

# **ДИПЛОМНОЕ ПРОЕКТИРОВАНИЕ НА КАФЕДРЕ ХИМИИ**

*Учебно-методическое пособие*

Под редакцией доктора биологических наук,  
профессора А.А. Чиркина,  
кандидата биологических наук Н.А. Степановой

УДК 54(075.8)  
ББК 24р30  
Д46

Авторы-составители: заведующий кафедрой химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор биологических наук, профессор **А.А. Чиркин**; старший преподаватель кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова» **И.С. Борисевич**; профессор кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор биологических наук **В.И. Гидранович**; профессор кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор медицинских наук **Е.О. Данченко**; доценты кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», кандидаты биологических наук **Б.Н. Кочергин, Г.П. Кудрявцев, С.И. Кулиев, Н.А. Степанова**

Рецензенты:

профессор кафедры химии УО «ВГАВМ», доктор биологических наук *В.М. Холод*;  
профессор кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор педагогических наук  
*Е.Я. Аршанский*

Учебно-методическое пособие содержит материалы по правилам оформления научных работ студентов, а также сведения по технике безопасной работы в химических лабораториях, основы химического эксперимента, методы частной биохимии человека, животных, растений, представления о химических исследованиях в экологии и полезные советы по подготовке научных публикаций и участия в научных форумах.

Предназначено для студентов биологического факультета III–V курсов и может быть полезным для магистрантов и аспирантов.

УДК 54(075.8)  
ББК 24р30

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>Глава 1. ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ НАУЧНЫХ РАБОТ</b> ...	6
1.1. Характеристика отчетных документов .....	6
1.2. Структура отчетного документа .....	11
1.3. Инструкция по подготовке, оформлению и представлению к защите дипломных проектов (работ) в высших учебных заведениях .....	15
1.4. Правила оформления работ .....	21
1.5. Научные публикации .....	29
1.6. Оформление списка библиографических источников ....	31
1.7. Набор и оформление текстового документа в <i>MS Word</i> ...	37
1.8. Компьютерная презентация химических формул .....	59
1.9. Примеры титульных листов и форма задания НИР .....	66
<b>Глава 2. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОЙ РАБОТЫ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ</b> .....	72
2.1. Техника безопасности при выполнении самостоятельного химического эксперимента .....	72
2.2. Порядок работы в химической лаборатории магистрантов, студентов-дипломников и членов химического научного кружка .....	72
2.3. Опасные в обращении химические вещества .....	72
2.4. Экологически опасные вещества .....	78
2.5. Организация хранения реактивов на индивидуальном рабочем месте .....	79
2.6. Правила хранения реактивов на рабочем месте .....	81
2.7. Использование тары и пробок .....	82
2.8. Техника безопасности при проведении лабораторных операций .....	84
2.9. Действия в экстремальных ситуациях .....	91
<b>Глава 3. ТЕХНИКА ХИМИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА</b> ...	93
3.1. Выделение веществ из растворов .....	93
3.2. Способы уменьшения загрязненности осадков, выделяемых из растворов .....	96
3.3. Техника экстракции .....	103
3.4. Перекристаллизация как метод очистки .....	105
3.5. Приготовление растворов .....	115
3.6. Обезвоживание и очистка реагентов .....	125
3.7. Приготовление некоторых реагентов .....	132

3.8. Таблицы буферных растворов .....	134
3.9. Справочные таблицы для работы.....	138

**Глава 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ  
ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА .....** 143

4.1. Методика определения содержания гликогена в тканях ...	143
4.2. Количественное определение белка по Лоури .....	149
4.3. Определение концентрации белка по Брэдфорду .....	152
4.4. Спектрофотометрический метод определения белка .....	152
4.5. Препаративный метод выделения ядерных гистонов .....	153
4.6. Методика электрофореза белков в полиакриламидном геле .....	162
4.7. Методы исследования растительных фенолов .....	170
4.8. Химические исследования в экологии .....	179

**Глава 5. ПОЛЕЗНЫЕ СОВЕТЫ .....** 200

5.1. Общение на научном мероприятии .....	200
5.2. Зарубежная текущая библиография .....	201
5.3. Электронные информационные ресурсы .....	202
5.4. Справочно-библиографический аппарат библиотек на бумажных носителях .....	203
5.4.1. <i>Каталоги</i> .....	203
5.4.2. <i>Справочники</i> .....	204
5.4.3. <i>Библиографические материалы</i> .....	204
5.5. Как написать научную статью .....	204
5.5.1. <i>Работа над статьей</i> .....	207
5.5.2. <i>Тезисы доклада</i> .....	212
5.5.3. <i>Цитатные ссылки в тексте и пристатейный     список литературы</i> .....	212
5.6. Как избежать «недоразумений» при проведении статисти- ческого анализа данных и представлении результатов ....	214

**ЛИТЕРАТУРА .....** 218

## ВВЕДЕНИЕ

Дипломное проектирование является важным этапом подготовки специалистов в высших учебных заведениях. В процессе выполнения работы по дипломному проекту достигается объективная оценка уровня теоретической и практической подготовки выпускника высшей школы. Качественное выполнение дипломных работ – это реальный путь к сокращению времени адаптации молодого специалиста по месту работы.

Кафедра химии принимает участие в подготовке дипломных проектов по научно-педагогическим специальностям «Биоэкология», «Биология» и педагогической специальности «Биология. Химия». Спецификой таких проектов является проведение научных исследований с использованием различных реагентов, химического оборудования и аналитических приборов в рамках вновь разрабатываемых алгоритмов исследования. Такой поиск зачастую требует специальной подготовки по технике безопасной работы, а также методов выделения и очистки различных химических веществ. Особенно трудным является отбор оптимальных методов пробоподготовки исследуемого материала, то есть аккуратного извлечения исследуемых химических веществ из биологических объектов.

Хотя студенты старших курсов владеют компьютерной техникой, опыт показывает, что необходимы дальнейшие систематизация и унификация методов компьютерной обработки материала, работы с фактическим материалом, статистической обработки материалов, изображения химических формул и символов и владения текстовыми редакторами.

Дипломное проектирование – это процесс обучения, регламентированный нормативными документами. Оформление дипломной работы можно рассматривать как школу для последующей второй ступени высшего образования в магистратуре или подготовки в аспирантуре. Поэтому правила регистрации дипломной работы, оформления первичной документации, написания текста, создания иллюстраций и цитирования проработанной литературы с самого начала должны быть унифицированы в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь.

И, наконец, авторы данного учебно-методического пособия, имеющие опыт научных исследований и общения с учеными на семинарах и научных форумах, считают необходимым дать несколько советов начинающему исследователю. Это, прежде всего то, когда не стыдно спросить, если не знаешь, и сделать любую самую «черную» работу, если это необходимо. Во-вторых, отстаивая свою точку зрения, умейте сомневаться, старайтесь взглянуть на проблему с иной стороны. В-третьих, служите Его Величеству Факту, но всегда помните, что каждый факт следует неоднократно проверять и подтверждать.

Вам судить, как нам удалось решить поставленные вопросы. В любом случае, все замечания и предложения будут приняты с признательностью.

С уважением, авторы.

## Глава 1. ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ НАУЧНЫХ РАБОТ

Рассмотрим возможные виды научной работы и перечень отчетной документации для студентов университетов.

### 1.1. Характеристика отчетных документов (по В.В. Горячкину, Н.Н. Демешу и Н.А. Коротаеву, 2005).

**Курсовой проект** – индивидуальная самостоятельная работа студента по изучению заданного вопроса и использования его для решения одной или нескольких задач. При выполнении проекта закрепляются теоретические знания, полученные при изучении предшествующих курсов, что является основой для перехода к выполнению курсовой работы, дипломной работы, а также других видов работ согласно учебным планам. В ходе выполнения курсового проекта делаются первые попытки в проявлении творческого и самостоятельного подхода к решению технических и научно-технических задач, а также развитию индивидуального творческого мышления студента. Курсовой проект выполняется параллельно с изучением базовых разделов дисциплин кафедры и завершается в конце осеннего семестра.

Цель курсового проекта:

- закрепление студентом получаемых теоретических знаний;
- привитие студенту навыков самостоятельного изучения программного продукта (как правило, пакета прикладных программ) и умения инсталляции необходимого программного обеспечения на персональный компьютер;
- развитие у студента навыков обобщения основных научных положений по данной теме и возможного практического применения теоретических знаний к решению конкретных задач на базе самостоятельно изучаемого пакета прикладных программ;
- привитие студенту навыков по информационному поиску и использованию необходимых материалов по исследуемой теме из научно-технической и справочной литературы;
- развитие у студента способностей по анализу сложных теоретических положений и формирование у него модельного подхода к исследованию изучаемых вопросов специальной дисциплины;
- научить студента правилам оформления курсового проекта в соответствии с требованиями, установленными стандартом высшего учебного заведения (вуза);
- указать студенту на необходимость подготовки иллюстративного материала и компьютерной презентации для успешной защиты проекта.

Тема курсового проекта должна отражать материал учебной базовой дисциплины специализирующей кафедры, быть со-

ставной частью одного из основных научных направлений учебной дисциплины и направленной на разработку новых научных вопросов либо на уточнение и расширение существующих положений данной отрасли науки с обязательным привлечением возможностей пакетов прикладных программ, которые осваиваются студентом самостоятельно.

В зависимости от содержания учебной дисциплины, по которой выполняется курсовой проект, возможны следующие варианты тематики проекта:

- либо единая тема задания для группы студентов, но с индивидуальными вариантами исходных данных для каждого студента;
- либо набор индивидуальных тем заданий для каждого студента, отражающих в комплексе, по возможности, объем учебного материала по учебной дисциплине.

Исходным этапом к выполнению курсового проекта **является задание на выполнение курсового проекта**, в котором приводятся постановка конкретной задачи и пакет прикладных программ, рекомендуемый для ее решения.

**Курсовая работа** – важный этап обучения студента, где проявляются навыки ведения самостоятельной научно-исследовательской работы и овладения методикой исследования и эксперимента при решении актуальной задачи в области избранной студентом специальности. Темы курсовых работ определяются кафедрами. Студент выбирает одну из предложенных кафедрой тем. При этом тема курсовой работы четвертого курса может быть продолжением темы курсовой работы третьего курса. В соответствии с выбранной темой курсовой работы научный руководитель выдает студенту задание, в котором указываются тема, исходные данные для выполнения работы, содержание работы, сроки выполнения курсовой работы, а также согласовывается календарный график выполнения отдельных этапов и всей работы.

**Отчет по преддипломной практике** студентов – научно-технический документ, который содержит систематизированные данные о научно-исследовательской работе, описывающий процесс или результаты научно-технического исследования или состояние научно-технической проблемы, выполненный студентом (студентами) под руководством научного руководителя во время преддипломной практики.

**Дипломная работа** – заключительный этап обучения студента в высшем учебном заведении. Она имеет своей целью:

- закрепление и углубление теоретических и практических знаний по избранной специальности и применение их для решения конкретных задач;

- формирование навыков ведения самостоятельной проектно-конструкторской или исследовательской работы и овладение методикой проектирования или научного исследования и эксперимента;
- приобретение навыков обобщения и анализа результатов, полученных другими разработчиками или исследователями;
- выяснение подготовленности студента для самостоятельной работы в условиях современного производства, прогресса науки, техники и культуры.

Дипломная работа является квалификационной работой выпускника. По уровню выполнения дипломной работы и результатам ее защиты Государственной экзаменационной комиссией (ГЭК) делается заключение о возможности присвоения выпускнику соответствующей квалификации.

Тематика дипломных работ и их руководители определяются выпускающими кафедрами, утверждаются советом факультета и приказом ректора. При определении тематики следует учитывать конкретные задачи в данной области. Тематика дипломных работ должна быть актуальной, соответствовать современному состоянию и перспективам развития науки, техники и культуры, по своему содержанию отвечать задачам, изложенным выше.

Студентам предоставляется право выбора темы дипломной работы. Студент может предложить свою тему дипломной работы. В этом случае он должен обратиться к заведующему кафедрой с письменным заявлением, в котором обосновывается целесообразность работы по выбранной теме. При положительном решении вопроса тема дипломной работы включается в перечень тем кафедры.

Желательно, чтобы тема работы являлась продолжением выполненных студентом курсовых работ на третьем и четвертом курсах, что характеризует существенный объем исследований в области избранной им специальности.

В соответствии с темой дипломной работы руководитель этой работы выдает студенту задание на дипломное проектирование. Задание, подготовленное руководителем, утверждается заведующим кафедрой. Это задание вместе с дипломной работой также представляется в ГЭК.

Дипломная работа выполняется студентом в течение промежутка времени, отведенного для этого учебным планом по соответствующей специальности. Рекомендуются включать в этот промежуток времени также время нахождения студента на преддипломной практике.

Руководитель дипломной работы обязан:

- составить и выдать задание на дипломную работу;



- оказать студенту помощь в разработке календарного плана-графика на весь период выполнения дипломной работы;
- рекомендовать студенту необходимую основную литературу, справочные, архивные материалы и другие источники по теме работы;
- проводить систематические, предусмотренные планом-графиком беседы со студентом, давать студенту консультации, контролировать расчетные и экспериментальные результаты;
- контролировать ход выполнения работы вплоть до ее защиты;
- решить вопрос о допуске студента к защите дипломной работы и подготовить отзыв о выполненной работе.

По предложению руководителя дипломной работы, в случае необходимости, кафедре предоставляется право приглашать консультантов по отдельным узконаправленным разделам дипломной работы за счет лимита времени, отведенного на руководство дипломной работой, или на других условиях, определяемых кафедрой.

Дипломная работа выполняется на основе изучения литературы по специальности (учебников, учебных пособий, монографий, периодической литературы, журналов на иностранных языках, нормативной литературы и т.п.). В работе в соответствии с заданием должны быть детально освещены вопросы темы, включая критический анализ литературных данных и проведенных самостоятельно теоретических и (или) экспериментальных исследований изучаемого вопроса или разрабатываемого объекта. В дипломных работах также должны быть отражены вопросы технологии, стандартизации, экономики, охраны труда и т.п., свойственные особенностям специальности.

Дипломная работа выполняется студентом, как правило, непосредственно в вузе. По отдельным специальностям дипломная работа может выполняться на предприятии, в организации, в научных и проектно-конструкторских и других учреждениях, если тема дипломной работы соответствует профилю кафедры (при этом студент представляет заведующему кафедрой задание по теме работы с аннотацией, подписанной предполагаемым внешним научным руководителем). Во всех случаях темы дипломных работ, их научные руководители и рецензенты утверждаются на заседании кафедры.

Перед началом выполнения дипломной работы студент должен разработать календарный график работы на весь период с указанием очередности выполнения отдельных этапов, и после одобрения руководителем представить на утверждение заведующему выпускающей кафедрой. С целью фиксации степени готовности дипломной работы выпускающая кафедра может установ-

ливать сроки периодического отчета студентов по выполнению данной работы. Студент обязан отчитаться перед руководителем или заведующим кафедрой.

Так как темы дипломных работ утверждаются приказом ректора, то изменение наименования темы возможно только в исключительных случаях.

Чтобы изменить наименование темы, студенту сначала необходимо подать заявление с визой руководителя на имя декана факультета.

**Магистерская диссертация** – научное исследование, выполненное соискателем под руководством научного руководителя, основу которого составляет решение актуальной фундаментальной или прикладной задачи применительно к специальности. Это вторая степень высшего образования.

Цель магистерской диссертации:

- закрепление и углубление теоретических и практических знаний по избранной специальности;
- формирование навыков ведения самостоятельной научно-исследовательской работы и овладения методикой проектирования и эксперимента;
- приобретение навыков обобщения и системного анализа результатов;
- выяснение подготовленности соискателя для самостоятельной научной и педагогической работы в условиях современных информационных технологий.

Тема магистерской диссертации определяется научным руководителем совместно с соискателем, принимается на заседании выпускающей кафедры и утверждается приказом ректора данного вуза. Допускается уточнение названия диссертации по результатам предзащиты.

Выпускающая кафедра перед зачислением соискателя в магистратуру назначает научного руководителя – высококвалифицированного специалиста с ученой степенью, которым может быть сотрудник данного вуза или других научно-педагогических учреждений. Если магистерская диссертация выполняется на стыке дисциплин, то наряду с научным руководителем допускается назначение выпускающей кафедрой и утверждение приказом ректора данного вуза одного или двух научных консультантов.

Для проведения экспертизы магистерской диссертации выпускающая кафедра назначает оппонента из числа ведущих и наиболее авторитетных научных сотрудников, имеющих ученые степени или звания и непосредственно не связанных с работой лаборатории или подразделения, в котором выполнены исследо-

вания, составляющие содержание диссертации. Назначение оппонента утверждается приказом ректора данного вуза. Магистерская диссертация должна быть написана соискателем лично. При этом основное содержание диссертации должны составлять результаты, в получение которых соискатель внес существенный личный вклад.

