. 1. К 3 мл концентрированной серной кислоты, помещенной в фарфоровой чашке, прибавляют по каплям 1 мл исследуемой вытяжки. После охлаждения к смеси добавляют немного бруцина. В присутствии нитратов появляется розовое или красное окрашивание, переходящее затем в желтое. Определяемый минимум — 1 мг N_2O_5 в 1 л вытяжки.

Соли азотистой кислоты — нитриты дают идентичную реакцию. Их можно удалить прибавлением щепотки мочевины в вытяжку, подкисленную серной кислотой, вследствие разрушения азотистой кислоты мочевиной. За 10—12 часов жидкость полностью освобождается от нитритов.

2. В фарфоровой чашке растворяют несколько кристалликов дифениламина в концентрированной серной кислоте и добавляют 1—2 капли исследуемой жидкости. При наличии в вытяжке нитратов появляется синее окрашивание. Определяемый минимум N_2O_5 5 мг в 1 л вытяжки. Нитриты дают такую же реакцию. Об их удалении см. пункт первый.

Количественное определение. Принцип метода изложен при описании второй качественной реакции на нитраты. Цветная реакция на нитраты с дифениламином может быть использована для колориметрических определений.

Определение нитритов

Качественное обнаружение. 1. Нитриты дают с реактивом Грисса цветную реакцию — красное окрашивание. Сущность реакции заключается в том, что нитриты в кислой среде выделяют азотистую кислоту, которая переводит сульфаниловую кислоту в парадиазобензосульфокислоту, последняя соединяется с α -нафтиламином и образует азокраску красного цвета. Реакция специфична для нитритов, нитраты не дают этой реакции. Определяемый минимум N_2O_3 0,01 мг в 1 л раствора.

В пробирку с исследуемым раствором добавляют несколько капель реактива Грисса и для ускорения реакции нагревают на водяной бане при 70—80° в течение нескольких минут.

Приготовление реактива Грисса: а) 0,5 г сульфаниловой кислоты растворяют в 150 мл 12%-ного раствора уксусной кислоты; б) 0,1 г α -нафтиламина растворяют (при нагревании) в 20 мл воды, фильтруют и смешивают со 150 мл 12%-ного раствора уксусной кислоты. Перед употреблением одну часть раствора «а» смешивают с одной частью раствора «б». Растворы «а» и «б» хранят отдельно.

2. О реакциях нитритов с бруцином и дифениламином см. стр. 136.

Количественное определение основано на цветной реакции нитритов с реактивом Грисса. Сравнивая интенсивность окраски исследуемого раствора с окраской стандартных растворов, находят содержание нитритов в исследуемом растворе.

Реактивы: реактив Грисса (приготовление описано выше); стандартный раствор нитрита натрия (0,15 г химически чистого просушенного при 70—80° $NaNO_2$ растворяют в 1 л дистиллированной воды, свободной от нитритов. 25 мл полученного раствора разбавляют водой до метки в колбе объемом 500 мл. 1 мл полученного раствора содержит 0,0075 мг нитрита натрия).

Ход определения. В 10 пробирок из бесцветного стекла наливают из микробюретки рабочий стандартный раствор в количествах, указанных в таблице 3.

Таблица 3

Таблица для изготовления стандартных растворов нитрита натрия

Номера пробирок	Количество раствора, в мл	Содержание $NaNO_2$, в мг	Номера пробирок	Количество раствора, в мл	Содержание $NaNO_2$, в мг
1	0,2	0,0015	6	1,2	0,0090
2	0,4	0,0030	7	1,4	0,0105
3	0,6	0,0045	8	1,6	0,0120
4	0,8	0,0060	9	1,8	0,0135
5	1,0	0,0075	10	2,0	0,0150

Затем в пробирки наливают воду до объема 10 мл. Одновременно в опытную пробирку наливают 10 мл бесцветной и прозрачной вытяжки и во все 11 пробирок прибавляют по 0,5 мл реактива Грисса. Через 15 минут сравнивают окраску исследуемого раствора со стандартной шкалой и находят количество нитритов в испытуемом растворе.

Определение хлорида натрия

Для исследования на хлорид натрия берут содержимое желудка и кусочки стенок или печень отравленных животных.

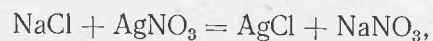
В норме в содержимом желудка свиней и других животных содержится 0,45—0,5% хлорида натрия, в печени несколько меньше — 0,35—0,45%. Если количество хлорида натрия выше 0,5%, возникает подозрение на отравление хлоридом натрия.

Следует учитывать клиническую и патологоанатомическую картину отравления и другие анамнестические данные.

Хлорид натрия обычно определяют путем определения ионов хлора (хлоридов), входящих в его состав. Для этого применяют несколько различных методов, некоторые из них описаны ниже.

Аргентометрический метод (Мора). Принцип. Метод основан на титровании иона хлора раствором нитрата серебра в присутствии хромата калия как индикатора.

В нейтральных или слабощелочных растворах нитрат серебра образует с ионом хлора белый осадок хлористого серебра, и только лишь после того, как весь ион хлора окажется связанным, избыток нитрата серебра прореагирует с хроматом калия с образованием хромата серебра, осадка красно-кирпичного цвета.



Реактивы: 1. 0,1 н. раствор нитрата серебра; 2. 10% -ный раствор хромата калия.

Ход определения. Измельченный патологический материал (10 г) переносят в мерную колбу на 100 мл и доливают колбу до $\frac{3}{4}$ объема дистиллированной водой, хорошо встряхивают и нагревают на водяной бане до 80° , после чего колбу снимают и ставят на 30 минут, иногда встряхивая. Затем колбу охлаждают под краном до комнатной температуры, доливают водой до метки, закрыв плотно пробкой, хорошо перемешивают. Фильтруют жидкость через сухой складчатый фильтр в сухой стакан или колбу. Отбирают пипеткой 25 мл фильтрата в коническую колбу емкостью 100 мл, приливают 1 мл 10%-ного раствора хромата калия и титруют 0,1 н. раствором нитрата серебра до появления не исчезающего кирпично-красного окрашивания.

Если вытяжка интенсивно окрашена и дальнейшее титрование затруднительно, рекомендуется взятую навеску материала подсушить на водяной бане, а затем обуглить до такого состояния, при котором содержимое тигля легко распадается при надавливании стеклянной палочкой. Затем содержимое тигля перенести количественно (дистиллированной водой) в стакан и нагреть при помешивании до кипения. После остывания жидкость фильтруют в мерную колбу, доводят до метки и поступают далее, как описано выше.

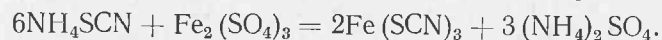
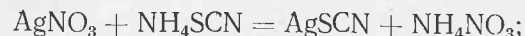
Содержание хлорида натрия вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 0,005844 \cdot b_1 \cdot 100}{c \cdot b},$$

где X — содержание хлорида натрия, в %;
 a — количество 0,1 н. раствора нитрата серебра, израсходованное на титрование, в мл;
 b — объем вытяжки, взятый для титрования, в мл;
 b_1 — общий объем вытяжки, в мл;
 c — навеска объекта, в г;
 0,005844 — количество NaCl (в г), соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра.

Определение хлорида натрия по методу Фольгарда. Принцип. Определение основано на применении метода обратного титрования. Ионы хлора вначале осаждают стандартным раствором нитрата серебра, взятым в избытке. Затем избыток нитрата серебра, не вступивший в реакцию с хлоридом, оттитровывают стандартным раствором роданида аммония в присутствии железоаммонийных квасцов, взятых в качестве индикатора. По разности результатов двух титрований определяют объем раствора нитрата серебра, израсходованного на осаждение ионов хлора.

Последовательно протекают три реакции:



Титрование хлоридов по методу Фольгарда проводят в кислой среде и получают более точные результаты, чем при титровании хлорида натрия по методу Мора в нейтральной или слабощелочной среде.

Реактивы: раствор нитрата серебра 0,1 н.; раствор роданида аммония 0,1 н.; раствор железоаммонийных квасцов насыщенный (40%); азотная кислота, разбавленная 1:1.

Ход определения. Об извлечении хлорида натрия из объекта см. предыдущий метод. К 25 мл водного извлечения прибавляют 20—25 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра, 1,5—2 мл раствора железоаммонийных квасцов, 5 мл азотной кислоты, разбавленной 1:1, и титруют раствором роданида аммония, приливая его медленно небольшими порциями при постоянном взбалтывании. Титрование прекращают после появления не исчезающего при энергичном взбалтывании коричневатого окрашивания.

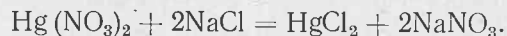
Рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A - B) \cdot 0,005844 \cdot b_1 \cdot 100}{b \cdot c},$$

где X — содержание хлорида натрия, в %;
 A — количество прибавленного 0,1 н. раствора нитрата серебра, в мл;
 B — количество 0,1 н. раствора роданида аммония, пошедшего на титрование, в мл;
 b — объем водной вытяжки, взятой для анализа, в мл;
 b_1 — общий объем водной вытяжки, в мл;
 c — навеска объекта, в г;
 0,005844 — количество хлорида натрия (в г), соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра.

Меркуриметрическое определение хлорида натрия. Принцип. Метод основан на применении в качестве титрованного

раствора солей окисной ртути, образующих при взаимодействии с ионами хлора малодиссоциированную хлорную ртуть, согласно уравнению:



После достижения точки эквивалентности, когда титруемые ионы хлора полностью прореагируют с ионами ртути (II), избыточные свободные ионы Hg^{++} обнаруживаются индикатором дифенилкарбазидом, который в кислой среде образует с ионами Hg^{++} комплексное соединение, окрашенное в синнефиолетовый цвет.

Реактивы: 0,1 н. раствор нитрата ртути (II) $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$; азотная кислота концентрированная; насыщенный спиртовый раствор дифенилкарбазида (или дифенилкарбазона).

Ход определения. 25 мл водной вытяжки (приготовление см. аргентометрический метод), помещают в коническую колбу на 100—150 мл, подкисляют 1—2 каплями азотной кислоты (желательно, чтобы рН был 4,0), добавляют 3—5 капель раствора дифенилкарбазида, взбалтывают и титруют 0,1 н. раствором нитрата ртути (II) до появления слабо-фиолетовой окраски раствора.

Рассчитывают по формуле, приведенной в предыдущем методе.

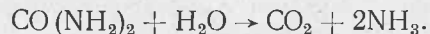
Метод дает более точные результаты, чем метод Мора.

Определение аммиака при отравлении жвачных животных мочевиной

Мочевина — это полный амид угольной кислоты. Ее химическое название — карбамид. Она кристаллизуется из воды в виде длинных плоских призм, легко растворима в воде и спирте, плавится при температуре 133°. В вакууме ее можно перегнать; но при нагревании при атмосферном давлении разлагается с образованием аммиака, углекислоты, биурета, циануровой кислоты и др.

Мочевина на лакмус нейтральна, но дает солеобразные соединения с одним эквивалентом кислот. Азотнокислая соль $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{HNO}_3$ и щавелевокислая $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ довольно трудно растворимы.

Под действием фермента уреазы мочевина подвергается гидролизу с образованием углекислоты и аммиака:



Азотистая кислота, а также гипохлориты и гипобромиты разлагают мочевины с образованием углекислого газа и азота:

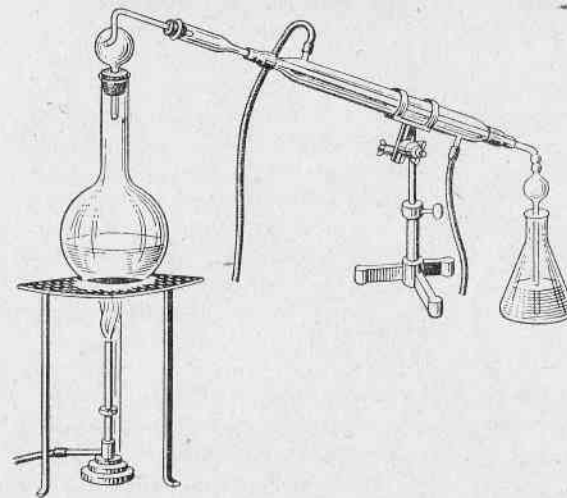


Рис. 6. Прибор для определения аммиака объемным методом.

В настоящее время мочевины получают непосредственно из аммиака и углекислого газа нагреванием под давлением:



Мочевина содержит 46,6% азота, служит прекрасным азотистым удобрением, а также широко применяется как заменитель протеина при подкормке жвачных животных.

В последнее время для подкормки животных выпускается гранулированная мочевина в виде мелких зерен (ГОСТ 2081—63), которая не слеживается при нормальных условиях хранения в течение 8—10 месяцев.

Под действием ферментов, выделяемых микроорганизмами в рубце, карбамид разлагается с образованием аммиака, который используется микроорганизмами для синтеза протеина.

При избыточном скармливании мочевины или при применении водного раствора мочевины в рубце образуется большое количество свободного аммиака, реакция содержимого рубца становится щелочной, аммиак всасывается в кровь и наступает отравление животного.

Определение аммиака объемным методом (рис. 6). Принцип. Аммиак отгоняют, поглощают 0,1 н. раствором серной кислоты, избыток которой оттитровывают 0,1 н. раствором едкого натра.

Ход определения. Для анализа берут 50 г содержимого рубца и помещают в колбу Кьельдаля объемом 1 л, прибавляют 200 мл воды, 0,3—0,5 мл изоамилового спирта и соединяют колбу с насадкой для прибора Кьельдаля и холодильни-

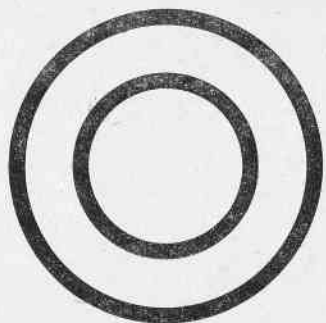
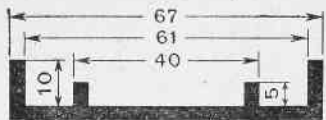


Рис. 7. Схема и размеры чашки Конвея (мм).

ком, конец которого опускают в коническую колбочку со 100 мл 0,1 н. раствора серной кислоты и 3—4 каплями индикатора метилового красного (рис. 6).

Колбу Кьельдаля нагревают и отгоняют аммиак. Перегонку ведут до тех пор, пока капли дистиллята не перестанут окрашивать розовую лакмусовую бумажку в синий цвет. Избыток 0,1 н. серной кислоты титруют 0,1 н. раствором едкого натра и по разнице узнают количество миллилитров 0,1 н. серной кислоты, пошедшей на реакцию с аммиаком.

Содержание аммиака в содержимом рубца рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A - B) \cdot 1,7 \cdot 100}{50},$$

где X — содержание аммиака в содержимом рубца, в мг%;
 A — количество 0,1 н. раствора серной кислоты, взятое для поглощения аммиака, в мл;
 B — количество 0,1 н. раствора едкого натра, пошедшее на обратное титрование серной кислоты, в мл;
 1,7 — количество аммиака, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора серной кислоты, в мг;
 50 — навеска содержимого рубца, в г.

Определение аммиака диффузионным методом. Содержимое рубца (5 г) помещают во внешнюю камеру, 2 мл 0,1 н. раствора серной кислоты — во внутреннюю камеру чашки Конвея (рис. 7), края чашки смазывают вазелином, закрывают шлифованным стеклом и оставляют на 24 часа при комнатной

температуре. Затем прибавляют 1—2 капли индикатора Ташира и титруют избыток 0,1 н. раствора серной кислоты 0,1 н. раствором едкого натра.

по формуле, указанной выше, но в знаменателе будет не 50 г, а 5 г (навеска содержимого рубца, в г).

При определении аммиака диффузионным методом в чашках Конвея получают заниженные результаты (количество аммиака в 3—4 раза меньше), чем объемным методом при отгонке его из содержимого рубца.

Это можно объяснить тем, что диффузия аммиака из содержимого рубца происходит медленно и не полностью, даже если чашки Конвея держать в условиях комнатной температуры еще сутки.

Реактивы: 0,1 н. раствор серной кислоты (фиксанал); 0,1 н. раствор едкого натра (фиксанал); индикатор метиловый красный (0,1 г растворяют в 300 мл спирта и добавляют 200 мл воды); индикатор Ташира (основной раствор — 40 мл 0,1%-ного спиртового раствора метилового красного смешивают с 10 мл 0,1%-ного спиртового раствора метиленового синего; рабочий раствор — к одному объему основного раствора прибавляют спирт 1:1 и воду 1:2). Индикатор Ташира в щелочной среде имеет зеленую окраску, а в кислой — красную.

Пояснение к методике определения аммиака. В содержимом рубца жвачного животного, которому давали карбамид, при появлении признаков отравления всегда можно обнаружить неразложившийся препарат. Вследствие этого при хранении содержимого рубца в нем под воздействием уреазы будет образовываться аммиак из карбамида.

Свежее содержимое рубца у жвачных животных, павших от отравления карбамидом, имеет рН 8,2 и очень слабый запах аммиака, через 3 часа его рН будет 8,8 и хорошо заметный запах аммиака; через сутки рН повышается до 10,2. В содержимом рубца животного, павшего от отравления карбамидом, при определении объемным методом с отгонкой через один час было найдено 58,3 мг%, а через сутки — 135,7 мг% аммиака.

Отсюда следует, что содержимое рубца животных, павших от отравления карбамидом, нужно исследовать немедленно или же хранить замороженным в плотно закрытых склянках.

При рассмотрении механизма образования аммиака в рубце при введении в него карбамида следует считать, что основным токсическим веществом, вызывающим отравление животных, является свободный аммиак. Отсюда следует, что для диагностики отравлений жвачных животных карбамидом нельзя пользоваться методиками определения аммонийных солей по Кьельдалю и реактивом Несслера.

ЯДОВИТЫЕ ВЕЩЕСТВА, ИЗОЛИРУЕМЫЕ СПЕЦИАЛЬНЫМИ МЕТОДАМИ

К веществам, для изолирования которых требуются специальные методы, в первую очередь нужно отнести фтор и некоторые ядохимикаты (севин, тетраметилтиурамдисульфид).

Определение фторидов и кремнефторидов

В сельском хозяйстве в качестве инсектицидов и зооцидов применяются фторид натрия (NaF) и кремнефторид натрия (Na_2SiF_6).

Из трупного материала фториды и кремнефториды изолируют следующим образом.

Измельченный материал (25 г) подщелачивают едкой известью, взятой с избытком (х. ч. гидрат окиси кальция), смачивают раствором нитрата аммония, высушивают и прокалывают при температуре не выше 500° до полного сжигания. Параллельно проводят контрольный опыт. Все реактивы, взятые в тех же количествах, что и в опыте, подвергают такой же обработке.

Качественное обнаружение. 1. Часть золы в платиновом (или свинцовом) тигле смачивают водой (несколько капель) и обливают концентрированной серной кислотой (небольшое количество), тигель быстро закрывают часовым стеклом, нижняя поверхность которого покрыта воском или парафином. Слой парафина местами удаляют, делая надпись острым предметом. Тигель оставляют на 24 часа, снимают слой парафина и наблюдают «травление» стекла.

Для повышения чувствительности реакции (в 2—3 раза) ее следует проводить при нагревании, но в этом случае стекло вместо парафина покрывают лаком, который готовят следующим образом: 8 г мелко растертой канифоли растворяют в 15—20 мл эфира и медленно прибавляют 80 мл коллодия. Кусочки стекла, покрытые лаком, сушат на воздухе, а затем в шкафу при 120°.

2. Часть остатка смешивают с чистым кварцевым песком, помещают в пробирку и приливают концентрированную серную кислоту. В отверстии пробирки держат стеклянную палочку с каплей воды. В присутствии фтора вода мутнеет вследствие выделения кремневой кислоты из летучего фторида кремния, образующегося из стекла пробирки.

3. Небольшое количество золы вносят в короткое колено реактивной трубки, наполненной 2%-ным раствором бихромата калия в концентрированной серной кислоте, перемешивают и наблюдают за появлением несмачиваемости (коррозии) стенок трубки в коротком колене.

В присутствии фтора стенки трубки над жидкостью кажутся сухими и при наклоне трубки пленка жидкости на стенке сползает вслед за жидкостью. При небольших количествах фтора несмачиваемость наблюдается на отдельных участках стенок трубки.

Реактивная трубка — это стеклянная, изогнутая трубка диаметром 8—10 мм, длина одного колена 7 см, другого — 3,5 см.

Реактив наливают в трубку так, чтобы короткое колено было наполнено наполовину, и проверяют смачиваемость стенок трубки до опыта. Трубку используют только в одном опыте.

Реакция основана на способности фтористоводородной кислоты разрушать стекло и делать его гидрофобным, т. е. несмачиваемым.

Реакция позволяет обнаружить 2—5 мкг фтора в капле воды.

Реакция специфична, так как не имеется веществ, кроме фтора, способных разрушать стекло и придавать ему гидрофобные свойства. Но имеются вещества — жиры, кремнеорганические соединения и другие гидрофобные соединения, которые, покрывая стекло тонкой пленкой, могут делать его несмачиваемым, что следует принимать во внимание.

Быстрое обнаружение фтора в содержимом желудка. Навеску содержимого желудка в 10—20 г заливают 10%-ным раствором серной кислоты и настаивают в течение одного часа при периодическом встряхивании, затем фильтруют, 2—3 капли фильтрата вносят в короткое колено реактивной трубки и наблюдают коррозию (несмачиваемость) стенок трубки в коротком колене (см. стр. 56).

Метод пригоден для обнаружения фтора только в содержимом желудка и кормах. Фтор, присутствующий как микроэлемент в этих объектах, не обнаруживается.

Данной реакцией обнаруживается нативный фтор при исследовании костей и зубов (А. В. Николаев).

Обнаружение фтора по обесцвечиванию цирконализаринового лака. Цирконализариновый лак, имеющий интенсивную красно-фиолетовую окраску, обесцвечивается фтором вследствие образования с цирконием прочного комплексного соединения.

Проведению реакции мешают оксалаты, фосфаты и сульфаты, также дающие комплексные соединения с цирконием.

Патологический материал (5—10 г) заливают 10—20 мл 5%-ного раствора соляной кислоты, перемешивают в течение 30 минут и фильтруют в пробирку, в которую предварительно помещено 0,2—0,3 г активированного угля. Пробирку с фильтратом взбалтывают 1—2 минуты и снова фильтруют. Фильтрат должен быть бесцветным, в противном случае обработку углем повторяют.

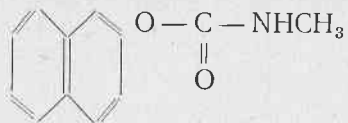
К бесцветному фильтрату по каплям при встряхивании прибавляют цирконализариновый лак, окрашивающий фильтрат в красный цвет. При наличии фтора фильтрат обесцвечивается и становится желтым.

Если фтор отсутствует, то окраска раствора остается красно-фиолетовой.

Капельная реакция. При нанесении капли раствора, содержащего фтор, на фильтровальную бумагу, пропитанную цирконализариновым лаком (бумага окрашена в красный цвет), последняя обесцвечивается и в месте нанесения капли образуется желтое пятно.

Реактивы: цирконализариновый лак. 1. 0,05 г азотно-кислого циркония растворяют в 20,0 мл дистиллированной воды.

2. 0,05 г ализаринсульфоновокислого натрия (ализаринового красного) растворяют в 20,0 мл дистиллированной воды.



Это белое кристаллическое вещество, почти без запаха, температура плавления 142° . Плохо растворяется в воде (менее 0,1%), растворяется в большинстве органических растворителей.

В нормальных условиях стоек к гидролизу, свету и теплу. Щелочи гидролизуют севин с образованием 1-нафтола.

Высокоэффективный инсектицид кишечного и контактного действия. Применяется для борьбы с вредителями плодовых культур (яблонная плодожорка и др.), виноградников, хлопчатника и других технических культур. Не обладает акарицидными свойствами. Среднетоксичен, LD_{50} для белых мышей равна 220 ± 20 мг/кг, для крыс — 800 ± 50 мг/кг, для овец — 225 ± 10 мг/кг, для кроликов — 850 ± 30 мг/кг, для свиней — 300 ± 50 мг/кг, для кур — 1500 ± 80 мг/кг. Лошади очень чувствительны к севину, доза 50 мг/кг вызывает сильное отравление (Н. И. Жаворонков).

Клиническая картина отравлений севинном довольно характерна: наблюдается тремор сначала отдельных групп мышц, затем общий, нарушается координация движений — появляется ходульная походка, отмечается саливация и потение, затрудненное дыхание, появившиеся хрипы постепенно усиливаются.

При тяжелых отравлениях животные не способны передвигаться, наблюдается эпистотонус, плавательные движения. У лошадей отмечаются приступы колик.

При патологоанатомическом вскрытии наблюдаются гиперемия и отек легких, полнокровие всех внутренних органов, некоторый спазм кишечника, геморрагии на слизистой мочевого пузыря.

Предельные остаточные количества севина в плодах и хлопковом масле 3,5 мг/кг.

Обнаружение и определение тетраметилтиурамдисульфида

Качественное обнаружение. 1. Если к подкисленному спиртовому раствору ТМТД прибавить несколько капель 1—2%-ного раствора сульфата меди и слегка нагреть, раствор окрасится в салатный или салатно-коричневый цвет, в зависимости от концентрации ТМТД. Определяемый минимум ТМТД 4 мкг/мл при предельной концентрации $4 \cdot 10^{-6}$.

2. При нанесении капли спиртового или ацетонового раствора ТМТД на силикагель, пропитанный 1%-ным раствором сульфата меди и высушенный, он окрашивается в салатный цвет. Определяемый минимум ТМТД 0,2 мкг в 0,02 мл при предель-

ной концентрации 10^{-5} (А. В. Николаев, Л. И. Устименко). Реакция довольно специфична. Дитиокарбаматы (цирам, диэтилдитиокарбамат натрия) в спиртовых растворах окрашивают силикагель в коричневый цвет, постепенно переходящий в салатный, что, вероятно, связано с их окислением. Однако реакция диэтилдитиокарбаматов с катионом меди на силикагеле менее чувствительна. Хлорорганические ядохимикаты (ДДТ, ГХЦГ) не мешают проведению капельной реакции на ТМТД.

