

Нами ставились параллельные исследования воздуха на присутствие пылевидного препарата гравиметрическим и предлагаемым нами методом. Данные, приведенные в табл. 4, показывают, что результаты анализа параллельных проб гравиметрическим и химическим методом весьма сходны.

Таблица 4. Количество тиофоса, найденное при параллельном исследовании химическим и гравиметрическим методом

| № пробы | № алонжа | № фильтра | Найдено $\gamma$ тиофоса в 1 л воздуха |                    |
|---------|----------|-----------|----------------------------------------|--------------------|
|         |          |           | гравиметрическим методом               | химическим методом |
| 1       | 93       | 1         | 9                                      | 10                 |
| 2       | 16       | 2         | 8                                      | 9                  |
| 3       | 89       | 3         | 6                                      | 5                  |
| 4       | 1        | 1         | 22,5                                   | 25                 |
| 5       | 2        | 2         | 35                                     | 40                 |

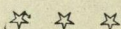
### В ы в о д ы

1. Разработан быстрый колориметрический метод определения тиофоса, основанный на возникновении желтой окраски паранитрофенолятиона, образующегося при воздействии щелочи на спиртовые растворы тиофоса.

2. Разработаны следующие варианты метода: фотометрический при помощи имитирующих стандартов и капельный.

3. Чувствительность метода разрешает обнаружить наличие следов тиофоса и количественно определить от 5 до 200  $\gamma$  его в фотометрируемой пробе.

4. Метод пригоден для анализа воздуха, дуста, а также для определения тиофоса на различных поверхностях, обработанных препаратом.



П. Е. Калмыков

## Определение белка в пище

Из Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова

Исследование химического состава и калорийности готовой пищи представляет одну из частых и трудоемких работ лабораторий. Методы исследования, применяемые в настоящее время, далеки от совершенства: в подавляющем большинстве случаев применяются сокращенные, упрощенные схемы анализа, причем чаще всего исключается определение такой биологически важной составной части пищи, как белки, а анализ по существу сводится только к определению калорийности. Такой схемой является весьма широко распространенная схема Экземплярского.

Подобное положение объясняется отсутствием простых и достаточно точных методов определения белка. Общепринятый способ Кьельдаля, как известно, требует многочасовых процедур, сложного оборудования, большого количества реактивов. Было сделано немало попыток изыска-

ния новых способов. Так, в 1938 г. Е. В. Додонова и Н. И. Иванов предложили использовать для этой цели биуретовую реакцию на белки с последующей колориметрией окраски, появляющейся при наличии их. Позже эту же реакцию применили Кульбер и Сойфер. Однако крайне разнообразный состав пищевых белков, их разное происхождение (растительные и животные белки), наличие в готовой пище продуктов гидролиза, а также присутствие многих, часто окрашенных продуктов небелковой природы в такой мере затрудняют оценку реакции, что результаты во многих случаях оказываются совершенно неудовлетворительными.

Большое количество предложений имело в своей основе принцип метода Кьельдаля. Как известно, по данному способу исследуемый продукт сначала подвергается минерализации, причем белок разрушается до аммонийных соединений, а затем аммонийный азот определяется количественно.

Чрезмерно длинный период сжигания (чаще 3—5 часов и больше) пытались уменьшить добавлением различных веществ-ускорителей (сернокислый натрий, сернокислая медь, ртуть и ее соли, пергидроль и пр.). Весьма существенно можно снизить срок минерализации органических веществ при резком уменьшении навески исследуемого продукта, например, до 10—20 мг.

Но это допустимо только в отношении продуктов, имеющих однородный во всей своей массе состав (например, мука). Большинство готовых блюд отличается крайней неоднородностью, которая не может быть устранена самой тщательной механической обработкой (измельчение, перемешивание). Поэтому сокращать размеры пробы, берущейся для анализа, ниже нескольких целых граммов (2—3 г) без ущерба для точности нельзя.

Ф. Околов и Н. Мусерский предложили вести обработку пробы пищи с помощью 25 мл серной кислоты удельного веса 1,5 на водяной бане при температуре 60—70°. При этом происходит расплавление пищевой массы, превращение ее в более или менее однородную темно окрашенную жидкость. Этот же прием впоследствии использовал Ю. С. Мусабеков, который расплавлял пробу пищи крепкой щелочью. Однородность пробы, одинаковость состава во всей массе позволяют уменьшить количество вещества, берущегося для сжигания, а следовательно, и уменьшить длительность сжигания.