Основные результаты диссертации должны быть опубликованы либо приняты к печати в реферируемом журнале, трудах конференций, в сборнике тезисов докладов международной конференции или в препринте, либо направлены в печать в одно из вышеперечисленных изданий по решению научного семинара организации или его подразделения.

## **1.2. Структура отчетного документа**

Отчетный документ (будем называть также проект, работа) должен иметь следующую структуру:

- титульный лист;
- задание на проект;
- аннотация;
- реферат;
- содержание;
- обозначения и сокращения;
- введение;
- основная часть;
- заключение;
- список использованных источников;
- приложения (при необходимости);
- электронные материалы на дискете или лазерном диске в конверте.

**Титульный лист** является первой страницей проекта и служит источником информации, необходимой для обработки и поиска документа.

**Задание на проект** выдается студенту руководителем проекта. Содержание проекта, отраженное в разделах задания, является, по существу, индивидуальным, и поэтому части задания в зависимости от значимости могут быть представлены в разном сочетании.

**Аннотация** выполненной работы может приводиться на трех языках: белорусском, русском и английском.

**Реферат** проекта должен быть достаточно полным. Он должен обязательно включать ключевые сведения о предмете, цели, о методах исследования и об основных результатах работы. Реферат должен содержать: сведения об объеме работы, количестве частей проекта, количестве иллюстраций, таблиц, использованных источников, приложений; перечень ключевых слов; текст.

Перечень ключевых слов должен включать от 5 до 15 слов или словосочетаний из текста работы, которые в наибольшей мере характеризуют ее содержание и обеспечивают возможность информационного поиска. Ключевые слова приводятся в именительном падеже и печатаются прописными буквами в строку через запятые. Текст реферата должен отражать: объект исследования или разработки; цель работы; метод или методологию проведения работы; результаты работы и их новизну; основные конструктивные, технологические и техникоэксплуатационные характеристики; степень внедрения или рекомендации по внедрению результатов проекта; область применения; значимость работы. Если проект не содержит сведений по какой-либо из перечисленных структурных частей реферата, то в тексте реферата эта часть опускается, при этом последовательность изложения сохраняется. Оптимальный объем текста реферата – одна страница.

**Содержание** включает нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения (если таковые имеются), введение, наименование всех разделов, подразделов, пунктов (если они имеют наименование), заключение, список использованных источников и наименование приложений с указанием номеров страниц, с которых начинаются эти элементы в отчетном документе. После содержания допускается привести в форме оглавления перечни рисунков и таблиц, приведенных в отчете.

**Обозначения и сокращения** содержат перечень обозначений и сокращений, применяемых в данном проекте. Запись обозначений и сокращений проводят в порядке использования их в тексте проекта с необходимой расшифровкой и пояснениями.

**Введение** характеризует современное состояние проблемы, которой посвящен проект, в виде литературного обзора, а также цель работы и значимость научной проблематики. Для значительной категории потребителей информации (особенно при информационном поиске) два основных структурных раздела – «Введение» и «Заключение» – представляют самостоятельный интерес. Следовательно, они должны содержать максимум полезных и нужных сведений и выполнять важнейшие информационные функции. Во введении следует четко формулировать, в чем конкретно заключается смысл описываемой работы. По одной проблеме могут выполняться несколько аналогичных проектов. Поэтому нужно обосновать необходимость проведения этой работы, показать ее место среди аналогичных работ, описать цель работы.

Литературный (аналитический) обзор выполняется в форме реферата. Здесь отражается значимость разработки проекта по

данной теме проекта, научное состояние проблемы и обозначаются вопросы, подлежащие анализу и разработке.

**Основная часть** является наиболее важной и результативной частью проекта. По структуре она зависит от темы проекта и от удельного веса составляющих его частей (теоретической и практической). Материал основной части отражает сущность, методику и основные результаты выполненной работы. Здесь же излагаются вопросы по применению программного обеспечения на этапах решения задач по теме проекта.

Таким образом, основная часть должна содержать:

- выбор направления исследований, включающий обоснование направления исследования, методы решения задач и их сравнительную оценку, описание выбранной общей методики проведения исследований;
- процесс теоретических и (или) экспериментальных исследований, включая определение характера и содержания теоретических исследований, методы исследований, методы расчета, обоснование необходимости проведения экспериментальных работ, принципы действия разработанных объектов, их характеристики;
- обобщение и оценку результатов исследований, включающих оценку полноты решения поставленной задачи и предложения по дальнейшим направлениям работ, оценку достоверности полученных результатов и их сравнение с аналогичными результатами отечественных и зарубежных работ, обоснование необходимости проведения дополнительных исследований, отрицательные результаты, приводящие к необходимости прекращения дальнейших исследований. Результаты, полученные в ходе работы, должны быть четко отделены от результатов, заимствованных из других работ и научных документов. В зависимости от особенностей выполненной работы основную часть можно представить в виде текста, таблицы, сочетания иллюстраций и таблиц, и дополнительно необходимо представить в виде компьютерной презентации.

**Заключение** является одной из важнейших частей проекта, которое содержит оценку в виде выводов основных наиболее важных полученных результатов работы. Очень важно, чтобы выводы, сделанные в процессе работы, не были бездоказательными, необоснованными. Недопустимо искажение результатов или умалчение отрицательных результатов. В общем случае заключение должно содержать: основные выводы по результатам выполнения проекта или отдельных его этапов; оценку полноты решений поставленных задач; рекомендации и исходные данные по конкретному использованию результатов работы; оценку научно-технического уровня

выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области. В процессе работы могут выявиться новые (в известном смысле неожиданные) закономерности, новые данные. Все эти сведения также должны быть оценены в заключении. Помимо оценки результатов работы, заключение должно содержать информацию о путях и целях дальнейшей работы или мотивированный вывод о нецелесообразности продолжения проекта.

**Список использованных источников** должен содержать сведения об источниках, использованных при выполнении работы, в соответствии с требованиями ГОСТа 7.1. Источники следует располагать в порядке появления ссылок в тексте проекта.

**Приложения** оформляют как продолжение проекта на последующих страницах или в виде отдельной части, располагая их в порядке появления ссылок в тексте. В приложения могут быть включены: промежуточные математические доказательства, формулы и расчеты; тексты программ; руководство пользователя; таблицы вспомогательных цифровых данных; протоколы испытаний; описание аппаратуры и приборов, применяемых при проведении экспериментов, измерений и испытаний; иллюстрации вспомогательного характера; акты внедрения результатов работы, копии публикаций по результатам выполненной работы и др.

**Электронные материалы** представляются в следующем виде. После приложения вставляется (приклеивается) конверт для хранения лазерного диска или дискеты. На внешнем носителе информации должна быть создана папка с именем, составленным по следующему формату:

*Факультет\_Год\_Код работы\_Курс\_Номер группы\_Номер зачетки\_ФИО студента*

Имя папки следует продублировать также на конверте. Например, **БФ\_2008\_КП\_3\_08\_2006184\_ПЕТРОВ**. Здесь приведено имя папки для хранения материалов по курсовому проекту (КП) за 2008 год студента БФ восьмой группы третьего курса Петрова, номер зачетки которого – 2006184.

Код работы кодируется по следующему правилу: **КП** – курсовой проект, **КР** – курсовая работа, **ДР** – дипломная работа и **ДП** – отчет по преддипломной практике, **МД** – магистерская диссертация.

В папке с соответствующим именем на внешнем носителе должна быть представлена в электронном виде следующая информация: электронная копия отчетного документа; компьютерная презентация (структура и содержание презентации согласовываются с руководителем); тексты программ и примеров и другая дополнительная информация (на усмотрение студента). Эта информация после защиты переносится в базу данных архива вуза.

### **1.3. Инструкция по подготовке, оформлению и представлению к защите дипломных проектов (работ) в высших учебных заведениях**

Утверждено приказом министра образования Республики Беларусь от 27 июня 1997 г. № 356.

1. Выполнение дипломных проектов (работ) является заключительным этапом обучения студентов в высшем учебном заведении и имеет своей целью:

– закрепление и углубление теоретических и практических знаний по избранной специальности и применение их для решения конкретных задач;

– формирование навыков ведения самостоятельной проектно-конструкторской или исследовательской работы и овладение методикой проектирования или научного исследования и эксперимента;

– приобретение навыков обобщения и анализа результатов, полученных другими разработчиками или исследователями;

– выяснение подготовленности студента для самостоятельной работы в условиях современного производства, прогресса науки, техники и культуры.

2. Дипломный проект (работа) является квалификационной работой выпускника. По уровню выполнения дипломного проекта (работы) и результатам его (ее) защиты Государственной экзаменационной комиссией (ГЭК) делается заключение о возможности присвоения выпускнику соответствующей квалификации.

Тематика дипломных проектов (работ) должна быть актуальной, соответствовать современному состоянию и перспективам развития науки, техники и культуры, по своему содержанию отвечать задачам, изложенным в п. 1 настоящей Инструкции.

Тематика дипломных проектов (работ) и их руководители определяются выпускающими кафедрами и утверждаются советом факультета. При определении тематики следует учитывать конкретные задачи в данной области подготовки. Общий перечень тем дипломных проектов (работ) ежегодно обновляется и доводится до сведения студентов в установленном вузом порядке.

*Темы дипломных проектов (работ) и их руководители утверждаются приказом ректора по представлению декана факультета.* В случае необходимости изменения или уточнения темы дипломного проекта (работы) декан факультета на основании представления кафедры возбуждает ходатайство о внесении соответствующих изменений в приказ ректора.

Замена предусмотренной учебным планом дипломного проекта дипломной работой для технических специальностей допускается с разрешения ректора вуза по представлению декана

факультета. При этом дипломная работа должна носить научно-исследовательский характер и содержать в обязательном порядке расчетно-графическую часть.

3. *Студентам предоставляется право выбора темы дипломного проекта (работы).* Студент может предложить свою тему дипломного проекта (работы). В этом случае он должен обратиться к заведующему кафедрой с письменным заявлением, в котором обосновывается целесообразность работы. При положительном решении вопроса тема дипломного проекта (работы) включается в перечень тем кафедры.

*В соответствии с темой дипломного проекта (работы) руководитель дипломного проекта (работы) выдает студенту задание по изучению объекта практики и по сбору материала к дипломному проекту (работе).* Одновременно студенту выдается задание на дипломный проект (работу), составленное руководителем и утвержденное заведующим кафедрой, с указанием срока окончания. Форма задания устанавливается приказом ректора по представлению декана факультета (применительно к прилагаемому образцу). Это задание вместе с проектом представляется в ГЭК.

4. Руководителями дипломных проектов (работ) назначаются лица из профессорско-преподавательского состава данного вуза, как правило, профессора и доценты, а также научные сотрудники и высококвалифицированные специалисты данного вуза и других учреждений и предприятий.

Дипломный проект (работа) выполняется студентом в течение промежутка времени, отведенного для этого учебным планом по соответствующей специальности. Рекомендуется включить в этот промежуток времени также время нахождения студента на последней производственной практике.

5. Руководитель дипломного проекта (работы) обязан:

- составить и выдать задание на дипломный проект (работу);
- оказать студенту помощь в разработке календарного плана-графика на весь период выполнения дипломного проекта (работы);
- рекомендовать студенту необходимую основную литературу, справочные и архивные материалы, типовые проекты и другие источники по теме дипломного проекта (работы);
- проводить систематические, предусмотренные планом-графиком беседы со студентом, давать студенту консультации, контролировать расчетные и экспериментальные результаты;
- контролировать ход выполнения работы и нести ответственность за ее выполнение вплоть до защиты дипломного проекта (работы);
- составить отзыв о дипломном проекте (работе).



6. По предложению руководителя дипломного проекта (работы) в случае необходимости кафедре предоставляется право приглашать консультантов по отдельным узконаправленным разделам дипломного проекта (работы) за счет лимита времени, отведенного на руководство дипломным проектом (работой).

Консультантами по отдельным разделам дипломного проекта (работы) могут назначаться профессора и преподаватели высших учебных заведений, а также высококвалифицированные специалисты и научные работники других учреждений и предприятий. Консультанты проверяют соответствующую часть выполненной студентом работы и ставят на ней свою подпись.

7. Выпускающие кафедры должны разрабатывать и обеспечивать студентов методическими указаниями по подготовке, оформлению и защите дипломных проектов (работ), в которых устанавливается обязательный объем требований к дипломному проекту (работе) применительно к специальности.

8. Дипломный проект (работа) выполняется на основе глубокого изучения литературы по специальности (учебников, учебных пособий, монографий, периодической литературы, журналов на иностранных языках, нормативной литературы и т.п.).

9. В дипломном проекте (работе) в соответствии с заданием должны быть детально освещены вопросы темы, включая критический анализ литературных данных и проведение самостоятельных теоретических и (или) экспериментальных исследований изучаемого вопроса или разрабатываемого объекта. В дипломных проектах, кроме того, должны быть отражены вопросы технологии, стандартизации, экономики, охраны труда и т.п., свойственные особенностям специальности.

10. *Дипломный проект состоит из двух частей: пояснительной записки и комплекта конструкторских документов и другого графического и (или) иллюстративного материала.* Дипломная работа оформляется, как правило, в виде пояснительной записки и может сопровождаться графической частью.

11. Общими требованиями к пояснительной записке к дипломному проекту (работе) являются: четкость и логическая последовательность изложения материала, убедительность аргументации, краткость и ясность формулировок, исключаящих неоднозначность толкования, конкретность изложения результатов, доказательств и выводов. Пояснительная записка к дипломному проекту (работе) должна в краткой и четкой форме раскрывать творческий замысел проекта (работы), содержать методы исследования, принятые методы расчета и сами расчеты, описание проведенных экспериментов, их анализ и выводы по ним, технико-

экономическое сравнение вариантов и при необходимости сопровождаться иллюстрациями, графиками, эскизами, диаграммами, схемами и т.п. В тех случаях, когда в проектах (работах) содержатся сложные математические расчеты для их проведения, как правило, применяется электронно-вычислительная техника.

*Пояснительная записка* к дипломному проекту (работе) должна включать:

- титульный лист;
- задание (для дипломного проекта);
- содержание (оглавление);
- перечень условных обозначений, символов и терминов (если в этом есть необходимость);
- введение;
- разделы, представляющие собой обзор литературных источников по теме, используемые методы и (или) методики, собственные теоретические и экспериментальные исследования, результаты расчетов и другие, определенные заданием;
- экономическое обоснование принятого решения, определение экономической эффективности внедрения полученных результатов, требования охраны труда и техники безопасности при эксплуатации разработанного объекта для дипломных проектов (для работ производственного направления);
- заключение (выводы);
- список используемых источников;
- приложения (при необходимости).

*Пояснительная записка* к дипломному проекту (работе) может быть написана на русском или белорусском языках.

Текстовый материал пояснительной записки к дипломному проекту (работе) должен быть оформлен в соответствии с действующими стандартами на оформление текстовых документов. *Пояснительная записка* должна быть выполнена на стандартной белой бумаге формата А4 и написана четким почерком чернилами (пастой) одного цвета либо отпечатана на пишущей машинке или с помощью компьютерных средств с шагом в два интервала. Если текст отпечатан, то отдельные слова и формулы вписываются в текст черными чернилами (пастой, тушью) с соблюдением правил латинской и греческой орфографии. При использовании стандартных текстовых редакторов допускается оформление формул с помощью средств этого редактора. Чертежи к дипломным проектам выполняются по формату тушью, карандашом, а в части условных обозначений и масштаба должны соответствовать требованиям действующих стандартов.

*Желательно оформление дипломного проекта (работы) с помощью компьютерных программ.*

Пояснительная записка к дипломному проекту (работе) должна быть переплетена или помещена в стандартную папку для дипломного проектирования (дипломной работы).

12. Студент может по рекомендации кафедры представить дополнительно краткое содержание дипломного проекта (работы) на одном из иностранных языков, которое оглашается на защите и может сопровождаться вопросами к студенту на этом языке.

13. Работа над дипломным проектом (работой) выполняется студентом, как правило, непосредственно в вузе с представлением ему определенного места в аудитории для дипломного проектирования. По отдельным специальностям дипломный проект (работа) может выполняться на предприятии, в организации, в научных и проектно-конструкторских и других учреждениях.

14. Перед началом выполнения дипломного проекта (работы) студент должен разработать *календарный график работы на весь период* с указанием очередности выполнения отдельных этапов и, после одобрения руководителем, представить на утверждение заведующему выпускающей кафедры.