Количественное определение. Капельная реакция на силикагеле может быть использована для полуколичественного определения ТМТД в свежем содержимом желудка.

Свежее содержимое желудка (10—20 г) заливают 20—40 мл спирта, экстрагируют 30 минут и фильтруют. Три капли фильтрата наносят на реактивный силикагель в лунке и слегка подогревают. В присутствии ТМТД силикагель окрашивается в салатный цвет. Окраску силикагеля сравнивают со стандартной шкалой окрасок и находят содержание ТМТД в трех каплях, а путем пересчета и в 100 г содержимого желудка. Расчет производят по формуле:

$$X = 10 \cdot a,$$

где X — содержание ТМТД, в мг%;

a — содержание ТМТД в 0,02 мл, в мкг;

10 — коэффициент для пересчета на 100 г объекта.

В 100 г содержимого желудка определяется 2—3 мг ТМТД.

Реактивы: спирт этиловый; реактивный силикагель (силикагель марки КСМ, измельченный и просеянный через сито с отверстиями диаметром 0,2 мм, погружают в 1%-ный водный раствор сульфата меди и, периодически помешивая, выдерживают в течение часа. Жидкость декантируют, силикагель просушивают вначале фильтровальной бумагой, а затем в сушильном шкафу при 100°); капельные пластинки с лунками диаметром 8 мм и глубиной 3 мм; тетраметилтиурамдисульфид чистый, перекристаллизованный (для его приготовления 2—5 г ТМТД растворяют в 5 мл хлороформа, добавляют этиловый спирт при помешивании, фильтруют, осадок на фильтре осторожно промывают спиртом и сушат при 100°).

Приготовление цветной стандартной шкалы. Из перекристаллизованного тетраметилтиурамдисульфида готовят стандартные спиртовые растворы, содержащие 1,0; 0,75; 0,5; 0,35; 0,2; 0,1; 0,05; 0,02 и 0,01 мг препарата в 1 мл. Указанные растворы по 0,02 мл (3 капли) наносят на реактивный силикагель (30 мг), помещенный в лунки капельной пластинки, и слегка подогревают. Образуются пятна, окрашенные в салатный цвет различной интенсивности. Приготовленная цветная стандартная шкала имеет пятна, соответствующие 20; 15; 10; 7; 4; 2; 1; 0,4; 0,2 мкг/0,02 мл. Цветную стандартную шкалу лучше готовить перед каждым определением из стандартных

растворов ТМТД или воспроизвести ее на бумаге в виде пятен различной интенсивности, соответствующих определенным количествам тетраметилтиурамдисульфида (А. В. Николаев, Л. И. Устименко).

Обнаружение и определение севина

Качественное обнаружение. 1. Обнаружение севина основано на открытии продукта щелочного гидролиза севина — α -нафтола сочетанием его с парадиазобензосульфокислотой в щелочной среде с образованием азокраски.

Изолирование из патологического материала проводят эфиром с дополнительной очисткой методом тонкослойной хроматографии. Описание определения см. «Предварительная проба на севин», страница 57 и «Обнаружение фосфамида в патологическом материале», страница 92.

Определение севина в молоке, моче, содержимом желудка и органах* Принцип. Метод основан на экстракции севина и его метаболитов ацетоном, хроматографическом разделении на бумаге и обнаружении препарата при омылении его раствором щелочи до α -нафтола, который, соединяясь с парадиазонитроанилином, образует азокраску голубого цвета. Чувствительность метода 0,1 мкг в пробе.

Реактивы: реактив 1 состоит из 1,5 н. раствора едкого кали (натр) в смеси метилового и *n*-бутилового спиртов в соотношении 1:1; реактив 2 состоит из: а) 0,1%-ного водного раствора паранитроанилина (перекристаллизованного из горячей воды) в 0,1 н. растворе соляной кислоты; б) 4%-ного раствора нитрита натрия в дистиллированной воде; система растворителя — 20%-ный водный раствор ацетона; стандартный раствор севина и α -нафтола (для его приготовления берут 1 мг севина и 1 мг α -нафтола и растворяют в 10 мл ацетона. В 0,01 мл этого раствора содержится по одному микрограмму севина и α -нафтола); хроматографическая бумага.

Приборы и посуда: хроматографическая камера или мерные цилиндры, закрывающиеся герметически; гомогенизатор; денситометр; бюксы емкостью 20—30 мл; пипетки емкостью 0,1 мл; пульверизатор стеклянный.

Ход определения. Для анализа берут пробы биологического материала (желчь, печень, почки, мочу, содержимое желудочно-кишечного тракта) сразу же после падежа или убоя животного.

Хранить пробы, содержащие севин, при комнатной температуре рекомендуется не более 10—12 часов, при температуре 2° (в холодильнике) — не более двух суток; при консервировании 10%-ным водным раствором формалина можно хранить при комнатной температуре не более 14 дней.

* Метод разработан А. Л. Букиным.

При определении севина и его метаболитов в печени, желчи, содержимом желудочно-кишечного тракта берут 2 г материала, помещают в посуду, заливают 5 мл ацетона и гомогенизируют в течение одной минуты. Экстракцию проводят в течение двух часов при температуре 2°. При однократной экстракции ацетон извлекает 35—40% севина и его метаболитов, при трехкратной экстракции — 93%.

При определении севина в молоке и моче экстракцию проводят бензолом (для молока) или хлороформом (для мочи) (1:1). Экстракцию проводят методом непрерывного встряхивания смеси в количестве 10 мл на шуттель-аппарате в течение 30 минут.

Бензол извлекает из молока 74% севина, хлороформ из мочи — 47%. Затем смесь расслаивают центрифугированием или отстаиванием.

Экстракт гомогената ткани или слой растворителя отделяют от молока или мочи, выпаривают до минимального объема (0,1—0,3 мл) и переносят пипеткой на хроматографическую бумагу в точки, расположенные на расстоянии 3 см от нижнего края и 2,5 см от боковых краев бумаги и 2,5—3 см друг от друга.

Диаметр пятна на бумаге должен быть минимальным, не более 0,5—0,7 см. Для идентификации пятен севина или α -нафтола на эту же бумагу наносят 0,1 мл стандартного раствора севина и α -нафтола.

На дно хроматографической камеры (цилиндра) наливают растворитель (20%-ный водный раствор ацетона). Хроматографическую бумагу с нанесенными пробами экстрактов погружают в растворитель на глубину 1,5 см от нижнего ее края, и фронту растворителя дают подняться на высоту 16—18 см, на что необходимо около двух часов.

После этого хроматографическую бумагу вынимают из камеры (цилиндра), отмечают линию фронта растворителя и высушивают. Высушенную хроматограмму опрыскивают из пульверизатора реактивами, вначале 1, после высушивания 2.

При наличии севина или его метаболитов на хроматограмме обнаруживаются голубые пятна. По расположению пятен и их величине проводят качественное и количественное определение севина и его метаболитов в исследуемом экстракте.

Для количественного анализа первоначально необходимо построить калибровочную хроматограмму. Для этого на хроматографическую бумагу (той же марки, на которой проводятся исследования экстрактов) наносят равный объем стандартных растворов, содержащих разное количество севина и α -нафтола (от 0,1 до 10 мкг), и проводят хроматографирование.

Пятна, соответствующие определенным количествам севина и α -нафтола, сравнивают визуально или с помощью денситометра с пятнами, полученными из исследуемых экстрактов.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРМОВ И ДРУГОГО РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА

Описываемые ниже методики определения ядохимикатов предложены для исследования продуктов питания растительного происхождения — зерновых культур, овощей и плодов. Их можно использовать и для анализа концентрированных сочных и грубых кормов, но с некоторыми практическими уточнениями и дополнениями в отдельных случаях.

Общие положения о взятии проб описаны выше, см. страницу 7.

На химико-токсикологическое исследование отбирают средние пробы кормов из разных мест в следующих количествах (в кг):

концентрированные корма	1
сочные	» 2
грубые	» 2—3

Если биологические испытания необходимо проводить на животных, количество корма, направляемого на исследование, увеличивают.

Одновременно с пробами кормов, загрязненных ядохимикатами, желательно присылать пробы этих же кормов, не содержащих ядохимикаты.

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ЯДОХИМИКАТОВ

Определение гексахлорана и других хлорорганических ядохимикатов (ДДТ, ДДД, метоксихлора, пертана, алдрин, дилдрин и др.) по хлору в продуктах питания растительного происхождения*

Принцип. Метод основан на экстракции ядохимиката органическими растворителями (этиловый эфир, петролейный эфир, бензол), хроматографическом отделении его от мешающих определению примесей, присутствующих в экстракте, и разрушении ядохимиката смесью бихромата калия и ортофосфорной кислоты в присутствии осколков стекла и двухкомпонентного катализатора, состоящего из сульфата серебра и сульфата магния. Образовавшийся хлор поглощают смесью йодистого кадмия с крахмалом, в результате чего выделяется

* Метод разработан М. А. Клисенко.

эквивалентное количество йода, которое определяют титриметрическим или колориметрическим методами.

При помощи этого метода можно определять 0,05 мг/кг и более исследуемого ядохимиката.

Реактивы и растворы: бензол х. ч., перегнанный (петролейный эфир, этиловый эфир);

окись алюминия активная (для хроматографии);

сульфат натрия безводный, х. ч.;

бихромат калия перекристаллизованный и высушенный при 130°;

сульфат магния безводный (получают осторожным нагреванием кристаллической соли до 240°);

сульфат серебра (17 г нитрата серебра ч. д. а. растворяют в 20 мл горячей воды, 6,5 г сернокислого аммония, х. ч. растворяют в 10 мл воды, фильтруют и оба раствора соединяют; после охлаждения кристаллический осадок отсасывают, промывают холодной водой и сушат; выход 14 г);

ортофосфорная кислота, ч. д. а.;

окислительная смесь для сожжения хлорорганических ядохимикатов (20 г бихромата калия, растертого в порошок, 0,5 г сульфата серебра и 2,5 г сульфата магния растворяют в 100 мл ортофосфорной кислоты, тщательно перемешивают стеклянной палочкой и нагревают на парафиновой бане в течение часа при 125—130°. В процессе нагревания через смесь при помощи стеклянной трубки, доходящей до дна колбы, пропускают воздух со скоростью 50—60 мл в минуту. Воздух предварительно очищают от примесей. Для этого стеклянную трубку присоединяют к очистительной системе с аспиратором. Нагревать окислительную смесь необходимо для того, чтобы удалить присутствующие в реактивах примеси хлоридов. Окислительную смесь хранят в склянке с притертой пробкой. Срок годности 6 месяцев. На присутствие хлоридов окислительную смесь испытывают в приборе для сожжения хлорорганических ядохимикатов (рис. 8). Для этого 4 мл приготовленной смеси наливают в колбочку и проводят все операции, которые описаны при определении исследуемых веществ. Если в окислительной смеси обнаружены хлориды, нужно их удалить повторно;

осколки стекла размером 3×3 мм, промытые хромовой смесью и высушенные при температуре не выше 100°;

тиосульфат натрия 0,002 н. раствор;

раствор йода, соответствующий 0,01 мг хлора в 1 мл (2,82 мл точно 0,01 н. раствора йода вносят в мерную колбу емкостью 100 мл и разбавляют водой до метки. Употребляют только свежеприготовленный раствор. Титр 0,01 н. раствора йода следует систематически проверять);

поглотительный раствор для хлора (100 мл 2,5%-ного раствора йодистого кадмия смешивают с 50 мл 1%-ного раствора крахмала и кипятят 2—3 минуты. После охлаждения раствор

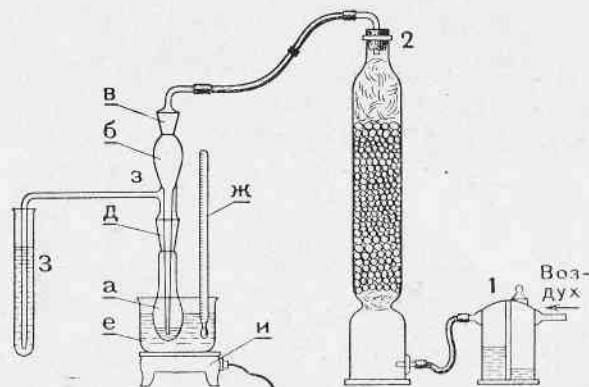


Рис. 8. Установка для определения хлорорганических ядохимикатов:

1 — склянка Тищенко с серной кислотой; 2 — поглотитель с натронной известью; 3 — прибор для сжигания хлорорганических инсектицидов; а — колба; б — воронка; в — пришлифованная пробка с отрезком; д — шлиф; е — парафиновая баня; ж — термометр; з — пробка-приемник; и — электроплитка

разбавляют водой до 500 мл и хранят в темном месте в плотно закрытом сосуде). Раствор сохраняется 6 месяцев.

Приборы и посуда: установка для определения хлорорганических ядохимикатов (рис. 8); воронка делительная или склянка с притертой пробкой емкостью 500 мл для экстракции; терка для овощей; пробирки колориметрические круглодонные, из бесцветного стекла, высотой 150 мм, с внутренним диаметром 15 мм;

пипетки емкостью 5 и 10 мл, с делениями 0,05—0,1 мл;

пипетки емкостью 1—2 мл, с делениями до 0,01 мл;

колба мерная емкостью 100 мл;

колба плоскодонная емкостью 200 мл;

колбы конические емкостью 200 и 50 мл;

воронки химические диаметром 30 и 70 мм;

цилиндр мерный емкостью 500 мл.

Очистительная система, как показано на рисунке 8, состоит из склянки Тищенко емкостью 200 мл и поглотительной колонки емкостью 300—500 мл. Склянку Тищенко на $\frac{1}{3}$ заполняют концентрированной серной кислотой, колонку на $\frac{2}{3}$ заполняют аскаритом или гранулированной натронной известью и на $\frac{1}{3}$ — гигроскопической ватой, чтобы задержать аскарит или известь, которые могут быть увлечены из колонки током воздуха. На дно колонки помещают тонкий слой ваты. Склянку Тищенко и колонку соединяют между собой резиновыми трубками. Другой отвод склянки Тищенко при помощи резиновой трубки присоединяют к бутылки аспиратора. К колонке присоединяют резиновую трубку с винтовым зажимом для регулирования тока воздуха.

Установка для хроматографирования: хроматографическая колонка—стеклянная трубка, суженная книзу 250×20 мм, с приемником. Перед хроматографированием колонка заполняется активированной окисью алюминия. Для этого вкладывают в узкий конец трубки небольшой ватный тампон, затем насыпают слой окиси алюминия 50—60 мм и плотно утрамбовывают его палочкой с расширенным концом. Сверху насыпают слой 50—55 мм безводного сульфата натрия (рис. 9).

Ход определения. 50 г измельченного на терке продукта хорошо перемешивают с 25—30 мл безводного сульфата натрия, помещают в склянку с притертой пробкой или делительную воронку, приливают 75—100 мл бензола (или этилового эфира и др.), встряхивают 30—45 минут и сливают жидкость в мерный цилиндр. К исследуемой пробе вновь прибавляют 25—30 мл растворителя и встряхивают 3—5 минут. Экстракты сливают и измеряют их общий объем. Затем берут 50 мл экстракта, хроматографируют через колонку, заполненную сульфатом натрия и окисью алюминия. Колонку промывают растворителем (5—7 мл).

Пропущенный через колонку раствор навешивают в колбу прибора для сжигания ядохимикатов, прибавляют 8—10 осколков стекла и растворитель выпаривают на водяной бане. Затем вносят в колбу 8 мл окислительной смеси и помещают прибор в парафиновую баню, нагретую до 100°. Отводной конец прибора погружают в раствор для поглощения хлора. Температуру бани медленно повышают до 180° и оставляют пробу при этой температуре на 15—20 минут. Далее присоединяют прибор к очистительной системе с аспиратором (рис. 8) и медленно в течение 5 минут пропускают через него воздух.

В присутствии хлора раствор йодистого кадмия вследствие образования йод-крахмального комплекса окрашивается в синий цвет.

Количество выделившегося хлора определяют колориметрически или титрованием 0,002 н. раствором тиосульфата натрия до обесцвечивания жидкости.

В последнем случае расчет анализа производят по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 71 \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot \Gamma}{B \cdot V},$$



Рис. 9. Прибор для хроматографирования.

где X — количество хлорорганического ядохимиката, в мг/кг;
 A — количество 0,002 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование, в мл;
 71 — количество хлора, соответствующее 1 мл 0,002 н. раствора тиосульфата натрия, в мкг;
 K_1 — поправочный коэффициент на титр тиосульфата натрия;
 K_2 — коэффициент пересчета хлора на соответствующий ядохимикат (табл. 4);
 B — навеска продукта, в г (50 г);
 V — объем экстракта, взятый для анализа, в мл;
 G — общий объем экстракта, в мл.
 При колориметрическом определении расчет анализа ведут:

$$X = \frac{A \cdot D \cdot G \cdot 1000}{E \cdot B \cdot V}$$

где X — количество хлорорганического ядохимиката, в мг/кг;
 A — количество хлора, которому соответствует стандарт, наиболее близко совпадающий с исследуемым раствором, в мг;
 D — количество окрашенного исследуемого раствора, в мл;
 E — количество окрашенного исследуемого раствора, взятое для колориметрирования, в мл;
 B — навеска продукта, в г (50 г);
 V — объем экстракта, взятый для анализа, в мл (50 мл);
 G — объем всего экстракта, в мл;
 1000 — коэффициент пересчета на 1 кг продукта.

Колориметрическое определение по Шехтеру и Хорнштейну в модификации М. А. Клисенко см. стр. 115.

Таблица 4

Таблица для пересчета количеств пестицидов по найденному хлору

Наименование ядохимикатов	Переводный коэффициент (K_2)	Наименование ядохимикатов	Переводный коэффициент (K_2)
Алдрин	1,71	ДДД	2,5
Гексахлоран	1,37	Метоксхлор	3,26
Гептахлор	1,50	Пертан	4,35
ДДТ	2,00	Полихлоркамфен	1,5
		Полихлорпинен	1,5

Полярнографический метод определения гексахлорана в продуктах питания (зерно, сахарная свекла, капуста) *

Принцип. Метод основан на экстракции гексахлорана серным эфиром, дехлорировании гексахлорана до бензола, нитровании последнего и полярнографическом определении образовавшегося *m*-динитробензола.

* Метод разработан Е. С. Косматым и С. И. Шляпак.

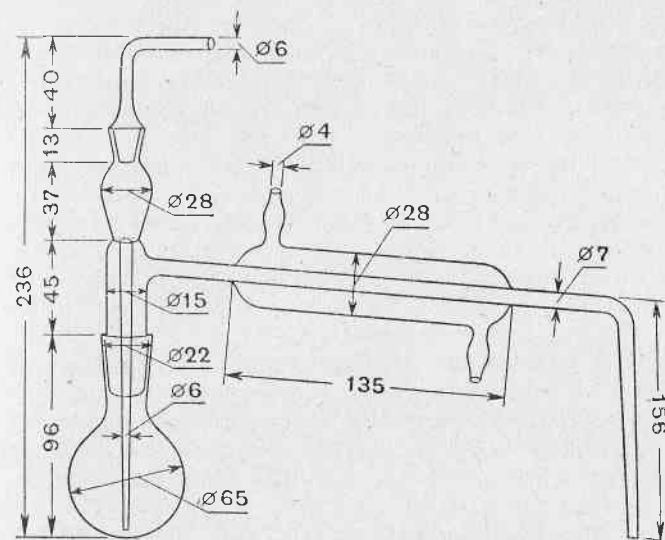


Рис. 10. Прибор для отгонки растворителя.

Потенциал полуволны равен 0,4, чувствительность определения — 1 мг/кг. Метод специфичен для гексахлорана.

Реактивы и растворы: уксусная кислота ледяная, х. ч., нитрат аммония х. ч., высушенный при температуре 80°; серная кислота х. ч., удельный вес 1,84; малоновая кислота х. ч.; порошок цинка; ортофосфорная кислота х. ч. 80%-ная; едкий натр 10%-ный раствор; серный эфир; тропеолин 0; нитрующая смесь (10 г нитрата аммония растворяют в 100 мл серной кислоты удельного веса 1,84);

полярнографический фон (1 мл нитрующей смеси разбавляют водой до 5 мл, нейтрализуют 40%-ным раствором едкого натра по тропеолину 0, т. е. до pH 11—13. Раствор едкого натра прибавляют по каплям);

стандартный раствор гексахлорана (20 мг гексахлорана х. ч. помещают в мерную колбу на 100 мл и растворяют в серном эфире. Колбу плотно закрывают притертой пробкой. 1 мл этого раствора содержит 200 мкг гексахлорана. Раствор годен к употреблению в течение двух недель. Хранить стандартный раствор следует в темном, прохладном месте).

Приборы и посуда: прибор для отгонки растворителя (рис. 10); прибор для нитрования; полярнограф; делительная воронка; воронки; колбы конические с шлифованными пробками емкостью 500 мл; пипетки; баня водяная; бусы стеклянные.

Ход определения. 200 г измельченного исследуемого продукта помещают в коническую колбу, заливают серным эфиром и оставляют на ночь. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр или тампон из ваты, вложенные в воронку. Пробу несколько раз промывают эфиром, который также затем фильтруют. Профильтрованный эфирный экстракт собирают в колбу прибора и отгоняют эфир на водяной бане досуха.

Сухой остаток растворяют в 2—3 мл ледяной уксусной кислоты и переносят раствор в прибор для нитрования. Колбу несколько раз промывают ледяной уксусной кислотой в таком количестве, чтобы общий объем кислоты был примерно 5 мл.

В колбу прибора для нитрования прибавляют 1,5 г порошка цинка и 2 г малоновой кислоты. Одновременно широкое горло v-образной трубки заполняют до половины стеклянными бусами и сюда же прибавляют 1 мл нитрующей смеси. Все шлифы прибора смазывают для герметичности концентрированной серной кислотой.

Далее колбу прибора нагревают и раствор кипятят 2 часа, следя за тем, чтобы поток пузырьков через нитрующую смесь был равномерным. Затем продукт нитрования из v-образной трубки переносят количественно в делительную воронку, трубку несколько раз промывают дистиллированной водой и смывают ее в ту же воронку. В эту же воронку вносят также 10 мл 10%-ного раствора едкого натра, доводят водой объем раствора до 50 мл и охлаждают. Затем продукт нитрования трижды экстрагируют серным эфиром порциями по 15 мл. Эфирные экстракты объединяют в делительной воронке, промывают 10 мл 10%-ного раствора едкого натра, а затем дважды дистиллированной водой (по 10 мл), переносят в стаканчик для полярографирования, удаляют эфир, растворяют сухой остаток в полярографическом фоне, продувают фон 20 минут инертным газом и производят определение.

Для расчета предварительно строят калибровочную кривую. С этой целью в колбы для нитрования вносят 1; 2; 3; 4; 5 мл стандартного раствора гексахлорана, что соответствует 200; 400; 600; 800; 1000 мкг гексахлорана. Удаляют растворитель на водяной бане досуха, остаток растворяют в ледяной уксусной кислоте, прибавляют малоновую кислоту и производят определение так, как описано для пробы.

Расчет анализа производят по формуле:

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

где X — количество гексахлорана в исследуемой пробе, в мг/кг;
 A — количество гексахлорана, найденное по калибровочной кривой, в мкг;
 B — навеска исследуемого продукта, в г.

Качественное обнаружение*. Принцип. Метод основан на образовании на бумажной хроматограмме сине-фиолетового пятна в месте взаимодействия гептахлора с диэтаноломином в щелочно-метанольной среде. Метод специфичен для гептахлора. Чувствительность метода — 0,1 мг/кг.

Реактивы и растворы: бензол х. ч. (или этиловый эфир х. ч.); диэтаноламин х. ч.; едкое кали, 2 н. раствор в метаноле; сульфат натрия безводный, х. ч.; активированный уголь, марки АГ-2; фильтровальная бумага; вата.

Приборы и посуда: Прибор для отгонки растворителей (см. рис. 10); установка для хроматографирования (перед употреблением колонку заполняют активированным углем марки АГ-2). Уголь размельчают в тонкий порошок в фарфоровой ступке, переносят в химический стакан и заливают его тем растворителем, который употребляют для экстракции гептахлора. Перед внесением угля оттянутый конец колонки закрывают тампоном из ваты. Высота слоя активированного угля 1,5—2 см; пульверизатор стеклянный; колбы конические с пришлифованными пробками емкостью 750 мл; воронки; фарфоровая ступка; пипетки емкостью 0,1 мл; аппарат для встряхивания; баня водяная.

Ход определения. 200—300 г измельченного материала смешивают с небольшим количеством безводного сульфата натрия, переносят в коническую колбу и заливают бензолом или этиловым эфиром. Колбу закрывают пробкой и встряхивают в аппарате для встряхивания или вручную в течение двух часов. После встряхивания экстракт отделяют от исследуемой массы декантацией, хроматографируют его через активированный уголь, переносят в колбу прибора и отгоняют растворитель до 0,5—0,7 мл.

Далее при помощи пипетки емкостью 0,1 мл экстракт наносят на полоску фильтровальной бумаги. Пятно подсушивают теплым воздухом (диаметр пятна должен быть 1—1,5 см) и опрыскивают бумагу из пульверизатора смесью 2 н. раствора едкого кали в метаноле и диэтаноломина (2:1). Полоску бумаги помещают в сушильный шкаф на 10 минут при 110°.

В присутствии гептахлора на полоске бумаги вокруг пятна появляется кольцо сине-фиолетового цвета. Если гептахлора нет, пятно не окрашивается.

Количественное определение основано на определении хлора, выделяемого после разрушения пестицида смесью бихромата калия и ортофосфорной кислоты. Принцип метода и описание определения см. страницу 152.

* Метод разработан Е. С. Косматым и Л. Г. Горюк.

