

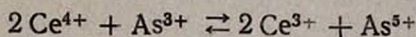
УДК 577.17

М. С. СТЕПАНЯН

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ЙОДА
В БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ

В работе изложен модифицированный нами титриметрический вариант каталитического метода определения йода в биологических материалах. Данным методом можно определить микроколичества йода (от 0,005 до 0,20 мкг/мл) в различных биологических объектах: в почве, воде, растениях, различных органах и тканях животных и человека.

Определение йода в биологических материалах начато более 120 лет назад в связи с развитием эндемического зоба у человека. За это время было разработано много методов его определения. Один из этих методов—каталитический—основан на каталитическом действии йода на реакцию между четырехвалентным церием и трехвалентным мышьяком. Каталитический метод определения йода был разработан Сенделом и Кольтгофом [5], сущность его заключается в следующем: реакцию между церием и мышьяком по схеме проводят в строго контролиру-



емых условиях в отношении времени, температуры и кислотности. Эта окислительно-восстановительная реакция в обычных условиях идет очень медленно, но сильно ускоряется в присутствии йода, играющего роль катализатора. Скорость реакции пропорциональна количеству йода в реакционной смеси, что дает возможность с высокой точностью определить йод в количестве от 0,005 до 0,20 мкг в 1 мл.

Советские исследователи А. Д. Миллер и Л. А. Шнейдер [4] разработали титриметрический вариант этого метода и применили его для определения йода в горных породах и природных водах.

Титриметрический вариант каталитического метода нами был модифицирован и приспособлен для анализа биологических материалов:

1. Разработан способ сжигания биологических материалов для определения в них общего йода;

2. Вместо хлористого натрия (или калия) мы применили соляную кислоту в составе сернокисло-солянокислого реактива (см. ниже), при помощи которого создаются одновременно нужная кислотность среды и хлоридный фон, равный 3,5 мг/мл хлорид-иона, необходимый для стабилизации каталитического действия йода и устранения влияния некоторых ионов;

3. Начальная концентрация As^{3+} по отношению к Ce^{4+} нами доведена до 4,5:1;

4. Изменены способы приготовления растворов для калибровочных графиков (и некоторые другие изменения).

Реактивы. 1) Серная кислота с удельным весом 1,84. 2) Серная кислота 12,5н и 1н. 3) Серноокисло-солянокислый реактив (в 1 л раствора содержится 308 мл конц. H_2SO_4 и 103 мл дымящей соляной кислоты). 4) Церий серноокислый (окисный) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,0085н раствор в 1н серной кислоте. 5) Натрий мышьяковистоокислый Na_3AsO_3 0,04н раствор в 1н серной кислоте. 6) Соль Мора $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,01н раствор в разбавленной 1:10 серной кислоте. 7) Фенилантраниловая кислота (индикатор) 0,03% раствор в 0,3% растворе углекислого натрия. 8) Калий-натрий углекислый KNaCO_3 (ч. д. а.). 9) Окись цинка ZnO (х. ч.). 10) Смесь для сжигания (спекания), состоящая из калия-натрия углекислого и окиси цинка в соотношении 7:3. 11) Натрий серноокислый $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (коагулянт). 12) Калий йодистый KI (х. ч.). 13) Бидистиллированная вода (при анализе йода применяется только бидистиллированная вода).

Построение калибровочных графиков. Для определения йода в различных биологических материалах требуется построить несколько калибровочных графиков, соответствующих применяемым для сжигания количествам KNaCO_3 . Для этого готовят растворы А, Б, В и Г следующим образом: в 4 мерные колбы емкостью 0,5л наливают по 250 мл бидистиллированной воды, затем в первую колбу (А) вносят 40 мл серноокисло-солянокислого реактива и водой доводят до метки; во вторую (Б), третью (В) и четвертую (Г) колбы вносят соответственно 3,5, 7 и 17,5 г KNaCO_3 , взбалтывают до полного растворения, нейтрализуют 12,5н серной кислотой, добавляют по 40 мл серноокисло-солянокислого реактива и водой доводят до метки.

