

Лекция № 2.

*Современные методы анализа
минерализата.*

*Дробный метод анализа: анализ осадка
и фильтрата.*

После разрушения биологического материала с помощью концентрированных серной и азотной кислот минерализат представляет собой бесцветную или слегка окрашенную в желтый цвет (за счет недоразрушенных органических веществ) прозрачную жидкость.

В присутствии соединений меди и хрома минерализат может быть окрашен в голубоватый или зеленоватый цвет.

При наличии соединений свинца, бария, кальция минерализат, после разбавления его водой очищенной, содержит белый осадок, состоящий из сульфатов этих металлов.

Для обнаружения «металлических» ядов в извлечениях из объектов используют инструментальные и химические методы анализа.

Инструментальные методы анализа

1. Атомно-абсорбционная спектроскопия

метод основан на определении содержания химических элементов путем измерения абсорбции излучения атомными парами определяемого элемента.

Обнаружение проводят по характерным для каждого элемента линиям резонансного перехода при определенной длине волны.

Количественное определение ведут по величине светопоглощения при определенной длине волны для каждого элемента. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или с использованием метода добавок.

Инструментальные методы анализа

2. Атомно-флуоресцентный анализ

Метод основан на элементном анализе по атомным спектрам флуоресценции. Пробу анализируемого вещества превращают в атомный пар и облучают для возбуждения флуоресценции излучением, которое поглощают атомы только определенного элемента. При этом длина волны излучения соответствует энергии электронных переходов этих атомов. Часть возбужденных атомов излучает свет, что и является аналитическим сигналом, регистрируемым спектрофотометром.

Этим методом можно определять около 65 элементов. За счет очень узких линий атомной флуоресценции одновременно можно вести определение нескольких элементов. Метод используется для анализа некоторых биологических объектов (крови, мочи) на «металлические» яды.

Инструментальные методы анализа

3. Атомно-эмиссионный анализ

Метод предложен для определения микроэлементов в биосубстратах. Основан на измерении интенсивности света, излучаемого атомами и ионами в газообразном состоянии. Анализируемая проба проходит через плазму и испаряется. Наблюдается возбуждение атомов и частичная их ионизация. Происходит излучение квантов света, которые называются характеристическими. Они формируют аналитический сигнал.

В современных приборах атомно-эмиссионный анализ с индуктивно связанной плазмой сочетают с масс-спектрометрией (ИСП-МС). С помощью ИСП-МС можно определять 40-50 элементов в течение 2-3 мин.

Метод используется для определения элементов в волосах, ногтях, крови, плазме, грудном молоке, моче, печени, почках, сердце, плаценте, слюне, зубах.

Инструментальные методы анализа

4. Рентгено-флуоресцентный анализ

В основе этого метода - определение структуры рентгеновских спектров, которые отражают энергетическое состояние электронов в атоме. Рентгеновские спектры содержат небольшое количество линий и охватывают диапазон от 0,1 до 100А. На исследуемое соединение направляют пучок ускоренных заряженных частиц или протонов. В результате с одной из внутренних электронных оболочек атома исследуемого элемента вырывается электрон. Образовавшаяся вакансия заполняется электроном с внешней оболочки. Этот процесс сопровождается характеристическим рентгеновским излучением. В основе качественного и количественного анализа лежит зависимость между атомным номером элемента и длиной волны линий рентгеновского спектра.

Дробный (химический) метод анализа «металлических ядов» по А.Н. Крыловой

- 1) метод разработан на 13 наиболее важных в токсикологическом отношении «металлических ядов»
- 2) **разработан определенный порядок** выделения и обнаружения ионов металлов (схема дробного метода и органические реагенты)
- 3) в качестве дробных реакций избраны наиболее чувствительные и специфические, чаще микрокристаллические
- 4) предпочтение отдано жидкофазным реакциям, что позволяет значительно ускорить анализ
- 5) доказательность и надежность дробных реакций достигается применением по меньшей мере двух реакций: предварительной и подтверждающей.
- 6) использование определенных приемов для устранения мешающего действия посторонних элементов (разбавление, маскировка, демаскировка)

Ход анализа:

- Разбавление минерализата водой до 180 мл.
- Отделение осадка белого или грязно-зеленого цвета фильтрованием.
- Промывание осадка 10 мл 1 %-ным H_2SO_4 и 10 мл воды. Фильтрат содержит Mn^{2+} , Cr^{3+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Bi^{3+} , As^{3+} , Sb^{3+}
- Разделение осадка BaSO_4 и PbSO_4 :
 - промывание горячим раствором ацетата аммония $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ (5 мл при значительном осадке и 1-2 мл при малом)
 - ✓ на фильтре BaSO_4
 - ✓ в фильтрате раствор $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

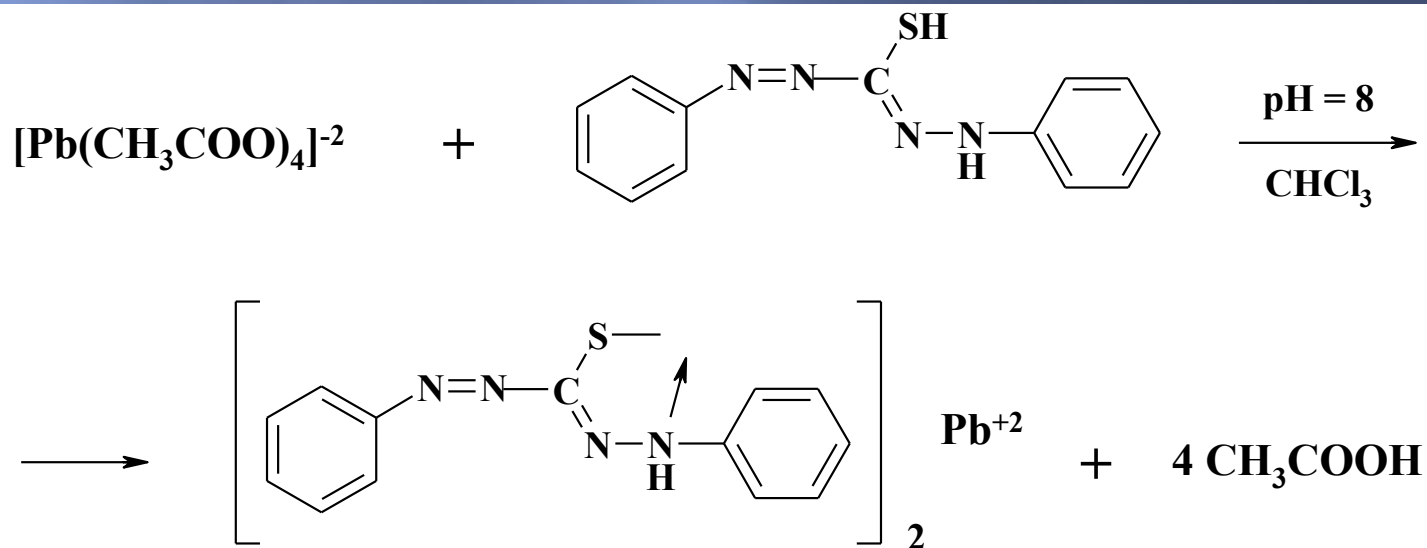
Обнаружение свинца

1. Атомно-адсорбционная спектрометрия.

Обнаружение проводят по характерным для свинца линиям резонансного перехода при длине волны 217 нм.

2. Химический метод. Проводится дробным методом, разработанным А.Н.Крыловой.

2.1. Реакция с дитизоном (предварительная).



Хлороформный слой окрашивается из зеленого в пурпурно-красный цвет

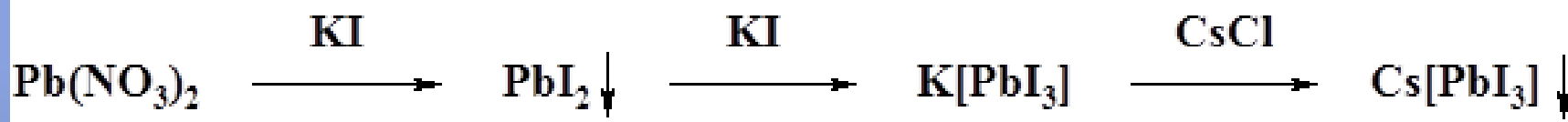
Для проведения подтверждающих реакций на свинец окрашенный в пурпурно-красный цвет слой хлороформа, содержащий дитизонат свинца - $\text{Pb}(\text{HDz})_2$, встряхивают в течение 60 с с 0,5-2 мл 1 М раствора азотной кислоты (в зависимости от объема и интенсивности окраски экстракта). Слой хлороформа восстанавливает зеленый цвет.