Качественное обнаружение. Измельченный материал (лучше предварительно подсушенный) (15—20 г) экстрагируют 15—20 мл бензола в течение 15—20 минут. Экстракт фильтруют через обезжиренную вату в пробирку и нагревают на водяной бане при температуре 60—65° в течение 5 минут. Затем прибавляют 0,5 г безводного хлористого алюминия и нагревают при этой же температуре 50—60 минут. Пробирку охлаждают, осторожно добавляют в нее 3 мл дистиллированной воды и встряхивают.

В присутствии ДДТ слой бензола, особенно на границе со слоем воды, окрашивается в желтый цвет.

Чувствительность реакции — 2—4 мкг ДДТ в 1 мл экстракта. Такую же реакцию дают ДДД, пертан и метоксихлор. Гексахлоран не мешает проведению реакции.

Количественное определение. Колориметрический метод с дополнительной хроматографической идентификацией*.

Принцип. Метод основан на нитровании ДДТ до тетранитросоединения и получения окрашенного в синий цвет продукта при добавлении спиртового раствора едкого калия. При определении ДДТ по этому методу в некоторых случаях конечные продукты приобретают вместо характерного синего коричнево-красный или красно-оранжевый цвет. В таких случаях необходима дополнительная идентификация при помощи хроматографии на бумаге.

Чувствительность метода — 0,1 мг/кг. Гексахлоран и хлорорганические ядохимикаты диенового синтеза не мешают определению ДДТ.

Реактивы и растворы: углерод четыреххлористый х, ч. или эфир петролейный (температура кипения 40—63°);

этиловый эфир х. ч.;

едкий натр 5%-ный водный раствор;

сульфат натрия безводный, х. ч.;

сульфат натрия, раствор в серной кислоте (10 г сульфата натрия растворяют в 100 мл серной кислоты удельного веса 1,82—1,84 при нагревании);

азотная кислота, удельный вес 1,49—1,5;

нитрующая смесь (смесь азотной кислоты, удельный вес 1,49—1,5 с серной кислотой, удельный вес 1,82—1,84, 1:1);

едкое кали, 5%-ный раствор в абсолютном этиловом спирте (5 г едкого кали х. ч. растворяют в 100 мл абсолютного этилового спирта, добавляют 2 г мочевины и кипятят с обратным холодильником 10 минут. Затем раствор охлаждают, фильтруют и хранят в хорошо закупоренной посуде. Мочевина предохраняет раствор от пожелтения);

Стандартный раствор ДДТ (10 мг ДДТ х. ч. растворяют в 100 мл четыреххлористого углерода. 1 мл этого раствора содержит 100 мкг ДДТ. ДДТ х. ч. можно получить из технического ДДТ путем двукратной перекристаллизации из спирта); вода дистиллированная ледяная;

фарфоровые камешки размером 1×1 мм;

вата медицинская, гигроскопическая, обезжиренная.

Приборы и посуда. Прибор для отгонки растворителей (см. рис. 10); воронки делительные; колбы конические с шлифованными пробками емкостью 750 мл; пробирки колориметрические; воронки; пипетки; фотоколориметр; баня водяная.

Ход определения. Навеску анализируемого продукта помещают в коническую колбу и заливают четыреххлористым углеродом.

При исследовании муки и отрубей нужно из пробы брать не менее 50 г отрубей и не менее 1 кг муки; при анализе растений можно брать 10—250 г. Плодов должно быть не менее 1 кг. Растения гомогенизируют в механическом гомогенизаторе или измельчают ножницами, плоды берут целиком.

Через 18—20 часов экстракт фильтруют через воронку с ватным тампоном. Объем экстракта измеряют.

Для уменьшения расхода четыреххлористого углерода экстракцию можно проводить также петролейным эфиром с температурой кипения 40—63°. Так как следы ароматических соединений, содержащихся в нем, мешают дальнейшему анализу, можно использовать петролейный эфир только для первоначальной экстракции, а затем отгонять. Сухой остаток растворяют в четыреххлористом углероде и продолжают анализ.

Предварительную очистку экстракта проводят раствором сульфата натрия в серной кислоте встряхиванием в делительной воронке в течение 5 минут. Очистку повторяют до получения бесцветной отработанной серной кислоты.

В зависимости от величины навески и исследуемого материала эту операцию приходится обычно повторять 4—6 раз. ДДА (бис-4-хлор-фенилуксусная кислота) удаляется во время очистки и не мешает анализу.

Очищенный экстракт, содержащий ДДТ, переносят в прибор для отгонки растворителей и отгоняют растворитель на водяной бане досуха. Последние следы его удаляют током воздуха. Для ускорения отгонки растворителя в колбу кладут 1—2 фарфоровых камешка. Колбу охлаждают и добавляют 4 мл нитрующей смеси. Условия нитрования должны быть всегда одинаковыми. Лучше пользоваться охлажденной (в холодильнике) нитрующей смесью, так как окисление органических веществ (воска и парафина), которые не удаляются очисткой серной кислотой, происходит с резким повышением температуры. Это может привести к разложению ДДТ, происходящему при 100°. Разложение обнаруживается лишь в конце анализа появлением

* Метод разработан Ф. П. Вайнтрауб.

нехарактерной оранжевой окраски. Чем больше навески биологического материала, тем осторожнее надо проводить нитрование. Нитрование производят на кипящей водяной бане в течение 45 минут. Через 45 минут процесс нитрования прерывают и продукты нитрования переносят в делительную воронку, в которой находится 15 мл ледяной воды. Колбу, в которой проводили нитрование, трижды ополаскивают ледяной водой, сливая ее в делительную воронку. На этой стадии, если необходимо, анализ можно прервать и продолжить на следующий день.

Нитропродукт экстрагируют трижды 10 мл серного эфира. Первую экстракцию проводят 3—5 минут, последующие — 1—2 минуты. Затем эфирный раствор нитропродукта встряхивают с 5 мл 5%-ного водного раствора едкого натра до получения бесцветного водного слоя. Чтобы предотвратить возможное разложение ДДТ, необходимо время контакта раствора в серном эфире со слоем щелочи сократить. Экстракт обезвоживают при помощи свежепрокаленного сульфата натрия.

Обезвоженный эфирный раствор, содержащий тетранитропродукт, переносят в коническую колбу емкостью 50 или 100 мл. Делительную воронку трижды ополаскивают серным эфиром (небольшое количество). Эфир отгоняют и сухой остаток дополнительно сушат (30 минут) в сушильном шкафу при температуре не выше 100°, так как даже следы воды мешают анализу. Сухой остаток растворяют в 25 мл бензола и 5 мл раствора берут для анализа. К 5 мл бензола добавляют 2 мл спиртового раствора едкого кали. Появляется голубое окрашивание.

Интенсивность окраски измеряют на электрофотокolorиметре ФЭК-М с красным светофильтром.

При определении ДДТ в различных культурах следует строить калибровочные кривые для каждого исследуемого продукта на экстракте из контрольного образца этого продукта, содержащего известное заранее количество препарата.

В конические колбы, содержащие экстракты контрольных образцов, соответствующие анализируемым пробам, прибавляют 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,75 и 1 мл стандартного раствора ДДТ, что соответствует 5, 10, 20, 30, 50, 75 и 100 мкг его, и проводят определение так, как описано выше для пробы.

Количество ДДТ в мг/кг (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot \Gamma \cdot 1000}{B \cdot B},$$

где A — количество ДДТ, найденное по калибровочному графику, в мг;

B — навеска продукта, в г;

B — объем экстракта, взятого для анализа, в мл;

Γ — объем всего экстракта, в мл;

1000 — коэффициент пересчета на 1 кг продукта.

Хроматографическая идентификация ДДТ. Растворы и приборы: неподвижный растворитель (1%-ный раствор соевого масла в этиловом эфире);

подвижный растворитель (ацетон — вода 80:20);

сосуд стеклянный с притертой крышкой, высотой не менее 30—35 см;

пипетки емкостью 0,1 мл;

источник ультрафиолетового света (ртутно-кварцевая горелка ПРК-4 со светофильтром УФС-3);

бумага хроматографическая ленинградской фабрики (бумага перед применением промывают несколько часов дистиллированной водой, высушивают на воздухе и отрезают полоску длиной 30—32 см. Ширина полосы определяется количеством наносимых образцов. Их наносят на расстоянии 2,5 см от боковых краев бумаги и 3 см от нижнего ее края. Расстояние между точками нанесения 3 см. На расстоянии 1,2 см от нижнего края бумаги проводят черту, которая указывает глубину погружения бумаги в подвижный растворитель.

Ход определения. Раствор нитропродукта исследуемого образца в этиловом эфире, полученный, как описано выше, переносят из делительной воронки в небольшую колбу (25 мл) и упаривают досуха. Затем небольшими порциями серного эфира тетранитропродукт ДДТ переносят в маленькую пробирку емкостью 3—5 мл. Чтобы не было потерь, колбу ополаскивают 5—6 раз. Содержимое пробирки упаривают досуха и количественно переносят на хроматограмму шестью порциями серного эфира (3 раза по 0,1 мл и 3 раза по 0,05 мл). Диаметр получаемого пятна не должен превышать 7 мм. После нанесения точек полоску бумаги опрыскивают неподвижным растворителем. Через несколько минут после испарения эфира бумагу помещают в сосуд для хроматографии, погружая нижний край в подвижный растворитель. После того как фронт растворителя проходит 18—20 см (2½ часа), бумагу вынимают, просушивают на воздухе 30 минут и просматривают хроматограмму в ультрафиолетовом свете. Значение R_f при температуре хроматографирования $20 \pm 2^\circ$ колеблется от 0,27—0,35. Чувствительность — 10 мкг. Иногда, кроме пятна нитропроизводного ДДТ, обнаруживают и другие пятна, R_f которых значительно выше. Для большей надежности полезно наносить на хроматограмму одновременно с исследуемыми образцами раствор «свидетеля» — нитрованный препарат ДДТ.

При просмотре в ультрафиолетовом свете контуры пятен очерчивают и пятна вырезают. Бумагу, содержащую нитропродукт ДДТ, разрезают на тонкие полоски, переносят в конические колбы с притертыми пробками и заливают бензолом (5 мл). Через 10—20 часов к элюированному бензольному раствору тетранитропродукта добавляют спиртовой раствор едкого кали и колориметрируют.

При хроматографировании экстракт очищается и конечные продукты в присутствии ДДТ приобретают четкое синее окрашивание. При хроматографировании теряется 25% ДДТ.

При построении калибровочного графика описанным выше способом установлено, что линейная зависимость концентрации — оптическая плотность сохраняется.

Пользоваться дополнительной хроматографической идентификацией рекомендуется в тех случаях, когда окраска конечных продуктов колориметрирования нехарактерна.

В целом метод может быть использован для контроля пищевых продуктов после их обработки ДДТ (пшеница, мука, кукуруза, яблоки, томаты, баклажаны, перцы, черешня и др.).

Хроматографический метод определения ДДТ, гептахлора и линдана в яблоках, капусте, салате, зерне, почве *

Принцип. Метод основан на извлечении пестицидов петролейным эфиром, хроматографическом разделении в тонком слое силикагеля и проявлении хромогеновым реактивом.

Реактивы: соляная кислота; 98%-ная уксусная кислота; серная кислота; метиловый спирт; этиловый спирт, петролейный эфир, температура кипения 40—60°; хлороформ х. ч.; ацетон х. ч.; н-гексан х. ч.; 2-феноксизтанол; хлорид кальция кристаллический х. ч.; нитрат серебра; сульфат натрия безводный; препараты ДДТ, гептахлора и линдана чистые (можно 70%); силикагель марки «КСК». Силикагель растирают в ступке, обрабатывают соляной кислотой 1:1. Через сутки кислоту декантируют и приливают свежую порцию. Операцию повторяют до тех пор, пока кислота не перестанет окрашиваться. После обработки соляной кислотой силикагель промывают дистиллированной водой до отрицательной реакции на ионы хлора, затем дважды промывают 98%-ной уксусной кислотой и несколько раз дистиллированной водой до нейтральной реакции. Затем силикагель дважды обрабатывают метанолом при нагревании с обратным холодильником до температуры кипения в течение 3 часов (рекомендуется перемешивать). Отмытый силикагель подсушивают 1 час при температуре 120° и просеивают через сито. Для очистки биологического материала используют фракцию силикагеля с величиной частиц 40—60 меш, а для идентификации инсектицидов — менее 40 меш. Просеянный силикагель активируют при 120° 4 часа, затем охлаждают в эксикаторе над прокаленным хлоридом кальция. Приготовленный силикагель можно длительное время хранить в банке с притертой пробкой;

гипс получают осаждением 20%-ного раствора хлорида кальция 20%-ной серной кислотой, осадок промывают сначала

водой до отрицательной реакции на ионы хлора, а затем этиловым спиртом. После этого гипс сушат 48 часов при температуре 115—120°;

хромогеновый реактив (1,7 г нитрата серебра растворяют в 5 мл воды, добавляют 5 мл 2-феноксизтанола* и раствор доводят до 200 мл ацетоном).

Приборы и посуда: аналитические весы; сушильный шкаф; размельчитель тканей «ЭМИБ»; лабораторная мельница; аппарат для встряхивания; насос Комовского (водоструйный насос); бактерицидная лампа БУВ-15 (15 вт); набор сит с шириной отверстий 0,04; 0,06 и 0,07 мм; фарфоровая ступка; колбы на 250—500 мл; градуированный цилиндр на 25 мл; микропипетки с делением 0,01 мл; стеклянный фильтр № 2; прибор для фильтрования (рис. 11); стеклянные камеры для хроматографирования (для трапециевидной пластинки — кристаллизатор диаметром 19 см, для прямоугольной — батарейный стакан диаметром 7—8 см, высотой 14 см); камера для опрыскивания (рис. 12); стеклянный пульверизатор на 20—30 мл (рис. 13); стеклянные пластинки прямоугольной (5×12 см) и трапециевидной формы (нижнее основание 18 см, верхнее основание 4 см, высота 5 см); эксикатор. После того как все подготовлено, готовят пластинки с закрепленным слоем силикагеля.

Приготовление пластинок для очистки материала: используют стеклянные пластинки, имеющие форму трапеции. На одну пластинку наносят сорбционную массу, приготовленную из расчета 2,5 г силикагеля, 100 мг гипса и около 8 мл воды. Хорошо размешанную массу выливают на пластинку и разравнивают по поверхности ее легким покачиванием пластинки. Затем пластинку кладут на столе наклонно, чтобы у нижнего основания слой был толще (около 300 мк). Когда масса подсохла на воздухе, пластинку помещают для активации в термостат на 1 час при температуре 105°. После этого ее можно хранить в эксикаторе продолжительное время (рис. 14).

Приготовление пластинок для разделения и идентификации инсектицидов: на прямоугольные пластинки размером 5×12 см наносят силикагель в виде суспензии, которую готовят следующим образом: 30 г силикагеля и 3 г гипса смешивают с 100 мл хлороформа. Смесь энергично встряхивают в склянке с притертой пробкой. Пластинку погру-

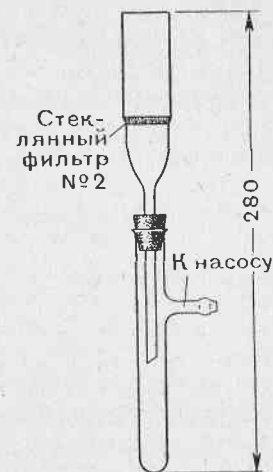


Рис. 11. Прибор для фильтрования под вакуумом.

* Методика разработана Т. М. Петровой и Т. М. Голубевым.

* Синтез 2-феноксизтанола, см. стр. 171.

жают в суспензию (под углом в 30°) и медленно вынимают, при этом на ней остается тонкий равномерный слой сорбента. После испарения хлороформа (через 3—4 минуты) слой закрепляют паром. Для этого пластинку держат сорбентом вниз над горлышком колбы с кипящей водой. Затем пластинку активируют 10 минут в сушильном шкафу при 110—120°.

Ход определения. Для качественного определения инсектицидов берут навеску контрольной и исследуемой проб (100 г) и измельчают с небольшим количеством безводного сульфата натрия. Смесь помещают в колбу и заливают петролейным эфиром. Его берут столько, чтобы навеска была покрыта на 0,5—1,0 см. Колбу помещают в аппарат для встряхивания на 1 час. После экстракции растворитель отделяют от исследуемого материала декантацией. Остаток дважды промывают петролейным эфиром. Слитый в одну колбу экстракт концентрируют под вакуумом до 3—4 мл. Полученный экстракт наносят на трапециевидную пластинку линией, параллельной ее основанию, на расстоянии 1,5 см от нижнего края (рис. 14). Ширина линии экстракта при очистке ДДТ и гептахлора может достигать 1,5—2 см, а линдана — 0,5 см. После подсушивания на воздухе (3—5 минут) пластинку помещают в хроматографическую камеру с *n*-гексаном на 15 минут. В результате хроматографирования хлорофиллы и ксантофиллы остаются на старте, каротин поднимается на 0,5 см, а инсектициды располагаются на неокрашенных зонах пластинки (ДДТ и гептахлор — выше каротина, а линдан — между хлорофиллом и каротином).

Слой сорбента, содержащие инсектициды, собирают в пробирку и элюируют *n*-гексаном, при этом сорбент дважды промывают растворителем. Общий объем элюата, составляющий

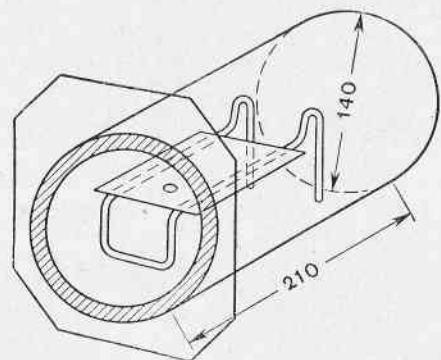


Рис. 12. Камера для опрыскивания хроматограмм.



Рис. 13. Пульверизатор для опрыскивания хроматограмм.

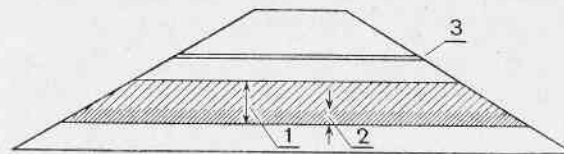


Рис. 14. Трапециевидная пластинка для очистки экстрактов: 1 — линия нанесения экстракта для ДДТ и гептахлора; 2 — линия нанесения экстракта для линдана; 3 — расположение каротинов на пластике.

10—15 мл, упаривают до 0,5—0,6 мл. Полученный элюат (контрольный и испытуемый) наносят на пластинку (прямоугольную) со слоем силикагеля на линию, отстоящую на 2,0 см от нижнего края. Одно пятно от другого должно находиться на расстоянии 1,5 см.

После подсушивания на воздухе пластинку помещают в камеру, содержащую *n*-гексан, для разделения ядохимикатов. При этом фронт растворителя должен достигнуть 10 см за 25—30 минут. После испарения растворителя пластинку помещают в камеру для опрыскивания и опрыскивают из пульверизатора хромогеновым реактивом. Затем пластинку облучают 20 минут ультрафиолетовым светом бактерицидной лампы БУВ-15 (пластинку располагают на расстоянии 7 см от лампы). На хроматограмме появляются коричневые пятна, R_f которых представлен в таблице 5.

Таблица 5

Значение R_f для некоторых инсектицидов

Инсектицид	R_f	Инсектицид	R_f
Линдан	0,16	Гептахлор	0,60
ДДТ (РР)	0,37	Эпоксид 1-гептахлора	0,32
ДДТ (ОР)	0,45	» 2-»	0,42

Если в образце три инсектицида, то для количественного определения их нужно взять еще три навески исследуемого вещества (по 100 г). Экстракцию, очистку и элюирование проводят так же, как описано выше. Затем на одну прямоугольную пластинку наносят исследуемый экстракт и «свидетель» — ДДТ 3 и 5 мкг, на другую — исследуемый образец и «свидетель» — линдан 6 и 10 мкг. Разделение и проявление инсектицидов проводят так же, как и при качественном анализе. Так как интенсивность окраски и размер пятен зависят от количества инсектицида, то, сравнивая пятна исследуемых образцов с пятнами «свидетелей», определяют содержание инсектицидов в пробе. Таким образом на хроматограмме обнаруживают до 3 мкг ДДТ и гептахлора и до 6 мкг линдана, что в пересчете на 1 кг продукта составит 0,03—0,06 мг инсектицида.

Обнаружение и определение полихлорпинена

Качественное обнаружение. Продукт экстрагируют н-гексаном и экстракт фильтруют. К 5 мл пиридина* добавляют 1 мл экстракта, 0,5 мл 0,1 н. раствора едкого кали в метиловом спирте, перемешивают, помещают на 15 секунд на кипящую водяную баню, а затем охлаждают ледяной водой. В присутствии токсафена, полихлорпинена и других полихлорированных терпенов появляется ржаво-красное окрашивание. Одновременно проводят контрольные опыты с одними реактивами. Тиодан дает такую же реакцию. Хлордан, гептахлор мешают проведению реакции. Чувствительность реакции — 0,2 мг/мл (D. C. Johnson).

Количественное определение. Метод основан на определении хлора, образующегося после разрушения ядохимиката смесью бихромата калия и ортофосфорной кислоты.

Принцип метода и описание определения см. определение ГХЦГ, стр. 152.

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Качественное обнаружение (групповые реакции)

Гидроперекисная реакция. Сущность реакции заключается в следующем. При действии на фосфорорганические соединения перекисью водорода и другими окислителями образуется гидроперекись (надкислота), которая окисляет бензидин до дифенохинондиимина, при конденсации двух молекул которого в щелочной среде образуется парааминоазодифенил, имеющий желто-оранжевую окраску. Реакция не специфична, такой же результат дает четыреххлористый титан, хлорпикрин, соли трехвалентного железа и другие окислители.

Реактивы: водно-спиртовой 0,2%-ный раствор солянокислого бензидина; перекись водорода, 2%-ный раствор; лимоннокислый натрий, 10%-ный раствор; толуол; этиловый спирт; уголь активированный.

Ход определения. Исследуемый корм (5—10 г) помещают в посуду, заливают спиртом (10—15 мл), плотно закрывают пробкой и экстрагируют 20—25 минут. Затем экстракт фильтруют через бумажный фильтр, предварительно смоченный спиртом. Окрашенные экстракты обесцвечиваются активированным углем, для чего в пробирку на каждые 5 мл экстракта прибавляют 1 см³ активированного угля, пробирку нагревают на водяной бане 2—5 минут при встряхивании. Горячий раствор фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом.

* Пиридин очищают кипячением с едким натром, как указано на стр. 99.

К 3 мл обесцвеченного экстракта прибавляют 2 мл дистиллированной воды, 0,5 мл 0,2%-ного водно-спиртового раствора бензидина, 0,5 мл 2%-ного раствора перекиси водорода и 1 мл 10%-ного раствора лимоннокислого натрия. Содержимое перемешивают и нагревают на водяной бане 5 минут при температуре 75—80°. Затем прибавляют 0,5 мл толуола и перемешивают. При наличии фосфорорганических соединений отстоявшийся толуольный слой приобретает желтую или желто-оранжевую окраску.

Одновременно проводят контрольные определения с одними реактивами (Г. Н. Коржевенко, В. Л. Коляков, Ю. И. Горшков).

Реакция Хейнса — Ишервуда основана на обнаружении фосфора, входящего в состав фосфорорганических соединений (ФОС), реакцией с молибдатом аммония и облучении пятен ультрафиолетовым светом.

Фосфорорганические соединения изолируют методами бумажной или тонкослойной хроматографии.

Подробное описание см. определение ФОС в патологическом материале (стр. 91).

Энзиматический метод основан на угнетении фермента холинэстеразы фосфорорганическими соединениями.

Принцип и описание определения см. исследование патологического материала на ФОС (стр. 94).

Колориметрическое определение хлорофоса по фосфору с дополнительной хроматографической идентификацией*

Принцип. Из растительного материала хлорофос извлекают дистиллированной водой, из водного раствора его экстрагируют хлороформом. После испарения хлороформа остаток разрушают смесью серной и азотной кислот и определяют фосфор по образованию фосфорномолибденового гетерополикомплекса, окрашенного в синий цвет.

Метод позволяет определить 0,1 мг хлорофоса в 1 кг растительной ткани.

Для повышения специфичности колориметрического определения проводят хроматографическую идентификацию хлорофоса.

Реактивы: хлороформ х. ч.; азотная кислота чистая, удельный вес 1,4; серная кислота чистая, удельный вес 1,84; соляная кислота, 10%-ный раствор; натрий углекислый, 20%-ный раствор; β-динитрофенол, 0,1%-ный водный раствор; олово двухлористое, 0,25%-ный раствор в 10%-ной соляной кислоте (используют свежеприготовленный раствор); молибдат аммония: а) 25 г молибдата аммония растворяют в 200 мл дистиллированной воды; б) к 520 мл дистиллированной воды добавляют

* Метод разработан Г. Ф. Вылегжаниной.

280 мл серной кислоты (1,84), охлаждают и переносят в 1-литровую мерную колбу. Раствор «а» вливают в раствор «б» и доливают водой до метки; стандартный раствор хлорофоса в воде с содержанием 100 мкг вещества в 1 мл.

Приборы и посуда: сосуды для экстракции емкостью 1,5—2 л; колбы конические на 750 и 100 мл; цилиндры мерные на 1000 и 250 мл; колба круглодонная и холодильник на шлифах; воронки делительные емкостью 1000 и 500 мл; воронки химические диаметром 9—14 см; колбы мерные на 50 или 100 мл; колбы Кьельдаля на 50 или 100 мл; пипетки на 2 и 5 мл; баня водяная; электроплитка; фотоэлектроколориметр.

Ход определения. Среднюю пробу исследуемого объекта (не менее 1 кг) помещают в сосуд для экстракции, заливают дистиллированной водой и оставляют на 12—16 часов. Экстракт фильтруют через вату и измеряют объем. Часть фильтрата, соответствующую 100 или 200 г пробы (в зависимости от ожидаемого количества хлорофоса), вливают в делительную воронку. Затем к содержимому делительной воронки добавляют хлороформ 1:1 и смесь встряхивают 10 минут. При этом хлорофос переходит в хлороформный слой. Экстракцию хлороформом проводят трижды. Чтобы не образовывалось эмульсии, хлороформа нужно брать столько же, сколько фильтрата или несколько больше. Если все же эмульсия образуется, ее разрушают, осторожно помешивая стеклянной палочкой. Хлороформный экстракт сушат безводным сульфатом натрия.