В 1 л бидистиллированной воды растворяют 0,1308 г химически чистого йодистого калия; в 1 мл этого раствора содержится 100 мкг йода. Из этого раствора готовят рабочие растворы, содержащие 1 мкг и 0,1 мкг йода в 1 мл. После приготовления растворов приступают к построению калибровочных графиков. Для этого в конические колбы емкостью 100 мл вносят стандартные растворы йодистого калия, содержащие 0,00, 0,10, 0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 1,0 мкг йода и добавляют в каждую колбу по 25 мл соответствующего раствора (А, Б, В, или Г). Добавляют 5 мл 0,04н мышьяковистоокислого натрия, помещают в водяной термостат с температурой 20—20,5° (температуру в термостате регулируют добавлением горячей или холодной воды). Через 10—15 мин в каждую колбу добавляют из микробюретки 5 мл раствора сульфата церия и снова помещают в термостат (раствор сульфата церия в каждую колбу добавляют с промежутками в 1 мин, чтобы иметь возможность следить строго за временем их нахождения в термостате). Через 30 мин достают колбу из термостата и для прекращения катализа немедленно добавляют из микробюретки 5 мл соли Мора (так поступают и с остальными колбами), затем добавляют 3 капли фенилантраниловой кислоты и медленно по

каплям титруют избыток соли Мора раствором сульфата церия до появления красно-фиолетовой окраски, не исчезающей в течение 1—2 минут. Анализ стандартных растворов повторяют 3—4 раза и по средним данным строят калибровочный график, для чего по оси абсцисс откладывают содержание йода (в $\mu\text{кг}$), а по оси ординат—количество раствора сульфата церия (в мл), пошедшего на титрование избытка соли Мора с вычетом количества раствора сульфата церия, пошедшего на титрование нулевой пробы.

График А используется при анализе природных вод и водно-солевых вытяжек из почвы, а графики Б, В и Г—соответственно при анализе 1/20, 1/10 или 1/4 части анализируемого раствора, полученного после растворения спека в воде.

Анализ природных вод. Отбирают 0,5, 1, 2, 5, 10 или 20 мл воды в 100 мл коническую колбу (при низком содержании йода берут 50 мл воды и медленно упаривают до объема 20 мл , не допуская кипения). Добавляют 2 мл серноокисло-солянокислого реактива, бидистиллированной водой доводят объем до 25 мл (на колбу предварительно наносят метку), добавляют 5 мл мышьяковистокислого натрия, помещают в термостат, через 10—15 мин добавляют 5 мл сульфата церия, снова помещают в термостат и далее поступают, как описано выше. Из количества сульфата церия, пошедшего на титрование пробы, отнимают количество того же раствора, пошедшего на титрование нулевой пробы (25 мл бидистиллированной воды, проведенной через все стадии анализа), на калибровочном графике А находят количество йода в анализированном количестве воды и при помощи обычного расчета находят содержание йода в 1 л воды.

Анализ водно-солевых вытяжек из почвы. 10 г сухой почвы помещают в химический стакан емкостью 100 мл , заливают 50 мл горячей бидистиллированной воды и тщательно перемешивают стеклянной палочкой, добавляют 1 г сульфата натрия, на стакан наносят метку уровня жидкости, кипятят на электроплитке 3 мин при постоянном перемешивании, охлаждают, добавляют воды до метки, до конца дня несколько раз перемешивают и оставляют до следующего дня. На следующий день фильтруют через беззольный фильтр, промытый 3—4 раза горячей бидистиллированной водой. Если раствор прозрачный, можно обойтись без фильтрования. В этом случае при помощи пипетки осторожно отбирают 2, 5, 10 или 20 мл прозрачной жидкости, помещают в коническую колбу емкостью 100 мл , добавляют 2 мл серноокисло-солянокислого реактива, объем доводят бидистиллированной водой до 25 мл и далее поступают так, как описано выше.