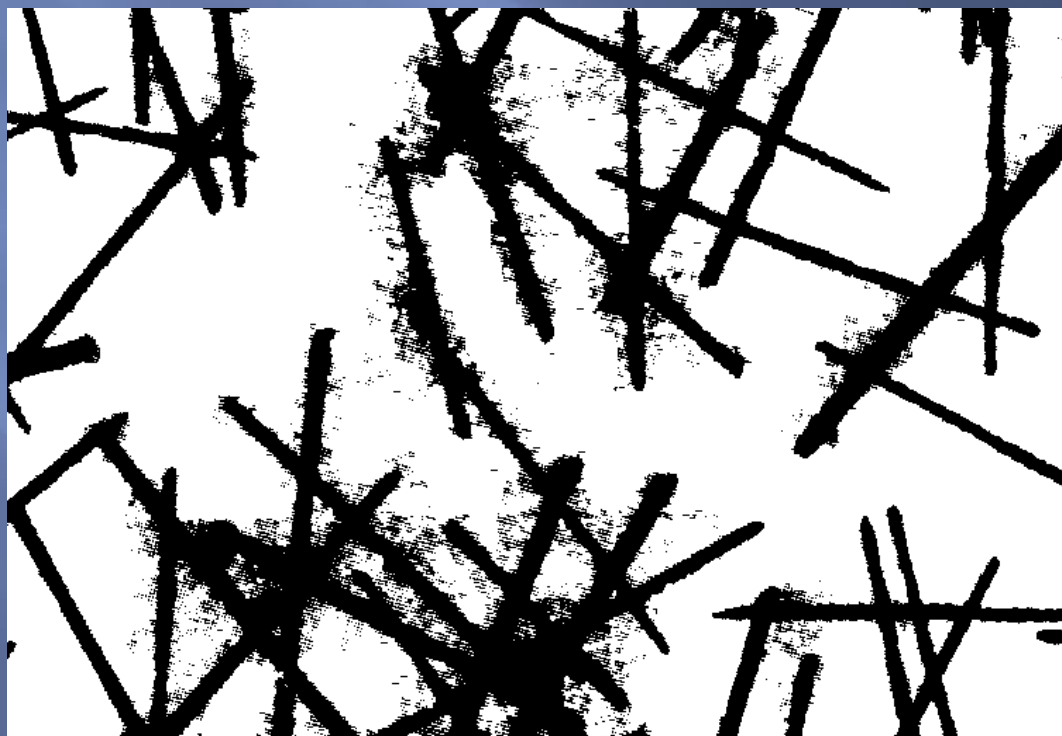
В водной фазе обнаруживают катион свинца. Выбор реакций (микро- или макрохимических) зависит от объема водной фазы, полученной при разрушении дитизоната свинца азотной кислотой. При малом объеме водной фазы (0,5 мл) используют микрокристаллоскопические реакции, при большом объеме (2 мл и более) - макрохимические.

