

Методика визначення малих концентрацій сірководню в тканинних рідинах

Є. Г. Коптева

Лабораторія експериментальної патології
Сочинського науково-дослідного інституту курортології і фізіотерапії

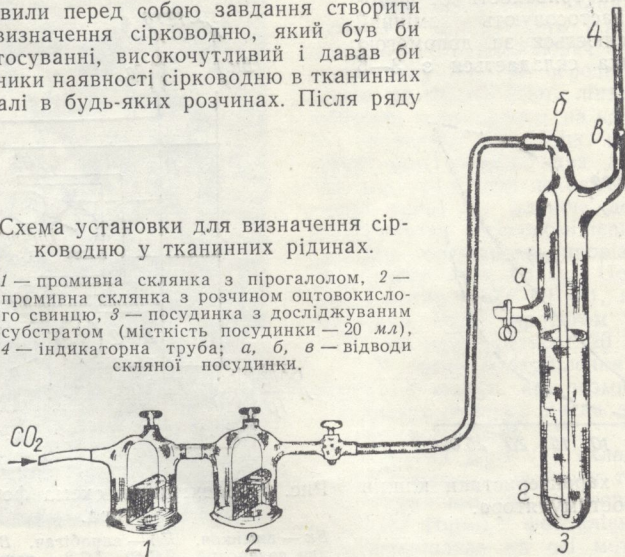
Регулярне надходження в кров сірководню кишкового походження відоме вже давно. В останні роки встановлено, що сірководень постійно утворюється в організмі в результаті проміжного обміну сірковмісних сполук.

Вивчення функціонального значення сірководню на основі нових даних вказує на необхідність дальшого удосконалення способів визначення сірководню в тканинних рідинах.

Ми поставили перед собою завдання створити такий метод визначення сірководню, який був би простий у застосуванні, високочутливий і давав би кількісні показники наявності сірководню в тканинних рідинах і взагалі в будь-яких розчинах. Після ряду

Схема установки для визначення сірководню у тканинних рідинах.

1 — промивна склянка з пірогалолом, 2 — промивна склянка з розчином оцтовокислого свинцю, 3 — посудинка з досліджуваним субстратом (місткість посудинки — 20 мл), 4 — індикаторна трубка; а, б, в — відводи скляної посудинки.



випробуваних варіантів, в тому числі із застосуванням мікрофотометра, ми спинились на відносно простій і доступній, але водночас точній техніці визначення сірководню, схематично зображеній на рисунку.

В цьому повідомленні описано один з розроблених нами прийомів, успішно використаний для визначення сірководню в тканинних рідинах.

Для досліджень використовують скляну посудинку з трьома відводами: а, б і в. Відвід а служить для взяття крові або іншої тканинної рідини. Кров можна брати безпосередньо з кровоносної судини через канюлю. Через відвід б пропускають вуглекислий газ у строго дозованій кількості, використовуючи для цього редуктор. Вуглекислота, пройшовши через отвір г в кров, доносить з неї сірководень, якщо він в ній знаходиться, потім газовий пухирець направляється до єдиного виходу в. Відвід в з'єднується через ніпельну гумку з індикаторною трубкою. Для цього служить скляна трубочка довжиною 4—5 см з внутрішнім січенням в 1 мм, заповнена порошком, який попередньо обробляють розчином з оцтовокислого свинцю, хлористого барію та оцтової кислоти. Порошок являє собою тонко подрібнений неглазурований фарфор розміром зерен 260—300 мк. Такий порошок рекомендований Ленінградським інститутом охорони праці в зв'язку з випуском приладу для визначення вмісту сірководню та аміаку в повітрі (Є. Д. Філянська, 1951). Ми встановили, що трубочки, заповнені чистою сіллю оцтовокислого свинцю, можуть також служити індикатором при визначенні сірководню в розчинах.

Для збереження порошку в трубочках останні з обох кінців закривають нещільними тампончиками з гігроскопічної вати. Заповнюють трубочки порошком безпосередньо перед дослідом і зберігають у герметично закритій пробірці. Під впливом сірководню порошок в трубочці перетворюється з білого на темно-бурий.

Для визначення беруть 10 мл крові з вени або з артерії безпосередньо в посудинку, зображену на рисунку. Попередньо в посудинку засипають 20 мг оксалату натрію (проти всідання) і 10 мг фтористого натрію (проти гліколізу), а потім у посу-

динку з кров'ю. Найкраще застосовувати кров, а в інших випадках — об'єму досліджуваної крові, який провадити визначення.

Вуглекислий газ додають до розчину свинцю для поглинання точно відомої швидкості і тривалості реакції протягом 20 хв з перемішуванням на хвилину. Після визначення. Зокрема, для проміжного розчинення, встановлюють двічі.