Экстракт фильтруют в круглодонную колбу со шлифом и отгоняют на водяной бане до небольшого объема (10—15 мл). Остаток количественно переносят в колбу Кьельдаля и отгоняют хлороформ досуха. К сухому остатку прибавляют 1 мл серной кислоты (удельный вес 1,84), 2 мл азотной кислоты (удельный вес 1,4) и на электрической плитке сжигают органические вещества до полного обесцвечивания раствора (20—30 минут). Затем в реакцию смесь добавляют 10—15 мл дистиллированной воды и кипятят до появления паров серной кислоты. Раствор после охлаждения количественно переносят в мерную колбу емкостью 50 мл (ополаскивая колбу Кьельдаля 2—3 раза водой, каждый раз по 2—3 мл), добавляют к нему 1 каплю β-динитрофенола и нейтрализуют 20%-ным раствором карбоната натрия до появления желтого окрашивания. Желтую окраску уничтожают, прибавляя по каплям 10%-ный раствор соляной кислоты. К испытуемому раствору добавляют 2 мл молибдата аммония и объем жидкости в мерной колбе доводят водой до метки. Перед колориметрированием к нему добавляют 3 капли свежеприготовленного раствора двуххлористого олова (для восстановления фосфорно-молибденового комплекса) и хорошо перемешивают содержимое колбы. Появляется синяя окраска. Через 5—10 минут проводят колориметрирование на фотоэлектроколориметре с красным свето-

фильтром, в кювете с расстоянием между гранями, равным 2 см. В качестве контрольной пробы служит вода. Оптическую плотность раствора измеряют и по калибровочному графику находят соответствующее ей содержание хлорофоса в образце.

Количество хлорофоса в 1 кг материала рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(a-b)}{c},$$

где X — содержание хлорофоса в продукте, мг/кг;

a — количество хлорофоса, найденное по калибровочному графику в анализируемом образце, в мкг;

b — количество хлорофоса в контрольном, не обработанном хлороформом образце, в мкг;

c — вес образца, взятый для анализа, в г.

Построение калибровочного графика на экстрактах из растительных проб. Из 1 кг растительного материала готовят водный экстракт. В делительные воронки вливают часть экстракта, соответствующую 100 или 200 г материала, к ним добавляют 20; 40; 80; 120; 160 и 200 мкг стандартного раствора хлорофоса и экстрагируют хлороформом. Далее поступают так, как описано при определении хлорофоса в растительной пробе. Согласно полученным данным, строят калибровочный график.

Хроматографическая идентификация. Реактивы: хлороформ чистый; ацетон чистый; активированный уголь, растертый в ступке и пропущенный через сито с отверстиями 0,5 мм;

неподвижный растворитель: а) 1%-ный раствор соевого масла в серном эфире; б) 5%-ный раствор вазелинового масла в серном эфире; в) 50%-ный раствор этиленгликоля в этиловом спирте;

подвижный растворитель: а) ацетон — вода (80:20); б) ацетон — спирт — вода (1:1:2) или ацетонитрил — вода (80—20) (60:40); в) бензол, насыщенный этиленгликолем;

сульфат натрия безводный;

хроматографическая бумага, промытая дистиллированной водой;

проявитель (растворяют 1,7 г азотнокислого серебра в 5 мл воды, добавляют 20 мл 2-феноксизэтанола, разбавляют до 200 мл ацетоном и добавляют 1 каплю 30%-ного раствора перекиси водорода); 2-феноксизэтанол готовят так: к 1 грамм-молю фенола (94 г), растворенного в этиловом спирте, добавляют рассчитанное количество 10%-ного раствора едкого натра в этиловом спирте (400 мл) и 1 грамм-моль этиленхлоргидрина (80,5 г). Смесь кипятят 2 часа в колбе с обратным холодильником, затем охлаждают, отфильтровывают выпавший хлорид натрия и промывают осадок на фильтре небольшим количеством

этилового спирта, который присоединяют к фильтрату и после этого отгоняют спирт на водяной бане. Остаток спирта отгоняют на глицериновой бане под небольшим вакуумом, при температуре 132—133° и давлении 18 мм ртутного столба отгоняют 2-феноксизтанол.

Приборы и посуда: сосуды для экстракции на 1,5—2 л; сосуды для хроматографии высотой 30—35 см; колбы конические на 750 и 50 мл; колба круглодонная с нисходящим холодильником на шлифах; воронки делительные на 500 мл; пробирки центрифужные; воронки химические; микропипетки на 0,2 мл; пульверизатор; чашка Петри; ртутно-кварцевая лампа ПРК-4.

Ход определения. Экстракцию хлорофоса для хроматографической идентификации проводят так же, как для колориметрического определения, т. е. хлорофос экстрагируют водой, из которой его затем извлекают хлорформом. Хлорформный экстракт упаривается досуха. Остаток растворяют в 5 мл ацетона, добавляют 0,2—0,3 г активированного угля и взбалтывают 5 минут. Затем ацетоновый экстракт фильтруют через плотный фильтр в центрифужную пробирку (из которой удобно брать раствор для хроматографии), 3—4 раза ополаскивают колбу ацетоном (1—2 мл) и сливают его на фильтр. Ацетон упаривают до 0,5 мл. Остаток микропипеткой наносят на хроматографическую бумагу (диаметр пятна 0,5—0,7 мм) на расстоянии 3 см от нижнего края ее и 3 см между соседними точками. Полоску бумаги опрыскивают неподвижным растворителем из пульверизатора или проводят через неподвижный растворитель, налитый в чашку Петри. Бумагу при этом держат за концы пинцетом, так как от пальцев могут остаться следы. Затем ее сушат на воздухе 5 минут и на 2 часа помещают в сосуд для хроматографирования так, чтобы слой подвижного растворителя был на уровне 1,2 см от нижнего края бумаги.

Если в качестве подвижного растворителя используют систему ацетонитрил — вода, то конец хроматографической бумаги погружают в подвижный растворитель и дают ему подняться до верхнего края пятна. После этого бумагу вынимают из сосуда, подвешивают и 20—30 минут сушат, а затем снова погружают на 2 часа в сосуд для хроматографирования, вынимают, отмечают ножницами линию, до которой поднялся подвижный растворитель, и высушивают на воздухе.

Хроматограмму опрыскивают из пульверизатора проявителем, оставляют на воздухе для высушивания, а затем помещают перед ртутно-кварцевой лампой со снятым светофильтром и облучают 10 минут. Хлорофос проявляется в виде фиолетового пятна, которое ограничивают, измеряют R_f и сравнивают с R_f , полученным в аналогичных условиях для стандартного раствора хлорофоса.

Чувствительность метода — 10 мкг препарата в пробе.

Определение хлорофоса в картофеле, огурцах, капусте, зернах пшеницы, яблоках *

Принцип. Метод основан на экстракции пестицида метиленхлоридом, на извлечении его из остатка (после удаления растворителя) водой, на окислении смесью бихромата калия и серной кислотой и колориметрическом определении продукта разложения его на основе реакции Фудживара.

Чувствительность — 0,2—0,3 мг хлорофоса в 1 кг продукта. Ошибка определения составляет $\pm 10\%$ относительных. ДДТ и продукт разложения хлорофоса — ДДВФ, часто используемые в сельском хозяйстве совместно с хлорофосом, данным методом не обнаруживаются.

Реактивы и растворы: метиленхлорид ч.; серная кислота х. ч. (удельный вес 1,84); бихромат калия х. ч.; едкий натр х. ч.; водные растворы едкого натра: 30% и 2,0%; пиридин х. ч. или ч.

Если пиридин дает положительную реакцию по Фурживара, его очищают. Для этого к 250 мл пиридина добавляют 15 мл 2%-ного раствора едкого натра, крупинку перманганата калия и кипятят 30—40 минут с обратным холодильником. После охлаждения прибавляют едкий натр до образования двух фаз (20 г), отделяют пиридиновый слой и перегоняют, используя для нагрева глицериновую баню.

Приборы и посуда: колбы конические с притертыми пробками емкостью 250 мл; прибор для гидролиза (круглодонная колба емкостью 50—100 мл, с обратным холодильником на шлифе); колбы круглодонные емкостью 50 мл, колба на 500 мл с обратным холодильником; колориметрические пробирки емкостью 10 и 15 мл; термометр (на 100 и 200°); резиновая груша; баня водяная; баня глицериновая; электроплитка; фотоэлектроколориметр.

Ход определения. Пробу продукта весом 25—50 г измельчают ** и экстрагируют 25—50 мл метиленхлорида в течение 30—40 минут ***. Раствор фильтруют через маленький складчатый фильтр в круглодонную колбочку и экстракцию повторяют (с 10—20 мл метиленхлорида) 3—4 раза, встряхивая каждый раз пробу с растворителем 5 минут.

Растворитель из объединенного экстракта испаряют на водяной бане (температура 50—60°) до образования влажного остатка. Следы растворителя тщательно (!) выдувают при

* Метод разработан Л. А. Стемпковской и И. И. Пашковской. Киевский институт гигиены и питания. 1966.

** Зерно не измельчают. При анализе яблок нужно использовать только кожуру, снятую с продукта, толщиной 3—4 мм. К картофелю перед экстрагированием добавить сульфат натрия (20 г).

*** Вместо метиленхлорида можно использовать также серный эфир, однако лучше брать первый, так как он более летуч, не образует с воздухом взрывоопасных смесей, малотоксичен и дешев.

помощи резиновой груши. К сухому остатку приливают 2 мл дистиллированной воды и после 15—20-минутного перемешивания водный экстракт сливают в колбочку от прибора для гидролиза. Остаток снова прополаскивают дистиллированной водой (3 раза по 1 мл) и полученные экстракты приливают к основному раствору. В раствор вносят 1,0—2,0 мл серной кислоты (удельный вес 1,84), 0,6—1,0 г бихромата калия и, присоединив к обратному холодильнику, кипятят содержимое колбы 5—6 минут (считая с момента закипания раствора). После 1—2-минутного отстаивания колбу отсоединяют от холодильника и охлаждают под струей воды. Полученный раствор нейтрализуют 30%-ным раствором едкого натра, вводя его по каплям при охлаждении и перемешивании до перехода желто-бурой окраски в желто-зеленую, добавляют 3—4 мл 30%-ного раствора щелочи и 8 мл пиридина. Раствор тщательно перемешивают и нагревают 15 (± 2) минут на водяной бане (температура $70^\circ \pm 5^\circ$). Смесь охлаждают, переносят в делительную воронку и отделяют щелочной слой. К оставшемуся пиридиновому слою добавляют 2 мл дистиллированной воды, смесь перемешивают и измеряют оптическую плотность окрашенного раствора на ФЭК-М в кювете толщиной слоя 20 мм при зеленом светофильтре. Раствором сравнения служит дистиллированная вода.

Окраска колориметрируемых растворов при комнатной температуре удерживается 40—45 минут, через час оптическая плотность их снижается на 3—4%, а через 2 часа — на 10%.

Содержание хлорофоса в пробе определяют по калибровочной кривой, для построения которой берут от 0,1 до 1,2 мл стандартного раствора, содержащего 100 мкг хлорофоса в 1 мл воды.

Если в лаборатории нет фотоэлектроколориметра, оценку полученных результатов с достаточной для практических целей точностью можно провести по стандартной (имитационной) шкале, построенной на базе водных растворов хлористого кобальта и кристаллвиолета.

Для раствора, содержащего 100 мкг хлорофоса, характерна окраска, которая может быть имитирована смешением окрашенных растворов: 8,5 мл 0,02 н. раствора $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,14 мл 0,0025%-ного раствора кристаллвиолета; 1,36 мл дистиллированной воды.

При разбавлении данного раствора можно получить растворы, отвечающие меньшим количествам хлорофоса.

Шкала из указанных реактивов весьма устойчива и может сохраняться длительное время.

Содержание хлорофоса в продукте (в мг/кг):

$$X = \frac{a}{b},$$

где a — количество хлорофоса, найденное по калибровочному графику или стандартной шкале, в мкг.

b — вес пробы продукта, в г.

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРБАМАТОВ (ПРОИЗВОДНЫХ КАРБАМИНОВОЙ И ДИТИОКАРБАМИНОВОЙ КИСЛОТ)

Качественное хроматографическое и количественное колориметрическое определение сефина в плодах*

Принцип. Метод основан на извлечении сефина петролейным эфиром или бензолом, на очистке экстракта от примесей, омылении раствором едкого натра до 1-нафтола и сочетании последнего с параитрофенилдиазонием с образованием азокраски синего цвета.

Чувствительность хроматографического метода меньше 1 мкг, колориметрического — 0,03 мг/кг.

Реактивы и растворы: эфир петролейный, температура кипения $40—63^\circ$, или бензол перегнанный; метанол х. ч.; хлорид натрия х. ч.; бумага для хроматографирования; ацетон х. ч.; едкий натр х. ч.; п-нитроанилин перекристаллизованный, свежеприготовленный (к 0,02%-ному раствору п-нитроанилина в 0,1 н. соляной кислоте приливают 0,8%-ный водный раствор нитрита натрия (10:1). Раствор готовят в колбочке, погруженной в ледяную воду); стандартный раствор сефина (20 мг сефина, х. ч., растворяют в мерной колбе в 100 мл петролейного эфира или бензола, 2,5 мл этого раствора переносят в мерную колбу емкостью 50 мл и доводят до метки тем же растворителем. 1 мл раствора содержит 10 мкг сефина).

Приборы и посуда: сосуд для хроматографии на бумаге; колбочки круглодонные на 100—150 мл с пришлифованными обратными холодильниками; воронки делительные на 250 мл; пипетки емкостью 0,1 мл; колориметр; пульверизатор стеклянный.

Ход определения. 1 кг плодов помещают в сосуд с пришлифованной стеклянной крышкой и заливают петролейным эфиром или бензолом. Через 24 часа эфир сливают и плоды ополаскивают тем же растворителем. Одновременно таким же образом готовят экстракт из контрольного образца исследуемых плодов. Этот экстракт необходим для построения калибровочного графика.

Часть экстракта, соответствующую 100 г анализируемой пробы, отгоняют почти досуха на водяной бане. Остаток в колбе растворяют в 10 мл метанола, раствор переносят в делительную воронку емкостью 250 мл и к нему добавляют 30 мл дистиллированной воды. Выпадают воск и красящие вещества, которые удаляют взбалтыванием с 10 мл петролейного эфира 2—3 минуты. Взбалтывают 3 раза, общее количество петролейного эфира 30 мл. Чтобы не образовалась эмульсия, в делительную

* Метод разработан Л. М. Фукельманом.

воронку всыпают 2—3 г хлорида натрия. Воднометаноловый раствор взбалтывают 3 раза: первый раз со 100 мл бензола, во второй раз с 50 мл и третий раз также с 50 мл. Севин переходит в бензол. Бензольные экстракты сушат безводным сульфатом натрия и используют их для хроматографического определения.

Хроматографическое определение. 50 мл бензольного раствора упаривают на водяной бане до 0,3—0,5 мл и остаток переносят 0,1 мл пипеткой на полоску хроматографической бумаги в определенную точку. Затем колбу дважды промывают 0,2—0,4 мл бензола, который также наносят на бумагу в ту же точку.

Во время нанесения раствора на бумагу направляют струю воздуха при помощи вентилятора. Диаметр пятен не должен превышать 1 см.

Исследуемые растворы наносят на бумагу в точки, находящиеся на расстоянии 3 см от нижнего ее края и 2,5 см от боковых ее краев. Расстояния между точками должны быть равны 3 см.

Затем полоску бумаги погружают в сосуд для хроматографии в подвижный растворитель (80% дистиллированной воды и 20% ацетона) на глубину 1,2 см от нижнего ее края и держат до тех пор, пока фронт жидкости поднимется на высоту 15—16 см, на что уходит приблизительно 2 часа. Затем бумагу вынимают из сосуда, растворитель испаряют на воздухе, а бумагу опрыскивают 1,5 н. раствором едкого натра в смеси с метиловым и н-бутиловым спиртом (1:1). Севин омыляется до 1-нафтола.

После испарения спирта хроматограммы проявляют опрыскиванием бумаги смесью 0,1%-ного раствора п-нитроанилина в 0,1 н. соляной кислоте с 4%-ным водным раствором нитрита натрия. Смесь готовят из указанных растворов в отношении 10:1 в колбочке, помещенной в ледяную воду. В результате опрыскивания бумага раствором хлористо-водородной соли п-нитрофенилдиазония происходит соединение ее с 1-нафтолом и в тех местах, где находился севин, появляются синие пятна.

При анализе чистого препарата пятна получаются в виде синих кружочков. R_f для севина при 25° равен приблизительно 0,76, а для 1-нафтола — 0,5.

При анализе севина в растительной ткани или в плодах получают синие полосы, идущие снизу вверх по длине полосы бумаги.

Колориметрическое определение. 100 мл полученного, как описано выше, бензольного экстракта упаривают на водяной бане досуха и остаток растворяют в 5 мл метанола. К полученному раствору приливают 1 мл 2%-ного водного раствора едкого натра для омыления севина до 1-нафтола и охлаждают раствор ледяной водой. К охлажденному, омыленному раствору

севина прибавляют 1 мл свежеприготовленного раствора соли нитрофенилдиазония. В результате сочетания п-нитрофенилдиазония с 1-нафтолом получается азосоединение синего цвета. В колбочку вливают еще 5 мл метанола и оставляют на 2 часа в холодильнике до полного проявления окраски.

Одновременно с пробой строят калибровочный график. Для этого к контрольным экстрактам, соответствующим 100 г определяемого продукта, прибавляют 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 мл стандартного раствора севина, что соответствует 2,5; 5; 10; 15 мкг севина и проводят колориметрическое определение так, как описано выше, т. е. удаляют воск и красящие вещества, омыляют севин до 1-нафтола и т. д.

Колориметрирование проводят с оранжевым светофильтром. Количество севина в мг/кг (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot B \cdot 1000}{B \cdot \Gamma}$$

где A — количество севина, найденное по калибровочному графику, в мг;

B — объем экстракта, взятого для анализа, в мл;

B — объем всего экстракта, в мл;

Γ — навеска образца, взятого для анализа, в г;

1000 — коэффициент пересчета на 1 кг продукта.

Определение специфично, если первоначальные экстракты в петролейном эфире промывают водой для удаления 1-нафтола в делительной воронке. Соотношение экстракта и воды должно быть 2:1. Встряхивание с водой в течение 2—3 минут проводят 2 раза.

Обнаружение и определение тетраметилтиурамдисульфида (ТМТД)

Качественное обнаружение. Исследуемый материал заливают этиловым спиртом, экстрагируют 20—30 минут при взбалтывании и фильтруют. К 2—3 мл фильтрата добавляют 2—3 капли 10%-ного раствора серной кислоты и 2—3 капли 1%-ного раствора сульфата меди и нагревают, не доводя до кипения. В присутствии ТМТД раствор окрашивается в ярко-зеленый (салатный) цвет, при больших концентрациях постепенно переходящий в буро-коричневый.

Реакция специфична для ТМТД, дитиокарбаматы дают в этих условиях с катионом меди коричневое окрашивание, ДДТ и ГХЦГ не мешают проведению реакции.

Чувствительность — 4 мкг/мл при предельной концентрации 1:250 000.

Колориметрическое определение тетраметилтиурамдисульфида в зерне (ячмень, кукуруза), пшеничной муке, комбикорме, яблоках *

Принцип. Метод основан на извлечении ТМТД из растительных объектов этиловым спиртом, взаимодействии пестицида со спиртовым раствором хлорной меди с образованием окрашенного в салатный цвет тиурамата меди, определяемого колориметрическим путем.

Метод специфичен, хлороорганические пестициды (ДДТ, гексахлоран) не мешают определению. Метод хорошо воспроизводим и точен.

Чувствительность определения — 5 мкг/мл.

Реактивы: этиловый спирт 96°; раствор хлорида меди (II), 1%-ный спиртовой раствор; тетраметилтиурамдисульфид перекристаллизованный (4—5 г ТМТД растворяют в 5 мл хлороформа, добавляют этиловый спирт при помешивании, образующийся осадок ТМТД отфильтровывают под вакуумом, осторожно промывают спиртом и сушат при 100°).

Построение калибровочного графика. Готовят спиртовые растворы тетраметилтиурамдисульфида, содержащие 5; 10; 15; 20; 30 и 40 мкг вещества в 1 мл. К 5 мл этих растворов добавляют 0,1 мл 1%-ного спиртового раствора хлорида меди (II), нагревают до 50—60° и через 20 минут колориметрируют при 440 мкм (светофильтр № 4) в кюветах с расстоянием между рабочими гранями 10 мм, против экстракта из объекта. На оси ординат наносят экстинкцию, а на оси абсцисс — содержание ТМТД в 1 мл в микрограммах. Наблюдается определенная закономерность: цифра, выражающая содержание ТМТД в микрограммах в 1 мл, совпадает с оптической плотностью, выраженной с точностью до сотых долей единицы. Например, содержание ТМТД — 5 мкг/мл, оптическая плотность — 0,05, содержание ТМТД — 15 мкг/мл, оптическая плотность — 0,15 и т. д.

Ход определения. Пробы зерна, крупы весом в 20 г заливают 40 мл этилового спирта, а комбикорма и муки весом 10 г заливают 50 мл спирта и экстрагируют 30—60 минут, в зависимости от характера исследуемого объекта. Экстракт фильтруют. К 5 мл экстракта добавляют 0,1 мл 1%-ного спиртового раствора хлорида меди (II) и поступают дальше так, как при построении калибровочного графика. Колориметрирование проводят против экстракта из объекта без добавления раствора хлорной меди.

Содержание ТМТД в объекте рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot b}{c},$$

где X — содержание ТМТД в продукте, в мг/кг;
 a — количество ТМТД, найденное по калибровочному графику; в мкг;
 b — объем спирта, добавленного в пробу, в мл;
 c — навеска продукта, в г.

Расчет содержания ТМТД в исследуемом продукте можно вести и без калибровочного графика, если соблюдается закономерность между оптической плотностью и содержанием ТМТД, указанная при построении калибровочного графика. Тогда пользуются формулой:

$$X = \mathcal{E} \cdot 100 \cdot a,$$

где X — содержание ТМТД в исследуемом продукте в мг/кг;
 \mathcal{E} — оптическая плотность, выраженная в сотых долях единицы;
 a — отношение объема растворителя в миллилитрах к навеске пробы, в г;
100 — коэффициент для перечисления экстинкции в целое число.

Определение тетраметилтиурамдисульфида капельной реакцией на силикагеле

Принцип и описание определения см. стр. 149.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОХИМИКАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ РТУТЬ

В настоящее время имеется большое количество разнообразных фунгицидов, действующим началом которых являются органические соединения ртути.

Они используются обычно для сухого и мокрого протравливания семян сельскохозяйственных культур.

Ниже описываются препараты, имеющие наиболее важное значение как фунгициды.

Гранозан (препарат НИУИФ-2, церезан, этилртутихлорид), C_2H_5HgCl , молекулярный вес 265,13.

Этилртутихлорид в чистом виде — белое кристаллическое вещество со специфическим запахом. Температура плавления 192,5°. В воде этилртутихлорид не растворяется, растворим в спирте, ацетоне и других органических растворителях.

Гранозан представляет собой порошок от светло-оранжевого до оранжевого цвета, с неприятным запахом, содержащий 1,8—2,3% этилртутихлорида, 0,6—1,2% минерального масла и 96—97% талька.

Гранозан устойчив к действию кислорода, воды, углекислого газа и сохраняется неопределенно долгое время. Это один из основных препаратов, применяемый для сухого протравливания зерна, семян зерновых культур. Гранозан сильно действующее ядовитое вещество, что ограничивает его широкое применение.

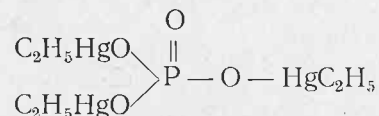
* Метод разработан А. В. Николаевым и Л. И. Устименко.

Меркуран и меркургексан. Меркуран — это смесь этилмеркурхлорида, гексахлорана, обогащенного гамма-изомером, и талька. По внешнему виду — белый, светло-серый или желтый порошок с сильным запахом, содержит 2% этилмеркурхлорида, 12% гамма-изомера гексахлорана и около 86% талька. В воде не растворяется.

Меркургексан — препарат, содержащий 20% гексахлорбензола, 0,8—1,0% этилмеркурхлорида и до 15—20% гамма-изомера гексахлорана, остальные 29—36% — наполнитель — тальк или смесь талька с каолином.

Физические и химические свойства меркурана и меркургексана определяются свойствами их компонентов.

Препарат НИУИФ-1 (руброн, ЭМФ, этилмеркурфосфат), $C_6H_{15}O_4PHg_3$, молекулярный вес 783,99.



Действующим началом препарата НИУИФ-1 является этилмеркурфосфат, представляющий собой белые кристаллы с температурой плавления 178—179°. Препарат хорошо растворяется в воде (около 44%) и во многих органических растворителях, содержит 13% этилмеркурфосфата и 87% карбоната натрия.

Применяется для протравливания семян различных культур.

На основе ртутноорганических соединений предложено большое количество разнообразных фунгицидных препаратов, как, например: фенилмеркурацетат (ФМА, Фмац), фенилмеркурбензоат, фенилмеркурбромид (агронал), фенилмеркурдиметилдитиокарбамат (мерфенол 51), фенилмеркурмочевина (агрокс, лейтозан, ФММ), фенилмеркурпирокатехин (гермизан) и др.*

Качественное обнаружение. 1. Корма и другие растительные материалы, подозреваемые в содержании ртутноорганических ядохимикатов, помещают в склянку, закрывают плотно пробкой, к которой прикреплена полоска фильтровальной бумаги с нанесенными на нее каплями взвеси йодида меди (приготовления взвеси йодида меди см. стр. 79). Полоска бумаги укреплена так, что одна капля взвеси йодида меди находится в банке, а вторая капля — вне ее (контроль).