Количественное определение аммонийного азота также наталкивается на серьезные трудности. Процедура вытеснения азота в виде аммиака крепкой щелочью с последующим улавливанием  $\text{NH}_4\text{OH}$  титрованной кислотой пытались упростить, идя по пути уменьшения размеров приборов и посуды (микрокьельдаль). Однако это мало упрощает работу.

В книге Е. В. Предтеченского и др. «Руководство по лабораторным методам исследования» описан диффузный способ определения аммиака, не требующий перегонки. При этом исследуемую жидкость, содержащую аммонийный азот, и кислоту помещают в одну и ту же чашку, разделенную на две части. Аммиак вытесняется добавлением крепкой щелочи и улавливается из воздуха герметически закрытой чашки титрованной кислотой.

Ф. Околов и Н. Мусерский для упрощения второй стадии определения белка — установления количества сернокислого аммония — предлагают титрование с формалином. Как показали наши исследования, равно как и данные Д. В. Прохорова и А. Я. Циреля, этот метод обеспечивает удовлетворительную точность только в том случае, если для титрования используется жидкость, содержащая значительное количество белка (навеску пищи не менее 2—3 г). Сжигание такой навески сопряжено с трудностями, отмеченными выше.

М. И. Куленок предложил заменить отгонку аммиака и последующее титрование колориметрическим определением, базирующимся на об-

разовании окраски при добавлении к раствору тимола и гипобромита. Однако первую часть определения белка — минерализацию — он оставил в прежнем ее виде.

Сущность предлагаемого нами способа заключается в том, что для минерализации отбирают очень малое количество предварительно гомогенизированной (химически расплавленной) пробы, а определение аммонийного азота производят колориметрически при помощи реактива Несслера<sup>1</sup>. Сжигание (минерализация) занимает вместо многих часов всего несколько минут (от 2 до 5), длительная и сложная процедура отгонки и титрования заменяется колориметрией.

Определение белка по нашей схеме состоит из следующих основных стадий: а) химической гомогенизации, б) сжигания белка, в) нейтрализации жидкости и г) колориметрии. Кроме того, для сравнения необходимы эталонные растворы, которые готовятся впрок и могут храниться в течение нескольких месяцев.

Гомогенизация. 3—5 г тщательно подготовленной, механически растертой и перемешанной пищи смешивают с 5 мл крепкой серной кислоты (удельный вес 1,84) в конической колбе на 50 мл и растирают стеклянным пестиком до исчезновения комочков. Затем добавляют 1 мл пергидроля и нагревают при частом помешивании в течение 20—30 минут на водяной бане, после чего смесь переносят количественно (многократно споласкивая колбу дистиллированной водой) в мерную колбу на 250 мл. Тщательно перемешивая, доводят уровень жидкости в колбе до метки путем добавления дистиллированной воды, в которой составные части пищи распределены равномерно.

Плотные вещества при этом частично растворяются, частью же превращаются в коллоидные или мелко диспергированные взвешенные частицы. В результате получается окрашенная в темный цвет жидкость, в которой составные части пищи распределены равномерно, что открывает возможность без ущерба для точности отобрать для минерализации ничтожное количество исследуемого материала (1 мл, т. е. 0,01—0,02 г вместо 2—3 г).

Сжигание. Точной пипеткой отбирают 1 мл гомогена в коническую колбу емкостью 50 мл, туда же добавляют точно 1 мл концентрированной серной кислоты (удельный вес 1,84) и 3—4 капли пергидроля. Смесь нагревают (на любом нагревательном приборе, в том числе и на спиртовой лампочке) до полной минерализации, т. е. до прозрачного бесцветного раствора, и дают остыть.

Нейтрализация. Разбавляют 35—40 мл безаммиачной дистиллированной воды<sup>2</sup> и нейтрализуют жидкость раствором едкого натра, количество которого определяется предварительно. Для этого точно отмеривают 1 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (удельный вес 1,84), разбавляют 40 мл воды и титруют раствором едкого натра при индикаторе фенолфталеине. Удобно пользоваться концентрированным 10 н. раствором едкого натра или едкого кали (40 г  $\text{NaOH}$  или 56,1 г  $\text{KOH}$  на 100 мл безаммиачной воды). Обычно при этом расходуется около 3,6 мл 10 н. раствора едкого натра.