При наявності реакції настання реакції який міститься у дослідній індикаторній трубочці було зроблено титрований йодом розведення дистильованою водою: 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 10000,0; 20000,0; 30000,0; 40000,0; 50000,0; 100000,0; 200000,0; 300000,0; 400000,0; 500000,0; 1000000,0; 2000000,0; 3000000,0; 4000000,0; 5000000,0; 10000000,0; 20000000,0; 30000000,0; 40000000,0; 50000000,0; 100000000,0; 200000000,0; 300000000,0; 400000000,0; 500000000,0; 1000000000,0; 2000000000,0; 3000000000,0; 4000000000,0; 5000000000,0; 10000000000,0; 20000000000,0; 30000000000,0; 40000000000,0; 50000000000,0; 100000000000,0; 200000000000,0; 300000000000,0; 400000000000,0; 500000000000,0; 1000000000000,0; 2000000000000,0; 3000000000000,0; 4000000000000,0; 5000000000000,0; 10000000000000,0; 20000000000000,0; 30000000000000,0; 40000000000000,0; 50000000000000,0; 100000000000000,0; 200000000000000,0; 300000000000000,0; 400000000000000,0; 500000000000000,0; 1000000000000000,0; 2000000000000000,0; 3000000000000000,0; 4000000000000000,0; 5000000000000000,0; 10000000000000000,0; 20000000000000000,0; 30000000000000000,0; 40000000000000000,0; 50000000000000000,0; 100000000000000000,0; 200000000000000000,0; 300000000000000000,0; 400000000000000000,0; 500000000000000000,0; 1000000000000000000,0; 2000000000000000000,0; 3000000000000000000,0; 4000000000000000000,0; 5000000000000000000,0; 10000000000000000000,0; 20000000000000000000,0; 30000000000000000000,0; 40000000000000000000,0; 50000000000000000000,0; 100000000000000000000,0; 200000000000000000000,0; 300000000000000000000,0; 400000000000000000000,0; 500000000000000000000,0; 1000000000000000000000,0; 2000000000000000000000,0; 3000000000000000000000,0; 4000000000000000000000,0; 5000000000000000000000,0; 10000000000000000000000,0; 20000000000000000000000,0; 30000000000000000000000,0; 40000000000000000000000,0; 50000000000000000000000,0; 100000000000000000000000,0; 200000000000000000000000,0; 300000000000000000000000,0; 400000000000000000000000,0; 500000000000000000000000,0; 1000000000000000000000000,0; 2000000000000000000000000,0; 3000000000000000000000000,0; 4000000000000000000000000,0; 5000000000000000000000000,0; 10000000000000000000000000,0; 20000000000000000000000000,0; 30000000000000000000000000,0; 40000000000000000000000000,0; 50000000000000000000000000,0; 100000000000000000000000000,0; 200000000000000000000000000,0; 300000000000000000000000000,0; 400000000000000000000000000,0; 500000000000000000000000000,0; 1000000000000000000000000000,0; 2000000000000000000000000000,0; 3000000000000000000000000000,0; 4000000000000000000000000000,0; 5000000000000000000000000000,0; 10000000000000000000000000000,0; 20000000000000000000000000000,0; 30000000000000000000000000000,0; 40000000000000000000000000000,0; 50000000000000000000000000000,0; 100000000000000000000000000000,0; 200000000000000000000000000000,0; 300000000000000000000000000000,0; 400000000000000000000000000000,0; 500000000000000000000000000000,0; 1000000000000000000000000000000,0; 2000000000000000000000000000000,0; 3000000000000000000000000000000,0; 4000000000000000000000000000000,0; 5000000000000000000000000000000,0; 10000000000000000000000000000000,0; 20000000000000000000000000000000,0; 30000000000000000000000000000000,0; 40000000000000000000000000000000,0; 50000000000000000000000000000000,0; 100000000000000000000000000000000,0; 200000000000000000000000000000000,0; 300000000000000000000000000000000,0; 400000000000000000000000000000000,0; 500000000000000000000000000000000,0; 1000000000000000000000000000000000,0; 2000000000000000000000000000000000,0; 3000000000000000000000000000000000,0; 4000000000000000000000000000000000,0; 5000000000000000000000000000000000,0; 10000000000000000000000000000000000,0; 20000000000000000000000000000000000,0; 30000000000000000000000000000000000,0; 40000000000000000000000000000000000,0; 50000000000000000000000000000000000,0; 100000000000000000000000000000000000,0; 200000000000000000000000000000000000,0; 300000000000000000000000000000000000,0; 400000000000000000000000000000000000,0; 500000000000000000000000000000000000,0; 1000000000000000000000000000000000000,0; 2000000000000000000000000000000000000,0; 3000000000000000000000000000000000000,0; 4000000000000000000000000000000000000,0; 5000000000000000000000000000000000000,0; 10000000000000000000000000000000000000,0; 20000000000000000000000000000000000000,0; 30000000000000000000000000000000000000,0; 40000000000000000000000000000000000000,0; 50000000000000000000000000000000000000,0; 100000000000000000000000000000000000000,0; 200000000000000000000000000000000000000,0; 300000000000000000000000000000000000000,0; 400000000000000000000000000000000000000,0; 500000000000000000000000000000000000000,0; 1000000000000000000000000000000000000000,0; 2000000000000000000000000000000000000000,0; 3000000000000000000000000000000000000000,0; 4000000000000000000000000000000000000000,0; 5000000000000000000000000000000000000000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0; 5000,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 1000,0; 2000,0;