В присутствии гранозана и других ртутьсодержащих ядохимикатов капля взвеси йодида меди, находящаяся в банке, окрашивается в розовый или оранжево-красный цвет, капля же йодида меди, находящаяся вне банки (контроль), остается слабо-желтой.

* См. обзор по ртутноорганическим фунгицидам. Токио. Хокко Кемикл индустри компани, пер. с японского, 1961.

Для повышения чувствительности метода склянку с пробой помещают в термостат и оставляют на несколько часов стоять при температуре 40—45°.

2. В колбу прибора (см. рис. 10) насыпают 100 г исследуемого продукта и помещают прибор в кипящую водяную баню. Отводной конец прибора погружают в узкую пробирку, содержащую 3—5 мл поглотительного раствора (см. ниже). При помощи aspirатора в течение 2—3 часов через прибор продувают воздух со скоростью 50—60 мл/мин. По мере улетучивания йода из поглотительного раствора в пробирку прибавляют по каплям 0,1 н. раствор йода до тех пор, пока окраска раствора в пробирке не сравняется с окраской поглотительного раствора.

После окончания десорбции отводную трубку прибора промывают поглотительным раствором (2—3 мл), сливают его в пробирку с пробой и приливают туда 0,8 мл составного раствора.

В присутствии ртутьорганических соединений наблюдается выпадение осадка от желто-кремового до желто-оранжевого цвета. Если этих соединений нет, появляется только густая белая взвесь йодида меди.

3. Метод основан на свойстве металлической меди вытеснять ртуть из ее соединений в кислой среде с образованием амальгамы на медной проволоке. В дальнейшем производится исследование возгона медной амальгамы по образованию окрашенного комплекса йодида меди и йодида ртути.

Реактивы: соляная кислота, 12%-ный раствор, этиловый спирт 96°; серный эфир; кристаллический йод, дважды возогнаный; поглотительный раствор, состоящий из 2,5 г дважды возогнанного кристаллического йода и 30 г йодистого калия в 1 л воды; наждачная бумага; фильтровальная бумага; пробирки длиной 10—12 см и диаметром 0,5—0,6 см; обычные пробирки; пинцет; стеклянные палочки длиной 14—15 см; стаканчики емкостью 50 мл или чашки Петри; стеклянные капилляры длиной 6 см и диаметром 1,5—2 мм; составной раствор: в мерный цилиндр к одному объему раствора хлорида или сульфата меди ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$ — 7 г в 100 мл воды или $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ — 10 г в 100 мл воды) приливают два объема раствора сульфита натрия (приблизительно 2,5 н. раствор $Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$), перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения осадка. К прозрачному раствору приливают полтора объема раствора бикарбоната натрия (8 г в 100 мл воды) и снова тщательно перемешивают стеклянной палочкой.

Ход определения. В химический стакан емкостью 400—500 мл помещают 100 г исследуемого зерна или зернопродуктов, в которые погружают 9 медных тонких проволок длиной 10—12 см, из них 8 проволок, предварительно зачищенных до блеска наждачной бумагой и свернутых в виде спиралей. В стакан приливают 150—250 мл 12%-ного раствора соляной

кислоты, кипятят 10 минут, отмечая время с момента закипания, и оставляют стоять на сутки при комнатной температуре. После этого спирали и проволоку вынимают из стакана и последовательно промывают дистиллированной водой, спиртом и эфиром, причем после каждой промывки спирали и проволоку сушат на воздухе на фильтровальной бумаге и подвергают спирали возгонке с дважды сублимированным кристаллическим йодом, независимо от того, произошло или нет изменение цвета спиралей.

Для возгонки ртути и перевода ее в йодид следует употреблять тщательно вымытые и прокаленные в пламени горелки пробирки длиной 10—12 см и диаметром 0,5—0,6 см. В пробирку кладут небольшой кристаллик йода, 4 спирали и производят возгонку путем осторожного равномерного нагревания пробирки в месте нахождения спиралей, держа пробирку над слабым пламенем и после исчезновения паров йода — в пламени горелки до каления. Для равномерного нагревания спиралей пробирку нужно осторожно вращать вокруг оси. Для улучшения конденсации возгона йодида ртути и предотвращения потерь ртути пробирку на расстоянии 1—2 см от верхнего конца спиралей необходимо охлаждать при помощи полоски фильтровальной бумаги, смоченной холодной водой.

После окончания возгонки и охлаждения пробирки спирали удаляют, в эту же пробирку кладут еще кристаллик йода, остальные четыре спирали и снова возгоняют. После возгонки и удаления спиралей в пробирку вносят еще кристаллик йода и осторожно нагревают пробирку до исчезновения паров йода. При этом желтая модификация йодида ртути превращается в красную. Образовавшийся возгон йодида ртути обрабатывают двукратно 2 мл поглотительного раствора йода, который сливают в обычную пробирку. К полученному раствору в количестве 4 мл прибавляют 3 мл составного раствора. В присутствии гранозана отмечают появление ясного до желто-оранжево-красного окрашивания, характерного для образующегося в присутствии ртути комплекса йодида меди и йодида ртути ($\text{CuJ} \cdot \text{HgJ}_2$). Если гранозана нет, наблюдают появление густой белой взвеси йодида меди. Реакция специфична и позволяет определять 0,5 мкг ртути.

Одновременно рекомендуется проводить микроскопическое исследование налета с медной проволоки. Для этого проволоку, подвергавшуюся обработке, вместе со спиралями осторожно разрезают на три части и одну часть переносят в запаянный с одного конца тонкостенный капилляр длиной 6 см, диаметром 1,5—2 мм так, чтобы проволока достигала дна капилляра. Возгонку производят путем внесения капилляра в боковую часть пламени в наклонном положении, чтобы донышко капилляра только касалось пламени, и наблюдают образование беловатого налета на стенке капилляра у конца проволоки, обращенного к открытому концу капилляра.

Чтобы предотвратить потерю ртути, пробирку на расстоянии 1—2 см от верхнего конца проволочек охлаждают с помощью фильтровальной бумаги, смоченной холодной водой. Если налета не образуется, донышко капилляра вносят в пламя горелки так, чтобы оно не захватывало больше $\frac{1}{3}$ длины проволоки. После охлаждения капилляра образовавшийся белый налет рассматривают под микроскопом. Налет представляется в виде мелких различной величины капелек металлической ртути. Если после возгона налета с одной проволоки капельки ртути при микроскопическом исследовании не обнаружены, проволоку из капилляра осторожно вынимают, на ее место помещают другую и возгонку повторяют.

При наличии гранозана под микроскопом видны резко очерченные разной величины капельки металлической ртути.

Количественное определение ртути в кормах и других растительных материалах можно проводить методами определения ртути в патологическом материале после разрушения объекта исследования, как это описано на стр. 71.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОХИМИКАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ МЕДЬ

Препарат АБ состоит главным образом из основного сульфата меди $\text{CuSO}_4 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2$. В качестве примесей в нем присутствуют основной карбонат меди $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, мел и гипс.

Препарат АБ представляет собой пылевидное вещество светло-зеленого, голубовато-зеленого или серовато-голубого цвета. В воде не растворяется. В водном растворе аммиака растворяется плохо с образованием окрашенного в голубой или зеленоватый цвет раствора. Почти полностью (гипс не растворяется) с выделением углекислого газа растворяется в соляной или азотной кислотах, что отличает его от других медьсодержащих препаратов.

Посинение солянокислого раствора от избытка аммиака, а также образование налета меди на железных предметах, опущенных в солянокислый раствор, характерно для всех неорганических ядохимикатов, содержащих медь.

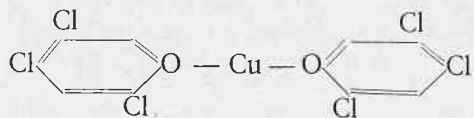
Препарат АБ применяют как фунгицид главным образом для сухого протравливания семян зерновых культур с целью борьбы с головней.

Бордоская жидкость. Это непрозрачная жидкость бирюзового цвета. Действующим началом ее являются практически нерастворимые в воде основные соли сульфата меди, преимущественно $[\text{Cu}(\text{OH})_2]_3 \cdot \text{CuSO}_4$.

Готовят ее смешиванием 90 л 1,1%-ного раствора сульфата меди с 10 л 10%-ного известкового молока.

Один из наиболее эффективных и часто применяемых фунгицидов для обработки садов и виноградников.

Трихлорфенолят меди (ТХФМ, 2,4,5-трихлорфенолят меди), $C_{12}H_4O_2Cl_6Cu$, молекулярный вес 456,44.



Действующее начало препарата — 2,4,5-трихлорфенолят меди — красно-бурый порошок, нерастворяющийся в воде и органических растворителях, растворим в аммиаке и ледяной уксусной кислоте. При действии кислот и щелочей разлагается с образованием солей или гидрата окиси меди.

Применяется в виде дуста, содержащего 20% 2,4,5-трихлорфенолята меди, 30% талька и 50% каолина для борьбы с гомозом хлопчатника.

Хлорокись меди. $Cu(OH)_2 \cdot CuCl_2 \cdot H_2O$, молекулярный вес 445,14.

Это светло-зеленый нерастворимый в воде и органических растворителях порошок. Устойчив при хранении к действию солнечных лучей, влаги и воздуха. Растворяется в кислотах с образованием соединений, обладающих малой фунгицидностью. Как все препараты меди растворяется в аммиаке.

Выпускается промышленностью в виде 50%-ного смачивающегося порошка и 30%-ного дуста.

Применяется для борьбы с вредителями и болезнями плодовых культур и винограда.

Качественное обнаружение и количественное определение меди в кормах и растительных объектах можно проводить методами, описанными при исследовании патологического материала, стр. 70.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОХИМИКАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ МЫШЬЯК

Арсенат кальция (кальций мышьяковокислый), $Ca_3(AsO_4)_2$, $Ca(OH)_2$, молекулярный вес 472,16.

Химически чистый основной арсенат кальция состава $Ca_3(AsO_4)_2 \cdot Ca(OH)_2$ содержит 48,7% пятиокси мышьяка As_2O_5 .

Технический препарат содержит только 38—42% As_2O_5 , так как, кроме основного арсената кальция, в его состав входят кислый арсенат кальция, свободная трехокись мышьяка и гидрат окиси кальция.

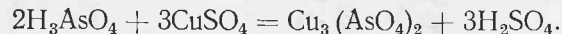
Химический состав технического арсената кальция сложен и меняется в зависимости от способа и режима получения, а также от условий хранения.

Арсенат кальция — белый или светло-сероватый несслеживающийся и хорошо распыливающийся тонкий порошок. Незначи-

тельно растворяется в воде, но полностью в соляной и азотной кислотах.

Применяется для опыливания лесов, технических, масляничных, овощных культур, а также садов и виноградников против различных вредителей.

Реакции идентификации арсената кальция.
1. К раствору арсената кальция в разбавленной азотной кислоте приливают раствор сульфата меди и несколько капель раствора концентрированного аммиака, выпадает голубой осадок арсената меди:



2. При добавлении к солянокислому раствору арсената кальция нескольких капель 1%-ного раствора марганцовокислого калия раствор окрашивается в розовый цвет, в то время как в солянокислых растворах арсенитов натрия и кальция (протарса) происходит обесцвечивание растворов вследствие окисления арсенитов в арсенаты. Реакция служит для отличия арсенатов от арсенитов.

3. Арсенат кальция растворяют в азотной кислоте и фильтруют. К фильтрату прибавляют такое же количество раствора нитрата серебра и несколько капель раствора концентрированного аммиака (в избытке аммиака осадок растворяется) — выпадает осадок арсената серебра шоколадного цвета.

Качественное обнаружение в кормах и растительных объектах. Пробу исследуемого объекта заливают 10%-ным раствором соляной кислоты, экстрагируют 20—30 минут и фильтруют. Фильтрат исследуют вышеприведенными реакциями и реакциями на мышьяк, описанными при исследовании патологического материала (см. стр. 66).

Количественное определение в кормах проводят так же, как и в патологическом материале, см. стр. 66.

Арсенит кальция (кальций мышьяковистокислый), $Ca(AsO_2)_2$ и $Ca_3(AsO_3)_2$.

Технический препарат арсенита кальция состоит главным образом из метарсенита кальция $Ca(AsO_2)_2$ с примесью арсенита кальция $Ca_3(AsO_3)_2$; кроме того, препарат содержит небольшие количества гидроарсенита и дигидроарсенита кальция.

По внешнему виду это пылевидный порошок белого или серого цвета, без запаха, не слеживается. В воде и щелочах не растворяется; в соляной и азотной кислотах растворяется полностью. Кишечный инсектицид.

Реакции идентификации арсенита кальция.
1. К раствору арсенита кальция в азотной кислоте прибавляют несколько капель раствора аммиака для нейтрализации азотной кислоты, а затем раствора сульфата меди — образуется осадок арсенита меди зеленого цвета, растворимый в кислотах и аммиаке.

2. При добавлении нескольких капель 1%-ного раствора марганцовокислого калия к раствору арсенита кальция в соляной кислоте розовая окраска перманганата исчезает.

3. Раствор арсенита кальция в азотной кислоте, нейтрализованный аммиаком, образует с раствором нитрата серебра желтый осадок арсенита серебра, растворимый в кислотах.

Качественное и количественное определение в кормах и растительных объектах проводится так же, как и арсенита кальция.

Арсенит натрия (натрий мышьяковистокислый), NaAsO_2 и Na_3AsO_3 .

Арсенит натрия, применяемый для борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений, представляет собой пастообразную, почти черную массу, содержащую около 18% воды. При хранении в неплотно закрытой таре паста высыхает и превращается в плотный крепкий ком.

Препарат арсенита натрия выпускается и в виде порошка. Обе соли мышьяковистой кислоты хорошо растворяются в воде и образуют прозрачные растворы щелочной реакции.

Арсенит натрия — кишечный инсектицид, зооцид и гербицид. В ветеринарии применяется для борьбы с чесоткой овец и иксодовыми клещами.

Реакции идентификации и методы качественного и количественного определения арсенита натрия те же, что применяются для арсенита кальция, см. стр. 185.

Парижская зелень (двойная соль ацетата и метарсенита меди), $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{Cu}(\text{AsO}_2)_2$, молекулярный вес 1013,7.

Это мелкокристаллическое порошкообразное вещество яркого зеленого цвета, без запаха.

Очень плохо растворяется в воде и органических растворителях, хорошо — в кислотах и водных растворах аммиака. При нагревании выше 100° разлагается с образованием уксусной кислоты.

Парижская зелень — инсектицид кишечного действия.

Реакции идентификации. Для распознавания парижской зелени проводят реакции, характерные для ядохимикатов, содержащих медь, и ядохимикатов, содержащих арсениты.

Качественное и количественное определение можно проводить методами, применяемыми для определения мышьяка в кормах и патологическом материале (стр. 66).

Протарс. По химическому составу протарс представляет собой механическую смесь, состоящую из 14—18% арсенита кальция и 82—86% наполнителя — талька или фосфоритной муки. Пылевидный препарат от белого до серого цвета, без запаха.

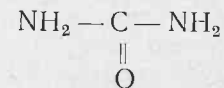
В воде и органических растворителях не растворяется. В разбавленных соляной или азотной кислотах растворяется около 20% препарата, т. е. только арсенит кальция. Фунгицид.

Реакции идентификации и методы качественного и количественного определения см. арсенит кальция.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДРУГИХ ЯДОХИМИКАТОВ И ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Обнаружение и определение мочевины

Мочевина (карбамид, полный амид угольной кислоты), CH_4ON_2 , молекулярный вес 60,04.

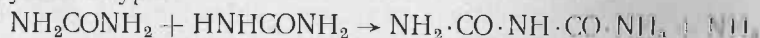


Физико-химические свойства и получение см. стр. 140

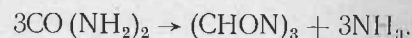
Качественные реакции. 1. Несколько кристалликов мочевины растворяют дистиллированной водой (1—2 капли) на предметном стекле и смешивают с каплей концентрированной азотной кислоты. Под микроскопом наблюдают кристаллы азотной мочевины $\text{NH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{HNO}_3$, имеющие вид тонких ромбидальных или неправильной формы шестиугольных табличек, большей частью собранных в кучки.

2. К капле раствора мочевины на предметном стекле (см. п. 1) прибавляют каплю насыщенного раствора щавелевой кислоты. Под микроскопом наблюдают кристаллы щавелевокислой мочевины NH_2CONH_2 , $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, имеющие форму коротких короткоугольных призм, пирамид и толстых ромбидальных табличек.

3. Несколько сухих кристалликов мочевины помещают в сухую маленькую пробирку и нагревают на маленьком пламени. Мочевина плавится. Нагревание продолжают до начала затвердевания расплавленной массы, при этом происходит выделение аммиака, который можно узнать по запаху и изменению влажной красной лакмусовой бумажки, из мочевины образуется биурет:

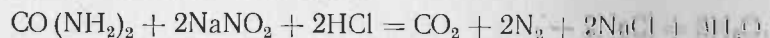


и отчасти циануровая кислота:

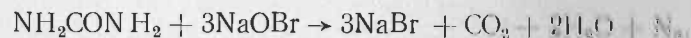


По охлаждении остаток растворяют в разбавленном растворе едкого натра и смешивают с 1—2 каплями очень разбавленного раствора сульфата меди — появляется красно-фиолетовое окрашивание.

4. Раствор мочевины смешивают с раствором нитрата натрия или калия и подкисляют соляной кислотой; выделяется пузырьки бесцветного газа азота:



5. При добавлении к раствору мочевины раствора гипобромита натрия она разлагается с выделением азота, углекислого газа и воды:



На этой реакции основаны методы количественного определения мочевины в крови.

Качественное обнаружение в кормах. Корм, содержащий мочевины, помещают в широкую пробирку (диаметр 2 см), которую неплотно закрывают пробкой с укрепленной на ней красной лакмусовой бумажкой так, чтобы она не касалась стенок пробирки. Пробирку с кормом нагревают над пламенем горелки до появления белого дыма. В присутствии мочевины красная лакмусовая бумажка синее.

Одновременно ставят контрольный опыт с таким же кормом, но не содержащим мочевины.

Количественное определение. Принцип. Метод основан на разложении мочевины гипобромитом натрия с образованием азота и углекислого газа, объем которых измеряется.

Реактивы: гипобромит натрия (20 г едкого натра х. ч. растворяют в 800 мл дистиллированной воды, охлаждают до 0°, прибавляют 10 г брома, раствор перемешивают и доводят водой до 1000 мл; раствор ставят на сутки в холодильник. Раствор не постоянен, его титр нужно проверять по навескам мочевины согласно калибровочной кривой); 1%-ный раствор серной кислоты, подкрашенный, применяется как отмерно-показательная жидкость.

Приготовление калибровочной кривой. Для каждого приготовленного раствора гипобромита натрия строят калибровочную кривую по кормовой смеси с точной добавкой мочевины в пределах от 1 до 10% с интервалами в 1%.

Определение проводят в приборе для волюмометрического определения углекислого газа. Важно следить за шлифами и смазывать их ланолином.

Ход определения. 25 г корма помещают в мерную колбу на 250 мл, заливают дистиллированной водой и оставляют на ночь для полного извлечения мочевины. После этого доливают водой до метки и фильтруют.

В дополнительный сосуд прибора наливают раствор гипобромита натрия, а в мерную трубку — 1%-ный раствор серной кислоты. В коническую колбу наливают 10 мл фильтрата и устанавливают колбу на электромагнитную мешалку. После соединения частей прибора в колбу вводят 25 мл раствора гипобромита натрия при постоянном перемешивании и точно через 10 минут отсчитывают количество миллилитров образовавшегося газа. По калибровочному графику находят количество мочевины.

Рекомендуется делать 2—3 замера и их средний арифметический результат сопоставлять с данными калибровочной кривой, на которой можно сделать отсчет содержания мочевины в корме в процентах.

Точность методики 13—15%.

Обнаружение кремнефторидов и фторидов

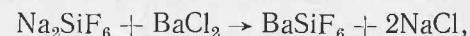
Кремнефторид натрия (натрий кремнефтористый), Na_2SiF_6 , молекулярный вес 188,07.

Это мелкокристаллический белый порошок, иногда с кремоватым или сероватым оттенком. Мало растворяется в воде — 0,76% при 25°.

Технический препарат кремнефтористого натрия содержит примеси NaF , NaHF_2 и других соединений.

Употребляется главным образом для борьбы с вредителями сахарной свеклы, льна, зерна и других сельскохозяйственных культур.

Реакции идентификации. При прибавлении к раствору кремнефторида натрия раствора хлорида бария выпадает осадок кремнефторида бария:



который плохо растворяется в разбавленных кислотах.

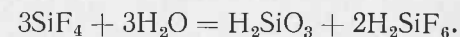
При добавлении раствора аммиака к раствору кремнефторида натрия выпадает студенистый осадок кремниевой кислоты:



Сухую соль кремнефторида бария помещают в платиновый тигель и обливают концентрированной серной кислотой:



«Травление» стекла указывает на наличие фтористого водорода, а помутнение поднесенной на палочке капли воды — на фторид кремния:



Реакцию проводят в платиновом тигле, так как в стеклянной пробирке фторид кремния может образоваться при наличии фторидов.

Фторид натрия (натрий фтористый) NaF , молекулярный вес 41,99.

Чистый фторид натрия — белое порошкообразное вещество без запаха. Растворяется в воде — 3,75% при 20°.

Реакция растворов технического фторида натрия щелочная вследствие присутствия соды.

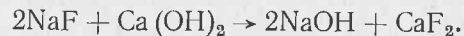
Реакции идентификации. При добавлении к раствору фторида натрия раствора хлорида бария выпадает белый осадок фторида бария:



При добавлении к фториду натрия концентрированной серной кислоты выделяется фтористый водород, разрушающий стекло:



При взаимодействии фторида натрия с известью или мелом образуется малорастворимый фторид кальция:



Обнаружение фтора. 1. 10 г корма заливают 20 мл 10%-ного раствора серной кислоты, встряхивают 30 минут, фильтруют и в фильтрате определяют фтор по несмачиваемости стекла, как описано при обнаружении фтора в патологическом материале, см. стр. 56.

2. Навеску корма извлекают разбавленной соляной кислотой и определяют фтор капельной реакцией на циркониализариновой бумаге.

Обнаружение и определение кремнефторидов и фторидов в кормах производят так же, как в патологическом материале, см. стр. 143.

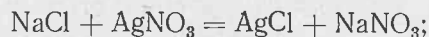
Обнаружение и определение хлорида натрия

Хлорид натрия (натрий хлористый, поваренная соль), NaCl , молекулярный вес 58,44.

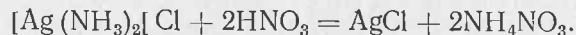
Хлорид натрия — это бесцветные кристаллы с кубической гранецентрированной решеткой, температура плавления 801° , температура кипения 1413° , растворимость в воде при температуре 0° 26,28%, при 25° — 26,43%, при 100° — 28,10%.

Хлорид натрия встречается в природе в виде залежей каменной соли, в значительных количествах содержится в воде соляных озер и источников, в морской воде содержание хлорида натрия может достигать 2—3%.

Качественное обнаружение. Если к подкисленному азотной кислотой раствору хлорида натрия прибавить раствор нитрата серебра, то образуется белый осадок хлорида серебра, темнеющий на свету и хорошо растворяющийся в растворе аммиака (реакция на ион хлора):



При добавлении к аммиачному раствору хлорида серебра азотной кислоты снова выделяется осадок хлорида серебра:



Количественное определение хлорида натрия в комбикормах. Принцип. Метод основан на извлечении водой хлоридов из обугленного комбикорма и определении их титрованием нитратом серебра в присутствии как индикатора хромата калия.

Реактивы: 0,1 н. раствор нитрата серебра, приготовление (см. стр. 25); 10%-ный раствор хромата калия.

Ход определения. 5 г комбикорма (средняя проба) помещают в тигель и обугливают при темно-красном калении в муфельной печи (температура 500°) в течение 20 минут. Цвет обуг-

ленного комбикорма должен быть черным. Навеску слегка увлажняют, тщательно растирают, количественно переносят в мерную колбу объемом 100 мл, доливают дистиллированной водой до $\frac{3}{4}$ объема, тщательно взбалтывают, доливают дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют. Первые порции фильтрата отбрасывают, затем пипеткой берут 25 мл его, добавляют 10—15 капель раствора хромата калия и титруют из микробюретки 0,1 н. раствором нитрата серебра до появления оранжево-красной окраски, не исчезающей в течение 30—40 секунд.

Содержание (X) хлорида натрия в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 0,005844 \cdot v \cdot 100}{B \cdot g},$$

где А — количество 0,1 н. раствора нитрата серебра, израсходованное на титрование, мл;
В — количество фильтрата, взятое для титрования, мл;
g — навеска комбикорма, г;
v — объем жидкости в мерной колбе, мл;
0,005844 — титр 0,1 н. раствора AgNO_3 по NaCl .

Обнаружение и определение нитратов и нитритов

Нитраты и нитриты (соли азотной и азотистой кислот). Все соли азотной кислоты — нитраты (MeNO_3) растворимы в воде; все соли, за исключением солей окрашенных катионов, бесцветны. Водные растворы солей азотной кислоты и сильных оснований имеют нейтральную реакцию, соли слабых оснований — кислую реакцию.

В кислой среде нитраты действуют как сильные окислители, они окисляют почти все металлы и неметаллы и переводят элементы из состояния низшей степени окисления в состояние высшей степени окисления.

В щелочной среде нитраты цинковой пылью или алюминием восстанавливаются до аммиака.

Все соли азотистой кислоты (MeNO_2) растворимы в воде. Наименее растворим нитрит серебра. Нитриты в кислой среде обладают свойствами окислителя и восстановителя.

В кислой среде нитриты окисляют йодиды с выделением элементарного йода.

Если на фильтровальную бумагу, пропитанную раствором крахмала, нанести каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты, каплю раствора нитрита натрия и каплю раствора 1—2%-ного раствора йодида калия, то на бумаге образуется синее пятно, или кольцо.