При анализе водно-солевых вытяжек из почвы и природных вод, могущих содержать посторонние восстановители, кроме нулевой пробы, делают холостую пробу на эти восстановители. Для этого берут определенную часть вытяжки (или воды), подкисляют серной кислотой, добавляют индикатор и титруют раствором сульфата церия. Если на титрование пошло более 0,1 мл сульфата церия, что указывает на наличие посторонних восстановителей, то дальнейший анализ этих проб произ-

водят так: берут другую аликвотную часть данной вытяжки (или воды), добавляют 2 мл серноокисло-солянокислого реактива, разбавляют водой до 2,5 мл, дополнительно вносят то количество сульфата церия, которое пошло на титрование холостой пробы, и далее последовательно вносят все реактивы и проводят анализ как обычно.

Анализ почв и растений. 0,5 г тщательно размельченной до пудрообразного состояния почвы или 1 г сухого размельченного до 0,2—0,5 мм растения перемешивают с 3,5 г смеси для сжигания, высыпают в фарфоровый тигель, на дно которого насыпают около 0,5 г той же смеси, 1 г смеси насыпают сверху, чтобы вся проба была покрыта ею (общее количество смеси для сжигания должно составлять 5 г). Тигель с пробой ставят в муфельную печь (растительные пробы предварительно сжигают на электроплитке) и сжигают (спекают) в течение 40 мин при температуре 680—700° (почва) или 650° (растения), достают тигель из печи и после охлаждения анализируют.

Анализ животных тканей. 2 мл крови, 3 мл сыворотки крови, 2 мл молока, 2 г мышц (или другой ткани), 0,1 г щитовидной железы и т. д. (плотную ткань разрезают на мелкие кусочки) перемешивают с 1 г смеси для сжигания и сушат в сушильном шкафу при температуре не выше 100—110°. После сушки пробу тщательно размельчают, добавляют еще 1 г смеси, хорошо перемешивают, а остальную часть смеси (около 0,5 г), насыпают сверху (общее количество смеси для сжигания равно 2,5 г). Тигель ставят на электроплитку и сжигают под тягой и после прекращения выделения газов переносят в муфель и дожигают 40 мин при температуре 650°. После охлаждения анализируют.

После воздушного охлаждения тигля содержимое его (спек почвы, растения или животной ткани) переносят в химический стакан, выщелачивают 15—20 мл воды, тигель несколько раз промывают водой и сливают в тот же стакан (общее количество воды для выщелачивания спека должно составлять 40 или 80 мл). Пробу в стакане тщательно перемешивают стеклянной палочкой или на механическом встряхивателе в течение 1 часа. Затем дают раствору отстояться в течение 40—50 мин, после чего пипеткой осторожно отбирают из надосадочной жидкости 1, 2, 5, 10, 20 мл, переносят в коническую колбу, нейтрализуют 12,5н серной кислотой до $\text{pH}=4$, добавляют 2 мл серноокисло-солянокислого реактива, объем жидкости в колбе доводят водой до 25 мл, добавляют последовательно все реактивы и проводят анализ, как описано выше для воды.

С каждой серией анализов проводят анализ нулевой пробы (5 г смеси для сжигания, проведенных через все стадии анализа) на присутствие следов йода в реактивах.

По соответствующему калибровочному графику (Б, В или Г) находят содержание йода в анализированном количестве образца, а затем по обычному расчету находят содержание йода в 100 или 1000 г биологического объекта.

Пример расчета. Допустим, что для анализа было взято 0,5 г почвы и после сжигания растворено в 40 мл воды, а затем из этого раствора было взято для дальнейшего анализа 10 мл, что соответствует 0,125 г

Таблица

Проверка метода путем добавок йода

Анализируемый материал	Количество материала, взятого для анализа	Колич. добавленного йода в мг	Общее колич. йода в пробе в мг	Найдено йода в мг	Потери йода в %
Смесь для сжигания	5 г	0,00	0,00	0,00	—
То же	5 "	1,00	1,00	0,95	5,0
То же	5 "	0,50	0,50	0,48	4,0
Почва	0,5 "	0,00	0,15	0,15	нет
То же	0,5 "	0,30	0,45	0,46	+2,2
Растение	1,0 "	0,00	0,08	0,08	нет
То же	1,0 "	0,25	0,33	0,31	6,0
Молоко	2,0 мл	0,00	0,13	0,13	нет
То же	2,0 "	0,25	0,38	0,38	нет
Кровь крупного р. скота	2,0 "	0,00	0,28	0,28	нет
То же	2,0 "	0,25	0,53	0,51	3,8
Вода бидистиллированная	25,0 "	0,00	0,00	0,00	—
То же	25,0 "	0,20	0,20	0,19	5,0
Вода питьевая	25,0 "	0,00	0,05	0,05	нет
То же	25,0 "	0,20	0,25	0,25	нет