15. *Декан факультета устанавливает сроки периодического отчета студентов по выполнению дипломного проекта (работы).* В установленные деканом сроки студент отчитывается перед руководителем и заведующим кафедрой, которые фиксируют степень готовности проекта (работы) и сообщают об этом декану факультета.

16. За принятые в дипломном проекте (работе) решения, правильность всех данных и сделанные выводы отвечает студент – автор дипломного проекта (работы).

17. Законченный дипломный проект (работа), подписанный студентом и консультантами, представляется руководителю, который составляет на него (ее) отзыв.

*В отзыве руководителя дипломного проекта (работы) должны быть отмечены:*

- актуальность темы дипломного проекта (работы);
- степень решенности поставленной задачи;
- степень самостоятельности и инициативности студента;
- умение студента пользоваться специальной литературой;
- способность студента к инженерной или исследовательской работе;
- возможность использования полученных результатов на практике;
- возможности присвоения выпускнику соответствующей квалификации.

18. *Дипломный проект (работа) и отзыв руководителя представляются заведующему кафедрой, который решает вопрос о возможности допуска студента к защите дипломного проекта (работы).* Для решения этого вопроса на кафедре может создаваться рабочая комиссия (комиссии), которая заслушивает сообщение студента по дипломному проекту (работе), определяет соответствие дипломного проекта (работы) заданию и выясняет готовность студента к защите.

*Допуск студента к защите фиксируется подписью заведующего кафедрой на титульном листе пояснительной записки к дипломному проекту (работе).*

Если заведующий кафедрой на основании выводов рабочей комиссии не считает возможным допустить студента к защите, этот вопрос рассматривается на заседании кафедры с участием руководителя дипломного проекта (работы). При отрицательном заключении кафедры протокол заседания представляется через декана факультета на утверждение ректору, после чего студент информируется о том, что он не допускается к защите дипломного проекта (работы).

19. Дипломный проект (работа), допущенный выпускающей кафедрой к защите, направляется заведующим выпускающей кафедрой на рецензию.

*Рецензенты дипломных проектов (работ) утверждаются деканом факультета по представлению заведующего кафедрой не позднее одного месяца до защиты из числа профессорско-преподавательского состава других кафедр, специалистов производства и научных учреждений, педагогического состава других вузов.*

*В рецензии должны быть отмечены:*

- актуальность темы дипломного проекта (работы);
- степень соответствия дипломного проекта (работы) заданию;
- логичность построения пояснительной записки;
- наличие по теме дипломного проекта (работы) критического обзора литературы, его полнота и последовательность анализа;
- полнота описания методики расчета или проведенных исследований, изложения собственных расчетных, теоретических и экспериментальных результатов, оценка достоверности полученных выражений и данных;
- наличие аргументированных выводов по результатам дипломного проекта (работы);
- практическая значимость дипломного проекта (работы), возможность использования полученных результатов;
- недостатки и слабые стороны дипломного проекта (работы);
- замечания по оформлению пояснительной записки к дипломному проекту (работе) и стилю изложения материала;

– оценка дипломного проекта (работы): «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно».

Рецензент имеет право затребовать у студента – автора дипломного проекта (работы) дополнительные материалы, касающиеся существа проделанной работы. Студент должен быть ознакомлен с рецензией до защиты работы в ГЭК.

20. *Порядок защиты дипломного проекта (работы) определяется Положением о Государственных экзаменационных комиссиях.*

21. Дипломный проект (работа) после защиты хранится в вузе, в котором он выполнялся, на протяжении пяти лет.

#### **1.4. Правила оформления работ**

Правила оформления студенческих работ представлены в соответствии с Постановлением Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 22.02.2006 г., № 2 (Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь 20 марта 2006 г., № 41, 7/603)<sup>1</sup>.

29. Диссертация печатается с использованием компьютера и принтера на одной стороне листа белой бумаги формата А4 (210x297 мм). Допускается представлять таблицы и иллюстрации на листах формата А3 (297x420 мм).

30. Набор текста диссертации осуществляется с использованием текстового редактора Word. При этом рекомендуется использовать шрифты типа Times New Roman размером 14 пунктов. Количество знаков в строке должно составлять 60–70, межстрочный интервал – 18 пунктов (1,5 машинописных интервала), количество текстовых строк на странице – 39–40. В случае вставки в строку формул допускается увеличение межстрочного интервала.

Устанавливаются следующие размеры полей: верхнего и нижнего – 20 мм, левого – 30 мм, правого – 10 мм.

Шрифт печати должен быть прямым, светлого начертания, четким, черного цвета, одинаковым по всему объему текста диссертации. Разрешается использовать компьютерные возможности акцентирования внимания на определениях, терминах, теоремах, важных особенностях, применяя разное начертание шрифта: курсивное, полужирное, курсивное полужирное, выделение с помощью рамок, разрядки, подчеркивания и другое.

Опечатки и графические неточности, обнаруженные в тексте, допускается исправлять подчисткой или закрашиванием белой краской и нанесением на том же месте исправленного текста (графиков) машинописным или рукописным способами.

---

<sup>1</sup> Нумерация приведена как в первоисточнике.

32. Текст основной части диссертации делят на главы, разделы, подразделы, пункты.

Заголовки структурных частей диссертации «Оглавление», «Перечень условных обозначений», «Введение», «Общая характеристика работы», «Глава», «Заключение», «Библиографический список», «Приложения» печатают прописными буквами в середине строк, используя полужирный шрифт с размером на 1–2 пункта больше, чем шрифт в основном тексте. Так же печатают заголовки глав.

Заголовки разделов печатают строчными буквами (кроме первой прописной) с абзацного отступа полужирным шрифтом с размером на 1–2 пункта больше, чем в основном тексте.

Заголовки подразделов печатают с абзацного отступа строчными буквами (кроме первой прописной) полужирным шрифтом с размером шрифта основного текста.

Пункты, как правило, заголовков не имеют. При необходимости заголовок пункта печатают с абзацного отступа полужирным шрифтом с размером шрифта основного текста в подбор к тексту.

В конце заголовков глав, разделов и подразделов точку не ставят. Если заголовок состоит из двух или более предложений, их разделяют точкой (точками). В конце заголовка пункта ставят точку.

33. Расстояние между заголовком (за исключением заголовка пункта) и текстом должно составлять 2–3 межстрочных интервала. Если между двумя заголовками текст отсутствует, то расстояние между ними устанавливается в 1,5–2 межстрочных интервала. Расстояние между заголовком и текстом, после которого заголовков следует, может быть больше, чем расстояние между заголовком и текстом, к которому он относится.

Каждую структурную часть диссертации следует начинать с нового листа.

34. Нумерация страниц дается арабскими цифрами. Первой страницей диссертации является титульный лист, который включают в общую нумерацию страниц диссертации. На титульном листе номер страницы не ставят, на последующих листах номер проставляют в центре нижней части листа без точки в конце.

35. Нумерация глав, разделов, подразделов, пунктов, рисунков, таблиц, формул, уравнений дается арабскими цифрами без знака «№».

Номер главы ставят после слова «Глава». Разделы «Оглавление», «Перечень условных обозначений», «Введение», «Общая характеристика работы», «Заключение», «Библиографический спи-

сок», «Приложения» не имеют номеров. Не нумеруют и подразделы раздела «Общая характеристика работы».

Разделы нумеруют в пределах каждой главы. Номер раздела состоит из номера главы и порядкового номера раздела, разделенных точкой, например: «2.3» (третий раздел второй главы).

Подразделы нумеруют в пределах каждого раздела. Номер подраздела состоит из порядковых номеров главы, раздела, подраздела, разделенных точками, например: «1.3.2» (второй подраздел третьего раздела первой главы).

Пункты нумеруют арабскими цифрами в пределах каждого подраздела. Номер пункта состоит из порядковых номеров главы, раздела, подраздела, пункта, разделенных точками, например: «4.1.3.2» (второй пункт третьего подраздела первого раздела четвертой главы). Номера пунктов выделяют полужирным шрифтом.

Заголовок главы печатают с новой строки, следующей за номером главы. Заголовки разделов, подразделов, пунктов приводят после их номеров через пробел. Пункт может не иметь заголовка.

В конце нумерации глав, разделов, подразделов, пунктов, а также их заголовков точку не ставят.

36. Иллюстрации (фотографии, рисунки, чертежи, схемы, диаграммы, графики, карты и другое) и таблицы служат для наглядного представления в диссертации характеристик объектов исследования, полученных теоретических и (или) экспериментальных данных и выявленных закономерностей. Не допускается одни и те же результаты представлять в виде иллюстрации и таблицы.

Иллюстрации и таблицы следует располагать в диссертации непосредственно на странице с текстом после абзаца, в котором они упоминаются впервые, или отдельно на следующей странице. Они должны быть расположены так, чтобы их было удобно рассматривать без поворота диссертации или с поворотом по часовой стрелке. Иллюстрации и таблицы, которые расположены на отдельных листах диссертации, включают в общую нумерацию страниц. Если их размеры больше формата А4, их размещают на листе формата А3 и учитывают как одну страницу.

Иллюстрации и таблицы обозначают соответственно словами «рисунок» и «таблица» и нумеруют последовательно в пределах каждой главы. На все таблицы и иллюстрации должны быть ссылки в тексте диссертации. Слова «рисунок», «таблица» в подписях к рисунку, таблице и в ссылках на них не сокращают.

Номер иллюстрации (таблицы) должен состоять из номера главы и порядкового номера иллюстрации (таблицы), разделенных точкой. Например: «рисунок 1.2» (второй рисунок первой главы),

«таблица 2.5» (пятая таблица второй главы). Если в главах диссертации приведено лишь по одной иллюстрации (таблице), то их нумеруют последовательно в пределах диссертации в целом, например: «рисунок 1», «таблица 3».

37. Иллюстрации должны быть выполнены с помощью компьютерной техники либо чернилами, тушью или пастой черного цвета на белой непрозрачной бумаге. Качество иллюстраций должно обеспечивать возможность их четкого копирования. Допускается использовать в качестве иллюстраций распечатки с приборов, а также иллюстрации в цветном исполнении.

В диссертации допускается использование как подлинных фотографий, так и распечаток цифровых фотографий. Фотоснимки размером меньше формата А4 должны быть наклеены на стандартные листы белой бумаги. На оборотной стороне каждой наклеиваемой иллюстрации проставляется номер страницы, на которую она наклеивается.

38. Иллюстрации, как правило, имеют наименование и пояснительные данные (подрисуночный текст), располагаемые по центру страницы. Пояснительные данные помещают под иллюстрацией, а со следующей строки – слово «Рисунок», номер и наименование иллюстрации, отделяя знаком тире номер от наименования. Точку в конце нумерации и наименование иллюстрации не ставят. Не допускается перенос слов в наименовании рисунка. Слово «Рисунок», его номер и наименование иллюстрации печатают полужирным шрифтом, причем слово «Рисунок», его номер, а также пояснительные данные к нему – уменьшенным на 1–2 пункта размером шрифта.

Например:



1 – станина со столом; 2 – уплотняемый шпон; 3 – направляющие линейки; 4 – плоские элементы с электронагревом

**Рис. 2.1. Принципиальная схема для уплотнения шпона**

39. Цифровой материал диссертации оформляют в виде таблиц. Каждая таблица должна иметь краткий заголовок, который состоит из слова «Таблица», ее порядкового номера и названия, отделенного от номера знаком тире. Заголовок следует помещать над таблицей слева, без абзацного отступа.



Например:

Таблица 3.17

**Характеристики процессов  
формирования волокон из гидратцеллюлозы**

<i>Головка</i>	Наименование показателей	Вид волокна		<i>Заголовки граф Подзаголовки граф</i>
		вискозное	«Камилон»	
	Максимальная фильтренная вытяжка, %	15–25	70–80	<i>Строки (горизонтальные ряды)</i>
	Температура осадительной ванны, °С	50	15–20	
Максимальная кратность вытягивания, %	100–200	20–50		
<i>Боковик (графа для заголовков)</i>		<i>Графы (колонки)</i>		

При оформлении таблиц необходимо руководствоваться следующими правилами:

– допускается применять в таблице шрифт на 1–2 пункта меньший, чем в тексте диссертации;

– не следует включать в таблицу графу «Номер по порядку». При необходимости нумерации показателей, включенных в таблицу, порядковые номера указывают в боковике таблицы непосредственно перед их наименованием;

– таблицу с большим количеством строк допускается переносить на следующий лист. При переносе части таблицы на другой лист ее заголовок указывают один раз над первой частью, слева над другими частями пишут слово «Продолжение». Если в диссертации несколько таблиц, то после слова «Продолжение» указывают номер таблицы, например: «Продолжение таблицы 1.2»;

– таблицу с большим количеством граф допускается делить на части и помещать одну часть под другой в пределах одной страницы, повторяя в каждой части таблицы боковик. Заголовок таблицы помещают только над первой частью таблицы, а над остальными пишут «Продолжение таблицы» или «Окончание таблицы» с указанием ее номера;

– таблицу с небольшим количеством граф допускается делить на части и помещать одну часть рядом с другой на одной странице, отделяя их друг от друга двойной линией и повторяя в каждой части головку таблицы. При большом размере головки допускается не повторять ее во второй и последующих частях,

заменяя ее соответствующими номерами граф. При этом графы нумеруют арабскими цифрами;

– если повторяющийся в разных строках графы таблицы текст состоит из одного слова, то его после первого написания допускается заменять кавычками; если из двух или более слов, то его заменяют словами «То же» при первом повторении, а далее – кавычками. Ставить кавычки вместо повторяющихся цифр, марок, знаков, математических, физических и химических символов не допускается. Если цифровые или иные данные в какой-либо строке таблицы не приводят, то в ней ставят прочерк;

– заголовки граф и строк следует писать с прописной буквы в единственном числе, а подзаголовки граф – со строчной, если они составляют одно предложение с заголовком, и с прописной, если они имеют самостоятельное значение. Допускается нумеровать графы арабскими цифрами, если необходимо давать ссылки на них по тексту диссертации;

– заголовки граф, как правило, записывают параллельно строкам таблицы. При необходимости допускается располагать заголовки граф параллельно графам таблицы.

Например:

Условия	Продолжительность облучения, сут.	Свободные клеточные элементы				
		Всего	макрофаги	нейтрофилы	лимфоциты	клетки эпителия
1	2	3	4	5	6	7

– головка таблицы отделяется линией от остальной части таблицы. Слева, справа и снизу таблица также ограничивается линиями. Горизонтальные и вертикальные линии, разграничивающие строки и графы таблицы, могут не проводиться, если это не затрудняет чтение таблицы;

– не допускается разделять заголовки и подзаголовки боковика и граф диагональными линиями;

– в случае прерывания таблицы и переноса ее части на следующую страницу в конце первой части таблицы нижняя, ограничивающая ее черта не проводится.

40. Формулы и уравнения в диссертации (если их более одной) нумеруют в пределах главы. Номер формулы (уравнения) состоит из номера главы и порядкового номера формулы (уравнения) в главе, разделенных точкой. Номера формул (уравнений)

пишут в круглых скобках у правого поля листа на уровне формулы (уравнения), например: «(3.1)» – первая формула третьей главы.

41. При оформлении формул и уравнений необходимо соблюдать следующие правила:

- формулы и уравнения следует выделять из текста в отдельную строку. Выше и ниже каждой формулы и уравнения оставляется по одной свободной строке;

- если формула или уравнение не умещаются в одну строку, они должны быть перенесены после знака равенства (=) или после знаков плюс (+), минус (-), умножения ( $\times$ ) и деления ( $:$ ). При этом повторяют знак в начале следующей строки;

- ссылки на формулы по тексту диссертации дают в скобках;

- пояснение значений символов и числовых коэффициентов, входящих в формулу или уравнение, следует приводить непосредственно под формулой или уравнением в той же последовательности, в какой они даны в формуле (уравнении). Значение каждого символа и числового коэффициента следует давать с новой строки. Первую строку пояснения начинают со слов «где» без двоеточия.

42. При необходимости следует давать пояснения или справочные данные к содержанию иллюстрации (таблицы) или к тексту в виде примечаний, которые приводят непосредственно под ними. Если примечание одно, то после слова «Примечание», написанного с абзацного отступа, ставится тире и с прописной буквы излагается примечание. В случае нескольких примечаний каждое из них печатается с новой строки с абзацного отступа и нумеруется арабскими цифрами.

Слово «Примечания» и их содержание печатаются шрифтом с размером на 1–2 пункта меньше размера шрифта основного текста.