Количественное определение. Принцип. Метод основан на использовании сухого реактива Грисса в виде устойчивой смеси,

состоящей из лимонной кислоты, сульфаниловой кислоты, α -нафтиламина и сульфата бария. Лимонная кислота, помимо создания нужной кислотности реактива, маскирует железо, которое в больших концентрациях мешает определению. Сульфат бария служит носителем активных ингредиентов. Метод непригоден для анализа интенсивно окрашенных экстрактов из растительных веществ.

Реактивы: сухой реактив Грисса (в мелкий порошок растворяют следующие реактивы: 75,0 г лимонной кислоты, 4,0 г сульфаниловой кислоты, 2,0 г α -нафтиламина и 100,0 г сульфата бария, высушенного при 110°. Отдельно смешивают сульфаниловую кислоту и α -нафтиламин с сульфатом бария. Затем тщательно перемешивают все ингредиенты вместе с сульфатом бария и лимонной кислотой. Реагент устойчив в течение многих месяцев при хранении в герметически закрытой банке, покрытой снаружи черной краской); 20%-ный раствор уксусной кислоты; стандартный раствор нитрита натрия (0,607 г нитрита натрия растворяют в литровой мерной колбе).

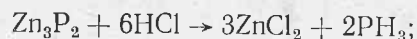
Ход определения. 10 г растительного материала (корма) измельчают и экстрагируют 0,1 н. раствором соляной кислоты. Экстракт нейтрализуют и 1 мл его помещают в центрифужную пробирку емкостью 12 мл, добавляют 9 мл раствора уксусной кислоты и добавляют 0,3—0,5 г смеси реагентов. Пробирку закрывают пробкой и встряхивают 50—60 секунд, затем центрифугируют до осветления раствора (4—5 минут при 4000 об/мин, образовавшуюся на поверхности белую пленку удаляют, а прозрачный раствор красного цвета переносят в кювету и измеряют оптическую плотность его при 520 мкм). Строят калибровочный график в пределах концентрации азота от 0,2 до 1,0 мг/л в растворе или от 2 до 10 мг/л в экстракте. В этих пределах воспроизводимость повторных определений составляет $\pm 5\%$.

Определение нитритов и нитратов в кормах можно проводить и другими методами, которые применяются для исследования патологического материала, см. стр. 135.

Определение фосфида цинка в кормах и патологическом материале*

Фосфид цинка, Zn_3P_2 , молекулярный вес 258,09.

Это темно-серый, почти черный порошок; не горит, не плавится; в воде и органических растворителях практически не растворяется. При действии кислот, даже слабых органических, фосфид цинка разлагается с выделением очень ядовитого газообразного фосфористого водорода PH_3 :



* Методика определения разработана F. G. Solt.

Фосфид цинка — основной зооцид для борьбы с мышевидными грызунами.

Определение фосфида цинка в кормах. Принцип. Метод основан на разложении фосфида цинка соляной кислотой до фосфористого водорода, окислении последнего перманганатом калия до фосфорной кислоты и определении последней по образованию синего гетерополикомплекса с молибденовой кислотой.

Реактивы: соляная кислота, 25%-ный раствор; перманганат калия, 1%-ный раствор; молибдат аммония, 2,5%-ный раствор (2,5 г молибдата аммония растворяют в 100 мл 5 н. серной кислоты); раствор эйконогена — 1-амино-2-нафтол-4-сульфокислота (0,25 г перекристаллизованного эйконогена растворяют в 100 мл воды, к которой прибавлено 15 мл бисульфита натрия, и добавляют 10—15 мл 20%-ного раствора сульфита натрия до полного растворения эйконогена).

Ход определения. 10 г исследуемого материала помещают в колбу с 50 мл воды, добавляют 25 мл 25%-ного раствора соляной кислоты и быстро закрывают пробкой с укрепленной в ней ловушкой, изогнутой стеклянной трубкой с двумя шарообразными расширениями, заполненными 1%-ным раствором перманганата калия (2 мл).

Содержимое колбы перемешивают, осторожно нагревают и кипятят 1—2 минуты. Трубку отсоединяют, выливают содержимое в пробирку, а трубку-ловушку дважды промывают дистиллированной водой по 2 мл, сливая промывную воду в пробирку. В нее же добавляют молибдат аммония и раствор эйконогена по 1 мл и пробирку встряхивают.

В присутствии фосфида цинка жидкость в пробирке окрашивается в голубой цвет.

По окраске раствора можно примерно определить содержание фосфида цинка во взятой пробе:

бледно-желтая окраска	—	фосфид цинка отсутствует
зеленовато-голубая окраска	—	фосфида цинка менее 0,2 мг
голубая	»	» 0,2—1 мг
ярко-голубая	»	» более 1 мг

Определение фосфида цинка в патологическом материале см. стр. 55.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ОСТАТКОВ ПЕСТИЦИДОВ В КОРМАХ И ПАТОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Сущность биологического метода основана на воздействии ядовитым веществом на организм животного и учете некоторых физиологических показателей (клинические признаки). По чувствительности биологические методы могут соперничать с химическими методами. При правильном подборе условий (навеска

объекта, метод изолирования яда, вид животного, способ воздействия на него) удается обнаруживать минимальные количества пестицидов (0,1 мг/кг).

Основным недостатком биологического метода является его неспецифичность. Метод не дает возможности дифференцировать и точно установить химическую природу ядохимиката и точно определить его количественно в исследуемом объекте. Кроме того, при биологическом методе исследования необходимо принимать во внимание индивидуальную особенность каждого подопытного животного.

При выполнении некоторых биологических методов требуется много времени, так как клинические признаки отравления у животных иногда наступают через несколько часов и даже дней.

Для проведения биологического метода необходимо иметь заранее подготовленных подопытных животных, уход за которыми делает его громоздким и неэкономичным.

Но биологический метод универсальный. С его помощью можно установить токсичность материала независимо от того, известными или неизвестными пестицидами он загрязнен.

На ранних стадиях испытания и применения пестицида может и не быть специфического и достаточно точного химического метода его определения.

Иногда, даже при наличии достаточно хороших химических методов, отдельные лаборатории не могут ими воспользоваться из-за отсутствия соответствующего оборудования и реактивов.

Наконец, биологический метод может оказать незаменимую помощь при разрешении спорных и трудных случаев, которые могут возникнуть при разрешении вопросов о возможности использования того или иного корма, содержащего остаточные количества пестицидов. Методы биологического исследования остатков инсектицидов могут быть сгруппированы по способам обработки материалов и воздействия на живой организм.

МЕТОД «СУХОЙ ПЛЕНКИ»

Основной прием метода заключается в том, что подопытных насекомых (комнатных мух, плодовых мушек-дрозофил и др.) выдерживают на «сухой пленке» токсического вещества, получаемой испарением досуха части образца экстракта объекта исследования. Исследуемый ядохимикат может быть нанесен в виде кристаллов или раствора.

Обнаружение пестицидов с помощью комнатных мух. Исследуемый объект (25—50 г) заливают ацетоном, плотно закрывают склянку и оставляют на 8—10 часов при комнатной температуре. Содержимое склянки периодически встряхивают.

Затем ацетоновый экстракт фильтруют в чашку Петри и оставляют при комнатной температуре до полного испарения ацетона.

В чашку помещают 20—30 мух. Для контроля столько же мух помещают в другую чашку Петри, где находится остаток ацетонового экстракта из нормального (не отравленного) объекта. Для получения более точных результатов одновременно ставят 2—3 пробы с подопытными насекомыми и одну контрольную.

Клинические признаки отравления комнатных мух фосфорорганическими пестицидами. При соприкосновении мух с поверхностью, обработанной фосфорорганическими соединениями, почти тотчас наблюдается активизация насекомых (усиленный лёт их). Очистительный рефлекс почти не проявляется. Через некоторое время насекомые становятся сонными, затем у них появляется паралич ног, мухи часто опрокидываются на спину и проделывают круговые движения. При нахождении мух в спином положении у них, так же как и при отравлении ДДТ, наблюдается непрерывный тремор конечностей. Причем ноги сначала имеют вытянутое положение, позже скручиваются игибаются. Крылья у мух, отравленных фосфорорганическими инсектицидами, находятся в нормальном положении, хоботок выпущен и производит дрожащие движения. Яйцевыводящая трубочка брюшка максимально выпущена. Конвульсии брюшка очень слабые.

Изолированные конечности мух проявляют в отдельных случаях короткий аутотремор (непрерывная слабая дрожь или однократное сильное вытягивание и сгибание ножек). Он появляется, как правило, в первые 15—60 минут после принятия мухами спинного положения.

Аутотремор лапки при отравлении мух фосфорорганическими соединениями длится в противоположность аутотремору при отравлении ДДТ одну минуту. После обдувания ножек воздухом он не возобновляется.

Окончательный подсчет погибших мух производят через 10 часов. Метод позволяет обнаруживать 0,5 мкг тиофоса, метафоса и других фосфорорганических ядохимикатов в пробе.

Клинические признаки отравления комнатных мух хлорорганическими пестицидами. ДДТ. Через определенное время после соприкосновения насекомых с поверхностью, с которой испарился ацетоновый экстракт, полученный из материала, содержащего ДДТ, у них наблюдается возбужденное состояние, характеризующееся энергичными и беспорядочными движениями и длительной очистительной реакцией. Затем наступает парез и паралич конечностей, вследствие чего мухи делают резкое круговое движение на месте, сильно жужжат, падают на спину, пробуют подняться, но чаще им этого сделать не удается. Постепенно паралич охватывает все конечности.

Затем у мух начинает наблюдаться беспокойный тремор ножек и подергивание брюшка. В таком состоянии некоторые особи еще в состоянии взлетать, так как паралич мускулов

крыльев наступает позже. Через некоторое время мухи падают на спину и в таком положении замирают, конечности их вытянуты. Первое время вытянутые ножки периодически подергиваются, затем подергивание переходит в длительный и непрерывный тремор. Характерно отметить, что первые три членика ножек прижаты к туловищу и находятся в спокойном состоянии, а голень и лапки производят короткие дрожащие движения и находятся в вытянутом состоянии. У мух, погибших естественной смертью, лапки всегда согнуты.

Для клинической картины, наблюдаемой при отравлении мух ДДТ, характерно нормальное положение крыльев у насекомых, лежащих на спине. Хоботки у парализованных мух резко выгнуты и находятся в состоянии тремора. Общий тремор ножек и хоботков у мух длится, как правило, до 10 часов и более, затем эти движения прекращаются. Если у мух, после того как они упали на спину и пролежали в таком состоянии 15—20 минут, маленьким пинцетом вырвать ножку и мускулом таза приложить к предметному стеклу так, чтобы она стояла, то можно увидеть, что у 40% изолированных таким образом ножек проявляется так называемый ауотремор.

При обдувании ножек струей прохладного воздуха тремор у них на время прекращается, а затем вновь наступает.

ГХЦГ. Мухи, помещенные в чашки с остатками ГХЦГ, первоначально ведут себя спокойно, только усиленно чистят свое тело ножками. Через некоторое время у них наблюдается сильное возбуждение, которое сопровождается бурными взмахами крыльев. У большинства мух крылья при взмахах длительное время остаются широко расставленными в стороны или опущенными вниз. Затем в результате паралича конечностей мухи падают на спину, но ведут себя иначе, чем при отравлении ДДТ. Они делают попытки взлететь, производя при этом волчкообразные движения. У погибших мух крылья, как правило, опущены вниз, часто согнуты.

Тремор конечностей проявляется слабо или вообще отсутствует. Очень сильно выражены конвульсивные движения тернитов и стернитов брюшка. Характерное положение принимают лапки ног — они имеют крючкообразную и загнутую форму.

У отравленных самок наблюдается выворачивание яйцевых трубочек, которые находятся в состоянии сильного тремора.

Если у мух, находящихся на спине, вырвать пинцетом ножку с мускулом таза и прилепить к предметному стеклу, то ауотремора не наблюдается. Это один из характерных признаков, позволяющих различить отравление мух ГХЦГ и ДДТ.

Висман указывает, что им было использовано 1300 конечностей от 300 мух, отравленных ГХЦГ, и только у двух ножек (около 0,1%) появились слабые, подобные ауотремору, движения. Эти движения наблюдали очень короткое время после ампутации конечностей.

МЕТОД ВОДНЫХ ВЗВЕСЕЙ

Метод заключается в экспонировании личинок комаров, мелких ракообразных (дафний, циклопов и др.), инфузорий или рыб в водных суспензиях, эмульсиях или растворах ядохимикатов. Высокая чувствительность метода объясняется циркулирующей и абсорбирующей токсического вещества при прохождении его через жабры или органы пищеварения. При этих биологических тестах вся поверхность тела организма соприкасается с ядохимикатом.

Обнаружение контактных пестицидов с помощью личинок комара. Ядохимикат извлекают так же, как и при методе «сухой пленки». Остаток, содержащий ядохимикат, заливают дистиллированной водой (2 мл), тщательно растирают и добавляют в колбу 10 трехдневных личинок комара в 50 мл питательного раствора. Если в течение 24 часов гибнет свыше 50% личинок или если они лежат, подергиваясь, на дне колбы, это указывает на присутствие токсических веществ. Прозрачное, как стекло, тело личинки постепенно становится мутным.

Чувствительность метода — 0,5 мкг ядохимиката.

Личинок комара разводят следующим образом. В пробирки заливают воду, взятую летним утром из бочек с дождевой водой или чистых луж и содержащую яйца комара, туда же кладут несколько раздавленных зерен овса (овсяные хлопья). Пробирки закрывают рыхлой ватной пробкой и оставляют в комнате. На следующий день из яичек появляются личинки, которыми и пользуются для обнаружения контактных инсектицидов.

МЕТОД КОРМЛЕНИЯ

Для исследования остатков пестицидов можно использовать также биологические методы, основанные на кормлении насекомых и других животных остатками ядохимикатов после предварительной экстракции их или без экстракции.

Обнаружение остатков пестицидов кормлением комнатных мух. 1. Готовят эфирный экстракт из исследуемого материала, как описано выше. Смешивают его с сахаром, осторожно подсушивают для удаления эфира, сахар растворяют в воде, ставят в доступное для мух место, чтобы они питались этим раствором. Через 24 часа учитывают результаты опыта.

2. Исследуемое молоко, соки, жидкий корм, содержащие пестициды, непосредственно скармливают мухам (комнатным). Реакцию учитывают через 24 часа. Параллельно ставят два, три опыта и контрольный опыт, в котором берут тот же вид материала, но не содержащий пестицида. Количество ядохимиката в объектах определяют по гибели мух, кормившихся на испытуемом и эталонном образце, который готовят добавлением заранее известных количеств ядохимиката к объекту, не обработанному до этого ядохимикатом.

Обнаружение остатков пестицидов путем кормления животных. Этот способ может быть использован для исследования мяса от вынужденно убитых животных, отравленных фосфорорганическими соединениями. В качестве подопытных животных берут цыплят, щенят или ягнят, которых предварительно подвергают клиническим и гематологическим исследованиям, затем взвешивают и кормят сырым мясом в течение 10—20 дней из расчета по 50 г на 1 кг веса цыплят или щенят. За животными и птицей наблюдают, а в случае необходимости делают патологоанатомическое вскрытие.

Фосфорорганические пестициды — это нервно-паралитические яды, токсическое действие которых проявляется следующими клиническими признаками: слюнотечением, бронхоспазмом, повышенным потоотделением, усиленной перистальтикой кишечника, поносом, тремором, судорогами скелетных мышц, повышенным кровяным давлением, возбуждением и параличом центральной нервной системы.

К фосфорорганическим соединениям более чувствительны крупный рогатый скот, овцы и козы.

При остром отравлении клиническая картина, наблюдаемая у всех животных, примерно аналогична: вначале отмечается беспокойство и отсутствие реакции на звуковые и световые раздражения, затем угасают зрительные и слуховые рефлексы, тремор скелетной мускулатуры, подергивание головы, клонико-тонические судороги, координация движений нарушается, походка становится шаткой, и животные нередко резко падают. Сначала у них появляется одышка, но вскоре в результате бронхоспазма развивается кашель, дыхание становится затрудненным, появляются цианоз слизистых оболочек и другие симптомы асфиксии. Явления бронхоспазма напоминают приступы бронхиальной астмы. При отравлении животных фосфорорганическими соединениями характерными признаками являются сужение зрачков (миоз) и экзофтальмия. У собак и свиней возникает многократная рвота, а в последующем паралич языка.

При хроническом отравлении животных фосфорорганическими пестицидами стертые клинические признаки выражены нерезко; отмечают угнетение, малая подвижность, нарушение координации движений, отсутствие аппетита, анемия, исхудание, желтушность кожного покрова и слизистых оболочек, мышечная слабость, парезы и параличи конечностей, длительные поносы. У большинства животных наблюдается снижение температуры тела, замедление сердечной деятельности и дыхания. Смерть наступает при истощении.

При патологоанатомическом вскрытии павших или вынужденно убитых животных отмечают сужение зрачков, сохраняющееся не более 2 часов после смерти, выпадение языка и скопление слюны в ротовой полости, цианоз слизистых оболочек, гиперемия сосудов мозговых оболочек, множественные кровоиз-

лияния в головном мозге, отек мозга, полнокровие легких, скопление пенистой жидкости в трахее и бронхах, кровоизлияния под эпикардом и эндокардом, гиперемия почек, печени, селезенки. Желчный пузырь увеличен и переполнен желчью, мочевой пузырь пустой, в подслизистой его заметны точечные кровоизлияния, кишечник в состоянии четкообразного спастического сокращения. От внутренних органов ощущается резкий запах фосфорорганических ядов.

При определении токсичности различных кормов их скармливают тем малоценным животным, для которых он предназначен. Корма дают по установленным нормам в течение десяти дней. Животных ставят в отдельные помещения и ежедневно наблюдают за ними: проводят гематологические исследования и определяют активность холинэстеразы сыворотки крови один раз в 3 дня. Если у подопытных животных в течение 10 дней не наблюдается никаких патологических изменений, корм разрешается давать всем животным хозяйства.

ПАРЭНТЕРАЛЬНЫЙ МЕТОД

Парэнтеральный метод основывается на подкожном или внутрибрюшинном введении экстрактов или водных смывов с исследуемых объектов. Исследуемые пробы корнеплодов, травы, комбикормов, трупов пчел, рыб, мяса, жира и т. д. экстрагируют 50%-ным раствором спирта. Для исследования берут 20 г материала (если необходимо, его предварительно тщательно измельчают), заливают 50%-ным раствором спирта (20 мл) и экстрагируют в течение 1 часа. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр и разбавляют дистиллированной водой до 10%-ной концентрации спирта, т. е. на 1 мл экстракта прибавляют 4 мл дистиллированной воды и по 0,5 мл экстракта от каждой пробы вводят под кожу 3—5 белым мышам. Первые 2—4 часа за мышами непрерывно наблюдают, а результаты наблюдения учитывают через 24 часа. Параллельно ставят контрольные опыты на 2—3 белых мышах, вводя подкожно по 0,5 мл 10%-ного раствора спирта.

При наличии в исследуемом материале значительного количества фосфорорганических соединений у подопытных мышей развивается характерная клиническая картина интоксикации: возбуждение, дефекация, тремор, судороги, параличи и асфиксия. Если у подопытных мышей нет характерных судорожно-паралитических явлений отравления, им повторно через 24 часа после первого введения инъекцируют по 0,5 мл 10%-ного спиртового раствора исследуемой вытяжки и наблюдают в течение последующих суток. Появление характерных судорожно-паралитических явлений свидетельствует о загрязненности ядами исследуемых кормов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Предельно допустимые остаточные количества ядохимикатов в продуктах питания и методы их определения

(Утверждены зам. главного санитарного врача СССР 31.X.1967 г.)

Продолжение

Наименование химических средств	Наименование пищевого продукта	Допустимое остаточное количество, мг/кг
Алдрин	Все пищевые продукты	Не допускается
Бромистый метил	То же	» »
Гексахлоран (гексахлорциклогексан)	Молоко, мясо, яйца Все остальные пищевые продукты	» » 1,0
Гамма-изомер гексахлорциклогексана (линдан)	Молоко, мясо, масло, яйца Все остальные пищевые продукты	Не допускается 2,0
Гептахлор	Все пищевые продукты	Не допускается
ДДД	Зерно	3,5
»	Овощи, фрукты	7,0
»	» »	0,5
»	Все остальные пищевые продукты, в том числе молоко, масло, мясо, яйца, клубника, малина	Не допускается
Динитроортокрезол	Все пищевые продукты	» »
Дихлоральмочевина	То же	» »
Дихлорэтан	Зерно	7,0
	Мука	5,0
Карбофос (малатион)	Зерновые культуры, овощи, фрукты и другие продукты	8,0
Картокс (окись этилена)	Мука	Не допускается
Меркаптофос (систокс) *	Зерно, хлопковое масло	0,35
Метилмеркаптофос (метилсистокс, метилдиметон)	Плоды	0,7
Металлилхлорид	Зерно	3,5
Метафос (вофатокс, метилпаратион) негидролизовавшийся	Все пищевые продукты	Не допускается
Метафос (продукты разложения)	То же	5,0

* В настоящее время производство и применение меркаптофоса (в СССР) запрещено.

Наименование химических средств	Наименование пищевого продукта	Допустимое остаточное количество, мг/кг
Метоксихлор	Все пищевые продукты	14,0
М-81 (интратион экатин, тиометон)	Плоды	0,5
Мышьяксодержащие препараты	Мясо и растительные продукты	Не допускается (учитывается естественное содержание: плоды, овощи, мясо, молоко до 0,5 мг/кг, зерновые до 1 мг/кг)
Натриевая соль гидрозида маленновой кислоты	Картофель, корнеплоды и лук	14,0
Нитрафен	Все пищевые продукты	Не допускается
Октаметил (шрадан)	То же	» »
Пертан	Зерно	7,0
	Овощи и фрукты	14,0
Полихлорпинен	Все пищевые продукты	Не допускается
Ртутьсодержащие препараты (гранозан, меркуран)	То же	» »
Севин (карбарил)	Плоды и ягоды	2,0
Сероуглерод	Сухофрукты	Не допускается
Тиазон (милон)	Картофель	0,5
	Огурцы и другие овощи	1,0
Тиофос (паратион) негидролизовавшийся	Все пищевые продукты	Не допускается
Тиофос (продукты разложения)	То же	5,0
Трихлорметафос-3	Фрукты, овощи	1,0
	Зерно	0,5
Фосфамид (рогор, диметоат)	Фрукты, цитрусовые	1,5
Фосфористый водород	Зерно	0,01
Хлорофос (трихлорфон, диптерекс и др.)	Все пищевые продукты	1,0
Хлор ИФК	Морковь	0,05
Хлорпикрин	Мука	Не допускается
	Зерно для переработки	2,0
Эфирсульфонат	Плоды	5,0

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Утверждено
Главный государственный
ветеринарный инспектор СССР
А. Третьяков
5 ноября 1967 года

Согласовано
заместитель Главного
санитарного врача СССР
Д. Лоранский
21 октября 1967 года

Временные предельно допустимые остаточные количества пестицидов
в кормах для сельскохозяйственных животных (в мг/кг)

Наименование пестицидов	Наименование кормов	Лактирующие животные, яйценоские птицы	Откормочные животные и птица
Хлорорганические пестициды			
ДДТ технический	Концентрированные корма	0	0,5
То же	Грубые корма (сено, солома)	0	0,5
» »	Сочные корма (силос, корнеплоды и т. п.)	0	0,5
Гексахлоран технический	Концентрированные корма	0	1,0
То же	Грубые корма (сено, солома)	0	1,0
» »	Сочные корма (силос, корнеплоды и т. п.)	0	0,5
Полихлорпирин и полихлоркамфен (токсафен)	Концентрированные корма	0	1,0
То же	Грубые корма	0	1,0
» »	Сочные корма	0	0,5
Алдрин	Все корма	Не допускается	
Гептахлор	» »	» »	

Фосфорорганические пестициды

Карбофос	Все корма	3,0	3,0
Хлорофос	» »	2,0	2,0
Рогор (фосфамид)	» »	2,0	2,0
Трихлорметафос-3	» »	2,0	2,0

Продолжение

Наименование пестицидов	Наименование кормов	Лактирующие животные, яйценоские птицы	Откормочные животные и птица
Метилмеркаптофос	Все корма	1,0	1,0
Тиофос	» »	Не допускается	
Меркаптофос	» »	» »	
Октаметил	» »	» »	
Препарат М-81	» »	» »	

Мышь как содержащие препараты

Все препараты, содержащие мышьяк	Все корма	Не допускается *
----------------------------------	-----------	------------------

Ртутно-органические препараты

Гранозан	Все корма	Не допускается
Меркуран	» »	» »

Производные карбаминной кислоты

Севин	Все корма	3
ТМТД	» »	Не допускается

Производные нитрофенола

Динитроортокрезол (ДНОК)	Все корма	Не допускается
Нитрофенол	» »	» »

* Учитывается естественное содержание мышьяка в продуктах.

Примечание. Корма, содержащие указанные остаточные количества хлорорганических препаратов, следует давать продуктивным животным при условии периодической (не реже чем через 2—3 недели) замены их кормами, не содержащими остатков ядов. Скармливать указанные корма откормочным животным можно при условии, если дача их будет прекращена за 1½—2 месяца до убоя животных на мясо.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Согласовано
Заместитель Министра
здравоохранения СССР
Ю. Данилов
18 декабря 1965 года

Утверждено
Заместитель Министра
сельского хозяйства СССР
К. Назаренко
28 декабря 1965 года

Использование каждого препарата должно производиться в строгом соответствии с действующими инструкциями и правилами по применению пестицидов для борьбы с вредителями, болезнями растений и с сорняками, согласованными с Министерством здравоохранения СССР и предусматривающими безопасные условия труда и меры по предотвращению загрязнения ядохимикатами пищевых продуктов и фуража.

