МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОБНАРУЖЕНИЮ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ В ПАТОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ, КОРМАХ И ВОДЕ С ПОМОЩЬЮ ЭКСПРЕССНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ИЗДАТЕЛЬСТВО «КОЛОС»
Москва—1964

gost.e-ecolog.ru

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОБНАРУЖЕНИЮ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ В ПАТОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ, КОРМАХ И ВОДЕ С ПОМОЩЬЮ ЭКСПРЕССНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

(Утверждены Главным управлением ветеринарии
Министерства сельского хозяйства СССР
26 августа 1964 года)

ИЗДАТЕЛЬСТВО «КОЛОС»
Москва—1964

Методические указания разработаны
лабораторией фармакологии, химиотерапии
и токсикологии ВИЭВ

1. В целях ускорения токсикологических исследований в ветеринарных лабораториях при проведении лабораторной диагностики 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: парижской зелени, препарата АБ, хлорокиси меди, трихлорфенолята меди, бордоской жидкости, медного купороса, фосфида цинка, хлористого цинка, углекислого бария, хлористого бария, гранозана, меркурана, сулемы, этилмеркурфосфата, уксуснокислого свинца, тетраэтилсвинца и др.

Для обнаружения с помощью экспрессных химических методов бария, свинца, цинка, меди и ртути (каждого в отдельности) требуется около одного часа, включая разрушение патологического материала, кормов и других исследуемых объектов, а для исследования на фосфид цинка по фосфору и цинку — 2 часа.

2. Обнаружение металлических ядов — цинка, меди, бария и свинца основано на применении метода осадочной хроматографии на бумаге, разработанного Вяхиревым и Кулаевым. Цинк определяют по реакции с дитизоном, медь-рубеановодородной кислотой, барий и свинец — родизоновокислым натрием. Обнаружение ртути проводят с помощью реакции с йодистой медью капельным методом на бумаге.

Метод осадочной хроматографии на бумаге позволяет обнаруживать искомый катион, находящийся в смеси с другими катионами, без выделения его в чистом виде.

Присутствие других катионов в количествах, превышающих в 100 раз количество искомого катиона, не мешает его обнаружению методом осадочной хроматографии на бумаге (ртути—капельной реакцией с йодистой медью на бумаге).

Для определения цинка, меди и ртути применяют экспрессный способ 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 навески (20—25 г) патологического материала для получения минерализата проводят за 30—40 минут.

ОБНАРУЖЕНИЕ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ В ПАТОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ И КОРМАХ

3. Из патологического материала (содержимое желудка, зоба, кишечника со стенками, кусочки паренхиматозных органов, рвотные массы) и кормов отделяют 20—25 г материала для исследования на медь, ртуть и цинк, часть материала 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), то пробу помещают в фарфоровую чашку и подсушивают на кипящей водяной бане (для удаления избытка воды).

4. Для исследования на цинк, ртуть и медь разрушение материала проводят концентрированной серной кислотой и пергидролем (30%-ная перекись водорода). 20—25 г патологического материала или корма помещают в колбу Кьельдаля объемом 250—300 мл, заливают 10—12,5 мл пергидроля, 1—2 минуты перемешивают и прибавляют 6—7 мл концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы разогревается и наступает бурная реакция. Когда реакция затихнет, колбу осторожно нагревают на электроплитке и прибавляют по 1—2 мл пергидроля до тех пор, пока содержимое колбы сделается прозрачным (полного разрушения органического материала при этом не происходит — остается неразрушенным жир и продукты распада белков). Для разрушения 20—25 г материала требуется примерно 25—40 минут.

5. Для исследования на барий и свинец разрушение патологического материала и кормов проводят концентрированной соляной кислотой и хлоратом калия (бертолетовой солью), чтобы избежать образования трудно растворимых 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.

6. **Обнаружение цинка.** Часть минерализата (1—2 мл) разбавляют 1 : 1 дистиллированной водой, берут 2—3 капли и нейтрализуют концентрированным аммиаком (по лакмусу), одну каплю нейтрализованного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанной тиомочевиной и высушенной, держат одну минуту над горлом

склянки с концентрированным аммиаком, высушивают на воздухе и опрыскивают из пульверизатора раствором дитизона в бензоле.

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

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

7. **Обнаружение меди.** 2—3 капли минерализата нейтрализуют концентрированным раствором аммиака, каплю нейтрализованного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанной раствором кремнекислого натрия и высушенной, держат над горлом склянки с концентрированным аммиаком, подсушивают и опрыскивают из пульверизатора раствором рубеановодородной 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 в форфоровой или кварцевой чашке на электроплитке с добавлением нескольких капель пергидроля для обеспечивания темнеющей жидкости и проделать реакцию на медь, как указано выше.

8. **Обнаружение ртути.** На беззольную фильтровальную бумагу наносят каплю взвеси йодистой меди, выжидают 2—3 минуты и наносят на это место каплю минерализата. В присутствии ртути появляется красное или красно-оранжевое окрашивание. Реакция высокочувствительная, ею можно обнаруживать 0,25 γ ртути в одной капле.

9. **Обнаружение бария.** 3—5 капель минерализата нейтрализуют концентрированным аммиаком, одну каплю жидкости наносят на полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанной 4%-ным раствором виннокислого натрия и высушенной, подсушивают на воздухе и опрыскивают из пульверизатора раствором родизоната натрия, а затем буферным раствором с pH-2,8.

В присутствии бария пятно окрашивается в оранжево-красный цвет.

Присутствие в минерализате цинка, меди, ртути и железа в 100-кратном количестве по отношению к барию не мешает его обнаружению этим методом.