Микрокристаллоскопические реакции на свинец

1. *Образование двойной соли йодида цезия и свинца.*



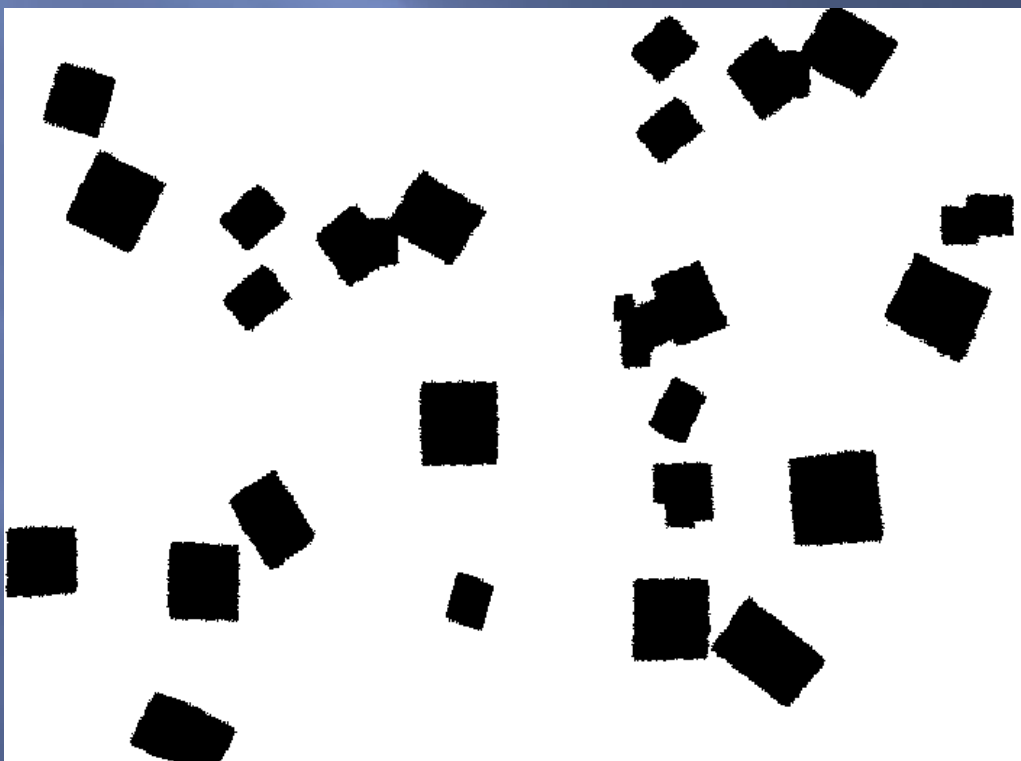
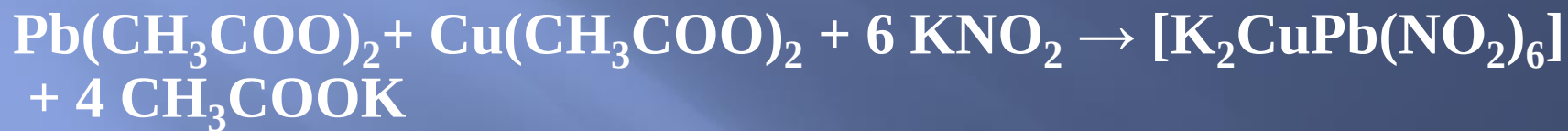
Образуются желто-зеленые игольчатые кристаллы, собранные в пучки и сфероиды



Микрористаллоскопические реакции на свинец

2. Образование гексанитрита калия, свинца и меди

Образуются черные или коричневые кристаллы в виде кубов,



Макрохимические реакции на свинец

1. Реакция с йодидом калия. осадок желтого цвета, растворимый в избытке реактива.



2. Реакция с дихроматом калия. осадок оранжевого цвета.



3. Реакция с сероводородом. осадок черного цвета.



4. Реакция с серной кислотой. осадок белого цвета.



Оценка. Макрохимическими реакциями можно обнаружить в 100 г биологического объекта 0,2 мг свинца.

Количественное определение

Свинец в минерализате определяют с помощью :

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 217,0 нм. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или с использованием метода добавок.
2. Экстракционно-фотоколориметрический метод основан на получении окрашенного соединения свинца с дитизоном и экстракции образовавшегося комплексного соединения. Окрашенный в красный цвет хлороформный слой отделяют, доводят до определенного объема и оптическую плотность измеряют с помощью фотоэлектроколориметра при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику.

3. Йодометрическое определение

проводят после растворения сульфата свинца в ацетате аммония.



4. Комплексонометрическое титрование.