Список химических средств борьбы с вредителями, болезнями растений
и с сорняками, разрешенных для применения
в сельском хозяйстве на 1966 год

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Авенин, водорастворимый концентрат	2—2,5 кг/ц	Предпосевная обработка семян сахарной свеклы
Алипур (16% циклоктимидметилмочевины и 11,5% бутинилхлорфенилкарбамата)	3,0—4,5 кг/га	Внесение в почву одновременно с посевом или в течение 3 дней после него
Анабазин-сульфат, 40%-ный водорастворимый концентрат	0,8—2 »	Обработка полевых и садовых культур за 20 дней до сбора урожая. Огурцы запрещается обрабатывать после образования завязей
Арсенат кальция, 38—42%-ный порошок	8—12 »	Применяется на хлопчатнике не позднее чем за 30 дней до сбора хлопка. На сахарной свекле — в апреле—мае
Атразин, 50%-ный смачивающийся порошок	4—8 »	Опрыскивание до всходов кукурузы
Боверин	1—2 »	Без особых ограничений
Бордоская жидкость	10—15 кг/га по медному купоросу	Опрыскивание в период вегетации за 15 дней до сбора урожая
То же	До 60 кг/га	Ранневесеннее опрыскивание садов до распускания почек
Бромистый метил	30—60 г/м ³	Фумигация сельхозпродуктов и других растительных материалов
Бутифос, 70%-ный концентрат эмульсии или масляный раствор	1,4—2,1 кг/га	Опрыскивание хлопчатника за 10 дней до уборки урожая
Гамма-изомер ГХЦГ, технический и в составе комбинированных протравителей семян	0,2—0,4 кг/ц	Предпосевная обработка семян различных культур
Гамма-изомер ГХЦГ, 50%-ный смачивающийся порошок	0,8—1,5 кг/га	Опрыскивание плодовых садов до цветения, хлопчатника и сахарной свеклы — за 30 дней до уборки урожая

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Гамма-изомер ГХЦГ, 16%-ный концентрат эмульсии	1,5 кг/га	Опрыскивание против саранчовых на неокультуренных землях, всходов сахарной свеклы против комплекса вредителей, ботвы картофеля против колорадского жука, технических культур, незагруженных зернохранилищ в борьбе с амбарными вредителями, неплодоносящих плодовых культур. Запрещается использовать на корм скоту ботву сахарной свеклы и картофеля, обработанных после двух месяцев со времени их всходов
ГХЦГ, технический (аэрозоль из 4%-ного масляного раствора)	15—25 »	Обработка неплодоносящих садов; плодовых садов — до цветения, лесных насаждений (где нет вылазов и сенокосных угодий)
ГХЦГ, 12%-ный дуст	10—25 »	Опыление неплодоносящих садов без ограничений, плодовых — до цветения, капусты — до образования кочана, хлопчатника — за 15 дней до уборки. Ботву сахарной свеклы и картофеля запрещается использовать на корм скоту и на силос, если обработка произведена позднее двух месяцев со времени всходов. Разрешается обработка леса, лесополос и других участков при отсутствии сенокосных угодий и выпаса скота. Допускается внесение в почву при посеве или до посева культуры. На этих площадях запрещается посев клубнеплодов и корнеплодов (идущих в пищу) в течение 2—3 лет
ГХЦГ, 20%-ный концентрат эмульсии	10—15 »	Опрыскивание неплодоносящих садов без ограничений, плодовых садов — до цветения и при отсутствии в междурядьях ягодных и овощных культур; обработка лесных участков и лесополос разрешается при отсутствии сенокосных угодий и выпаса скота. Запрещается использовать на корм скоту и на силос ботву картофеля и сахарной свеклы, обработанных после двух месяцев со времени всходов

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
ГХЦГ, 25%-ный порошок на фосмуке	6—8 кг/га	Внесение в почву перед посевом культуры в очагах залегания почвообитающих вредителей, ленточным или рядковым способом
Гексахлорбензол 30%-ный с добавкой гамма-изомера ГХЦГ	2—4 кг/т	Предпосевная обработка семян пшеницы
Гексахлорбутадиеп, технический	200—350 кг/га	Фунигадия почвы на виноградниках весной и осенью
Гептахлор, 60%-ный концентрат эмульсии	0,8—1,0 кг/ц	Обработка семян
Гранозан, 2—2,5%-ный порошок (СДЯВ)	2—4 кг/т	Предпосевная обработка семян различных культур
Далалон, 85%-ный растворимый порошок	10—15 кг/га	Опрыскивание вегетирующих сорняков в междурядьях (при условии защиты культуры) и опрыскивание почвы после зяблевой вспашки
ДДТ, технический (аэрозоль из 8—10%-ного масляного раствора)	10—15 »	Обработка плодоносящих садов до цветения и неплодоносящих, где в междурядьях не возделываются другие культуры; лесных насаждений, где не производится выпас скота и нет сенокосных угодий
ДДТ, 5,5%-ный дуст	20—30 »	Обработка плодовых разрешается при отсутствии в междурядьях овощных и ягодных культур. Обработка садов прекращается за 30 дней до сбора урожая, капусты — с момента завязывания кочана, технических культур и картофеля — за 30 дней до уборки урожая. Лес, лесные полосы и другие участки обрабатывают при отсутствии сенокосных угодий и выпаса скота. Зерновые культуры разрешается обрабатывать в фазу до выхода в трубку. Охранять водоемы и медоносную цветущую растительность от попадания ДДТ

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
ДДТ, 20%-ная минерально-масляная эмульсия	4—15 кг/га	Опрыскивание неплодоносящих садов без ограничений; обработка плодоносящих садов разрешается только до цветения при отсутствии в междурядьях овощных и ягодных культур. Запрещается обработка овощных культур. Ботву сахарной свеклы и картофеля запрещается использовать на корм скоту и на силос, если обработка произведена позднее 2 месяцев со времени всходов. Обработка леса, лесополос разрешается при отсутствии сенокосных угодий и выпаса скота
ДДТ, 50%-ная паста	1,5—6 »	То же
ДДТ, 30—50%-ный смачивающийся порошок	3—10 »	То же. Кроме того, обработку зимних сортов плодовых культур следует прекратить спустя 40 дней после цветения
ДДТ, 16 + 4% гамма-изомера ГХЦГ, масляный раствор	5—6 л/га	Опрыскивание всходов сахарной свеклы
ДДТ, 3%-ный ПХП, 5%-ный дуст комбинированный	25—30 кг/га	Опыление хлопчатника за 30 дней до уборки урожая
Дикотекс, 80%-ный растворимый порошок (2М-4Х)	0,8—1,5 »	Опрыскивание посевов льна в фазе «елочки» и зерновых — в фазе кущения
Диурон, 80%-ный смачивающийся порошок	1,6—2 »	Внесение в почву под хлопчатник до появления всходов культуры
Динитророданбензол на коллоидной сере, 20%-ный смачивающийся порошок	15—20 »	Опрыскивание плодовых и полевых культур за 20 дней до сбора урожая
Дихлон (фигон), 50%-ный смачивающийся порошок	2,4—5,0 »	То же
Дихлоральмочевина, 50%-ный смачивающийся порошок	10—24 »	Внесение в почву под сахарную свеклу до появления всходов культуры
Дихлорэтан и кубовые остатки дихлорэтана 2М-4ХП, аминная соль, 30%-ный водорастворимый концентрат	800—1200 »	Фунигадия почвы на виноградниках весной или осенью
2,4-дихлорфеноксимасляная кислота	3—5 »	Опрыскивание зерновых культур в фазе кущения
	2—3 »	Опрыскивание бобовых культур при высоте растений 5—12 см и зерновых — в фазе кущения

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
2,4-Д, натриевая соль, 70%-ный растворимый порошок	1,4—2 кг/га	Опрыскивание зерновых в фазе кущения
2,4-Д, аминная соль, 40%-ный водорастворимый концентрат	1,5—2,5 »	То же
2,4-Д, бутиловый эфир, 65%-ный технический	0,46—0,6 »	» »
2,4-Д, бутиловый эфир, 32%-ный концентрат эмульсии	0,9—1,3 »	» »
2,4-Д, кротиловый эфир, 60%-ный концентрат эмульсии (кротилин)	0,5—1,0 »	» »
2,4-Д, октиловый эфир, 52%-ный технический (C ₇ —C ₈)	0,5—0,8 »	» »
2,4 Д, октиловый эфир, 42%-ный концентрат эмульсии	0,7—1,0 »	» »
2,4, 5-Т, бутиловый эфир, 60%-ный концентрат эмульсии	3,3—5 »	Опрыскивание кустарников и древесных насаждений в период вегетации
ДНОК, 40%-ный растворимый порошок	10—15 »	Опрыскивание в садах до начала распускания почек и по всходам льна против сорняков
Железный купорос	30—40 »	Опрыскивание в садах до начала вегетации
Зеленое мыло	20—30 »	Без особых ограничений
Зоокумарин, 0,5%-ный порошок	5% в приманках	Раскладка приманок в норы в жилых и производственных помещениях
Известково-серный отвар (ИСО)		Без особых ограничений
ИФК, 40%-ный смачивающийся порошок	15—20 »	Внесение в почву до всходов культуры
Каптан, 50%-ный смачивающийся порошок	6—10 »	Опрыскивание за 20 дней до сбора урожая
Карбатион, 40%-ный водорастворимый концентрат	1500—2000 »	Внесение в почву не позднее чем за 15 дней до посева семян или высадки рассады
Карбин, 12%-ный концентрат эмульсии	3,3—5 »	Опрыскивание зерновых в фазе 2—3 листочков у овсяга
Карбофос, 30%-ный концентрат эмульсии	1,2—4 »	Опрыскивание на всех культурах за 20 дней до уборки урожая
Кельтан, 30%-ный концентрат эмульсии или 18,5%-ный смачивающийся порошок	2—4 »	То же
Кремнефтористый натрий	6—10 »	В приманках

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Крысид	0,5—1%	В приманках. Раскладка—отравленных приманок в норы жилых и производственных помещений
Купронафт	5—10 кг/га	Опрыскивание садов и виноградников за 20 дней до уборки урожая
Медный купорос	10—20 »	Опрыскивание в садах до распускания почек
Меркуран (СДЯВ)	2—4 кг/т	Предпосевная обработка семян
Метафос, 2,5%-ный дуст	15—25 кг/га	Опыление всех культур за 20 дней до уборки урожая
Метафос, 20%-ный концентрат эмульсии	1,5—3,0 »	Опрыскивание в садах и на полевых культурах за 20 дней до сбора урожая
Метилмеркаптофос, 30%-ный концентрат эмульсии	0,8—2 »	Опрыскивание садов за 45 дней, хлопчатника— за 20 дней до сбора урожая
Минеральные масла нефтяные	40—80 л/га	В садах— до распускания почек и в период вегетации
Монурон, 80%-ный смачивающийся порошок	300—400 »	На посевах моркови— до всходов культуры
Монурон, 80%-ный смачивающийся порошок	1,5—5,0 кг/га	Внесение в почву в садах до всхода сорняков и на хлопчатнике— до появления всходов культуры
Немагон, 97%-ный технический	200—300 »	Внесение в почву за 2—3 недели до посева семян или высадки рассады
Никотин-сульфат, 40%-ный водорастворимый концентрат	0,8—2 »	Опрыскивание всех культур за 20 дней до сбора урожая
Нитрафен	40—60 »	Опрыскивание садов до распускания почек
	6—12 »	Опрыскивание посевов злаковых культур в фазе кущения против сорняков
	20—25 »	Опрыскивание посевов многолетних трав после первого укоса
Октаметил, 50%-ный концентрат эмульсии	1—1,5 »	Опрыскивание шелковицы до июля (с запрещением употреблять в пищу ягоды шелковицы)
Основная сернокислая медь	10—15 »	Опрыскивание в садах, виноградниках, на овощных, полевых культурах за 20 дней до сбора урожая
Парародананилин, 25%-ный концентрат эмульсии (родан)	0,5%	Предпосевная обработка семян
Пентахлорфенол, 20%-ный масляный раствор	20—30 кг/га	Десикация хлопчатника

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Пентахлорфенолят натрия, 95%-ный растворимый порошок	12—25 кг/га	Внесение в почву под овощные культуры до появления всходов, обработка стерни клевера против повилки
Пирамин, 80%-ный смачивающийся порошок (Феназон)	4—8 »	Внесение в почву под сахарную свеклу до появления всходов культуры
Полихлорбутан-80	250—300 »	Фумигация почвы на виноградниках весной и осенью
Полихлоркамфен, 50%-ный концентрат эмульсии	1,6—3,0 »	Обработка всходов сахарной свеклы, а также картофеля и семенников трав (в том числе во время цветения). Не допускается обработка участков и посевов, которые будут использованы на сено. Запретить использование ботвы картофеля и сахарной свеклы на корм скоту, если обработка производилась менее чем за 30 дней до ее скашивания
Полихлорпинен, 50%-ный масляный раствор	2—4 »	Опрыскивание всходов сахарной свеклы. Запретить использование ботвы сахарной свеклы на корм скоту, если обработка производилась менее чем за 30 дней до скашивания
Полихлорпинен, 65%-ный концентрат эмульсии	1,6—3,0 »	Опрыскивание всходов сахарной свеклы. Запретить использование ботвы сахарной свеклы на корм скоту, если обработка производилась менее чем за 30 дней до скашивания
Препарат АБ	0,3—0,4 кг/ц	Предпосевная обработка семян сельскохозяйственных культур
Препарат № 23, 20%-ный смачивающийся порошок	1500—2000 кг/га	Внесение в почву за 2—3 недели до посева семян или высадки рассады
Препарат М-81 (интра-тион), 50%-ный концентрат эмульсии	0,8—1,5 »	Опрыскивание садов за 45 дней, хлопчатника — за 20 дней до сбора урожая
Препарат № 30 и 30С минерально-масляной эмульсии	60—100 »	Без особых ограничений
Препарат ДД (№ 93)	100—200 мл/м ²	Внесение в почву осенью не позднее 30 дней до посева семян или посадки рассады
Прометрин, 50%-ный смачивающийся порошок	3—4 кг/га	Внесение в почву до всходов культуры
Пропазин, 50%-ный смачивающийся порошок	2—6 »	То же

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Ратиндан (дифенацин), 0,5%-ный порошок (СДЯВ)	3%, в приманках	Раскладка приманок в норы в жилых и производственных помещениях
Ратиндан-2 (фентолацин), 0,18%-ный порошок	То же	То же
Сайфос, 70%-ный смачивающийся порошок	1—2 кг/га	Опрыскивание в садах, на овощных культурах за 20 дней до сбора урожая
Свободный цианамид	2—4 кг/т	Предпосевная обработка семян
Севин, 50—80%-ный смачивающийся порошок	20—25 кг/га	Дефолиация хлопчатника
	2—6 »	Опрыскивание заканчивать: садов — за 30 дней, хлопчатника — за 7 дней до сбора урожая
Сера коллоидная, смачивающийся порошок	10—25 »	Без особых ограничений
Сера молотая, порошок	25—30 »	То же
Сера комоная	50 г/м ³	Обезвреживание помещений. Без особых ограничений
Симазин, 50%-ный смачивающийся порошок	4—10 кг/га	Опрыскивание почвы на посевах кукурузы до всходов культуры. В садах и виноградниках — до всходов сорняков
Сульфамат аммония, 70—90%-ный растворимый порошок	160—280 »	Внесение в почву для борьбы с нежелательной древесной и кустарниковой растительностью в период вегетации
Тедион, 50%-ный смачивающийся порошок	6—9 »	Опрыскивание на всех культурах за 20 дней до сбора урожая
Тиазон (милон), порошок	700—1500 »	Внесение в почву не менее чем за 20 дней до посева семян и высадки рассады
Тиофос, 20%-ный концентрат эмульсии	0,7—2 »	Опрыскивание садов, овощных и полевых культур за 20 дней до уборки урожая. В теплицах огурцы разрешается опрыскивать за 2 дня до сбора плодов, тщательно их обмывая водой при уборке
ТМТД, 50%-ный смачивающийся порошок	2—8 »	Предпосевная обработка семян
ТМТД 50% с 20% гамма-изомера ГХЦГ или 20% гептахлора	2 кг/т	То же
Трисбен-200 (2-КФ), 25%-ный водорастворимый концентрат	100—200 кг/га	Применение в очагах горчачка розового
Трихлорацетат натрия, 70%-ный растворимый порошок	25—50	Внесение в почву за 30 дней до посева
	До 100	Под яблечную вспашку

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Трихлорфенолят меди, 20%-ный смачивающийся порошок	6—8 кг/т	Предпосевная обработка семян
Фентиурам	4—12 »	» » »
Фентиурам-молибдат	4—12 »	» » »
Фенурон, 25%-ный гранулированный порошок	50—75 кг/га	Уничтожение нежелательной древесно-кустарниковой растительности внесением в почву
Формалин, 40%-ный водный раствор	1,5—4 л/т	Обработка семян и корней семенников перед посевом или посадкой
Фосфамид, 40%-ный концентрат эмульсии	0,7—2 кг/га	Опрыскивание хлопчатника за 15 дней до сбора урожая, на остальных культурах за 30 дней. Запрещается использовать на ягодниках
Фосфид цинка, порошок	0,2—0,4 »	В отравленных приманках против грызунов
Фтористый натрий 85%-ный растворимый порошок	2—4 »	В отравленных приманках
Хлорат магния, растворимый порошок	12—30 »	Дефолиация хлопчатника за 6—12 дней до уборки урожая
Хлор-ИФК, 40%-ный концентрат эмульсии	10—20 »	Внесение в почву до всходов культуры
Хлорат-хлорид кальция, водный раствор	30—50 »	Дефолиация хлопчатника за 6—12 дней до уборки урожая
Хлорокись меди, 50—90%-ный смачивающийся порошок	1,5—7,5 »	Опрыскивание садов, полевых и овощных культур за 20 дней до сбора урожая
Хлорофос, 75%-ный технический	1,5—4 »	Опрыскивание зерновых и технических культур за 30 дней, садов, овощных культур за 20 дней до сбора урожая
Хлорофос, 7%-ный гранулированный порошок	20 »	Обработка посевов кукурузы за 30 дней до цветения
Хлорпикрин, 96%-ный технический (СДЯВ)	25—50 г/т семян или на 1 м ³ хранилища	Фумигация зерна или хранилищ только под руководством специалистов
Хлорсмесь (СДЯВ)	400—450 г/м ³	Фумигация зерна
Цианамид кальция, порошок	45—60 кг/га	Дефолиация хлопчатника за 10—15 дней до сбора урожая
Цианплав, 45%-ный порошок (СДЯВ)	40—75 г/м ³ 3—6 г на одну нору	Фумигация кустов, деревьев, теплиц и посадочного материала
Шашки, К-2, Г-17, К-18	2—6 г/м ³	Раскладка в норы грызунов Дезинфекция пустых хранилищ за 20 дней до загрузки

Наименование препаратов	Нормы расхода по препарату	Сроки последних обработок и ограничения
Энтобактерин	2—5 кг/га	Без особых ограничений
Эптам, 75%-ный концентрат эмульсии	4,5—6 »	Внесение в почву перед посевом или одновременно с посевом культуры
Эфирсульфонат, 30%-ный смачивающийся порошок	2,5—6 »	Опрыскивание садов и полевых культур за 45 дней до сбора урожая
Фталан, 50%-ный смачивающийся порошок	3—6 »	Опрыскивание плодовых культур за 20 дней до уборки урожая

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Дополнительный список химических средств борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками на 1967 год

Наименование препарата	Нормы расхода препарата	Сроки последних обработок и ограничения
Гептахлор, 60%-ный концентрат эмульсии	0,7—1,6 кг/га	Опрыскивание всходов сахарной свеклы на территориях Украинской ССР, Белорусской ССР и Молдавской ССР, всходов кукурузы — повсеместно
Кремнефтористый натрий	15 »	Как добавка к цианамиду кальция для дефолиации хлопчатника
Препараты хлорофоса и метафоса		Прекращать обработки зерновых и зернобобовых культур за 15 дней до уборки урожая
ДДБ	200—400 мл/м ³	Для обеззараживания почвы в парниках и теплицах за 30 дней до посева семян или посадки растений
Трихлорметафос-3, 30—50%-ный концентрат эмульсии	1—10 кг/га	Прекращать опрыскивание садов и хлопчатника за 20 дней; томатов и сахарной свеклы — за 30 дней; винограда — за 45 дней до сбора урожая; ягодников и огурцов — до цветения; капусты — до образования кочана; обработку складских помещений — за 10 дней до загрузки зерна
Меркургенсан	2—4 кг/т	Для предпосевной обработки семян
Номагон, 20%-ный гранулированный	800—1000 кг/га	Применять по регламентации номагона технического
Пропанид (СТАМ ф-34)	14—25 »	Посевы риса обрабатывать в фазе 1—3 листьев

Наименование препарата	Нормы расхода препарата	Сроки последних обработок и ограничения
Купрозан, смачивающийся порошок	4—6 кг/га	Опрыскивание садов, виноградников, овощных, полевых, бахчевых и технических культур прекращать за 20 дней до сбора урожая
Фитобактериомицин, 5%-ный дуст	3,0—6,0 кг/т	Для опудривания семян сои, фасоли и хлопчатника
Цинеб, 80%-ный смачивающийся порошок	0,1%-ная суспензия 6—8 кг/га	Для опрыскивания вегетирующих растений хлопчатника
Фенкаптон, 20%-ный концентрат эмульсии или смачивающийся порошок	0,1—0,2% конц. рабочей жидкости	Опрыскивание винограда, плодовых, овощных, полевых и технических культур прекращать за 20 дней до сбора урожая Прекращать опрыскивание полевых культур за 20 дней до сбора урожая, огурцов в парниках и теплицах — за 2 дня до сбора при обязательной тщательной промывке их водой

Препараты для широких производственных испытаний

Кильваль, 40%-ный концентрат эмульсии	1—1,5 кг/га	Прекращать обработку хлопчатника за 20 дней до сбора урожая
Металлилхлорид	50—70 г/м ³	Для фумигации семян зернобобовых культур
Метальдегид, 50%-ный смачивающийся порошок	3—4 кг/га	Прекращать обработку растений за 30 дней до сбора урожая
Метальдегид, 5%-ный гранулированный	40—50 »	То же
Метилнитрофос, 30%-ный концентрат эмульсии	2—6 »	Прекращать опрыскивание садов, овощных, полевых и технических культур за 20 дней до сбора урожая
Фозалон, 35%-ный концентрат эмульсии и 30%-ный смачивающийся порошок	3—6 »	Прекращать опрыскивание садов, полевых, овоще-бахчевых и технических культур и виноградников за 20 дней до сбора урожая
Цидиал, 50%-ный концентрат эмульсии	2—6 »	Прекращать опрыскивание в садах и виноградниках за 20 дней до сбора урожая
Ципрекс, 65%-ный смачивающийся порошок	3—6 »	Прекращать опрыскивание садов и виноградной лозы за 20 дней до сбора урожая
Кубовые остатки метилхлорида, трихлорэтилена, хлорвинила	0,5 кг/м ²	Для опытно-производственного применения в очагах горчака розового и на виноградниках по согласованию с местными органами здравоохранения

Наименование препарата	Нормы расхода препарата	Сроки последних обработок и ограничения
Реглон, 20%-ный водорастворимый концентрат	6—30 кг/га	Для предпосевного уничтожения растительности при безпахотном земледелии
ТМТД, 50%-ный	8—15 »	Опрыскивание сельскохозяйственных культур при условии согласования в каждом отдельном случае с Министерствами здравоохранения союзных республик

Препараты для использования имеющих ся остатков

Алдрин	1,5 кг/га	Для предпосевной обработки семян хлопчатника на территории СССР, кроме Узбекской ССР
Карболинеум	60—300 »	По регламентам 1966 года (для ранневесеннего опрыскивания садов и борьбы с повиликой)
Парижская зелень	2—3 »	Для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур, по регламентам 1966 года
Арсенит кальция и арсенит натрия	8—12 »	По принятым для препаратов регламентам
Цирам	4—6 »	Для обработки неплодоносящих садов и виноградников

Применение всех препаратов и особенно реализация остатков препаратов должны производиться в строгом соответствии с установленными регламентами и инструкциями со всеми предосторожностями под контролем руководителей колхозов и совхозов.

Председатель Госкомиссии

(В. Стативкин)

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

Перечень синонимов и аналогов зарубежных ядохимикатов для применения в сельском хозяйстве, завозимых В/О «Союзсельхозтехника»

Принятые в СССР названия	Синонимы и аналоги по применению
ДДТ, 5,5%-ный дуст	Азотокс 5%, берцема Д-5 штауб, дитокс 5, дитокс Л, дуплетокс
ДДТ, 50%-ный смачивающийся порошок	Дикол, азотокс 50%

Принятые в СССР названия	Синонимы и аналоги по применению
ГХЦГ, 12%-ный дуст	Бентокс 10, хеклотокс 1,5%
Метафос, 2,5%-ный дуст	Вофатокс, 2,5%-ный дуст
Метафос, 30%-ный смачивающийся порошок	Вофатокс, 30%-ный смачивающийся порошок
Хлорофос	Диптерекс, 80%-ный смачивающийся порошок; фосхлор, 50%-ный концентрат эмульсии
Метилмеркаптофос, 30%-ный концентрат эмульсии	Метасистокс
Фосфамид	Рогор, Би-58
Карбофос	Фосфотион
Сера, 80%-ный смачивающийся порошок	Тиовит, нетцишвельфел, софрил, косан
Цинеб	Тиецин, перозин, новозир
Ртутные протравители	Агронал, фализан, криптодин, агрозан, фенилртурацетат, комбисан, фунгисан, радосан
ДНОК	Нитросан, крезотоль 50% (паста)
Бутифос	ДЭФ, фолекс
Симазин	Радокор
Атразин	Зеазин
Далалон	Басфалон, грамевин
Монурон	Тельвар
Диурон	Кармекс
2М-4Х (метаксон)	Дикотекс-40, дикотекс-80
Пропанид	СТАМ ф-34, суркопур, рогью, ДСРА
2,4-Д натриевая соль	Диконирт
Метилнитрофос	Метатион 50%
Теднон	Акаритокс
Прометрин	Гезагард 50%
Фтален	Ортофалтан 50%

Примечание. Инструкции по применению перечисленных импортных ядохимикатов издаются В/О «Союзсельхозтехника».