43. Соискатель обязан давать ссылки на источники, материалы или отдельные результаты из которых приводятся в его диссертации или на идеях и выводах которых разрабатываются проблемы, задачи, вопросы, изучению которых посвящена диссертация. Такие ссылки дают возможность найти соответствующие источники и проверить достоверность цитирования, а также необходимую информацию об этом источнике (его содержание, язык, объем и другое). Если один и тот же материал переиздается неоднократно, то следует ссылаться на его последнее издание. На более ранние издания можно ссылаться лишь в тех случаях, когда в них есть нужный материал, не включенный в последние издания.

При описании в диссертации результатов, включенных в единоличные публикации соискателя, а также в публикации, на-

писанные им вместе с другими лицами, соискатель обязан давать ссылки и на такие публикации.

При использовании сведений из источника с большим количеством страниц соискатель должен указать в том месте диссертации, где дается ссылка на этот источник, номера страниц, иллюстраций, таблиц, формул, уравнений, на которые дается ссылка в диссертации. Например: «[14, с. 26, таблица 2]» (здесь 14 – номер источника в библиографическом списке, 26 – номер страницы, 2 – номер таблицы).

Ссылки на источники в тексте диссертации осуществляются путем приведения номера в соответствии с библиографическим списком. Номер источника по списку заключается в квадратные скобки или помещается между двумя косыми чертами.

44. Сведения об использованных в диссертации источниках приводятся в разделе «Библиографический список», включающем подразделы «Список использованных источников» и «Список публикаций соискателя».

«Список использованных источников» и «Список публикаций соискателя» формируются в порядке появления ссылок в тексте диссертации либо в алфавитном порядке фамилий первых авторов и (или) заглавий.

В списке использованных источников сведения об источниках нумеруют арабскими цифрами, а в списке публикаций соискателя – арабскими цифрами, которые через тире дополняются буквой «А» («авторская»).

Например: «1-А Кузнецов, О.П. Конструкционные особенности...».

Сведения об источниках печатают с абзацного отступа, после номера точку не ставят. Содержание сведений об источниках должно соответствовать примерам согласно приложению. *Объем статьи оценивается в авторских листах: один авторский лист соответствует 40000 печатных знаков, включая пробелы между словами, или 3000 кв. см отпечатанного графического материала.*

45. Раздел «Приложения» оформляют в конце рукописи либо в виде отдельной части (книги), располагая их в порядке появления ссылок в тексте диссертации. Не допускается включение в приложение материалов, на которые отсутствуют ссылки в тексте диссертации.

Каждое приложение следует начинать с нового листа с указанием в правом верхнем углу слова «ПРИЛОЖЕНИЕ», напечатанного прописными буквами. Приложение должно иметь содержательный заголовок, который размещается с новой строки по центру листа с прописной буквы.

Приложения обозначают заглавными буквами русского алфавита, начиная с А (за исключением букв Ё, З, Й, О, Ч, Ъ, Ы, Ь), например: «ПРИЛОЖЕНИЕ А», «ПРИЛОЖЕНИЕ Б», «ПРИЛОЖЕНИЕ В». Допускается обозначать приложения буквами латинского алфавита, за исключением букв I и O.

При оформлении приложений отдельной частью (книгой) на титульном листе под названием диссертации печатают прописными буквами слово «ПРИЛОЖЕНИЯ».

Текст каждого приложения при необходимости может быть разделен на разделы и подразделы, которые нумеруются в пределах каждого приложения, при этом перед номером раздела (подраздела) ставится буква, соответствующая обозначению приложения (например: А1.2 – второй подраздел первого раздела приложения А). Так же нумеруются в приложении иллюстрации, таблицы, формулы и уравнения.

### **1.5. Научные публикации**

Правила оформления статей представлены в соответствии с Постановлением Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 22.02.2006 г., № 2 (Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь 20 марта 2006 г., № 41, 7/603)<sup>2</sup>.

55. Научная статья – законченное и логически цельное произведение, посвященное конкретному вопросу, входящему в круг проблем (задач), решаемых соискателем при выполнении диссертационного исследования. Научная статья раскрывает наиболее значимые результаты, полученные соискателем, требующие развернутого изложения и аргументации.

56. Объем научной статьи, учитываемой в качестве публикации по теме *кандидатской или докторской* диссертации, должен составлять, как правило, не менее 0,35 авторского листа (14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие), что соответствует 8 страницам текста, напечатанного через 2 интервала между строками (5,5 страницы в случае печати через 1,5 интервала). *Для магистерских диссертаций, дипломных и курсовых работ таких ограничений нет.*

57. Научные статьи, публикуемые в изданиях, включенных в перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований, должны включать, как правило, следующие элементы:

- аннотацию;
- фамилию и инициалы автора (авторов) статьи, ее название;
- введение;

---

<sup>2</sup> Нумерация приведена как в первоисточнике.

основную часть, включающую графики и другой иллюстративный материал (при их наличии);

заключение, завершаемое четко сформулированными выводами;

список цитированных источников;

дату поступления статьи в редакцию.

Дополнительно в соответствии с требованиями редакций научных изданий в структуру статьи могут быть также включены:

индекс УДК;

перечень принятых обозначений и сокращений;

аннотация на английском языке.

58. Название статьи должно отражать основную идею выполненного исследования, быть по возможности кратким, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

Аннотация (100–150 слов) должна ясно излагать содержание статьи и быть пригодной для опубликования в аннотациях к журналам отдельно от статьи.

59. В разделе «Введение» должен быть дан краткий обзор литературы по данной проблеме, указаны не решенные ранее вопросы, сформулирована и обоснована цель работы и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Во введении следует избегать специфических понятий и терминов. Содержание введения должно быть понятным также и неспециалистам в соответствующей области.

Анализ источников, использованных при подготовке научной статьи, должен свидетельствовать о знании автором (авторами) статьи научных достижений в соответствующей области. В этой связи обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

60. Основная часть статьи должна содержать описание методики, аппаратуры, объектов исследования и подробно освещать содержание исследований, проведенных автором (авторами). Полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

Основная часть статьи может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками) и содержать анализ последних публикаций, посвященных решению вопросов, относящихся к данным подразделам.

Иллюстрации, формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте.

61. В разделе «Заключение» должны быть в сжатом виде сформулированы основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения. При необходимости должны быть также указаны границы применимости полученных результатов.

62. Список цитированных источников оформляется по тем же правилам, что и в тексте диссертации. Список располагается в конце текста, ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок (например: [1], [2]).

### 1.6. Оформление списка библиографических источников

Правила оформления списка представлены в соответствии с Постановлением Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 22.02.2006 г., № 2; Приложение 2. (Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь 20 марта 2006 г., № 41, 7/603)<sup>3</sup>.

#### а) Примеры описания самостоятельных изданий

Характеристика источника	Пример оформления
Один, два или три автора	Котаў, А.І. Гісторыя Беларусі і сусветная цывілізацыя / А.І. Котаў. – 2-е выд. – Мінск: Энцыклапедыкс, 2003. – 168 с.
	Шотт, А.В. Курс лекций по частной хирургии / А.В. Шотт, В.А. Шотт. – Минск: Асар, 2004. – 525 с.
	Чикатуева, Л.А. Маркетинг: учеб. пособие / Л.А. Чикатуева, Н.В. Третьякова; под ред. В.П. Федько. – Ростов н/Д: Феникс, 2004. – 413 с.
	Дайнеко, А.Е. Экономика Беларуси в системе всемирной торговой организации / А.Е. Дайнеко, Г.В. Забавский, М.В. Василевская; под ред. А.Е. Дайнеко. – Минск: Ин-т аграр. экономики, 2004. – 323 с.
Четыре и более авторов	Культурология: учеб. пособие для вузов / С.В. Лапина [и др.]; под общ. ред. С.В. Лапиной. – 2-е изд. – Минск: ТетраСистемс, 2004. – 495 с.
	Комментарий к Трудовому кодексу Республики Беларусь / И.С. Андреев [и др.]; под общ. ред. Г.А. Василевича. – Минск: Амалфея, 2000. – 1071 с.
	Основы геологии Беларуси / А.С. Махнач [и др.]; НАН Беларуси, Ин-т геол. наук; под общ. ред. А.С. Махнача. – Минск, 2004. – 391 с.
Коллективный автор	Сборник нормативно-технических материалов по энергосбережению / Ком. по энергоэффективности при Совете Министров Респ. Беларусь; сост. А.В. Филипович. – Минск: Лоранж-2, 2004. – 393 с.

<sup>3</sup> Таблица приведена как в первоисточнике.

	<p>Национальная стратегия устойчивого социально-экономического развития Республики Беларусь на период до 2020 г. / Нац. комис. по устойчивому развитию Респ. Беларусь; редкол.: Л.М. Александрович [и др.]. – Минск: Юнипак, 2004. – 202 с.</p> <p>Военный энциклопедический словарь / М-во обороны Рос. Федерации, Ин-т воен. истории; редкол.: А.П. Горкин [и др.]. – М.: Большая рос. энцикл.: РИПОЛ классик, 2002. – 1663 с.</p>
Многотомное издание	<p>Гісторыя Беларусі: у 6 т. / рэдкал.: М. Касцюк (гал. рэд.) [і інш.]. – Мінск: Экаперспектыва, 2000–2005. – 6 т.</p>
	<p>Гісторыя Беларусі: у 6 т. / рэдкал.: М. Касцюк (гал. рэд.) [і інш.]. – Мінск: Экаперспектыва, 2000–2005. – Т. 3: Беларусь у часы Рэчы Паспалітай (XVII–XVIII ст.) / Ю. Бохан [і інш.]. – 2004. – 343 с.; Т. 4: Беларусь у складзе Расійскай імперыі (канец XVIII – пачатак XX ст.) / М. Біч [і інш.]. – 2005. – 518 с.</p>
	<p>Багдановіч, М. Поўны збор твораў: у 3 т. / М. Багдановіч. – 2-е выд. – Мінск: Беларус. навука, 2001. – 3 т.</p>
Сборник статей, трудов	<p>Информационное обеспечение науки Беларуси: к 80-летию со дня основания ЦНБ им. Я. Коласа НАН Беларуси: сб. науч. ст. / НАН Беларуси, Центр. науч. б-ка; редкол.: Н.Ю. Березкина (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2004. – 174 с.</p>
	<p>Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости: сб. науч. ст. / НАН Беларуси, Ин-т биохимии; науч. ред. В.В. Лелевич. – Гродно, 2004. – 223 с.</p>
Материалы конференций	<p>Глобализация, новая экономика и окружающая среда: проблемы общества и бизнеса на пути к устойчивому развитию: материалы 7 Междунар. конф. Рос. о-ва экол. экономики, Санкт-Петербург, 23–25 июня 2005 г. / С.-Петерб. гос. ун-т; под ред. И.П. Бойко [и др.]. – СПб., 2005. – 395 с.</p>
	<p>Правовая система Республики Беларусь: состояние, проблемы, перспективы развития: материалы V межвуз. конф. студентов, магистрантов и аспирантов, Гродно, 21 апр. 2005 г. / Гродн. гос. ун-т; редкол.: О.Н. Толочко (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2005. – 239 с.</p>
Инструкция	<p>Инструкция о порядке совершения операций с банковскими пластиковыми карточками: утв. Правлением Нац. банка Респ. Беларусь 30.04.04: текст по состоянию на 1 дек. 2004 г. – Минск: Дикта, 2004. – 23 с.</p>
	<p>Инструкция по исполнительному производству: утв. М-вом юстиции Респ. Беларусь 20.12.04. – Минск: Дикта, 2005. – 94 с.</p>
Учебно-методические материалы	<p>Горбатов, Н.А. Общая теория государства и права в вопросах и ответах: учеб. пособие / Н.А. Горбатов; М-во внутр. дел Респ. Беларусь, Акад. МВД. – Минск, 2005. – 183 с.</p>



	Использование креативных методов в коррекционно-развивающей работе психологов системы образования: учеб.-метод. пособие: в 3 ч. / Акад. последиплом. образования; авт.-сост. Н.А. Сакович. – Минск, 2004. – Ч. 2: Сказкотерапевтические технологии. – 84 с.
	Корнеева, И.Л. Гражданское право: учеб. пособие: в 2 ч. / И.Л. Корнеева. – М.: РИОР, 2004. – Ч. 2. – 182 с.
	Философия и методология науки: учеб.-метод. комплекс для магистратуры / А.И. Зеленков [и др.]; под ред. А.И. Зеленкова. – Минск: Изд-во БГУ, 2004. – 108 с.
Каталог	Каталог жесткокрылых (Coleoptera, Insecta) Беларуси / О.Р. Александрович [и др.]; Фонд фундам. исслед. Респ. Беларусь. – Минск, 1996. – 103 с.
	Памятные и инвестиционные монеты России из драгоценных металлов, 1921–2003: каталог-справочник / ред.-сост. Л.М. Пряжникова. – М.: ИнтерКрим-пресс, 2004. – 462 с.
Авторское свидетельство	Инерциальный волнограф: а. с. 1696865 СССР, МКИ5 G 01 C 13/00 / Ю.В. Дубинский, Н.Ю. Мордашова, А.В. Ференц; Казан. авиац. ин-т. – № 4497433; заявл. 24.10.88; опубл. 07.12.91 // Открытия. Изобрет. – 1991. – № 45. – С. 28.
Патент	Способ получения сульфокатионита: пат. 6210 Респ. Беларусь, МПК7 C 08 J 5/20, C 08 G 2/30 / Л.М. Ляхнович, С.В. Покровская, И.В. Волкова, С.М. Ткачев; заявитель Полоц. гос. ун-т. – № а 0000011; заявл. 04.01.00; опубл. 30.06.04 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2004. – № 2. – С. 174.
Стандарт	Безопасность оборудования. Термины и определения: ГОСТ ЕН 1070–2003. – Введ. 01.09.04. – Минск: Межгос. совет по стандартизации, метрологии и сертификации: Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2004. – 21 с.
Отчет о НИР	Разработка и внедрение диагностикума аденовирусной инфекции птиц: отчет о НИР (заключ.) / Всесоюз. науч.-исслед. ветеринар. ин-т птицеводства; рук. темы А.Ф. Прохоров. – М., 1989. – 14 с. – № ГР 01870082247.
	Комплексное (хирургическое) лечение послеоперационных и рецидивных вентральных грыж больших и огромных размеров: отчет о НИР / Гродн. гос. мед. ин-т; рук. В.М. Колтонюк. – Гродно, 1994. – 42 с. – № ГР 1993310.
Автореферат диссертации	Иволгина, Н.В. Оценка интеллектуальной собственности: на примере интеллектуальной промышленной собственности: автореф. дис. ... канд. экон. наук: 08.00.10; 08.00.05 / Н.В. Иволгина; Рос. экон. акад. – М., 2005. – 26 с.
	Шакун, Н.С. Кірыла-Мяфодзіеўская традыцыя на Тураўшчыне: (да праблемы лакальных тыпаў старажытнаславянскай мовы): аўтарэф. дыс. ... канд. філал. навук: 10.02.03 / Н.С. Шакун; Беларус. дзярж. ун-т. – Мінск, 2005. – 16 с.

Диссертация	Анисимов, П.В. Теоретические проблемы правового регулирования защиты прав человека: дис. ... д-ра юрид. наук: 12.00.01 / П.В. Анисимов. – Н. Новгород, 2005. – 370 л.
	Лук’янюк, Ю.М. Сучасная беларуская філасофская тэрміналогія: (семантычныя і структурныя аспекты): дыс. ... канд. філал. навук: 10.02.01 / Ю.М. Лук’янюк. – Мінск, 2003. – 129 л.
Электронные ресурсы	Театр [Электронный ресурс]: энциклопедия: по материалам изд-ва “Большая российская энциклопедия”: в 3 т. – Электрон. дан. (486 Мб). – М.: Кордис & Медиа, 2003. – Электрон. опт. диски (CD-ROM): зв., цв. – Т. 1: Балет. – 1 диск; Т. 2: Опера. – 1 диск; Т. 3: Драма. – 1 диск.
	Регистр СНГ – 2005: промышленность, полиграфия, торговля, ремонт, транспорт, строительство, сельское хозяйство [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (14 Мб). – Минск: Комлев И.Н., 2005. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
Ресурсы удаленного доступа	Национальный Интернет-портал Республики Беларусь [Электронный ресурс] / Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2005. – Режим доступа: <a href="http://www.pravo.by">http://www.pravo.by</a> . – Дата доступа: 25.01.2006.
	Proceeding of mini-symposium on biological nomenclature in the 21 <sup>st</sup> centry [Electronic resource] / Ed. J.L. Reveal. – College Park M.D., 1996. – Mode of access: <a href="http://www.inform.ind.edu/PBIO/brum.html">http://www.inform.ind.edu/PBIO/brum.html</a> . – Date of access: 14.09.2005.

