# Тема: Методы количественного определения «металлических» ядов в минерализате

# План:

# 1. Общие понятия о количественных методах определения «металлических ядов». Гравиметрический метод

## 2. Титриметрические (объемные) методы

# 3. Фотоколориметрический метод

#  Для обнаружения металлических ядов применяются различные методы количественного определения. На сегодняшний день металлические яды входят в состав не только медицинско-фармацевтических препаратов, но и в повседневных посудах, которых люди употребляют каждый день, в пищевых продуктах а так же в химической промышленности. В связи с этим изучение обнаружения металлических ядов остается актуальным в фармацевтической практике.

#  С помощью различных методов количественного определения можно обнаружить металлические яды как с химических и физико-химическими методами определения.

Для количественного определения «металлических ядов» в химико-токси­кологическом анализе используется гравиметрические, титриметрические и фотоколориметрические методы, но все большее применение находят методы атомно-абсоробционной спектроскопии, эмиссионно-спектрального и рентгено-флуоресцентного анализа. Большинство методик по количественному опреде­лению «металлических» ядов в минерализате изложено в методических указа­ниях, которыми пользуются судебно-химические эксперты и в работе А. Н. Крыловой «Исследование биологического материала на «металлические» яды дробным методом» (М.: Медицина, 1975), а также в учебнике «Фармацев­тическая химия» Беликов В. Г.

## Гравиметрический метод

Метод основан на количественном определении вещества в виде нерастворимого в воде соединения с последующим выделением, очисткой, высушиванием и взвешиванием осадка.

Весовой метод количественного определения ионов бария по сульфату не­посредственно в биологическом материале, после минерализации серной и азот­ной кислотами дает завышенные результаты (до 144 %), что обусловлено соосаждением ионов кальция и железа, содержащимися в органах и тканях организма человека в значительных количествах. Поэтому для освобождения осадка от при­месей этих ионов и для получения более точных результатов предварительно про­водят переосаждение осадка бария сульфата из 0,05 М аммиачного раствора трилона Б. Выпавший после перекристаллизации осадок, отфильтровывают, промывают 0,2 М раствором серной кислоты, сушат, прокаливают до постоянной массы и взвешивают. Граница определения -— 5 мг в 100 г органа.

## Титриметрические (объемные) методы

**1) Комплексонометрический метод.**Комплексонометрия применяется для количественного определения ионов бария, свинца, меди, висмута, цинка, кадмия. Метод основан на образовании растворимых в воде комплексов двух-, трех-, четырехзарядными ионами метал­лов с титрованным раствором трилона Б (динатриевой соли этилендиаминотетрауксусной кислоты) или с другими комплексонами. Взаимодействие происхо­дит в стехиометрическом соотношении 1:1 не зависимо от заряда катиона. Не­пременным условием комплексометрии является соблюдение определенного значение рН среды водного раствора, которое достигается с помощью аммиач­ного буфера для ионов бария, свинца, меди, цинка, кадмия или азотной кислоты для иона висмута. При титровании применяются индикаторы: кислотный хром черный специальный — для бария, свинца, цинка, кадмия; мурексид — для иона меди, пирокатехиновый фиолетовый — для иона висмута.

Для количественного определения ионов бария применяется обратное тит­рование избытка 0,05 М раствора трилона Б раствором цинка хлорида в присут­ствии этанола при индикаторе кислотный хром черный специальный. К осадку бария сульфата прибавляют точно отмеренный избыток 0,05 М раствора трило­на Б и 25 % раствора аммония гидроксида, нагревают и горячую массу отфиль­тровывают. К фильтрату прибавляют аммиачный буферный раствор, индикатор - кислотный хром черный специальный и избыток трилона Б оттитровывают ра­створом цинка хлорида до перехода синей окраски в красно-фиолетовую. Затем добавляют избыток (3—5 мл) раствора цинка хлорида, этанол и избыток хлори­да цинка оттитровывают 0,05 М раствором трилона Б до перехода красно-фио­летовой окраски в синюю. При расчете количества бария учитывают сумму объе­мов растворов трилона Б и цинка хлорида. Граница определения 0,5 мг в 100 г органа.