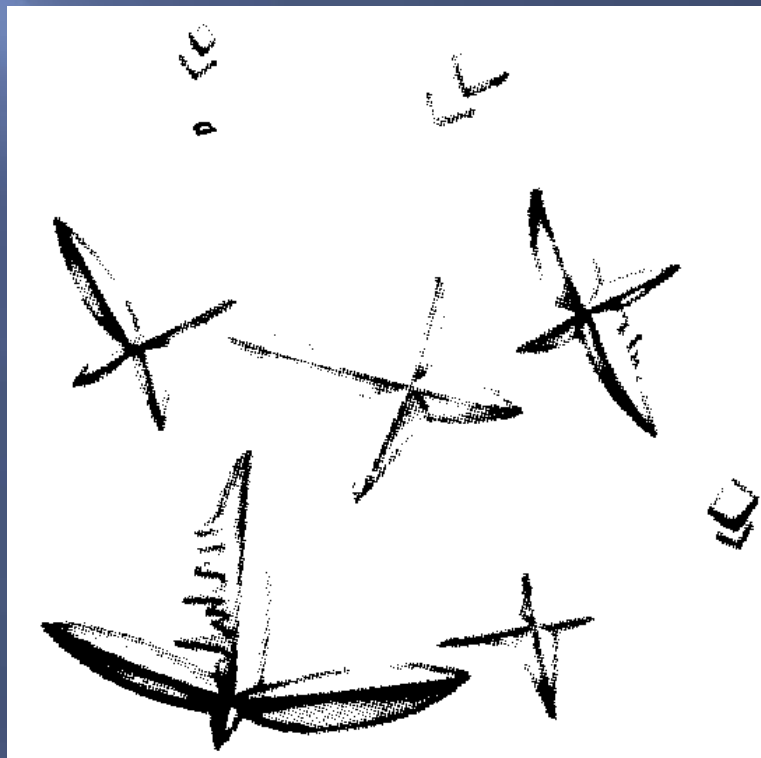
Обнаружение бария

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия.

2. Химический метод.

1. Реакция перекристаллизации из концентрированной серной кислоты. (бесцветные кристаллы сульфата бария, имеющие форму прямоугольных пластинок, переходящих в кресты с перистыми разноплечными концами)

Оценка. Предел обнаружения составляет 0,05 мкг бария в исследуемой пробе.



Растворение сульфата бария через восстановительную

реакцию. Часть осадка нагревают на платиновой игле в восстановительной части пламени горелки. Платиновую иглу погружают в 2 капли 10% раствора хлороводородной кислоты, находящейся на предметном стекле. При этом на платиновой игле происходит образование сульфида бария, который частично превращается в оксид бария.



При погружении платиновой иглы в раствор хлороводородной кислоты происходит растворение сульфида и оксида бария.

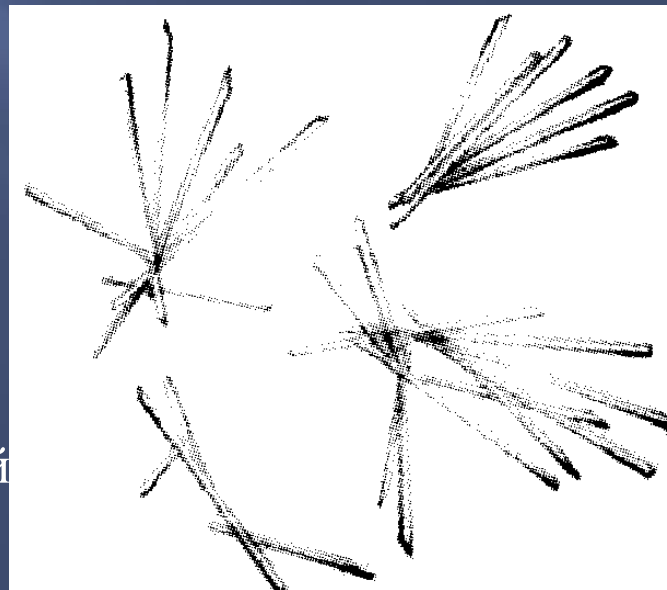


Затем на предметное стекло, содержащее раствор хлорида бария, помещают кристаллик йодата калия. Наблюдают образование осадка йодата бария.



Под микроскопом видны призматические кристаллы, собранные в сфероиды

Предел обнаружения - 0,03 мкг бария в исследуемой пробе.



Количественное определение

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 553,6 нм. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или с использованием метода добавок.

2. Гравиметрический метод. Барий после изолирования в минерализате находится в виде нерастворимого осадка сульфата бария. Его переосаждают из аммиачного раствора трилона Б. Осадок сульфата бария отфильтровывают, высушивают до постоянной массы и взвешивают.

3. Комплексонометрическое титрование.

Обнаружение марганца в минерализате.

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение проводят по характерной для марганца линии резонансного перехода при длине волны 279,5 нм. Оценка метода. Предел обнаружения марганца составляет 0,1 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

2. Химический метод.

В минерализате марганец находится в виде солей низших валентностей. Для обнаружения их переводят в марганцовую кислоту путем окисления.

2.1. Реакция с периодатом калия.



2.2. Реакция с персульфатом аммония.