б) примеры описания составных частей изданий

Характеристика источника	Пример оформления
Составная часть книги	Михнюк, Т.Ф. Правовые и организационные вопросы охраны труда / Т.Ф. Михнюк // Безопасность жизнедеятельности: учеб. пособие / Т.Ф. Михнюк. – 2-е изд., испр. и доп. – Минск, 2004. – С. 90–101.
	Пивоваров, Ю.П. Организация мер по профилактике последствий радиоактивного загрязнения среды в случае радиационной аварии / Ю.П. Пивоваров, В.П. Михалев // Радиационная экология: учеб. пособие / Ю.П. Пивоваров, В.П. Михалев. – М., 2004. – С. 117–122.
	Ескина, Л.Б. Основы конституционного строя Российской Федерации / Л.Б. Ескина // Основы права: учебник / М.И. Абдулаев [и др.]; под ред. М.И. Абдулаева. – СПб., 2004. – С. 180–193.
Глава из книги	Бунакова, В.А. Формирование русской духовной культуры / В.А. Бунакова // Отечественная история: учеб. пособие / С.Н. Полторака [и др.]; под ред. Р.В. Дегтяревой, С.Н. Полторака. – М., 2004. – Гл. 6. – С. 112–125.

	Николаевский, В.В. Проблемы функционирования систем социальной защиты в 1970–1980 годах / В.В. Николаевский // Система социальной защиты: теория, методика, практика / В.В. Николаевский. – Минск, 2004. – Гл. 3. – С. 119–142.
Составная часть сборника	Коморовская, О. Готовность учителя-музыканта к реализации личностно ориентированных технологий начального музыкального образования / О. Коморовская // Музыкальная наука и современность: взгляд молодых исследователей: сб. ст. аспирантов и магистрантов БГАМ / Белорус. гос. акад. музыки; сост. и науч. ред. Е.М. Гороховик. – Минск, 2004. – С. 173–180.
	Войтешенко, Б.С. Сущностные характеристики экономического роста / Б.С. Войтешенко, И.А. Соболенко // Беларусь и мировые экономические процессы: науч. тр. / Белорус. гос. ун-т; под ред. В.М. Руденкова. – Минск, 2003. – С. 132–144.
	Скуратов, В.Г. Отдельные аспекты правового режима закладных в постсоветских государствах / В.Г. Скуратов // Экономико-правовая парадигма хозяйствования при переходе к цивилизованному рынку в Беларуси: сб. науч. ст. / Ин-т экономики НАН Беларуси, Центр исслед. инфраструктуры рынка; под науч. ред. П.Г. Никитенко. – Минск, 2004. – С. 208–217.
	Якіменка, Т.С. Аб песенна-эпічнай традыцыі ў музычным фальклоры беларусаў / Т.С. Якіменка // Беларуская музыка: гісторыя і традыцыі: зб. навук. арт. / Беларус. дзярж. акад. музыкі; склад. і навук. рэд. В.А. Антаневіч. – Мінск, 2003. – С. 47–74.
Статьи из сборников тезисов докладов и материалов конференций	Пеньковская, Т.Н. Роль и место транспортного комплекса в экономике Республики Беларусь / Т.Н. Пеньковская // География в XXI веке: проблемы и перспективы: материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 70-летию геогр. фак. БГУ, Минск, 4–8 окт. 2004 г. / Белорус. гос. ун-т, Белорус. геогр. о-во; редкол.: Н.И. Пирожник [и др.]. – Минск, 2004. – С. 163–164.
	Ермакова, Л.Л. Полесский караванный обряд в пространстве культуры / Л.Л. Ермакова // Тураўскія чытанні: матэрыялы рэсп. навук.-практ. канф., Гомель, 4 верас. 2004 г. / НАН Беларусі, Гомел. дзярж. ун-т; рэдкал.: У.І. Коваль [і інш.]. – Гомель, 2005. – С. 173–178.
	Бочков, А.А. Единство правовых и моральных норм как условие построения правового государства и гражданского общества в Республике Беларусь / А.А. Бочков, Е.Ф. Ивашкевич // Право Беларуси: истоки, традиции, современность: материалы междунар. науч.-практ. конф., Полоцк, 21–22 мая 2004 г.: в 2 ч. / Полоц. гос. ун-т; редкол.: О.В. Мартышин [и др.]. – Новополоцк, 2004. – Ч. 1. – С. 74–76.

Статья из продолжающегося издания	Ипатьев, А.В. К вопросу о разработке средств защиты населения в случае возникновения глобальных природных пожаров / А.В. Ипатьев, А.В. Василевич // Сб. науч. тр. / Ин-т леса НАН Беларуси. – Гомель, 2004. – Вып. 60: Проблемы лесоведения и лесоводства на радиоактивно загрязненных землях. – С. 233–238.
Статья из журнала	<p>Бандаровіч, В.У. Дзеясловы і іх дэрываты ў старабеларускай музычнай лексіцы / В.У. Бандаровіч // Весн. Беларус. дзярж. ун-та. Сер. 4, Філалогія. Журналістыка. Педагагіка. – 2004. – № 2. – С. 49–54.</p> <p>Влияние органических компонентов на состояние радиоактивного стронция в почвах / Г.А. Соколик [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2005. – № 1. – С. 74–81.</p> <p>Масляніцына, І. Жанчыны ў гісторыі Беларусі / І. Масляніцына, М. Багадзяж // Беларус. гіст. часоп. – 2005. – № 4. – С. 49–53.</p>
	<p>Boyle, A.E. Globalising environmental liability: the interplay of national and international law / A.E. Boyle // J. of environmental law. – 2005. – Vol. 17, № 1. – P. 3–26.</p> <p>Caesium-137 migration in Hungarian soils / P. Szerbin [et al.] // Science of the Total Environment. – 1999. – Vol. 227, № 2/3. – P. 215–227.</p>
Статья из энциклопедии, словаря	<p>Аляхновіч, М.М. Электронны мікраскоп / М.М. Аляхновіч // Беларус. энцыкл.: у 18 т. – Мінск, 2004. – Т. 18, кн. 1. – С. 100.</p> <p>Витрувий // БСЭ. – 3-е изд. – М., 1971. – Т. 5. – С. 359–360.</p> <p>Дарашэвіч, Э.К. Храптовіч І.І. / Э.К. Дарашэвіч // Мысліцелі і асветнікі Беларусі (X–XIX стагоддзі): энцыкл. давед. / склад. Г.А. Маслыка; гал. рэд. Б.І. Сачанка. – Мінск, 1995. – С. 326–328.</p> <p>Мясникова, Л.А. Природа человека / Л.А. Мясникова // Современный философский словарь / под общ. ред. В.Е. Кемерова. – М., 2004. – С. 550–553.</p>
Составная часть CD-ROMа	Введенский, Л.И. Судьбы философии в России / Л.И. Введенский // История философии [Электронный ресурс]: собрание трудов крупнейших философов по истории философии. – Электрон. дан. и прогр. (196 Мб). – М., 2002. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM): зв., цв.
Ресурсы удаленного доступа	<p>Козулько, Г. Беловежская пуца должна стать мировым наследием / Г. Козулько // Беловежская пуца – XXI век [Электронный ресурс]. – 2004. – Режим доступа: <a href="http://bp21.org.by/ru/art/a041031.html">http://bp21.org.by/ru/art/a041031.html</a>. – Дата доступа: 02.02.2006.</p> <p>Лойша, Д. Республика Беларусь после расширения Европейского союза: шенгенский процесс и концепция соседства / Д. Лойша // Белорус. журн. междунар. права [Электронный ресурс]. – 2004. – № 2. – Режим доступа: <a href="http://www.cenunst.bsu.by/journal/2004.2/01.pdf">http://www.cenunst.bsu.by/journal/2004.2/01.pdf</a>. – Дата доступа: 16.07.2005.</p>

	Статут Международного Суда // Организация Объединенных Наций [Электронный ресурс]. – 2005. – Режим доступа: <a href="http://www.un.org/russian/documen/basicdoc/statut.htm">http://www.un.org/russian/documen/basicdoc/statut.htm</a> . – Дата доступа: 10.05.2005.
	Cryer, R. Prosecuting international <a href="#">crimes</a> : <a href="#">selectivity</a> and the international criminal law <a href="#">regime</a> / R. Cryer // Peace Palace Library [Electronic resource]. – The Hague, 2003–2005. – Mode of access: <a href="http://catalogue.ppl.nl/DB=1/SET=3/TTL=11/SHW?FRST=12">http://catalogue.ppl.nl/DB=1/SET=3/TTL=11/SHW?FRST=12</a> . – Date of access: 04.01.2006.

### 1.7. Набор и оформление текстового документа в MS Word (по И.Б. Катракову, 2005)

Откройте новый документ, запустив *Microsoft Word* (95/97/2000/XP). По умолчанию при загрузке документа *MS Word* использует шаблон *Normal.dot*, если не указан другой шаблон. Поэтому лучше сразу настроить его для удобства Вашей работы. На рис. 1.1 приведен пример окна документа, где указан необходимый набор иконок панели инструментов. Для минимального набора инструментов не хватает несколько иконок (на рис. 1.1 обведены лассо).

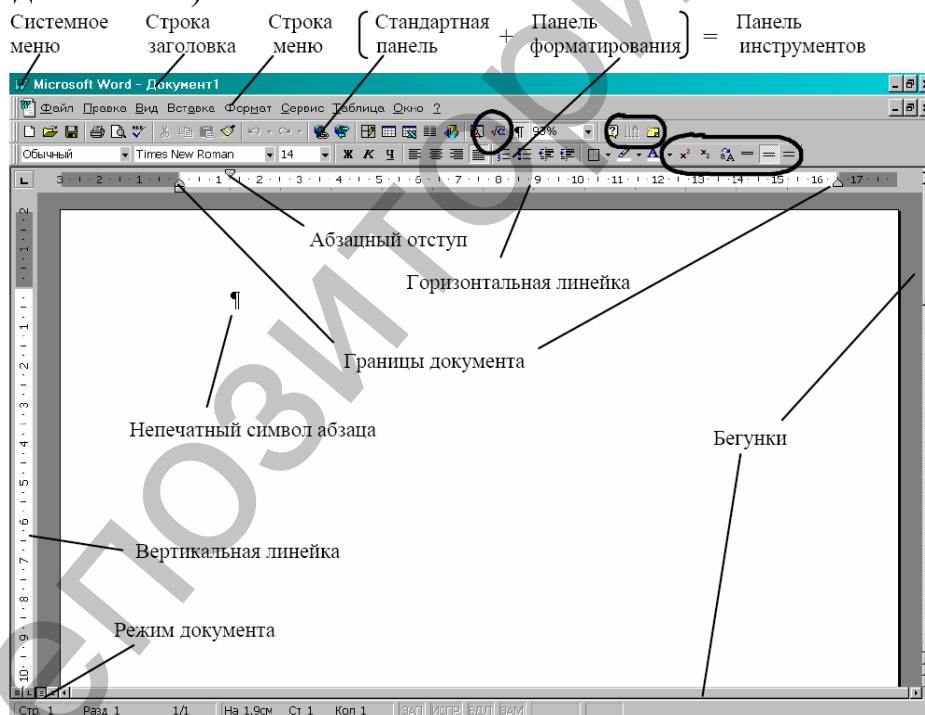







Рис. 1.1. Пример окна новой страницы *MS Word*.

Команды вставки:  – это иконка редактора формул *MS Equation Editor*, позволяющего помещать формулы в текст документа;  – команда «Примечание» добавляет Ваши или чьи-то комментарии и примечания в текущую позицию документа. Команды форматирования: поворот направления текста в ячейке

таблицы так, чтобы его можно было читать снизу вверх или сверху вниз ; верхний  $x^2$  и нижний  $x_2$  индексы; чтобы все буквы из строчных преобразовать в прописные, используют кнопку иконки , а интервал между строками внутри абзаца устанавливают с помощью группы кнопок . Если их нет на панели инструментов, то можно добавить кнопки следующим образом:

- в области панели инструментов нажмите правую кнопку мыши и выберите команду **Настройка...** (или в меню **Сервис** → **Настройка...**);
- затем – вкладку **Команды**;
- выберите нужную категорию кнопки из списка **Категории** (Вставка, Формат и т. д.);
- чтобы добавить кнопку, выберите из списка **Команды**;
- перетащите нужную команду из списка **Команды** на панель инструментов (нажмите левую кнопку мыши и, не отпуская, перетащите иконку команды).

После закрытия документа и выхода из *MS Word* система запросит сохранить шаблон Normal.dot, после чего при загрузке все иконки будут отображены на панели инструментов.

Следующим шагом должно быть установление параметров страницы (в меню **Файл** → **Параметры страницы...**). Во вкладке **Размер бумаги** установить формат А4 с ориентацией книжная с параметрами **Ко всему документу**.

Затем во вкладке **Поля** установить отступы по краям – 2, 2, 3, 1,5 см, соответственно; от края до колонтитула в 1 см. Также обратить внимание на применить: **Ко всему документу** (рис. 1.2).

(При нажатии на кнопку **По умолчанию** все изменения при подтверждении будут занесены в файл Normal.dot). В завершении всех операций кнопка **ОК**.

Далее обратимся к таблице стилей. В меню **Формат** находим пункт **Стили и форматирование ...**. В главном окне появляется новая одноименная панель. В этой панели следует выбрать интересующий стиль (например, **Обычный**), нажать на нем правую кнопку мыши и выбрать элемент меню **Изменить**. В появившемся новом окне можно провести необходимые изменения (рис. 1.3).

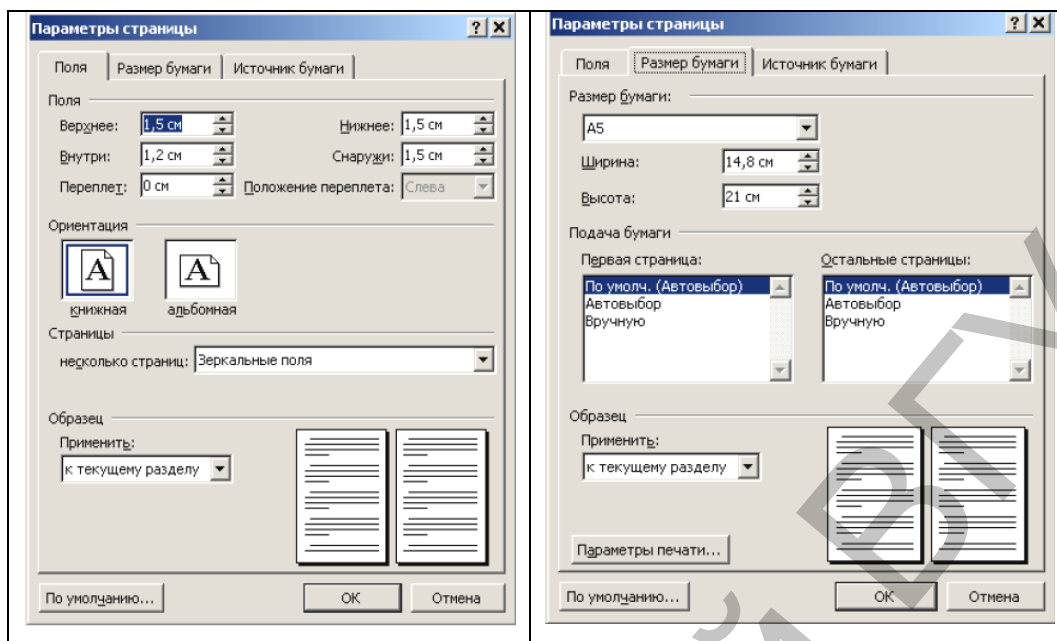


Рис. 1.2. Параметры страницы.