**2) Аргентометрический метод.**Метод используется для количественного определения мышьяка при коли­честве его в объекте исследования от 1 до 10 мг. Метод основан на поглощении мышьяковистого водорода тированным раствором нитрата серебра, на отделе­нии образующегося осадка металлического серебра и титровании избыточного количества нитрата серебра. Восстановление мышьяка и поглощение арсина нитратом серебра проходит медленно, в течение 2—4 часов. По окончании ре­акции содержимое приемников объединяют и фильтруют. Фильтрат подкисляют азотной кислотой, и избыток серебра нитрата титруют раствором аммония тиоцианата в присутствии железоаммониевых квасцов до появления розового ок­рашивания. Граница определения — 1 мг в 100 г объекта.

**3) Хромато-йодометрический метод.**Метод основан на осаждении ионов свинца титрованным раствором калия бихромата в виде свинца хромата с последующим йодометрическим определе­нием избытка бихромата калия. Для количественного определения используют раствор полученный, после обработки осадка горячим раствором ацетата аммо­ния. Граница определения — 2 мг свинца в 100 г объекта.

**4) Тиоцианатометрический метод.**Титрование минерализата раствором тиоционата аммония используют при резко положительном результате макрореакции на серебро. В качестве индика­тора применяют железоаммониевые квасцы или дитизон. Титрование с дитизоном проводят в присутствии хлороформа или четыреххлористого углерода при периодическом встряхивании до тех пор, пока золотисто-желтый цвет органи­ческого слоя не изменится в зеленый. Граница определения — 2 мг серебра в 100 г объекта

# Фотоколориметрический метод

Фотометрический метод анализа основан на избирательном поглощении электромагнитного излучения анализируемым веществом и служит для иссле­дования строения, идентификации и количественного определения светопоглощающих веществ. Фотометрические методы анализа подразделяются на визу­альную колориметрию, фотоэлектроколориметрию, спектрофотометрию в видимой и ультрафиолетовой областях спектра.

**1) Визуальная колориметрия** основана на сравнении интенсивности окра­сок растворов разных концентраций. Данный метод используется для количественного определения ртути по ок­раске взвеси тетрайодомеркуроата меди, образующейся в деструктате при взаи­модействии ртути с иодидом меди (I).

Исследование проводят в колориметрических пробирках. Для определения берут 3 различных объема исследуемого раствора ртути. Одновременно с колориметрируемой пробой готовят стандартную шкалу. Для приготовления стан­дартного раствора ртути используют дважды перекристаллизованный дихлорид ртути. Объемы исследуемых и стандартных растворов доводят до 6 мл 0,24 % раствором йода и во все пробирки одновременно прибавляют по 4 мл реактива, содержащего сульфат меди, сульфат натрия и гидрокарбонат натрия. Пробу и стандартную шкалу сравнивают через 10 мин. после их приготовления. Перед колориметрированием пробирки встряхивают. Количество ртути рассчитывают на 100 г органа, взятого на исследование. Граница определения — 0,01 мг. Зак­лючение о количестве обнаруженной ртути дают по среднему значению трех оп­ределений.

Колориметрическое определение мышьяка основано на реакции Зангер-Блека. Используют 14 колбочек приборов Зангер-Блека. В первую колбочку по­мещают минерализат, во вторую — серную кислоту, в двенадцать оставшихся — стандартный раствор мышьяковистого ангидрида в 4 М растворе серной кис­лоты для приготовления колориметрической шкалы. Далее поступают, как ука­зано при качественном обнаружении мышьяка данным методом

Через час сопоставляют окраску реактивной бумажки, полученной при ис­следовании минерализата, с окраской стандартной шкалы. Граница определе­ния — 0,04 мг.

**2) Фотоэлектроколоримтрический метод** основан, на способности анализи­руемого вещества поглощать немонохроматический свет. Метод экстракцион­ной фотоэлектроколориметрии используется для количественного определения ионов свинца, серебра, хрома, ртути, меди, таллия, сурьмы по цветным продук­там взаимодействия с органическими комплексами (дитизон, диэтилдитиокарбаминат, малахитовый зеленый, дифенилкарбазид), которые экстрагируются в органический растворитель или реакциям окисления для марганца.

Количественное определение свинца основано на измерении оптической плотности окрашенного в пурпурно-красный цвет раствора дитизоната свинца в хлороформе. Измерение оптической плотности проводят на фотоэлектроколориметре при длине волны520 нм в кювете с толщенной поглощающего слоя 10 мм и в ка­честве раствора сравнения используют хлороформ. Расчет содержания свинца производят по калибровочному графику. Стандартный раствор для построения калибровочного графика готовят путем растворения соли свинца хлорида или свинца основного ацетата в воде очищенной, подкисленной раствором хлорис­товодородной кислоты при кипячении. Метод позволяет определять свинец при содержании его в пределах 0,02—2 мг в 100 г объекта.