Для нейтрализации испытуемого раствора берут несколько меньший объем щелочи (например, около 3,5 мл), а затем посредством менее концентрированного раствора едкого натра (1 н.) рН среды доводят по универсальному индикатору или по специальным реактивным бумажкам до 5,5—6 (слабокислой реакции). После этого раствор при многократном ополаскивании переводят в мерную колбу на 250 мл и доводят безаммиачной дистиллированной водой до метки. Полученный раствор служит для определения в нем азота методом колориметрирования.

<sup>1</sup> Принцип подобного метода у нас впервые был предложен В. Голубом (Пищевая промышленность, 1928, № 7). Ред.

<sup>2</sup> Удаление аммиака из дистиллированной воды достигается длительным кипячением с последующим хранением в хорошо закрытой посуде.

**Колориметрирование.** Интенсивность окраски испытуемого раствора устанавливают путем сравнения с эталонными растворами. Сравнение производят в пробирках одинакового диаметра из бесцветного стекла. Колориметрирование можно производить и другими способами, например, в колориметрических цилиндрах на 100 мл, в колориметре Дюбоска или в цилиндрах Генера. Естественно, что наиболее точные результаты получаются на электрофотоколориметрах, прекрасные образцы которых выпускает в настоящее время наша промышленность.

При колориметрировании в пробирках создают колориметрическую шкалу из 10 пробирок при следующих разведениях (табл. 1).

Таблица 1. Колориметрическая шкала

| № п/п | Стандартный раствор<br>В (в мл) | Количество азота<br>(в мг) |
|-------|---------------------------------|----------------------------|
| 1     | 2,5                             | 0,0025                     |
| 2     | 2,8                             | 0,0028                     |
| 3     | 3,1                             | 0,0031                     |
| 4     | 3,4                             | 0,0034                     |
| 5     | 3,7                             | 0,0037                     |
| 6     | 4,1                             | 0,0041                     |
| 7     | 4,5                             | 0,0045                     |
| 8     | 5                               | 0,005                      |
| 9     | 5,5                             | 0,0055                     |
| 10    | 6,1                             | 0,0061                     |

Затем в каждую пробирку прибавляют 0,5 мл реактива Несслера и после 10-минутного контакта во всех пробирках объем раствора доводят до 20 мл.

Шкала составлена с таким расчетом, что каждая последующая пробирка содержит на 10% аммонийного азота больше, чем предшествующая. Это как раз находится в пределах точности визуальной колориметрии (5—11%, по данным Куленка). При пользовании фотоколориметрами точность может быть повышена до 1—2% (Куленок).

В отдельную пробирку наливают от 1 до 10 мл испытуемого раствора; в зависимости от количества белка к исследуемой пище прибавляют 0,5 мл реактива Несслера. По истечении 10 минут пробирку доливают дистиллированной водой до 20 мл и затем закрывают пробкой, смешивают и сравнивают окраску. Если окраска испытуемого раствора слабее окраски раствора первой пробирки, то для колориметрирования следует брать большее количество испытуемого раствора; если окраска испытуемого раствора интенсивнее окраски раствора последней пробирки, то используемый раствор следует брать в меньшем объеме.

Расчет. Например, окраска испытуемого раствора совпала с окраской раствора пробирки № 4, в которой содержится 0,0034 мг азота, тогда

$$X = \frac{0,0034 \cdot 250 \cdot 250 \cdot A \cdot 6,25}{B \cdot B},$$

где:  $X$  — количество белка в готовой пище;

250 — объем жидкости испытуемого раствора после минерализации (в мл);

250 — общий объем жидкости после гомогенизации (в мл);

- А — общий вес готовой пищи<sup>1</sup>;  
 Б — навеска пищи для гомогенизации;  
 В — количество испытуемого раствора, взятого для сравнения (в мл);  
 6,25 — коэффициент расчета количества белка по количеству установленного азота.

Для получения точных результатов необходимо учитывать следующие требования: колбы, пипетки, пробирки должны быть безупречно чистыми; мерные колбы и пипетки должны быть проверены; реактивы должны быть по возможности чистыми, без примеси аммиака, а реактив Несслера почти бесцветным.