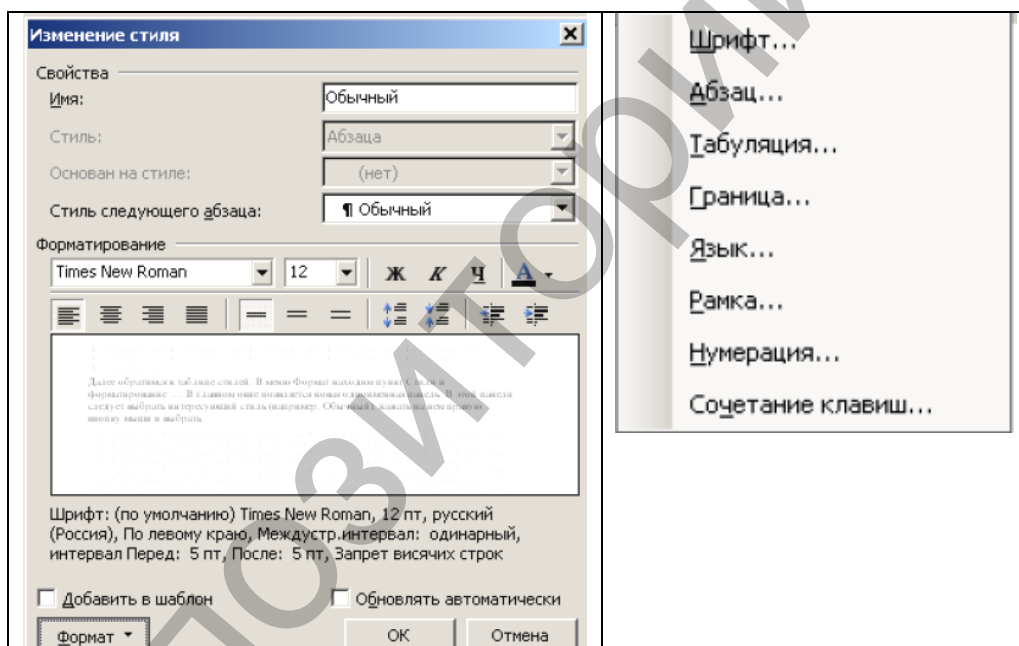


Рис. 1.3. Оформление стиля.

Если какие-то параметры не удовлетворяют, то их необходимо изменить. В основном окне можно произвести некоторые основные изменения, относящиеся к свойствам шрифтов и абзаца. Более подробные изменения можно сделать, нажав на кнопку **Формат** (рис. 1.3).

При необходимости для улучшения вида документа можно использовать автоматический перенос. Для этого необходимо выбрать меню **Сервис** → **Язык** → **Расстановка переносов...** Установите флажки **автоматическая расстановка переносов слов** в документе и **Переносы в словах из ПРОПИСНЫХ**

**БУКВ.** Ширина зоны переноса слов оставить **0,63** см, а в разделе Максимальное число последовательных переносов – **нет**. Затем для сохранения изменений нажмите кнопку **ОК**. Также необходимо проверить установку языка **Сервис** → **Язык** → **Выбрать язык...** → **Русский** (по умолчанию с сохранением в файл Normal.dot).

Создав стиль Обычный, Вы начинаете набор текста. Для визуализации или редактирования лучше включить клавишу иконки **Непечатные символы ¶**. Это дает возможность увидеть скрытый непечатный текст, например, лишние пробелы, вставленные между словами, пробелы, вставленные вместо табуляции, выравнивание табуляцией, разрыв страницы и др. Например, для окончания абзаца – знак абзаца ¶, для обозначения табуляции используются стрелки →, для пробелов – точки ···, а для разрыва раздела страница – двойная линия =====.

Из эргономических требований также необходимо выбрать масштаб текста, обычно в соответствии с размером монитора. Для этого выбрать **Масштаб По ширине страницы** (рис. 1.4), что позволяет видеть страницу в целом и не прибегать к нижнему бегунку, затрачивая драгоценное время и нервы.

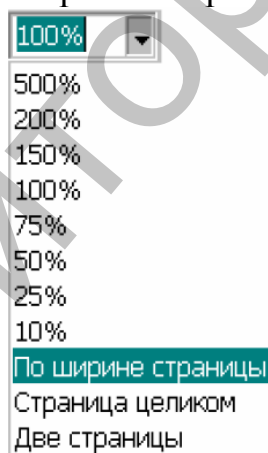



Рис. 1.4. Выбор масштаба изображения.

Если текст выглядит, на Ваш взгляд, мелким, то в этом случае можно увеличить шрифт до приемлемого (*MS Word* позволяет это сделать с шагом в один процент). Передвигаться по тексту можно либо с помощью правого бегунка, захватив его левой кнопкой мыши, либо применяя колесо прокрутки на мышке на себя или от себя. Причем в первом случае при использовании различных стилей обработки текста будет пробегать информационная табличка с указанием страницы и раздела, главы, пункта и т.д., что очень удобно при навигации в документе.

Иногда при выделении в тексте какой-нибудь строки при нажатии **Enter** текстовый процессор задает стиль *Заголовок* (осо-



бенно при оформлении титульного листа). Чтобы отменить данное действие с сохранением оформления, нажмите на стандартной панели клавишу .

При наборе текста необходимо соблюдать следующие требования:

– ставить один пробел – до (кроме начала абзаца) и после слова или союза, перед открывающейся и после закрывающейся скобкой, после знаков препинания;

– не ставится пробел – перед знаками препинания (кроме тире), после открывающейся и перед закрывающейся скобкой, перед знаками, поднятыми над строкой;

– в словосочетаниях используется знак неразрывного дефиса «-» без пробелов;

– при постановке короткого тире «-» в тексте обычно срабатывает автомат (до и после тире ставится пробел), его можно проставить и вручную сочетанием клавиш **<Ctrl+Num-** (дополнительной клавиатуры);

– цифровые значения от единиц измерения при переносе строк отрывать нельзя, для этого ставится непечатный символ «неразрывный пробел °» сочетанием клавиш **<Ctrl+Shift+Пробел>**;

– принудительный перенос в словах проставляется сочетанием клавиш **<Ctrl+->** (основной клавиатуры);

– принудительный перенос на новую строку в тексте или в заголовке осуществляют сочетанием клавиш **<Shift+Enter>**;

– создать новую страницу (разрыв страницы) можно, применив сочетание клавиш **<Ctrl+Enter>**;

– если текст абзаца заканчивается несколькими висячими буквами, то его можно или уплотнить или разрядить, щелкнув по абзацу два раза левой кнопкой мыши или выделив фрагмент, нажмите правую кнопку мыши **Шрифт** → **Интервал** → **Уплотненный** → на 0,1–0,3 пт (не более);



– начало абзаца на последней строке страницы или окончание его на новой странице также не смотрится, поэтому предыдущий (или выше) или данный абзац необходимо уплотнить или разрядить, осуществив операции как в предыдущем подпункте;

– специальные символы лучше брать из гарнитуры (шрифта) **Symbol** (**Вставка** → **Символ...** → **Шрифт** → **Symbol**). Для быстрого ввода любых символов можно назначить быстрые клавиши, например, символ градуса можно вывести сочетанием клавиш **<Ctrl+Alt+O>**.

Стиль текущего текста отображается в окне **Стили и Форматирование** (активируется справа в главном окне при выборе соответствующего элемента в меню **Формат** или нажатии кнопки

**A** на панели инструментов). Набрав заголовок, он отобразится как исходный стиль – Обычный. Выделите заголовок, нажав два раза на левую кнопку мыши, и примените Стиль (например, **Заголовок 1**). Если требования к стилю другие, его необходимо отредактировать, как написано в начале раздела. Требования к заголовкам приведены в Приложении. При встрече с аналогичным типом заголовков (например, *Заголовок 1*) теперь остается только выделить его и указать стиль на панели форматирования (*Заголовок 1*). Один нюанс – когда расстояние между заголовком и текстом отступ 18 пт, а между заголовками – 9 пт. Поэтому во втором случае приходится вручную переопределять отступ. Для этого необходимо щелкнуть по заголовку правой кнопкой мыши, выбрать **Абзац** и установить **Интервал после** в 9 пт, а в нижнем заголовке аналогично проставить **Интервал до** в 0 пт.

Для того чтобы Заголовок автоматически начинался с новой страницы и в нем не было переносов, необходимо в соответствующем стиле поставить соответственно флажки во вкладке **Положение на странице** (рис. 1.5, слева). При необходимости начать раздел с новой страницы можно и с помощью операции разрыва страницы (**Вставка** → **Разрыв...** → **Новый раздел**) и поставить флажок **Со следующей страницы** (рис. 1.5, справа).

Чтобы длинный заголовок смотрелся эстетично, перенос слов лучше осуществлять таким образом, чтобы первая строка была длиннее последующих, и окончание строки не заканчивалось союзом. При этом выравнивание осуществлять по левому краю (заранее задать в стиле заголовка). В случае, когда страница заканчивается подзаголовком, необходимо его перенести на новую страницу. При написании данного стиля установите флажок в положении **Не отрывать от следующего** (рис. 1.5, слева). Для создания подпунктов вставьте курсор в место начала списка с абзаца, введите символ короткого тире и набирайте текст. С вводом нового абзаца *MS Word* предложит автоматически **Список Маркированный**. Можно также сначала ввести текст подпунктов, выделить его и нажать иконку клавиши **Маркированный список** . Аналогично создают нумерованный список, используя иконку клавиши **Нумерованный список** .

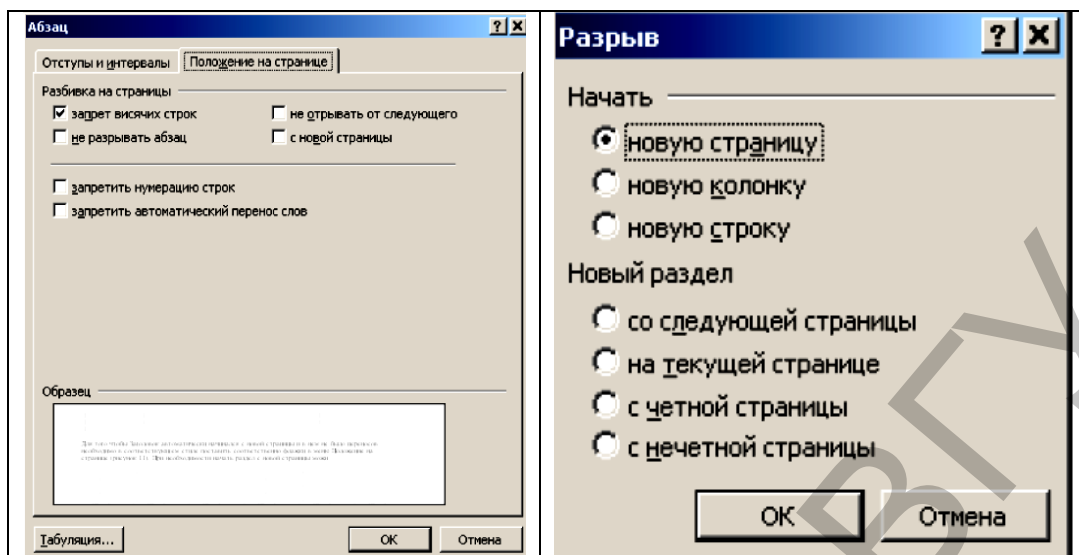



Рис. 1.5. Положение заголовка на странице (слева);  
Установка разрыва страницы (справа).

Для внесения в текст уравнения или формулы необходимо установить курсор в место вставки и запустить **Редактор формул**, нажав иконку . Редактор формул откроется, вставит рамку в место расположения курсора и предоставит панель кнопок с шаблонами (рис. 1.6).

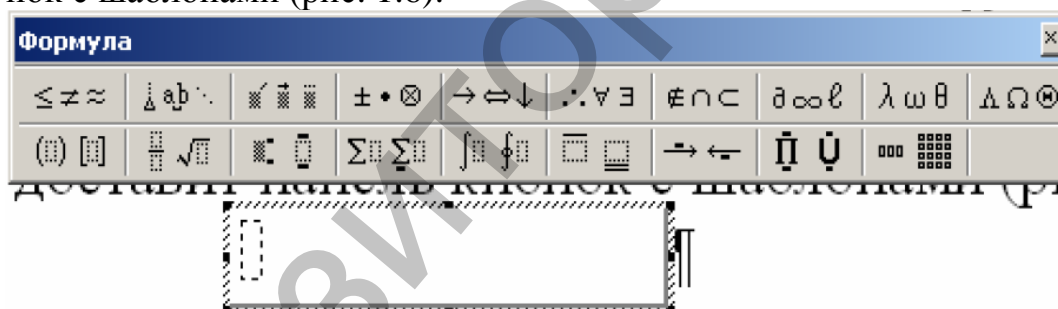


Рис. 1.6. Редактор формул *MS Equation Editor*.

Вставляемые математические символы выбираются путем нажатия на соответствующие кнопки шаблонов. Сложности обычно вызывают установление размеров шрифта и поиск некоторых символов: пробела между символами **a–b** и знака умножения  $\cdot$ . Символы вставляются внутрь рамки, изменяемой автоматически по размеру. По желанию ее можно увеличить или уменьшить. Можно расположить уравнение в нужном месте документа путем перетаскивания с помощью мыши. Для завершения ввода формул и уравнений щелкните где-нибудь вне рамки формулы. Двойной щелчок левой кнопкой мыши на формуле позволит вернуться к его редактированию.

Для оформления установки формул и уравнений также удобно создать стиль (**Формат**  $\Rightarrow$  **Стиль...**  $\Rightarrow$  **Создать...**  $\Rightarrow$  **Имя**

*Формула*, при необходимости поставить флажок **Добавить в шаблон** → **Применить**). Строки, объясняющие символы, также можно оформить как **Стиль**, например *Подпись формул*. Для отбивки нумерации формул от самого уравнения используйте клавишу <**Tab**>, а не ставьте бесконечно пробелы (ими только подравнивайте).

Технология связи и внедрения объектов (OLE-технология) позволяет *MS Word* легко выполнять многие задачи. Обычно OLE-технология используется посредством буфера обмена и команды **Специальная вставка**. *MS Word* предоставляет несколько методов вставки графических изображений в документ. Выбор способа зависит от Ваших потребностей в момент вставки графики.

Наиболее часто используемый метод – копирование графики через буфер обмена и использование команды **Специальная вставка** – работает, когда открыты документ *MS Word* и графическое приложение одновременно. В этом случае для вставки графического изображения выделяют графику и копируют ее в буфер обмена, используя команду **Копировать** в меню **Правка** (Edit) открытого графического приложения или традиционным методом – <**Ctrl+Insert**> (копировать) или др. В документе *MS Word* установите курсор в то место документа, куда должна быть вставлена графика. Откройте меню **Правка** и выберите команду **Специальная вставка**. В диалоговом окне **Специальная вставка** (рис. 1.7) в списке **Как** выберите формат данных, который вы хотите использовать при вставке графики. *MS Word* распознает большинство наиболее распространенных графических форматов (.jpg, .tif, .bmp, .wmf, .jnb, .sdr и др.). Чтобы вставить рисунок как перемещаемый, т.е. вставить в графический слой, что позволяет задать его точное положение на странице и поместить впереди или позади текста и других объектов, установите флажок **Поверх текста**.

Чтобы вставить рисунок как встроенный непосредственно в позицию курсора, снимите флажок **Поверх текста**. Нажмите **ОК** для вставки графики в ваш документ. Данная процедура позволяет иметь доступ к редактированию графического объекта. Иногда возникает такая возможность, поэтому, щелкнув по графическому объекту два раза, открывается приложение, в котором был создан объект, и можно приступить к редактированию.

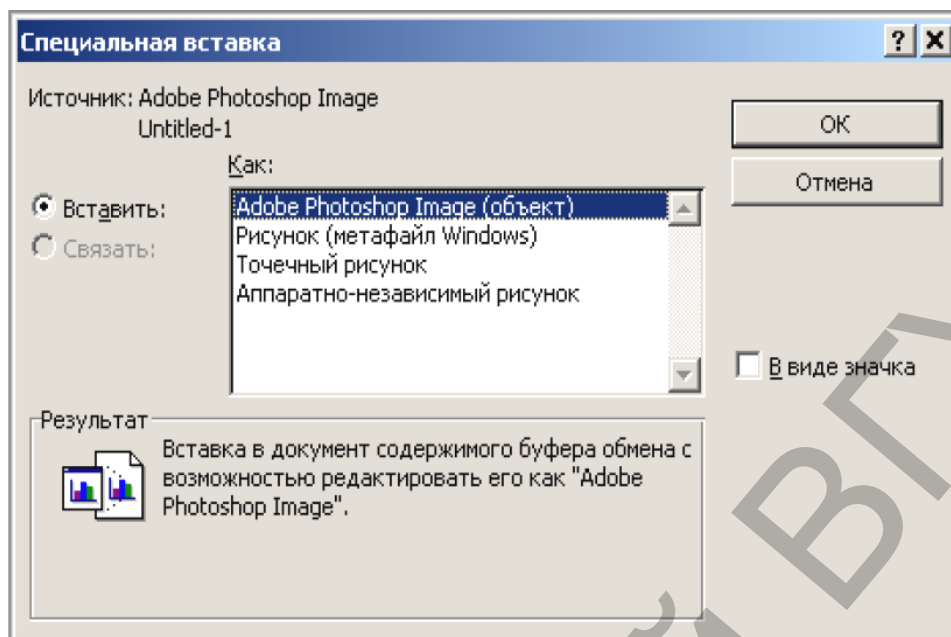


Рис. 1.7. Диалоговое окно «Специальная вставка».