ВІДНЮ

апії

відоме вже
в організміаних вказує
о в тканин-и спинились
сірководню,

ів, успішно

ми: а, б і в.
можна брати
кають вугле-
ктор. Вугле-
що він в ній
в. Відвід в
ого служить
нена порош-
истого баріо
аний фарфор
ським інсти-
у сірководню
ки, заповнені
и при визна-

ають нещіль-
ком безпосе-
Під впливом

дньо в посу-
оксалату на-
ютім у посу-

динку з кров'ю додають дві—чотири краплі рослинної олії (проти спінювання). Найкраще застосовувати стерильну персикову олію. При визначенні сірководню не в крові, а в інших тканинних рідинах перелічених речовин не додають. Із збільшенням об'єму досліджуваної рідини чутливість методу підвищується. Проте нам доводилось провадити визначення навіть у 2 мл і одержувати позитивні результати.

Вуглекислий газ з балона попередньо пропускають через дві промивні склянки — одну з розчином пірогалолу для вбирання кисню і другу з розчином оцтовокислого свинцю для поглинання можливих домішок сірководню. Істотне значення для одержання точно відтворюваних результатів у повторних дослідах має стандартизація швидкості і тривалості пропускання вуглекислоти. Ми пропускали вуглекислий газ протягом 20 хв з швидкістю газового струменя у промивних склянках 80—100 пухирців на хвилину. Крім того, необхідно стандартизувати посудинки, в яких провадять визначення. Зокрема, треба звертати увагу на величину вихідного отвору g (див. рисунок). Для промивання системи, в якій визначають наявність сірководню і виготовлення розчинів, використовуваних для калібрування індикаторних трубок, треба застосовувати двічі-тричі дистильовану воду, прокип'ячену для видалення з неї кисню.

При наявності сірководню в тканинній рідині індикаторна трубка чорніє. Швидкість настання реакції і величина темного стовпця залежать від кількості сірководню, який міститься у досліджуваному субстраті. Щоб встановити залежність площі потемніння індикаторної трубочки від кількості сірководню у досліджуваному субстраті, нами було зроблено калібрування системи. Для цього був використаний вихідний титрований йодометричним способом сірководневий розчин. Шляхом відповідного його розведення дистильованою водою одержували розчини з вмістом сірководню 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 і 8,0 мг в 1 мл. Весь цей набір концентрацій сірководню викликав відповідне за величиною почорніння індикатора; наприклад, при наявності 0,05 мг в 1 мл розчину величина почорнілого стовпця дорівнює 1 мм, а наявність 1 мг сірководню в 1 мл розчину дає почорніння висотою 15 мм. Застосування розчину з вмістом сірководню менше 0,05 мг в 1 мл викликає дуже слабе потемніння індикаторної трубочки.

Описана техніка визначення сірководню у порівнянні з прийомами, які застосовували інші автори, має незаперечні переваги. Методів визначення сірководню в різних субстратах є багато. Останнім часом привернув до себе увагу старий принцип Каро-Фішера (1883), який для біологічних цілей вперше був успішно застосований у дослідженнях Мейєра (1898). Пізніше фотометрування метиленової сині, яка утворюється при реакції сірководню з диметилпарафенілендіаміном і хлорним залізом, застосовували Ойвін, Гуніна, Тихонравов (1953, 1955), Ліпсіц (1956) та ін.

Слід відзначити, що застосування цього методу при малих концентраціях сірководню (наприклад, при дослідженні крові організму, що перебуває під дією сірководневої ванни) натрапляє на ряд труднощів. До їх числа належать: 1) при малих концентраціях сірководню забарвлення, що утворюється, не пропорційно кількості сірководню; 2) сірководень до вступу в контакт з індикатором проходить довгий шлях з можливими при цьому втратами газу.

При застосуванні розробленої нами техніки ці труднощі виключені. Весь газ, що виходить з посудини, спрямований на маленьку ділянку з крапковим центром майже капілярної індикаторної трубки, що значно збільшує шанси виявлення сірководню навіть при дуже незначному його вмісті в досліджуваному субстраті. Крім того, слід відзначити поєднання високої чутливості запропонованого нами методу з нескладністю техніки його застосування.

ЛІТЕРАТУРА

- Гуніна А. И. и Тихонравов В. А., Фармакология и токсикология, № 6, 1953, с. 46.
Липсид Д. В., Вопросы мед. химии, т. II, в. 3, 1956, с. 182.
Нехорошев Н. П., Каплун С. Я., Коптева Е. Г., Фармакология и токсикология, № 1, т. XVI, 1953, с. 50.
Ойвин И. А., Гунина А. И. и Тихонравов В. А., Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физ. культуры, № 2, 1955, с. 13.
Филианская, Прибор для определения сероводорода и аммиака в воздухе, Ленинград, 1951.
Meurer E., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol., 10, 1898, S. 325.

Надійшла до редакції
24.X 1963 р.