Приготовление эталонных растворов. Раствор А. 3,821 г химически чистого, высушенного при 90° до постоянного веса

Таблица 2. Результаты опытов определения азотистых веществ в пищевых продуктах

| Метод определения              | Наименование продукта | Найдено азотистых веществ по анализу (в г) | Отношение данных, полученных колориметрическим методом, к данным, полученным по методу Кьельдаля |                |
|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
|                                |                       |                                            | процент выполнения                                                                               | процент ошибки |
| Кьельдаля<br>Колориметрический | Гречневая крупа       | 13,35                                      | 100                                                                                              | 0              |
|                                | " "                   | 12,9                                       | 96,6                                                                                             | -3,4           |
|                                | " "                   | 12,5                                       | 93,2                                                                                             | -6,8           |
|                                | " "                   | 12,9                                       | 96,6                                                                                             | -3,4           |
| Кьельдаля<br>Колориметрический | Горох                 | 27,1                                       | 100                                                                                              | 0              |
|                                | " "                   | 26,7                                       | 98,5                                                                                             | -1,5           |
|                                | " "                   | 25,17                                      | 92,8                                                                                             | -7,2           |
|                                | " "                   | 24,4                                       | 90                                                                                               | -10            |
|                                | " "                   | 24,7                                       | 91,1                                                                                             | -8,9           |
|                                | " "                   | 24,65                                      | 91,1                                                                                             | -9             |
|                                | " "                   | 25,8                                       | 95,2                                                                                             | -4,8           |
| Кьельдаля<br>Колориметрический | Пшено                 | 11,68                                      | 100                                                                                              | 0              |
|                                | " "                   | 11,82                                      | 101,2                                                                                            | +1,2           |
|                                | " "                   | 11,63                                      | 99,5                                                                                             | -0,5           |
|                                | " "                   | 12,8                                       | 109,5                                                                                            | +9,5           |
|                                | " "                   | 12,4                                       | 106,1                                                                                            | +6,1           |
| Кьельдаля<br>Колориметрический | Ячневая крупа         | 12,25                                      | 100                                                                                              | 0              |
|                                | " "                   | 11,8                                       | 96,3                                                                                             | -3,7           |
|                                | " "                   | 11,7                                       | 95,5                                                                                             | -4,5           |
| Кьельдаля<br>Колориметрический | Мука ржаная           | 12,4                                       | 100                                                                                              | 0              |
|                                | " "                   | 12,3                                       | 99,1                                                                                             | -0,9           |
|                                | " "                   | 12,16                                      | 98,3                                                                                             | -1,7           |
|                                | " "                   | 12,5                                       | 101,2                                                                                            | +1,2           |

<sup>1</sup> Если исследуют продукт (например, крупа), расчет ведется на 100 г; в этом случае А равно 100.

хлористого аммония растворяют в мерной колбе на 1 л дистиллированной водой, свободной от аммиака. 1 мл содержит 1 мг азота.

Раствор *Б*. 10 мл раствора *А* разбавляют дистиллированной водой (свободной от аммиака) до 1 л. 1 мл раствора *Б* содержит 0,01 мг азота.

Раствор *В* (рабочий эталонный раствор<sup>1</sup>). К 5 мл дистиллированной воды (без аммиака), помещенной в коническую колбу емкостью в 100 мл, прибавляют 5 мл крепкой  $H_2SO_4$  (удельный вес 1,84), 1 мл пергидроля (в конической колбе на 100 мл). Смесь нагревают до появления белых паров серного ангидрида. Затем охлаждают и разбавляют 60—70 мл безаммиачной дистиллированной воды. Раствор нейтрализуют 10 н., а затем 1 н. раствором щелочи, как указано выше, для чего обычно приходится приливать из бюретки около 17,5 мл 10 н. раствора, а затем около 4 мл 1 н. раствора щелочи.

После нейтрализации раствор переводят из конической колбочки в мерную колбу на 1 л (при многократном споласкивании первой), куда прибавляют 100 мл раствора *Б*, и доводят объем колбы дистиллированной водой до метки. 1 мл эталонного раствора содержит 0,001 мг азота.