Также существует возможность вставки рисунков и отсканированных фотографий из других программ и файлов. Для вставки рисунка из другой программы выберите в меню **Вставка** команду **Рисунок**, а затем – команду **Из файла...**. При выделении рисунка на экране появляется панель инструментов **Настройка изображения**, которую можно использовать для обрезки изображения, добавления границ, а также регулировки яркости и контрастности. Для уменьшения размера файла документа, вставьте в него не сам рисунок, а ссылку на него. Для этого в диалоговом окне **Вставить рисунок** (меню **Вставка**, подменю **Из файла...**) выберите нужный рисунок, установите флажок **Связать с файлом**, а затем снимите флажок **Хранить рисунок** в документе и нажмите кнопку **ОК**. В документе появляется рисунок, который нельзя редактировать на месте, однако его по-прежнему можно просмотреть на экране и напечатать. Рисунок будет печататься вместе с документом. Однако рисунок пропадает и не печатается при разрыве связи – например, при копировании документа на дискету.

Кроме всего, можно создавать рисунки, используя кнопки на панели рисования. Существует два типа рисунков: точечные рисунки, которые не могут быть разгруппированы, а также рисунки типа метафайлов, которые могут быть разгруппированы, преобразованы в графические объекты, а затем отредактированы при помощи кнопок на панели рисования. Большинство рисунков имеют формат метафайла. Для разгруппирования и преобразования рисунка в набор графических объектов необходимо выделить его, а затем выбрать в меню **Действия** команду **Разгруппировать**. Графические

объекты, получившиеся после разгруппирования метафайла, можно изменять как любые другие графические объекты. Например, можно вставить схему всей работы, разгруппировать ее, изменить формулировку предложения в одном из окошек, а затем добавить измененный рисунок к другому рисунку.

Формат объекта можно корректировать, выделив его и нажав правую клавишу мыши. При этом откроется панель редактирования, выберите **Формат объекта...**. В диалоговом окне редактируются цвета и линии, размер, положение, обтекание, рисунок. Размер рисунка можно изменить вручную, потянув за край объекта. Иногда рисунок не умещается в книжной форме документа (вертикально) и следует его разместить в альбомном варианте (горизонтально). Для этого необходимо рисунок разместить на отдельной странице, создав разрыв со следующей страницы (**ВставкаРазрыв...→Новый раздел со следующей страницы**). Выставьте параметры данной страницы (**Файл→Параметры страницы...→Размер бумаги альбомный→К текущему разделу**). Объект размещают слева направо. При продолжении текста на следующей странице в книжном варианте повторите операции с разрывом и параметрами страницы, только установите флажок **Размер книжный→К текущему разделу**.

Подпись к рисунку лучше оформить как **Стиль**, например, создать новый стиль *Рисунок* на базе основного (**Формат→Стиль...→Создать...→Имя Рисунок**, при необходимости поставить флажок **Добавить в шаблон→Применить**).

Для заглавия таблицы создайте стиль, например, *Название таблицы*. Таблица состоит из строк и граф (столбцов) ячеек, которые можно заполнять текстом и цифровым материалом. Чтобы создать пустую таблицу, выполните в меню **Таблица** команду **Добавить таблицу...**, а затем укажите нужное число строк и столбцов или то же самое со стандартной панели, нажав кнопку посредством перетаскивания. Количество граф и строк определяют с учетом всех заголовков и подзаголовков граф, строк и подстрок.

Для изменения таблицы используйте кнопки на панели инструментов **Таблицы и границы**. Для вывода этой панели инструментов нажмите кнопку **Таблицы и границы** на стандартной панели инструментов. Хотя удобнее пользоваться правой клавишей мышки и не загромождать информационное поле, особенно на маленьких мониторах.

Чтобы объединить или разбить ячейки, выделите их, а затем выберите команды **Объединить ячейки** или **Разбить ячейки**. В случае использования примечания в таблице, как раз последнюю строку объединяют и пишут текст примечания согласно

стандарта. Для создания и изменения сложных таблиц используйте новый инструмент **Нарисовать таблицу** (Таблица → Нарисовать таблицу или правая кнопка мыши – Нарисовать таблицу). Сначала нарисуйте внешнюю границу таблицы, а затем – строки и столбцы внутри нее (рис. 1.8).

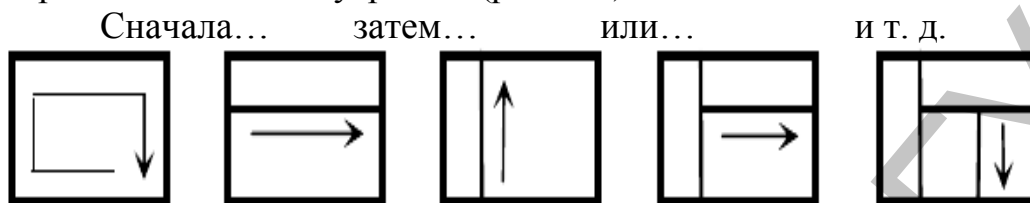



Рис. 1.8. Очередность выполнения операции «Нарисовать таблицу».


Для удаления линии между ячейками нажмите кнопку **Ластик** на панели **Таблицы и границы**, а затем перетащите ластик по этой линии.

Чтобы преобразовать существующий текст в таблицу, выделите его, а затем выберите команду **Преобразовать в таблицу...** в меню **Таблица**. Не оставляйте ячейки без цифрового значения. Если данных нет, ставьте длинное тире – <Ctrl+Alt+Num– (дополнительной клавиатуры)>.


Для выделения граф и строк в целом необходимо к верхней части столбца или к левой границе строки или ячейки таблицы подвести курсор. При этом курсор изменяет свой вид ↓ или ↗. Остается щелкнуть левой кнопкой мыши. Для выделения несколько ячеек, строк или столбцов необходимо переместить указатель при нажатой левой кнопке мыши через ячейку, строку или столбец, или выделить одну ячейку, строку или столбец, а затем, удерживая клавишу <Shift>, щелкнуть другую ячейку, строку или столбец. Чтобы выделить текст в соседней ячейке, нажмите клавишу <Tab>, а в предыдущей ячейке – сочетание клавиш <Shift+Tab>, выделить всю таблицу – щелкните таблицу, а затем нажмите <Alt+5> на цифровой клавиатуре (<Num Lock> должна быть выключена).

Практически все таблицы (за исключением боковика) выравнивают по центру. Поэтому для таблицы применяют стиль, например *Таблица*. Остается вручную поправить боковик – выравнивать по левому краю – выделить строки боковика и нажать на кнопку . **По левому краю** на панели форматирования. Выравнивание также можно осуществить вручную: выделить текст в таблице, нажать правую кнопку мыши и выбрать **Выравнивание... → Центрировать по вертикали**.

По умолчанию все таблицы имеют сплошную черную тонкую линию границы шириной в полпункта. Чтобы изменить или удалить границы, выделите графы и строки, нажмите правую кнопку мыши, выберите **Границы и заливка....** Чтобы быстро применить новый вид границы к нескольким ячейкам или удалить их границы, используйте диалоговое окно палитры границ (инструменты Тип границ, Тип линии, Толщина линии и Цвет границы). Следите за образцом и выбирайте соответствующие кнопки, применяя или отменяя линии границ. Если строки имеют однотипные значения, их можно не отделять линиями. Для привлечения внимания к отдельным ячейкам их выделяют более жирной линией (1 пт). При переносе таблицы (выделите строку, которая появится на следующей странице, и нажмите **<Ctrl+Enter>**) на другую страницу концевую линию не рисуют. И наоборот, концевую линию используют после примечания.

Текстовый редактор позволяет выравнивать высоту и ширину ячейки. Чаще всего приходится осуществлять последнее действие. В современных версиях *MS Word* возможна установка ширины граф по значению. Для изменения ширины столбцов (граф) и высоты строк таблицы следует перетащить с помощью правой кнопки мыши линии, разделяющие ячейки. При наведении на линию курсор изменяется на соответствующий знак . Перемещение осуществляется дискретно, но с одновременным использованием клавиши **<Alt>**, можно перемещать точнее (на горизонтальной и вертикальной линейке указываются размеры ячейки).

Интервал между столбцами и высоту строк также можно задать вручную. Выделите ячейки, далее в меню **Таблицы** выбрать элемент **Свойства таблицы**, а там во вкладках **Таблица**, **Столбец**, **Строка**, **Ячейка** можно поменять необходимые параметры указанных элементов. В диалоговом окне высоту строк выставляют на **Авто**, а интервал между столбцами 0,2 см.

Основная проблема возникает с размещением граф (колонок) – их количество и текст подзаголовков не умещается на странице. Для решения этой проблемы используют два варианта. Первый – изменяют направление текста в подзаголовке графы. Выделяют подзаголовок, нажимают на панели форматирования клавишу , которую Вы изначально выставили, или правую кнопку мыши и **Направление текста...** – ориентация текста снизу вверх (см. на образец справа диалогового окна).



Если таблица все же не уместится в книжном варианте страницы, применяют второй вариант – ее размещают на отдельной странице в альбомном виде, как это описано в случае со вставками объектов.


Для перемещения по таблице используйте следующее сочетание клавиш (табл. 1.1).

Таблица 1.1

**Сочетания клавиш для перемещения по таблице**

Чтобы	Нажмите клавишу
Перейти в соседнюю ячейку	<Tab> (Если место вставки в последней ячейке таблицы, нажатие <Tab> добавляет новую строку)
Перейти в предыдущую ячейку	<Shift+Tab>
Перейти на предыдущую или следующую строку	<Стрелка Вверх> или <Стрелка Вниз>
Перейти в первую ячейку в строке	<Alt+Home> или <Alt+7> на цифровой клавиатуре (<Num Lock> должна быть выключена)
Перейти в последнюю ячейку в строке	<Alt+End> или <Alt+1> на цифровой клавиатуре (<Num Lock> должна быть выключена)
Перейти в первую ячейку в столбце	<Alt+Page Up> или <Alt+9> на цифровой клавиатуре (<Num Lock> должна быть выключена)
Перейти в последнюю ячейку в столбце	<Alt+Page Down> или <Alt+3> на цифровой клавиатуре (<Num Lock> должна быть выключена)
Начать новый абзац	<Enter>
Добавить новую строку в низ таблицы	<Tab> в конце последней строки
Добавить текст перед таблицей в начале документа	<Enter> в начале первой ячейки

По мере ввода текста, безусловно, будут возникать орфографические и грамматические ошибки. Проверка документа – это трудная работа, особенно если ее проводить вручную. *MS Word* позволяет автоматизировать этот процесс. Текстовый процессор подчеркивает возможные орфографические ошибки красной волнистой линией, а грамматические ошибки – зеленой волнистой линией. Ошибки могут быть исправлены вручную либо, что чаще всего, с использованием автоматизированных средств проверки документов. Для исправления ошибки вызовите контекстное меню и выберите правильный вариант написания – щелкните элемент правой кнопкой мыши или нажмите клавиши <Shift+F10>. При необходимости неизвестное слово можно занести в словарь – щелкните элемент правой кнопкой мыши → **Добавить**. Если вы ошибочно внесли неправильно записанное слово в словарь, то его легко можно удалить. Выберите в меню **Сервис** команду **Параметры**, а затем – вкладку **Правописание**. Нажмите кнопку **Словари**. Выберите словарь, в который требуется внести

изменения. Убедитесь в том, что флажок, соответствующий этому словарю, установлен. Нажмите кнопку **Изменить**. (Во время изменения вспомогательного словаря *MS Word* отключает автоматическую проверку правописания. После закрытия файла словаря автоматическую проверку правописания можно снова подключить). Добавьте, удалите или измените слова словаря. После ввода каждого изменения нажимайте клавишу Enter, чтобы оно располагалось в отдельной строке. После того как все изменения будут внесены, сохраните их с помощью кнопки **Сохранить** .

Как правило, при настройке документа используется автоматическая проверка правописания при вводе. Выберите в меню **Сервис** команду **Параметры**, а затем – вкладку **Правописание**. Установите флажки **Автоматически проверять орфографию** и **Автоматически проверять грамматику** (рис. 1.9). Нажмите кнопку **ОК**.

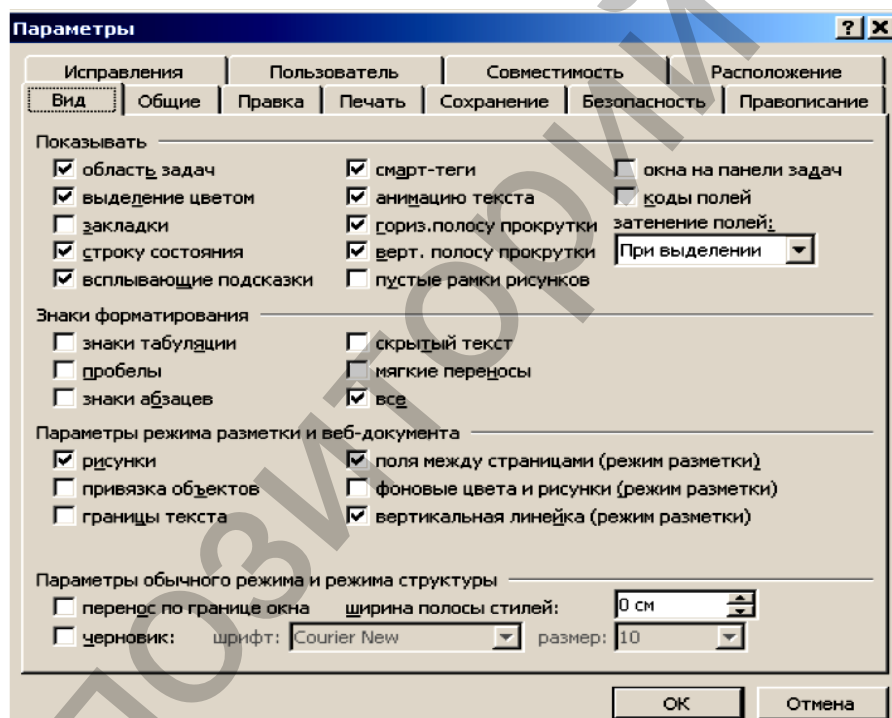




Рис. 1.9. Диалоговое окно «Параметры».

Чтобы воспользоваться дополнительными возможностями, выберите в контекстном меню пункт **Орфография** или **Грамматика**. Иногда возникает ситуация – после смены языков при наборе текста (**<Alt+Shift>**) – правильно написанные слова подчеркиваются. Для решения этой проблемы выделите эти слова или весь текст в целом (**<Ctrl+Num 5>**). Выберите в меню **Сервис** команду **Язык** → **Выбрать язык**, затем **Пометить выделенный текст как Русский**. Нажмите кнопку **ОК**. Аналогично ситуацию решают и при случайно набранном слове на русском и английском языке.

Номера страниц вставляются в рамки, которые могут быть размещены в любом месте страницы. Чтобы разместить нумерацию страниц, выберите в меню **Вставка** команду **Номера страниц...**, укажите **Положение: Внизу страницы** и **Выравнивание От центра** и нажмите **ОК**. Так как до введения нумерация не ставится, но страницы считаются, необходимо титульный лист, задание, реферат и содержание набирать отдельным разделом, как это показано ранее. При этом в диалоговом окне снимите флажок **Номер на первой странице**. Таким образом, в созданном разделе, состоящем из одной страницы, нумерация на ней будет отсутствовать, а общая нумерация будет сохраняться. При необходимости проверьте правильность оформления стиля как **Номер страницы**.

Сложнее нумерацию проставить на листе альбомного варианта – в автоматическом режиме страница также перемещается (разворачивается по часовой стрелке). Поэтому страницу необходимо как бы зафиксировать. Есть несколько путей решения этой проблемы. Приведем два, наиболее простых. Первый – создать надпись. Щелкните правой кнопкой мыши по стандартной панели и выберите меню **Рисование**, которое размещается внизу экрана. Выберите иконку кнопки **Рамка**  и нарисуйте слева по центру (согласно стандарту отступам от края) квадрат приблизительно 1x1 см. Внутри наберите номер страницы, при необходимости отформатируйте абзац и кегль (размер) шрифта, измените направление текста сверху вниз, нажав кнопку . Выделите квадрат – наведите курсор на край квадрата и при появлении знака перекрещенных стрелок щелкните дважды левой кнопкой мыши. Появляется диалоговое окно. Уберите линии границы и установите **Обтекание по контуру вокруг**. Второй способ – создать отдельно пустую страницу с нужным номером (в меню **Вставка** выберите команду **Номера страниц...**, укажите **Положение: Внизу страницы** и **Выравнивание От центра**, поставьте флажок **Номер на первой странице**, затем нажмите кнопку **Формат...** и **Нумерация страниц начать с ...**: введите нужный номер страницы, нажмите **ОК**) и распечатать ее. Далее на нее же распечатать отдельно страницу, где представлен материал в альбомной форме. Внимательнее отнеситесь к правильному расположению страницы при наложении (повторной) печати.