Оценка. Предел обнаружения $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. Реакции специфичны. По первой реакции границей обнаружения марганца является его содержание 0,02 мг в 100 г объекта, а по второй реакции - 0,1 мг. Появление окрашивания только по первой реакции может указывать на обнаружение естественно содержащегося марганца. Появление окрашивания по двум реакциям является доказательством содержания в объекте марганца в количестве выше естественной нормы и требует проведения количественного определения.

Количественное определение

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия.

Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 279,5 нм. Расчет концентрации марганца проводят по градуировочному графику или методом добавок.

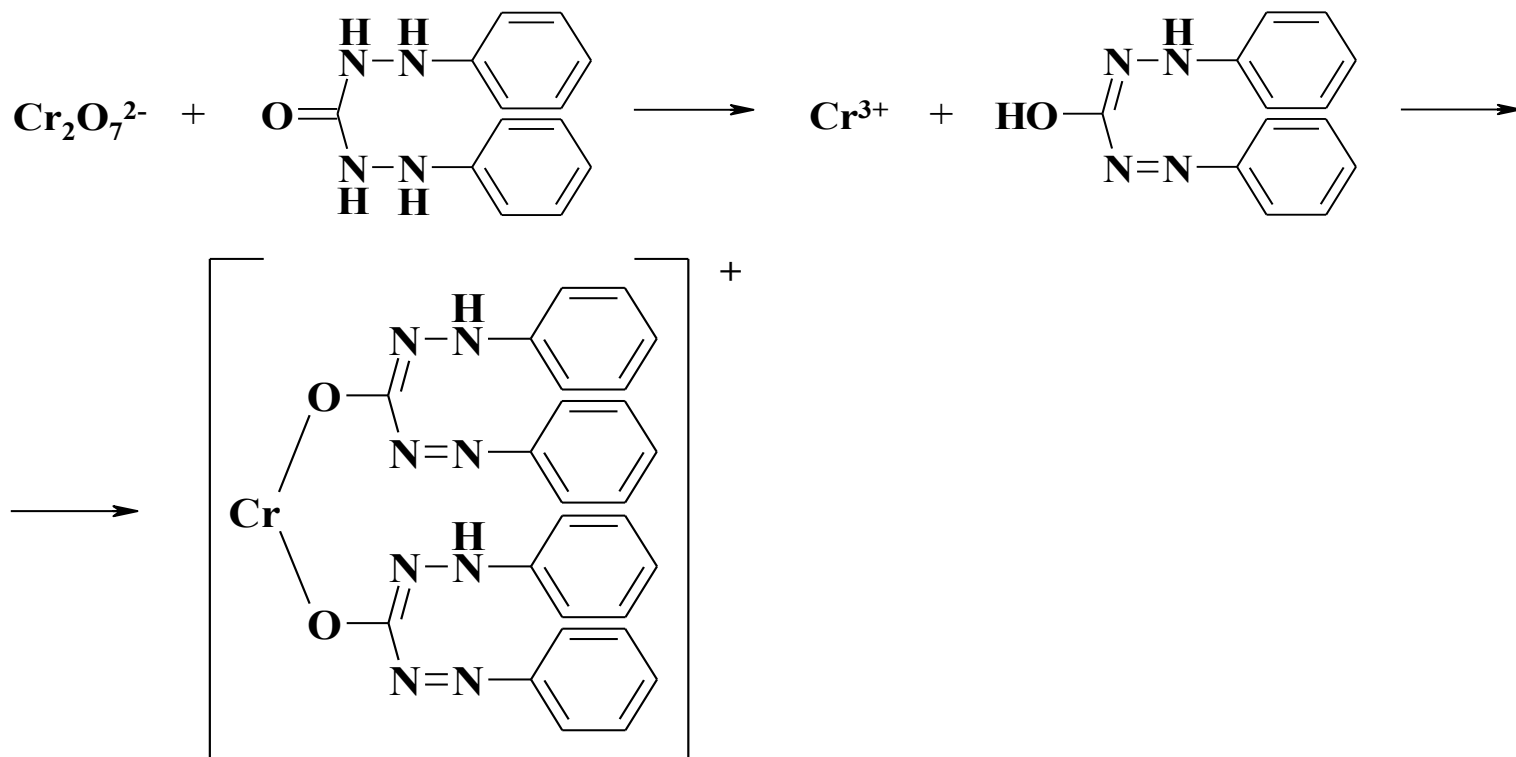
2. Фотоколориметрический метод основан на окислении марганца(II) до марганца(VII). Оптическую плотность раствора измеряют при 525 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации марганца в минерализате ведут по калибровочному графику. Марганец может быть определен этим методом в количестве 0,02-20 мг и более в 100 г объекта.