Для количественного определения ртути используют дитизонат данного ме­талла, который имеет золотисто-желтую окраску и экстрагируется хлороформом или четыреххлористым углеродом при рН = 1,0—2,0 (4—5 М раствора серной кислоты). Определению ртути по его дитизонату мешают ионы серебра, золота, платины и палладия, которые, однако, являются исключительно редкими объекта­ми исследования в химико-токсикологическом анализе. Также мешать определе­нию ртути могут продукты окисления дитизона (карбадиазон и др.), окрашенные в желтый цвет, сходный по окраске с дитизонатом ртути при небольшом содержа­нии ртути (II). Они растворимы в четыреххлористом углероде и хлороформе. Максимум поглощения их (390—470 нм) лежит близко к дитизонату ртути (485 нм). Поэтому для определения ртути следует пользоваться свежеприготовленный ра­створ дитизона. Раствором сравнения служит хлороформ или четыреххлористый углерод. Количество ртути определяют по калибровочному графику. Для постро­ения графика готовят стандартные растворы ртути (II) в серной кислоте. Граница определения — 0,005 мг.

Фотоколориметрическим методом, основанным на реакции образования однозамещенного дитизоната серебра, целесообразно проводить определение при небольших количествах осадка серебра хлорида. Измеряют оптическую плот­ность раствора дитизоната серебра в хлороформе или четыреххлористом угле­роде, при длине волны 462 нм в кювете с толщенной поглощающего слоя 10 мм. Раствором сравнения является органический растворитель. Определение количества серебра производят по калибровочному графику. Стандартный раствор для построения графика готовят из перекристаллизованного нитрата серебра. Граница определения — 1 мг серебра в 100 г объекта.

Ион таллия может быть определен по дитизонату, полученному в условиях приведенных выше. Измеряют оптическую плотность при длине волны 505 нм, раствором сравнения является хлороформ. Расчет количественного содержания ведут по калибровочному графику, для построения которого используют стан­дартный раствор таллия в серной кислоте.

В основе количественного определения ионов марганца в минерализате лежит реакция окисления с калия периодатом, так как окраска получаемого перманганат аниона устойчива в течение длительного времени. В зависимости от интенсивности окраски полученного в результате реакции, раствора, его разбав­ляют водой до 10 мл и измеряют оптическую плотность, при длине волны 525 нм в кюве­те с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Раствором сравнения служит опыт, в котором минерализат заменен 20 % раствором кислоты серной. Количество мар­ганца определяют по калибровочному графику, который строят по стандартным растворам перманганата калия. Раствором сравнения служит вода. Граница оп­ределения 0,1 мг марганца в 100 г объекта

Хром количественно определяют по реакции с дифенилкарбазидом. Усло­вия окисления хрома и проведения реакции описаны выше. Комплекс хрома с дифенилкарбазидом окрашивается полностью через 20—30 мин. Окраска со­храняет устойчивость в течение 2—3 часов. При содержании хрома менее 0,5 мг в 100 г объекта (на границе чувствительности) окраска комплекса появляется в течение 5—10 мин и через 20—30 мин начинает желтеть. Оптическая плотность окрашенных растворов измеряется на фотоэлектроколориметре, при длине вол­ны 546 нм и в кювете с толщенной поглощающего слоя 20 мм. Определение хрома проводят в минерализате и в осадке, в случае образования окрашенного в серо-зеленый цвет осадка сульфатов. Результаты определения суммируются. Для расчета количественного содержания хрома используют калибровочный график, построенный по стандартным растворам бихромата калия. Граница определе­ния — 0,1 мг хрома в 100 г объекта.

Количественное определение висмута проводится после экстракции в виде диэтилдитиокарбамата из минерализата и последующей реэкстрации в водный слой кислотой азотной. Данный метод используется при слабоположительных результатах качественных реакций на висмут. Определение проводятся по тиомочевинному комплексу висмута. Оптимальные условия развития окраски комплекса: 1 М раствор кислоты азотной и 6—12 % раствор тиомочевины. Из­меряют оптическую плотность окрашенного в желтый цвет раствора при длине волны 470 нм в кювете с толщенной поглощающего слоя 10 мм, раствором срав­нения является вода очищенная. Определение количества висмута производят по калибровочному графику. Для построения графика используют стандартный раствор висмута (III) в 2 М растворе кислоты азотной. Граница определения — 0,1 мг висмута в 100 г объекта.