Для дифференциации бария от свинца на оранжево-красное пятно от родизоновокислого бария наносят каплю 10%-ного раствора сернокислого натрия, оранжево-красная окраска

исчезает; если же присутствует свинец, окраска пятна не меняется.

10. **Обнаружение свинца.** Каплю горячего минерализата (при охлаждении минерализата хлористый свинец выпадает в осадок) наносят на полоску бумаги, пропитанной 4%-ным раствором виннокислого натрия и высушенной, 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 с pH-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 в пункте 9.

11. **Обнаружение фосфида цинка** можно производить по фосфору и по цинку:

а) обнаружение по фосфору. 20—25 г содержимого желудка помещают в редукционную колбочку прибора Зангера—Блека, прибавляют 5 г цинка без мышьяка, 40 мл 15%-ного раствора серной кислоты, химически чистой без мышьяка, сейчас же надевают на колбочку насадку с бромно-ртутной бумажкой и свинцово-ацетатной ватой и оставляют на 2 часа.

В присутствии фосфора бромно-ртутная бумажка окрашивается в желтый цвет.

Мышьяк мешает проведению реакции, окрашивая бромно-ртутную бумажку в желто-коричневый или коричневый цвет.

Для дифференциации фосфора от мышьяка поступают так: на желто-коричневое пятно на бромно-ртутной бумажке наносят каплю раствора молибденовокислого аммония, осторожно подсушивают, наносят еще каплю раствора молибденовокислого аммония, затем каплю раствора уксуснокислого бензидина и держат над горлом склянки с раствором аммиака.

В присутствии фосфора желтое пятно окрашивается в синий цвет, в присутствии же мышьяка пятно окрашивается в темно-бурый цвет;

б) обнаружение по цинку. Для подтверждения и более точного диагноза на отравление фосфидом цинка следует дополнительно провести обнаружение цинка в содержимом желудка, как описано в пункте 6.

12. **Обнаружение металлических ядов в воде.**

Исследуемая вода должна иметь нейтральную или слабощелочную реакцию. Если реакция воды кислая, то следует к воде добавить раствор аммиака до слабощелочной реакции (реакцию проверяют по лакмусовой бумаге).

Цинк, медь свинец и барий обнаруживают методом осадочной хроматографии на бумаге, а ртуть — капельным методом, как это описано в пп. 6, 7, 8, 9, 10.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Раствор дитизона в бензоле. 5 мг дитизона растворяют в 10 мл бензола. Раствор пригоден для работы в течение одного дня.

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

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

Фильтровальная бумага, пропитанная кремнекислым натрием. Полоски фильтровальной бумаги размером 5×30 сантиметров пропитывают 4%-ным раствором кремнекислого натрия и высушивают на воздухе. Хранят в плотно закрытой банке. Срок хранения 1 год.

Йодистая медь. 5,3 г йодистого калия растворяют в 10—15 мл дистиллированной воды, к полученному раствору прибавляют 40 мл 10%-ного раствора сернокислой 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 объема 50 мл. Взвесь йодистой меди пригодна для работы в течение 6 месяцев.

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

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

Буферный раствор с pH-2,8. **Раствор А.** 35,628 г двуметаллического фосфорнокислого натрия ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) растворяют в воде и доводят до 1 литра. **Раствор Б.** 21,008 г лимонной кислоты растворяют в воде и доводят до 1 литра. Для получения буферного раствора с pH-2,8 смешивают 1,58 мл раствора А с 8,42 мл раствора Б. Раствор пригоден для работы в течение одного месяца.

Бромно-ртутные бумажки. Из беззольной фильтровальной бумаги вырезают кружочки по размерам трубки насадки на колбочку прибора Зангера—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 в 5%-ном растворе уксуснокислого свинца и сушат. Хранят в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 год.

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

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

Приложение

Список реактивов и посуды

Аммиак—раствор концентрированный (20—25%)
Аммоний молибденовокислый
Бензидин основной
Бензол
Дитизон
Калий йодистый (калий йодид)
Калий хлорат (бертолетовая соль)
Кислота азотная с удельным весом 1,22
Кислота лимонная
Кислота серная концентрированная химически чистая
Кислота соляная концентрированная химически чистая
Кислота рубеановодородная
Кислота уксусная концентрированная
Медь сернокислая химически чистая
Натрий кремнекислый
Натрий виннокислый
Натрий родизоновокислый (родизонат натрия)
Натрий фосфорнокислый (двуметаллическая соль)
Пергидроль (30%-ная перекись водорода)
Ртуть бромная
Свинец уксуснокислый
Спирт ректификованный
Тиомочевина
Цинк гранулированный (без мышьяка)
Колбы Кьельдаля объемом 250—300 мл
Пульверизаторы
Пипетки

Воронки химические
Маленькие фарфоровые чашки
Прибор Зангера—Блека
Вата гигроскопическая
Фильтровальная бумага
Беззольные фильтры.

Примечание. Прибор Зангера—Блека состоит из конической редукционной колбочки объемом 50 мл и пришлифованной трубки, в нижней части которой имеется расширение для помещения свинцовоацетатной ваты, а вверху впаяна узкая газоотводная трубочка, на которую помещают кружочки бромно-ртутной бумаги.

Т-13782 Подписано к печати 14/X 1964 г. Формат бумаги 60×90¹/₁₆
Бум. л. 0,25 Печ. л. 0,5 Заказ 1015 Тираж 20000 экз.

Типография № 32 Главполиграфпрома. Москва, Цветной бульвар, 26

gost.e-ecolog.ru