человека). Полученные данные в основном совпадают с имеющимися в литературе сведениями. Так, например, нами было параллельно анализировано более 70 образцов почв по нашему методу и по методу Лапина [3], в результате чего получены соответственно 0,6—10,1 и 0,4—9,2 мг йода на 1 кг сухой почвы.

Выводы. 1. При анализе биологических материалов титриметрическим вариантом каталитического метода получены вполне удовлетворительные данные.

2. Метод не требует сложных приборов и оборудования, очень прост, точен, довольно производителен—один работник за рабочий день может выполнить 10—15 анализов.

3. Главное достоинство метода заключается в том, что для анализа требуется малое количество анализируемого материала (0,1—3,0 г вместо 50—100 г при других методах), что значительно сокращает время озонирования, увеличивает полноту сгорания, сокращает количество реактивов и т. д.

Лаборатория микроэлементов

Ереванского зооветеринарного института

Поступила 2/VI 1972 г.

Մ. Ս. ՍՏԵՓԱՆԻԱՆ

ԲԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐՈՒՄ ՅՈՒՐԻ ՄԻԿՐՈՔԱՆԱԿԻ ՈՐՈՇՄԱՆ ՄԵԹՈԴԸ

Ա. մ փ ն փ ն ի մ

Բիոլոգիական նյութերում յոդի որոշման համար գոյութիւն ունեն շատ մեթոդներ, որոնցից տվյալ աշխատանքում շարադրված է մեր կողմից մոփիֆիկացված կատալիտիկ մեթոդի տիտրիմետրիկ տարբերակը:

Յոդի որոշման կատալիտիկ մեթոդի էությունը հետևյալն է. շորսվալենտ ցերիումի և հոսվալենտ արսենի միջև տեղի ունեցող ռեակցիան սովորական պայմաններում ընթանում է շատ դանդաղ, սակայն յոդի առկայության դեպքում, որը կատալիզատորի դեր է կատարում, խիստ արագանում է: Ռեակցիայի արագությունը ուղիղ համեմատական է ռեակցիոն միջավայրում պարունակվող յոդի քանակությանը, որը և հնարավորություն է տալիս որոշելու այդ էլեմենտի միկրոքանակը անալիզվող նյութի մեջ:

Կատալիտիկ մեթոդի տիտրիմետրիկ տարբերակը չի պահանջում ոչ մի բարդ սարքավորում, շատ հասարակ է և արտադրողական. մեկ աշխատողը օրվա ընթացքում կարող է կատարել 10—15 նմուշի անալիզ: Այս մեթոդի գլխավոր առավելություններից մեկն այն է, որ անալիզի համար պահանջվում է չնչին քանակի նյութ (0,1—3 դ), որը զգալի չափով կրճատում է նրա այրման (մոխրացման) ժամանակը, օգտագործվող ռեակտիվների քանակը և այլն:

Տվյալ մեթոդով Երևանի տնասնաբուժական-անասնաբուժական ինստիտուտի միկրոէլեմենտների լաբորատորիայում կատարվել են տարբեր բիոլոգիական նյութերի մասսայական անալիզներ: Ստացված տվյալները միանդամայն բավարար են:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Драгомирова М. А. В кн.: Методы определения микроэлементов. М., 1950, стр. 23.
2. Зак Б. В кн.: Колориметрические (фотометрические) методы определения неметаллов. М., 1963, стр. 219.
3. Лапин Л. Н., Риш М. А., Бен-Утяева Г. С. Труды Института каракулеводства АН Узб. ССР. Самарканд, 1959, т. 9, стр. 149.
4. Миллер А. Д. и Шнейдер Л. А. ЖАХ, 1963, т. 18, в. 3, стр. 371.
5. Сендел и Кольтгоф Микрочим. Акта, 1, 9 (1951).