Окрашенный раствор диэтилдитиокарбамата меди в хлороформе использу­ют для ее количественного определения. Измерение оптической плотности ок­рашенного раствора проводят на фотоэлектроколориметре, при длине= 435 нм в кювете с толщенной поглощающего слоя 10 мм. Раствор сравнения — хлоро­форм. Для расчета количественного содержания меди используют калибровоч­ный график, построенный по стандартным растворам соли меди (II). Граница определения — 0,1 мг меди в 100 г объекта.

Фотоэлектроколориметрическое определение по реакции с малахитовым (бриллиантовым) зеленым возможно производить как, при раздельном присут­ствии сурьмы и таллия, так и при их совместном присутствии. В последнем слу­чае таллий определяют дополнительно по дитизонату как описано выше и затем по разности вычисляют количество сурьмы. Окрашенные соединения сурьмы и таллия с органическими комплексами количественно экстрагируются толуолом. Измеряют оптическую плотность окрашенного в голубой цвет раствора, при длине волны 610 нм для сурьмы и 640 нм для таллия в кювете с толщенной по­глощающего слоя 10 мм. Раствором сравнения является толуол. Определение количества сурьмы и таллия производят по калибровочному графику, который строят отдельно по стандартным растворам катионов в растворе кислоты сер­ной. Граница определения — 0,1 мг.

**3) Спектрофотометрия в видимой области спектра.** Для предложенных со­единений может быть записан спектр поглощения в видимой области, определе­на оптическая плотность в максимуме поглощения и рассчитано содержание вещества в растворе по калибровочным графикам

# Атомно-абсорбционная спектроскопия

Метод атомно-абсорбционной спектроскопии - это метод элементного ана­лиза и исследования вещества по атомным спектрам поглощения. Для наблюде­ния этих спектров через атомный пар пробы пропускают видимое или ультрофиолетовое излучение. В результате поглощения квантов излучения электроны атомов переходят с нижних энергетических уровней на возбужденные. Этим переходам в атомном спектре соответствуют так называемые резонансные ли­нии, характерные для данного элемента. Достоинствами метода является высо­кая избирательность, высокие пределы обнаружения (10-1– 10 -4мг/мл), хорошая воспроизводимость результатов.

## Эмиссионный спектральный анализ

В основу метода положена способность атомов вещества испускать элект­ромагнитные волны под действием пламени, плазмы дугового или высокочастотного разряда в плазматронах. Спектры испускания регистрируют в спектрографах на фотопластинах (спектрограммы). Эмиссионный спектральный ана­лиз позволяет определить почти все элементы при содержании в растворах от 10-4 до 10-20мг/мл.

## Рентгено-флуоресцентный метод

Данный метод применяется для определения всех элементов периодичес­кой системы в растворах и твердых объектах. Предел обнаружения 10-3 до 10-4мг/мл. Также может быть использован для исследования природы химических связей, распределения валентных электронов и определения зарядов катионов. Метод основан на изучении рентгеновских спектров испускания (эмиссионные PC) и поглощения (абсорбционные PC).

## Вопросы для самоконтроля:

1. Как разделить сульфаты бария и свинца, находящиеся в минерализатах, и обнаружить эти катионы после их разделения?
2. Как обнаружить соединения хрома и марганца, находящиеся в биологическом материале?
3. Какие вы знаете реакции на висмут, серебро, цинк, медь, кадмий?
4. Как обнаружить соединения мышьяка при помощи реакции Марша?
5. Как отличить соединения сурьмы от соединений таллия в химико-токсикологическом анализе?
6. При помощи каких реакций можно обнаружить ртуть в деструктатах и определить ее количественно?
7. Какие методы применяются для количественного определения «металлических» ядов в минерализате?
8. Как происходит связывание катионов металлов с аминокислотами и пептидами?
9. Почему необходима минерализация биологического материала при исследовании его на наличие «металлических» ядов?
10. Обоснуйте сущность процесса минерализации.

**Домашнее задание:**

Конспектировать и ответить на вопросы:

1. Какие окислители применяются для минерализации биологического материала, подлежащего исследованию на наличие «металлических» ядов?

2. Какие преимущества и недостатки хлорной кислоты, применяемой для минерализации?

3. Какие меры предосторожности необходимо соблюдать при использовании хлорной кислоты для минерализации биологического материала?

4. В каких случаях для минерализации требуется пергидроль?

Тема для СРС:

# 1. Атомно-абсорбционная спектроскопия

## 2. Эмиссионный спектральный анализ

## 3. Рентгено-флуоресцентный метод