Таблица 3. Результаты опытов определения азотистых веществ в готовой пище

| Наименование пищи                                           | Метод определения | Навеска пищи (в г) | Найдено азотистых веществ по анализу (в г) в порции | Отношение данных, полученных колориметрическим методом, к данным, полученным методом Кьельдаля |                |
|-------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
|                                                             |                   |                    |                                                     | процент выполнения                                                                             | процент ошибки |
| Обед (щи кислые, баранина с отварной лапшой)                | Кьельдаля         | 3,43               | 27,5                                                | 100                                                                                            | 0              |
| То же                                                       | Колориметрический | 1,5                | 27,8                                                | 101                                                                                            | +1             |
| " "                                                         | "                 | 1,25               | 27,3                                                | 99,3                                                                                           | -0,7           |
| Обед (рисовый суп, мясо жареное с рисовой кашей)            | Кьельдаля         | 10                 | 37,4                                                | 100                                                                                            | 0              |
| То же                                                       | Колориметрический | 4,1                | 35,84                                               | 95,8                                                                                           | -4,2           |
| " "                                                         | "                 | 4,1                | 35,8                                                | 95,8                                                                                           | -4,2           |
| " "                                                         | "                 | 4,5                | 34,7                                                | 92,7                                                                                           | -7,3           |
| " "                                                         | "                 | 4,5                | 35,09                                               | 93,8                                                                                           | -6,2           |
| Обед (перловый суп на мясном бульоне, мясной рулет с рисом) | Кьельдаля         | 8,48               | 27,9                                                | 100                                                                                            | 0              |
| То же                                                       | Колориметрический | 3,1                | 27,1                                                | 97,1                                                                                           | -2,9           |
| " "                                                         | "                 | 3,1                | 27,7                                                | 99,2                                                                                           | -0,8           |
| Рацион суточный                                             | Кьельдаля         | 5,5                | 94                                                  | 100                                                                                            | 0              |
| " "                                                         | Колориметрический | 3,1                | 88,9                                                | 94,5                                                                                           | -5,5           |
| " "                                                         | "                 | 3,1                | 90                                                  | 95,7                                                                                           | -4,3           |

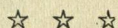
<sup>1</sup> Этот раствор готовят с добавлением реактивов, применяемых для обработки исследуемого вещества. Если предварительным опытом установлено отсутствие  $NH_3$  в кислоте, щелочи и пергидроле (отсутствие окраски при добавлении реактива Нессле-ра), раствор *В* готовят простым разведением раствора *Б*.

Готовый раствор *B* хранить можно не больше недели, если же нейтрализацию его не доводить до конца (например, не добавлять 1 н. раствор щелочи), то он может сохраняться в хорошо закрытой посуде в течение нескольких месяцев.

Вместо эталонных растворов удобнее пользоваться жидкими растворами анилиновых красок или стеклянными линейками, окрашенными соответствующим образом. Способы приготовления описаны во многих руководствах, в частности, в недавно вышедшей книге А. В. Евлановой и Л. А. Штуковской.

Экспериментальная часть. Для установления пределов точности данных, полученных описанным методом, было произведено значительное количество исследований (в большей части из них контролем служил метод определения белка по Кьельдалю).

По данным табл. 2 и 3 — количественного определения азотистых веществ в готовой пище и пищевых продуктах — можно сделать заключение, что колориметрический метод определения азотистых веществ по сравнению с методом Кьельдала дает наибольшую ошибку, равную 7%. Такой результат можно считать удовлетворительным, так как он лежит в пределах возможной ошибки при визуальной колориметрии. Применением современных фотокалориметров точность можно повысить, уменьшив ошибку до 1—2%.



## **О едином руководстве медицинской и ветеринарной наукой и практикой в области охраны здоровья населения**

В № 10 нашего журнала за 1951 г. была опубликована небольшая статья А. В. Васильева «Необходимость координации медицинской и ветеринарной науки в борьбе за охрану здоровья населения». В этой статье поднят вопрос, относящийся к организационным связям и взаимоотношениям санитарного и ветеринарного надзора. Следует сказать, что обсуждение этого вопроса прежде вращалось преимущественно вокруг надзора и контроля за мясом и молоком. На этот раз А. В. Васильев расширяет круг вопросов, связанных с координацией медицинской и ветеринарной служб. Автор главное внимание уделяет необходимости «изыскания новых путей осуществления организационно-плановых мероприятий в борьбе с общими для человека и животных инфекциями и инвазиями». Автор считает, например, что в деле борьбы с бешенством органы здравоохранения не интересуются комплексом вопросов, связанных с этой общей для человека, а также для животных инфекцией, а ограничиваются лишь прививками и санитарно-просветительной работой. Тот же упрек автор делает и в отношении борьбы с туберкулезом, бруцеллезом, туляремией, сальмонеллезами и др.

А. В. Васильев считает, что «вся практическая и научно-исследовательская борьба» с этими заболеваниями «должна осуществляться комплексно и, насколько это возможно, под единым руководством». По мнению автора, существующая сейчас связь между медициной и ветеринарией недостаточна. Далее автор высказывает выдвигавшиеся ветеринарными работниками и прежде положения о том, что в медико-санитарное обслуживание мясокомбинатов, боен, сыроварен, молочных заводов,