ЛИТЕРАТУРА

К разделу «Общие сведения о ветеринарном химико-токсикологическом анализе»

- Ахрем А. А., Кузнецова А. И. Тонкослойная хроматография. «Наука», М., 1964.
- ✓ Баженов С. В. Ветеринарная токсикология. «Колос», Л., 1964.
- Белова А. В. Руководство к практическим занятиям по токсикологической химии. «Медицина», М., 1967.
- Власенко Л. М. «Аптечное дело» № 2, 1965.
- ✓ Гусынин И. А. Токсикология ядовитых растений. Изд. 4-е. М., 1962.
- Карякин Ю. В. и Ангелов И. И. Чистые химические реактивы. Госхимиздат, М., 1955.
- Коренман И. М. Микрокристаллоскопия. Госхимиздат, М., 1955.
- Крешков А. П. Основы аналитической химии. Качественный анализ, т. 1. Количественный анализ, т. II. Изд. «Химия», М., 1965.
- Кулаев Ф. Н. Труды Всесоюзного совещания по хроматографии. Изд. АН СССР, 1960.
- Кульберг Л. М., Альтерзон Г. С., Вельтман Р. П. Капельный анализ. Госхимиздат, 1951.
- Ляликов Ю. С. Физико-химические методы анализа. «Химия», М., 1964.
- Мельников Н. Н. Химия пестицидов. «Химия», М., 1968.
- Методы анализа пестицидов. Под редакцией проф. Н. Н. Мельникова. «Наука», М., 1966.
- Ольшанова К. М., Копылова В. Д. Осадочная хроматография. Изд. АН СССР, М., 1963.
- Ольшанова К. М., Потапова М. А., Копылова В. Д., Морозова М. М. Руководство по ионообменной, распределительной и осадочной хроматографии. «Химия», М., 1965.
- Рачинский В. В.; Гапон Т. Б. Хроматография в биологии. Изд. АН СССР, М., 1953.
- Самуэльсон О. Ионообменное разделение в аналитической химии. «Химия», М., 1966.
- Сэндэл Е. В. Колориметрические методы определения следов металлов. «Мир», М., 1964.
- Степанов А. В. Судебная химия. Изд. 4-е. Медгиз, М., 1951.
- Тананаев Н. А. Дробный анализ. Госхимиздат, 1950.
- Тананаев Н. А. Капельный метод. Госхимиздат, М., 1954.
- Урбах Ю. Биометрические методы. «Наука», М., 1964.
- Файгль Ф. Капельный анализ. Госхимиздат, 1937.
- Файгль Ф. Капельный анализ органических соединений. ГХИ, М., 1962.
- Физико-химические методы анализа. «Химия», М., 1964.
- Хроматография на бумаге. Под редакцией И. М. Хайса и К. Мацека. Пер. с чешск. Изд. ИЛ, М., 1962.
- Хроматография в тонких слоях. Под редакцией Э. Шталя. «Мир», М., 1965.

Швайкова М. Д. Судебная химия. «Медицина», М., 1965.
Шемякин Ф. М., Мицеловский Э. С., Романов Д. В. Хро-
матографический анализ. М., 1955.

К разделу «Исследование патологического материала»

Аббасов Т. Г. Изучение токсичности фосфамида, распределение и выделение его из организма. Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. М., 1966.
Алимханов О. А., Икрамов Л. Т. Изолирование и определение фосфамида в трупном материале. «Фармация» № 1, 1967, 66 стр.
Баженов С. В. Ветеринарная токсикология. «Колос», Л., 1964.
Башмури А. Ф. Краткие методы токсикологического анализа, Л., 1962.
Вальпурин А. Ф. Руководство по токсикологическому анализу в ветеринарии. «Колос», Л., 1968.
Бирюкова И. Н., Быстров С. П. «Аптечное дело» № 3, 1965, 38 стр.
Берим Н. Г. Химическая защита растений. «Колос», Л., 1966.
Букин А. Л. Резорбтивно-токсические свойства севина и определение его в биологическом материале. Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. М., 1966.
Бурштейн А. И. Методы исследования пищевых продуктов. Госмедиздат, УССР, Киев, 1963.
Быстров С. П. Сборник научных работ Московского фармацевтического института. Сообщение 1 и 2, вып. 1, 1957.
Быстров С. П., Бирюкова И. Н. Сборник научных работ Московского фармацевтического института. Сообщение 3, вып. 1, 1957.
Быстров С. П., Паршиков Ю. И. «Аптечное дело» № 1, 1957.
Вавилина Г. П. В кн.: «Методы определения пестицидов в пищевых продуктах». «Медицина», М., 1965.
Вайнтрауб Ф. П. «Вопросы питания», XXI, № 4, 1962.
Васильева А. А. Труды Государственного научно-исследовательского института судебной медицины, 1949.
Васин А. В. и Квиткин Ю. П. Диагностика отравлений животных и птиц. Саратов, 1958.
Вильнер А. М. Кормовые отравления сельскохозяйственных животных. Четвертое, переработанное издание. «Колос», Л., 1966.
Голосницкий А. К. Методические указания по токсикологическим исследованиям в ветеринарии. Ростов-на-Дону, 1958.
Горбачева Н. А. «Аптечное дело» № 1, 1958.
Горный Ю. Я. «Фармация» № 2—3, 1939.
Горный Ю. Я. Труды Троицкого ветеринарного института и военной ветеринарной лаборатории. Урал. ВО, вып. IV, 1943.
Дубников Л. М., Чеботарев О. В. Журнал «Аналитическая химия», т. 15, № 4, 1960.
Жаворонков Н. И. Научный бюллетень, ВИЭВ, № 1, 1967.
Зайковский Ф. В. Денитрация жидкостей, полученных после разрушения органических веществ серной и азотной кислотами. Автореферат диссертации. М., 1952.
Зайцева А. Г. Отравление животных фосфором и его определение. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М., 1948.
Инструкция по количественному определению хлорофоса в молоке. Составлена Стемповской Л. А. и Пашковской И. И. Киевский институт гигиены питания, 1967.
Каган Ю. С., Пайкин Д. М., Чигарев Г. А. Гигиенические основы применения ядохимикатов в растениеводстве. «Колос», Л., 1966.
Киселева Е. К. Анализ фторсодержащих соединений. «Химия», 1966.

Кленов В. А., Федотов В. Н. «Химия в сельском хозяйстве» № 4, 1966.
Клисенко М. А. «Химия в сельском хозяйстве» № 5, 1964.
Клисенко М. А. Журнал «Аналитическая химия», т. 7, № 9, 1962.
Клисенко М. А., Лебедева Т. А. Определение малых количеств ядохимикатов в воздухе, продуктах питания, биологических и других средах. Госмедиздат УССР, Киев, 1964.
Крамаренко В. П., Рокач З. С. Фармацевтический журнал Укр., Сообщение I. № 1, 1961.
Крылова А. Н. Судебно-медицинская экспертиза, т. I, № 4, 1958.
Крылова А. Н. Сборник трудов IV Всесоюзной конференции судебных медиков. Рига, 1962.
Крылова А. Н. «Аптечное дело» № 2, 1956.
Крылова А. Н. Методическое письмо главного судебного эксперта Министерства здравоохранения СССР от 2/III 1949 г. по открытию и определению малых количеств ртути и тетраэтилсвинца при судебно-химических исследованиях.
Крылова А. Н. Методы санитарно-химических исследований продуктов при пищевых отравлениях. Медгиз, М., 1954.
Кудрявцев А. А., Николаев А. В. «Ветеринария» № 2, 1965.
Лебедева Ю. Д., Штенберг А. И. Сборник официальных материалов по контролю за ядохимикатами, применяемыми в сельском хозяйстве. Медгиз, 1961.
Лобов В. П., Ефимов Г. А. Пестициды. Госхимиздат УССР, Киев, 1963.
Лос К. Синтетические яды. Изд. ИЛ. М., 1963.
Максимюк О. Е. «Ветеринария» № 3, 1953.
Малишевская А. С., Кацова Л. Б. Отравление сельскохозяйственных животных ядохимикатами и их диагностика. Алма-Ата, 1961.
Методы анализа пестицидов. Под редакцией Н. Н. Мельникова. «Химия», М., 1967.
Методы определения остаточных количеств пестицидов в различных средах. Переводы статей, М., 1966.
Методы определения пестицидов в пищевых продуктах. «Медицина», 1965.
Методы определения солей и ядохимикатов в кормах в патологическом материале сельскохозяйственных животных. Л., 1964.
Методическое письмо. Определение ДДТ, γ -ГХЦГ, ДДД, ДДЕ, гепта-хлора, алдрина, дилдрина и некоторых других хлорорганических пестицидов. Составлено кандидатом химических наук М. А. Клисенко, инженером З. Ф. Юрковой, 1967.
Методика определения микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственных продуктах. «Колос», М., 1966.
Методическое письмо по изолированию и открытию ГХЦГ при судебно-химических исследованиях. Медгиз, М., 1954.
Назаров С. С. Охрана пчел от отравления ядохимикатами. «Колос», Л., 1968.
Николаев А. В. «Вопросы питания» № 4, 1939.
Николаев А. В. Лабораторная практика. Сообщение 2, № 7, 1941.
Николаев А. В. «Ветеринария» № 10, 1959.
Николаев А. В. Труды Московской ветеринарной академии, т. XXXII, 1961.
Николаев А. В. Труды Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии, т. XXV, 1961, 265 стр.
Николаев А. В., Устименко Л. И. «Химия в сельском хозяйстве» № 9, 1966.
Николаев А. В., Устименко Л. И. «Ветеринария» № 6, 1966.
Николаев А. В. Бюллетень Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии № 1, 1967.

Николаев А. В. Труды Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии, т. XXV, 1961.

Николаев А. В. Методические указания по обнаружению металлических ядов в патологическом материале, кормах и воде с помощью экспрессных методов исследования. ГВУ МСХ СССР, «Колос», М., 1964.

Николаев А. В. В кн.: «Диагностика незаразных заболеваний птиц». «Колос», М., 1966.

Николаев А. В. Руководство по анализу фуража и сырых пищевых продуктов, отравленных ОВ. Сельхозгиз, М., 1941.

Николаев А. В. В кн.: «Ветеринарная лабораторная практика». Сельхозиздат, М., т. II, 1963.

Николаев А. В. В кн.: «Лабораторные методы исследования в ветеринарии». Сельхозгиз, М., т. II, 1954.

Николаев А. В. Тезисы докладов на Втором Всесоюзном совещании по химическим средствам защиты растений. Киев, т. II, 1964.

Новые пестициды. Под ред. Н. Н. Мельникова. «Мир», М., 1964.

Орехов А. П. Химия алкалоидов. Изд. АН СССР, М., 1955.

О'Брайн. Токсические эфиры фосфорных кислот. «Мир», М., 1964.

Покровский А. А. «Гигиена и санитария» № 8, 1964.

Полоз Д. Д., Петухов Р. Д., Соломаха А. И. Бюллетень Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии № 1, 1967.

Попов П. В. Справочник по ядохимикатам. ГНТИХЛ, М., 1956.

Рахматов Х. Р. Труды Ташкентского фармацевтического института, вып. 2, 1960.

Ромина Л. И. «Химия в сельском хозяйстве» № 10, 1966.

Руднев Д. Ф. Лесная промышленность. М., 1966.

Рыбак А. Я. и Горный Ю. Я. Руководство по ветеринарной токсикологии и токсикологическому анализу. Воениздат, 1944.

Сондерс Б. Химия и токсикология органических соединений фосфора и фтора. Изд. ИЛ, М., 1961.

Сборник официальных материалов по контролю за ядохимикатами, применяемыми в сельском хозяйстве. Изд. 2-е. «Медицина», М., 1966.

Степанов А. В. Судебная химия. Медгиз, 1951.

Тейсингер Я., Шкрамовский С., Србова Я. Химические методы исследования биологического материала в промышленной токсикологии. Медгиз, М., 1959.

Фокина М. К. «Лабораторная практика» № 5, 1941.

Филов В. А. Определение ядохимикатов в биологических субстратах. «Наука», М., 1964.

Швайкова М. Д. Судебная химия. «Медицина», М., 1965.

Швайкова М. Д. «Аптечное дело» № 5, 1953.

Шрадер Г. Новые фосфорорганические пестициды. «Мир», М., 1965.

Шевченко М. Г., Шорина Е. Г. Вопросы гигиены питания при использовании пестицидов в сельском хозяйстве. «Медицина», 1966.

Шамшури А. А., Кример М. З. Физико-химические свойства органических ядохимикатов и регуляторов роста. «Наука», М., 1966.

Яблочкин М. Д. «Лабораторное дело» № 10, 1964.

Egan H. The determination of residues phosphorus pesticides. Analyst, 89, 1964.

Faderl N. The determination of organic phosphorus insecticides Chem. abstr., 57, 1962.

Facheu J. E., Rusk H. W. Determination of residues on corn. Anal. chem. 23, 1951.

Fischer R., Klingelhöller W. Der Nachweis und die quantitative Bestimmung von Thiophosphorsäureestern in biologischem Material. Arch. Toxikol. 19, 1961.

Gunther F. A., Blinn R. C., Carman G. E. Residues of sevin on and in lemons and oranges. J. agr. food chem., 10, 1962.

Gunther T. A., Blinn R. C. Analysis of insecticides and acaricides. London, New-York, 1955.

Hudy J. A. Dunn C. L. Determination of organic chlorides and residues from chlorinated pesticides by combustion analysis. J. agr. food chem., 5, 1957.

Johnson D. P., Critchfield F. E., Arthur B. W. Determination of sevin insecticide and its metabolites in poultry tissues and eggs. J. agr. food. chem. 11, 1963.

Jones L. R., Riddie J. A. Separation of organic insecticides from plant and animal tissues. Anal. chem., 24, 1952.

Mattson A. M., Spillane J. T., Bauer C., Pearce G. W. Determination of DDT and related substances in human fat. Analyt. chem., 25, 1953.

Metcalf R. L. The colorimetric microestimation of human blood Cholinesterases and its application to poisoning by organic phosphate insecticides. J. econ. entomol. 44, 1952.

Schechter M., Haller H. The determination of DDT. J. amer. chem. Soc., 66, 1944.

Schechter M., Hornstein G. Colorimetric determination of BHC. Anal. chem. 24, 1952.

Schechter M. S., Haller H. L., Pogorelskin M. A. Colorimetric determination of DDT in milk and fatty material. Anal. 19, 1947.

Toxicology. Mechanisms and analytical methods. v. I. New-York, 1960.

К разделу «Исследование кормов и другого растительного материала»

Андреева Е. И., Мельников Н. Н., Скалзубова А. В. и др. «Химия в сельском хозяйстве» № 3, 1965.

Безобразов Ю. Н., Молчанов А. В. Гексахлоран. Госхимиздат, 1949.

Берим Н. Г. и др. Практическое руководство по применению ядохимикатов и гербицидов в растениеводстве. Сельхозиздат, М., 1963.

Берим Н. Г. Химическая защита растений. «Колос», Л., 1966.

Быховская М. С. и др. Практическое руководство по промышленно-санитарной химии. Медгиз, М., 1954.

Брянцев Б. А., Добзракова Т. А. Защита растений от вредителей и болезней. Сельхозиздат, Л., 1963.

Вашков В. И., Сухова М. И., Кербабаяев Э. Б., Шнайдер Е. В. Инсектициды и их применение в медицинской практике. «Медицина», М., 1965.

Вашков В. И., Погодина Л. Н., Сазонова Н. А. ДДТ и его применение. Медгиз, 1955.

Васильев В. П. «Химия в сельском хозяйстве» № 10, 1965.

Вылегжанина Г. Ф. «Гигиена и санитария» № 12, 1965.

Вильнер А. М. Кормовые отравления сельскохозяйственных животных. «Колос», Л., 1966.

Ефимов А. Л. Справочник по применению ядов для борьбы с вредителями и болезнями растений. Сельхозгиз, М., 1956.

Журавлев Е. В. и Казакова Т. П. «Гигиена и санитария» № 2, 1964.

Косматый Е. С., Горюк Л. Т. Тезисы конференции Украинского института защиты растений. Киев, 1960.

Косматый Е. С., Шляпак С. И. Тезисы конференции Украинского института защиты растений. Киев, 1960.

Коржевенко Г. Н., Коляков В. Л., Горшков Ю. И. «Ветеринария» № 5, 1965.

Клисенко М. А., Лебедева Г. А. Определение малых количеств ядохимикатов в воздухе, продуктах питания и других биологических средах. Госмедиздат УССР, Киев, 1964.

Ковба И. Т., Курманова А. А. В кн. «Материалы докладов Всесоюзной научной конференции, посвященной 90-летию Казанского ветеринарного института», Казань, 1963.

- Кудашев А. К. «Ветеринария» № 12, 1965.
- Крылова Н. Н., Ляскова Ю. Н. Физико-химические методы исследования продуктов животного происхождения. «Пищевая промышленность». М., 1965.
- Крылова М. И. Определение мышьяка при санитарной экспертизе пищевых продуктов. Диссертация, 1940.
- Кульберг Л. М., Альтерзон Г. С., Вельтман Р. Н. Капельный анализ. Госхимиздат, Л., 1951.
- Колориметрические (фотометрические) методы определения неметаллов. Под ред. Д. Ф. Больша. Изд. ИЛ, М., 1963.
- Косматый Е. С. Химические средства защиты растений. Гостеххимиздат УССР, Киев, 1963.
- Коростелев П. П. Приготовление растворов для химикоаналитических работ. Второе издание. «Наука», М., 1964.
- Лобов В. П., Ефимов Г. Д. Пестициды. Госхимиздат УССР, Киев, 1963.
- Мельников Н. Н., Набоков В. А., Покровский Б. А. ДДТ, свойства и применение. Госхимиздат, 1954.
- Материалы научного симпозиума по токсикологии и гигиене ядохимикатов, применяемых в сельском хозяйстве. Министерство здравоохранения Узбекской ССР. Ташкент, 15—17 декабря, 1964.
- Методы определения пестицидов в пищевых продуктах. Медицина, М., 1965.
- Мельников Н. Н. «Новые пестициды» № 2. Химическая промышленность, 1963.
- Методы определения активности холинэстеразы крови. МЗ УССР, Киевский научно-исследовательский институт гигиены труда и профессиональных заболеваний. Киев, 1960.
- Методики определения микрочислеств пестицидов в сельскохозяйственных продуктах. «Колос», М., 1966.
- Майер-Бодэ Г. Остатки пестицидов. «Мир», М., 1966.
- Назаров С. С. В кн. «Охрана пчел от отравления ядохимикатами». М., 1963.
- Николаев А. В., Устименко Л. И. «Химия в сельском хозяйстве» № 9, 1966.
- Новые пестициды. Под ред. проф. Н. Н. Мельникова. «Мир», М., 1964.
- Определение микрочислеств пестицидов в сельскохозяйственных продуктах. (Методики.) Сельхозиздат, М., 1963.
- Прокофьев О. Н. Справочник по ядохимикатам. Кайлар, Алма-Ата, 1965.
- О'Брайн Р. Токсичные эфиры кислот фосфора. «Мир». М., 1964.
- Петрова Т. М., Голубев Т. И. «Вопросы питания» № 3, 1966.
- Полоз Д. Д., Николаев А. В. Научный бюллетень ВИЭВ, № 1, 1967.
- Попов. Справочник по ядохимикатам. Госхимиздат, М., 1956.
- Производство и использование комбикормов. «Колос», М., 1964.
- Рыбаков Б. Н. Применение полярографии для анализа пестицидов, «Химия в сельском хозяйстве» № 2, 1966.
- Сборник официальных материалов по санитарному контролю за применением ядохимикатов в экспертизе пищевых продуктов. Госмедиздат, УССР, 1960.
- Справочник по ядохимикатам и аппаратуре, применяемым в борьбе с вредителями, болезнями растений и сорняками. Россельхозиздат. М., 1965.
- Современные методы анализа. Изд. «Наука», М., 1965.
- Спецификация пестицидов. ВОЗ. Женева, 1959.
- Стемпковская Л. А., Пашковская И. И. «Химия в сельском хозяйстве» № 6, 1967.
- Сунь Юнь-пей. В кн. «Успехи в области борьбы с вредителями растений». Изд. ИЛ, М., 1960.
- Успехи в области изучения пестицидов. Пер. с англ. под ред. проф. Н. Н. Мельникова. Изд. «ИЛ», М., 1962.
- Фукельман Л. М. Труды Молдавского филиала ВИЗР, 1962.
- Файгль Ф. Капельный анализ органических веществ. Госхимиздат, М., 1962.
- Фрир Д. Химия инсектицидов и фунгицидов. Госиноиздат, М., 1948.
- Химизация сельского хозяйства. Словарь-справочник. «Наука», М., 1964.
- Химия в сельском хозяйстве. Сборник статей. «Колос», М., 1964.
- Цитович И. К. Анализ инсектицидов и фунгицидов. Госхимиздат, М., 1952.
- Ченкин А. Ф., Макарова Н. С. Справочник по ядохимикатам и аппаратуре, применяемым в борьбе с вредителями, болезнями растений и сорняками. Россельхозиздат, М., 1965.
- Шамшури А. А., Кример М. З. Справочник, «Наука», М., 1966.
- Шевченко М. Г., Шарина З. Г. Вопросы гигиены, питания при использовании пестицидов в сельском хозяйстве. «Медицина», М., 1965.
- Шрадер Г. Фосфорорганические инсектициды. «Мир», М., 1965.
- Analytical method for pesticides, plant growth, regulators and food additives. Acad. Press. New-York, v. I—IV, 1964.
- Bruyere P. Contribution a l'etude de l'intoxication arsenicale chez les bovines. Ann. Med. Veter. An. 105, N. 3, 1961.
- Cook J. Paper chromatography of same organic phosphate in pesticides. J. assoc. offic. agric. chem. v. 37, 1954.
- Cook J. Paper chromatography of same organic phosphate in pesticides. Ibid. v. 38, 1955.
- Dawidov B., Radomski E. Isolation of an epoxide metabolite from fat tissues of rogs fed heptachlor. J. pharm.—exptl. therap. 1953.
- Giang P., Hall S. Ensimatic determination of phosphor organic insecticides. Anal. Chem., 23, 1951.
- Gunther F., Blinn K. Analysis of insecticides and acaricides. New-York, 1955.
- Johnson D. P. Qualitative test rapid identification of chlorinated hydrocarbons on insecticid formulations. J. assoc. offic. agr. chem., v. 39, 1956.
- Johnson D. P. The rapid method determination of tocsaphene in crop. J. assoc. offic. agr. chem., v. 38, 1955.
- Mitchell L. C. V. DDT, rthothane and methoxychlor. J. assoc. offic. agr. chem., 37, 1954.
- Mitchell L. C. IX. Aldrin, DDE, dieldrin, DDT, Lindane, methoxychlor, perthane and rthothane (DDT). Ibid., 39, 1956.
- Mitchell L. C. The sensitive of the chromogenic agent for the detection of pesticides in the chromatogram. Ibid. 40, 1957.
- Mitchell L. C. A study of 114 pesticides chemicals: technical grades produces in 1957 and reference standards. Ibid, 41, 1958.
- Mitchell L. C. Separation and identification of chlorinated organic pesticides by paper chromatography. XII. The two herbicides. 2, 4 D and 2,4,5—T. Ibid. 44, 1961.
- Norris W., Vail W. Averall P. Coloremtric determination of residues of malation in plant materials. J. agric. food. chem. 6, 1958.
- Polen P., Silvermann P. The determination of heptachlor. Anal. Chem., 24, 1952.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Общие сведения о ветеринарном химико-токсикологическом анализе	5
Ветеринарный химико-токсикологический анализ и правила его проведения	5
Химические методы исследования	9
Методы экстракции и очистки пестицидов	38
Реактивы, применяемые в химико-токсикологическом анализе, и требования, предъявляемые к ним	43
Исследования патологического материала	43
Наружный осмотр и предварительные испытания	50
Обнаружение и определение ядовитых веществ, изолируемых после разрушения (минерализации) органического материала	51
Обнаружение и определение ядовитых веществ, изолируемых перегонкой с водяным паром	57
Определение ядовитых веществ, извлекаемых подкисленной водой	79
Определение ядовитых веществ, извлекаемых водой	125
Ядовитые вещества, изолируемые специальными методами	135
Исследования патологического материала	143
Обнаружение и определение хлорорганических ядохимикатов	152
Обнаружение и определение фосфорорганических соединений	152
Обнаружение и определение карбаматов (производных карбаминовой и дитиокарбаминовой кислот)	168
Определение ядохимикатов, содержащих ртуть	175
Определение ядохимикатов, содержащих медь	179
Определение ядохимикатов, содержащих мышьяк	183
Определение других ядохимикатов и химических веществ	184
Биологические методы обнаружения остатков пестицидов в кормах и патологическом материале	187
Литература	193
	217

Николаев А. В.

ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В ВЕТЕРИНАРИИ.
М., изд-во «Колос», 1968.

УДК 619 : 615.9 : 543

Редактор А. М. Ярных
Художник В. А. Прохоров
Художественный редактор С. Н. Томилин
Технический редактор Л. М. Белова
Корректор Н. М. Туманова

Сдано в набор 22/1 1968 г. Подписано к печати 29/VIII 1968 г. Т12760. Формат 60×90^{1/16}.
Бумага тип. № 3. Печ. л. 14. Уч.-изд. л. 13,34. Изд. № 228. Т. п. 1968 г. № 155.
Тираж 14 000 экз. Заказ № 994. Цена 59 коп.

Издательство «Колос», Москва, К-31, ул. Дзержинского, д. 1/19.
Ленинградская типография № 4 Главполиграфпрома Комитета по печати при Совете
Министров СССР, Социалистическая, 14.

ОПЕЧАТКИ

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать
12	12 снизу	$F_M = \frac{0,05^2 + 0,15^2 + 0,09^2 + 0,05^2 + 0,12^2 + 0,12^2}{6 \cdot 5} = \frac{0,0617}{6 \cdot 5} = 0,04.$	$F_M = \frac{0,05^2 + 0,15^2 + 0,09^2 + 0,05^2 + 0,12^2 + 0,12^2}{6 \cdot 5} = \sqrt{\frac{0,0617}{6 \cdot 5}} = 0,04.$
142 200 206	Первая графа, 6 сверху	Первая графа, вместо кавычек читать гексахлорбензол	ДДТ гексахлорбензол

Заказ № 994