Обнаружение хрома

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия.

2. Химический метод. В минерализате хром находится в виде сульфата хрома (III) - $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$.

2.1. Реакция с дифенилкарбазидом (предварительная).
образование розового или красно-фиолетового окрашивания.

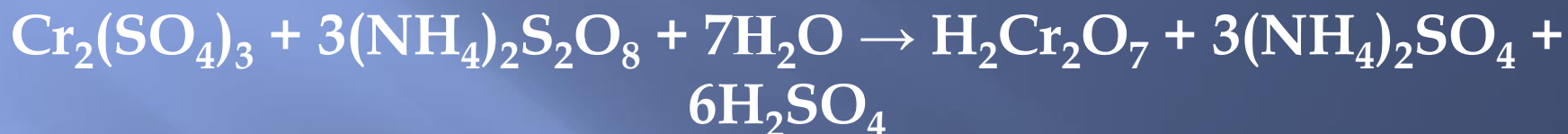


Реакция
специфична,
предел
обнаружения
составляет 0,2
мкг хрома в 1
мл
минерализата.

2.2. Реакция образования пероксида хрома

(подтверждающая).

окрашивание эфирного слоя в голубой или синий цвет.



Оценка. Реакция специфична и наглядна для хрома, предел обнаружения составляет 2 мкг хрома в 1 мл минерализата.

Количественное определение

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия.

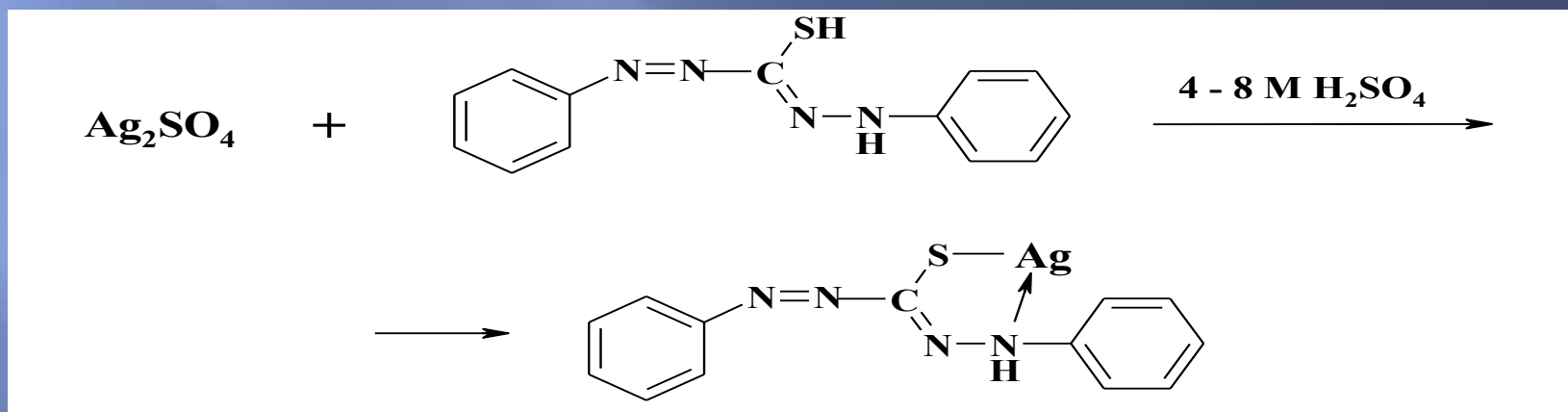
2. Фотоколориметрический метод основан на получении окрашенного соединения с дифенилкарбазидом. Оптическую плотность определяют при 546 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм. Для расчета количества хрома в минерализате используют калибровочный график. Данным методом хром определяется в количестве 0,1-20 мг в 100 г объекта.

Обнаружение серебра в минерализате

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение проводится по характерной для серебра линии резонансного перехода при длине волны 328,1 нм. Предел обнаружения серебра 0,1 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

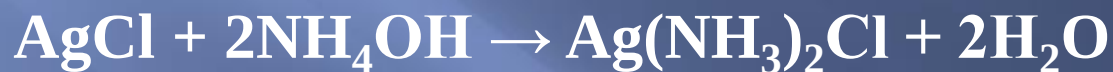
2. Химический метод.

Реакция с дитизоном (предварительная).



Ртуть с дитизоном образует дитизонат оранжево-желтого цвета. Для отличия дитизонатов окрашенный хлороформный слой отделяют и взбалтывают с раствором HCl . Дитизонат серебра разрушается, выделяется хлорид серебра, и золотистая окраска переходит в зеленую. Дитизонат ртути не разрушается, и золотистая окраска слоя хлороформа не исчезает. Предел обнаружения 0,04 мкг серебра в 1 мл минерализата. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Выделение серебра из минерализата. добавляют 0,5 г хлорида натрия, нагревают и образовавшийся белый осадок хлорида серебра отфильтровывают. Осадок исследуют на соединения серебра проверочными реакциями, а фильтрат - на все остальные катионы. Осадок растворяют в определенном объеме 25% раствора аммиака.



Раствор анализируют реакциями.

1. Реакция с дихроматом калия. красный или красно-бурый осадок (кристаллы в виде прямоугольных и ромбических пластинок оранжево-красного цвета.) или окрашивание.



Предел обнаружения - 0,15 мкг серебра в исследуемой пробе.



2. Получение кристаллов аммиачного комплекса хлорида серебра. Полученный аммиачный раствор оставляют на предметном стекле. После удаления избытка аммиака под микроскопом наблюдают образование характерных мелких бесцветных кристаллов и сrostки из тетраэдров и треугольников

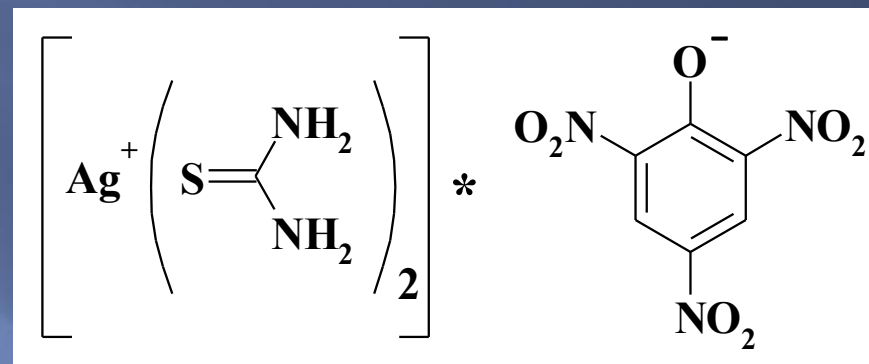


Предел обнаружения составляет 0,05 мг серебра в исследуемой пробе.

3. Реакция с тиомочевинной и пикратом калия.

Смешивают 2-3 капли полученного аммиачного раствора с насыщенными растворами тиомочевины и пикриновой кислоты. При наличии ионов серебра образуются кристаллы в виде желтых игл и розеток.

Оценка. Предел обнаружения составляет 0,03 мкг серебра в исследуемой пробе.



4. Реакция с хлоридом золота и хлоридом рубидия. 1-2

капли аммиачного раствора осадка выпаривают досуха. На остаток наносят каплю раствора, содержащего хлориды рубидия и золота. Через 5-10 мин наблюдают образование гранатово-красных призматических кристаллов и сростков из них.



Оценка. Предел обнаружения 0,1 мкг серебра в пробе.

Количественное определение

1. Атомно-абсорбционная спектрометрия.

2. Титриметрический метод . В делительную воронку помещают 50 мл минерализата, добавляют 1 мл 0,01% раствора дитизона и 3 мл хлороформа. Смесь постоянно встряхивают и титруют 0,01 М раствором тиоцианата аммония до изменения золотисто-желтой окраски в зеленую. Определение серебра титриметрическим методом возможно при его содержании в 100 г органа в количестве 2-20 мг и более.

3. Экстракционно-фотоколориметрический метод. В основе метода лежит реакция взаимодействия ионов серебра с дитизоном. Дитизонат серебра экстрагируют четыреххлористым углеродом. Оптическую плотность определяют при длине волны 426 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчеты ведут по калибровочному графику. Метод позволяет определить в 100 г объекта 0,02-10 мг серебра.

Спасибо за внимание!