Содержание удобно использовать для быстрого перемещения по документу, просматриваемому на экране: для перехода к любому заголовку документа достаточно щелкнуть соответствующий ему номер страницы в содержании, а также для автоматизации при изме-

нении документа. Создание содержания начинается с применения встроенных стилей заголовков («Заголовок 1–3») к заголовкам, которые следует включить в оглавление. Далее следует выбрать вид оглавления, после чего собрать оглавление. MS Word найдет все заголовки, оформленные указанными стилями, отсортирует их по уровню заголовка, добавит соответствующие номера страниц и отобразит оглавление в документе.

Создайте новый раздел (см. ранее), куда следует вставить содержание. В меню **Вставка** выберите элемент **Ссылка**, в нем – **Оглавление и указатели**, а затем – вкладку **Оглавление**. Выберите из списка **Вид: Из шаблона**. Установите флажки, уровни и заполнитель, как указано на рис. 1.10. Нажмите **ОК**.

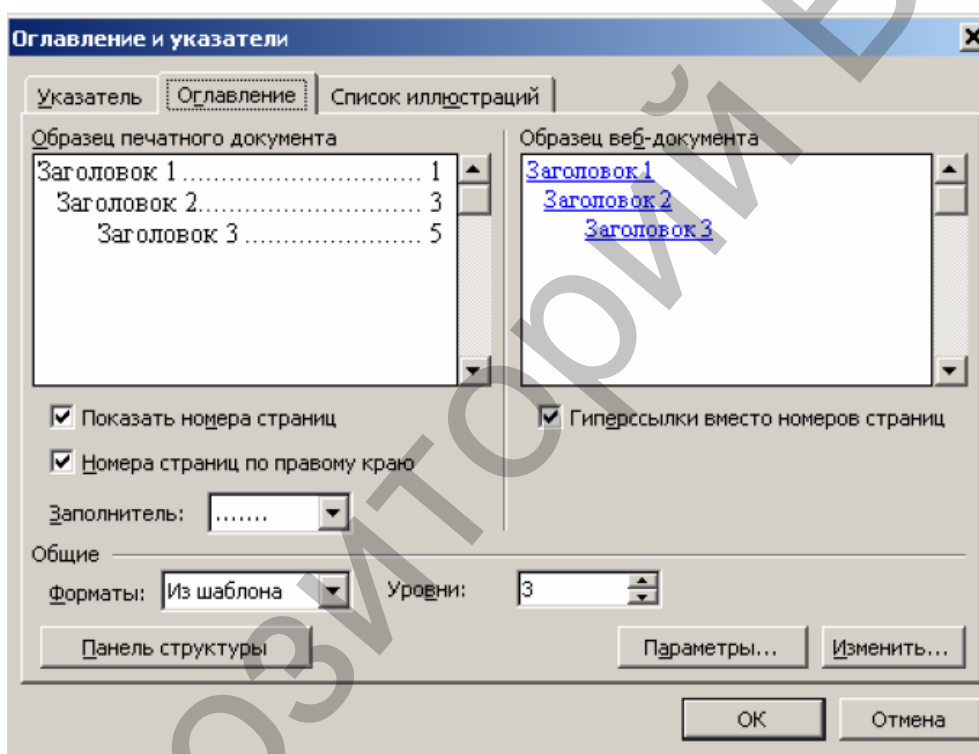


Рис. 1.10. Диалоговое окно «Оглавление и указатели».

В появившемся содержании Вы увидите на сером фоне все заголовки и, вероятно, еще какой-то набор текста, неправильно созданный как стиль **Заголовок**. Для исправления ситуации обратитесь к данному «псевдозаголовку» и переопределите его как стиль **Обычный**. Затем обновите оглавление – правой кнопкой мыши щелкните по серому полю оглавления и в открывшемся окне выберите **Обновить поле**, затем поставьте флажок **Обновить целиком** и нажмите **ОК**. Не забудьте это сделать при завершении работы с документом.

При формировании библиографического списка удобно воспользоваться концевыми сносками. Например, Вам необходи-

мо при наборе какого-то текста вставить ссылку на литературный источник. Для автоматизации этой работы можно порекомендовать следующие операции. Установите курсор туда, куда следует вставить знак сноски. Выберите в меню **Вставка** команду **Ссылка** → **Сноска...** (рис. 1.11). В появившемся диалоговом окне (рис. 1.12) следует выбрать **Концевые сноски**, указать, что они должны быть в **Конце документа**. В разделе **Формат** указать нужный формат номера концевой сноски **1, 2, 3, ...**. После этого нажать кнопку **Вставить**. В месте положения курсора появится номер концевой сноски и сразу же будет произведен переход в конец документа в область ввода концевых сносок. Там, напротив номера концевой сноски, следует ввести нужный текст (например, текст литературного источника). Обратите внимание, что номер концевой сноски выставляется автоматически и его нельзя поменять на произвольный в области ввода концевых сносок. Область ввода концевых сносок находится в самом конце документа и ее нельзя переместить в другое место! Для того чтобы вернуться обратно в исходный текст, нужно дважды щелкнуть левой кнопки мыши на номере сноски и курсор будет перемещен в то место, где была поставлена сноска. Если два раза щелкнуть по номеру ссылки в основном тексте, то курсор перемещается на ссылку в области ввода концевых сносок. Для того чтобы попасть в область ввода концевых сносок, можно воспользоваться меню **Вид** и выбрать элемент **Сноски** (рис. 1.11). Обратите внимание, что в режиме, когда включены непечатаемые символы («¶»), номер сноски будет обведен пунктиром («»), однако при распечатке текста он не будет пропечатываться. Пунктир нужен для того, чтобы обозначить номер сноски среди остального текста. По умолчанию номер сноски выставляется в качестве надстрочного символа. Параметры номера концевой сноски определяются стилем **Знак концевой сноски**. Поэтому удобнее всего именно в стиле изменить параметры отображения номера концевой сноски и эти изменения вступят в силу и в основном тексте и в области ввода концевых сносок. Любую сноску можно удалить, перенести в другое место. Для этого, используя обычные операции редактирования текста, можно перенести соответствующий номер ссылки в основном тексте. При этом в области ввода концевых сносок эта операция будет проведена автоматически. То есть текст концевой сноски будет перемещен или удален, а другие концевые сноски будут автоматически перенумерованы.

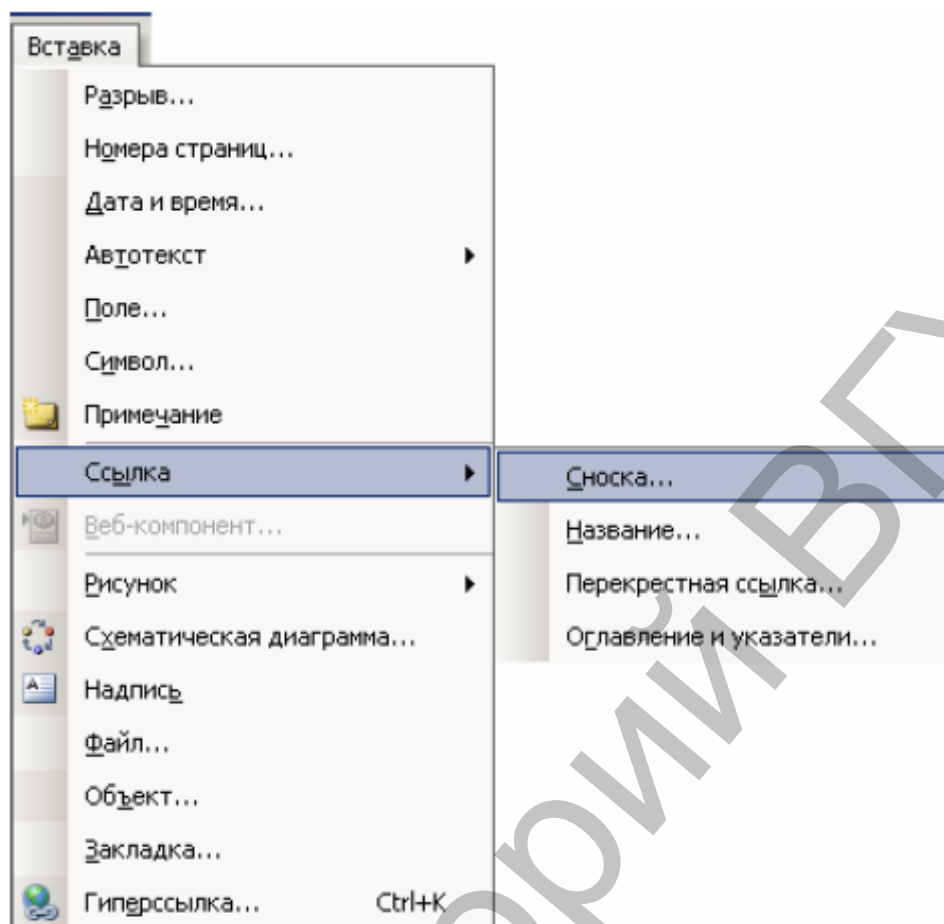


Рис. 1.11. Меню «Вставка» ⇒ «Ссылка».

При создании концевых сносок область ввода концевых сносок отделена от остального текста горизонтальной линией. Для того чтобы убрать эту линию, нужно перейти в обычный режим через меню **Вид** (рис. 1.13, слева) или нажать соответствующую кнопку в нижней части окна программы *MS Word* (рис. 1.13, справа). После этого перейти в режим **Сноски** через меню **Вид** (рис. 1.13, слева). При этом окно будет разделено на две части: основное – область ввода текста и область ввода концевых сносок.

Если возникла необходимость по тексту, снова сослаться на ту ссылку, которая уже раньше была в тексте, следует воспользоваться перекрестной ссылкой. Для этого, поместив курсор в нужное место в тексте, войдите в меню **Вставка** ⇒ **Ссылка** (рис. 1.11) и выберите пункт **Перекрестная ссылка**. В появившемся окне **Перекрестные ссылки** (рис. 1.14) в разделе **Тип ссылок** выберите тип ссылки **Концевая сноска** (рис. 1.15).

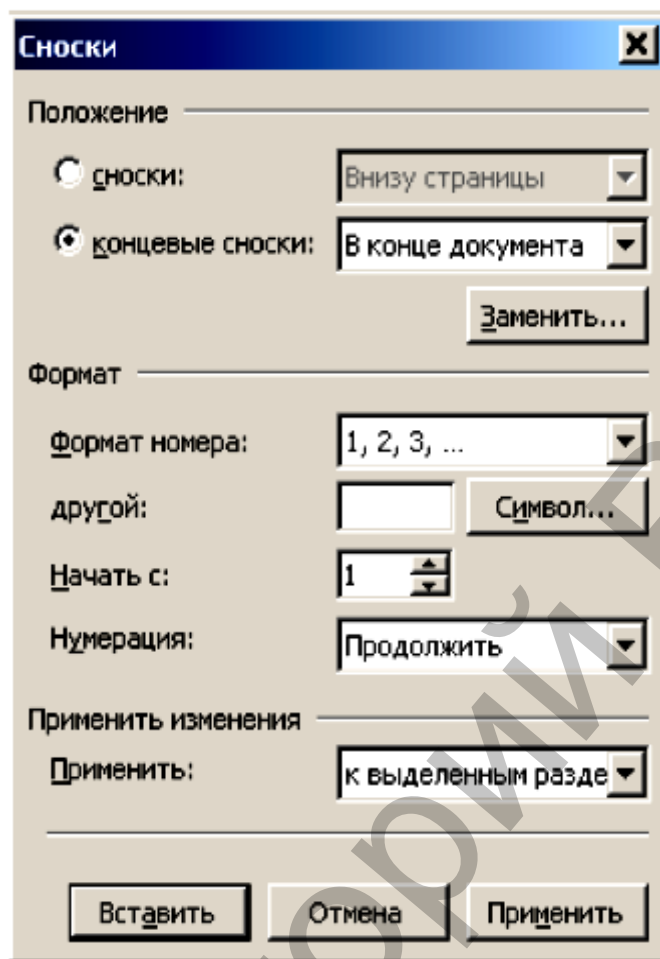



Рис. 1.12. Диалоговое окно «Сноски».

В разделе **Вставить ссылку на:** должен быть указан **Номер концевой сноски**. В разделе **Для какой концевой сноски:** выберите ту ссылку, номер которой следует вставить по тексту. При изменении сносок в основном тексте (перемещение, дополнение новых, удаление) номер перекрестной ссылки автоматически не изменяется. Для того чтобы изменить номер концевой сноски, нужно поставить на нее курсор и нажать клавишу **<F9>** (**Обновить поле**) при этом номер концевой ссылки изменится на правильный. При открытии документа поля автоматически обновляются, поэтому нет необходимости обновлять каждую перекрестную ссылку.

Если Вы работаете над документом со своим руководителем, то необходимо делать соответствующие комментарии, а не исправления. Эти комментарии могут быть вставлены в работу как примечания. Выделите текст, который Вы будете комментировать, или установите курсор в место комментария.

Нажмите иконку клавиши **Вставить примечание** . Введите Ваш комментарий в подокне примечаний.

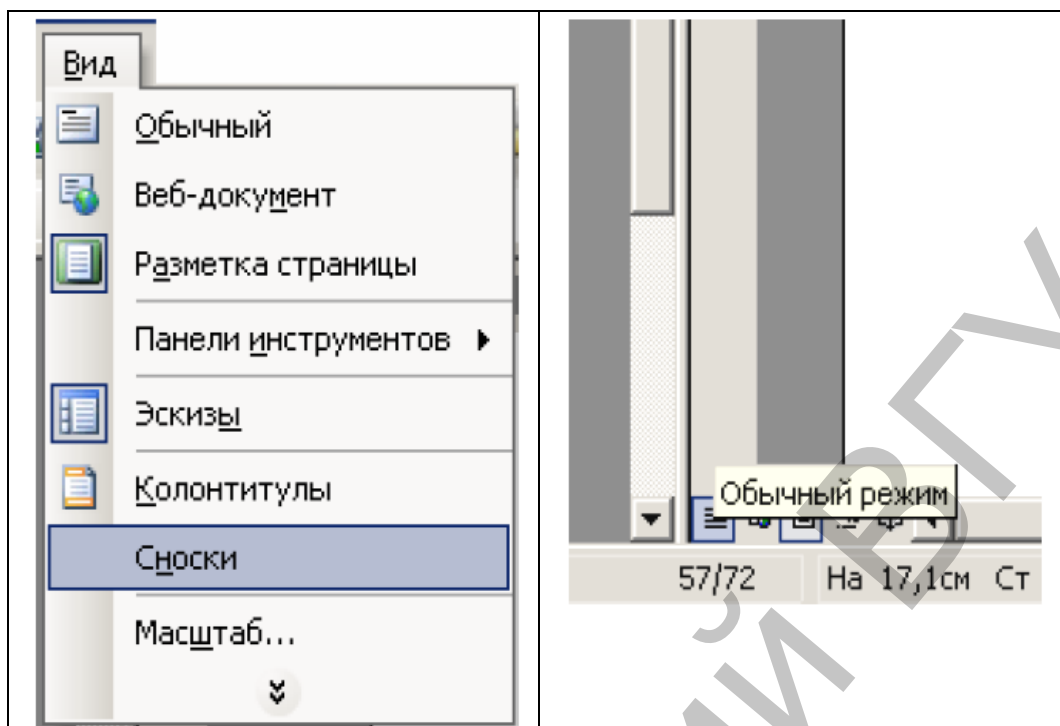



Рис. 1.13. Меню «Вид» (слева); Фрагмент нижней части окна программы *MS Word* (справа).

Вы можете закрыть подокно примечаний, нажав на иконку **Окно просмотра**  на панели **Рецензирование**, или оставить открытым, если собираетесь еще добавлять примечания. При вставке примечания текст выделяется желтой полосой и нумеруется непечатным символом в квадратных скобках. Когда Вы подведете курсор к выделенному тексту, то увидите вставку примечания с написанными примечаниями. Чтобы снять исправления, удалите непечатный символ. Если у Вас имеется звуковая плата и микрофон, то можно вставить речевые примечания, нажимая на значок кассеты в подокне примечаний.

Если в меню **Сервис** выбрать элемент **Статистика**, то появится информационное окно **Статистика** (рис. 1.16), в котором собрана статистическая информация о документе: число страниц, слов, знаков с пробелами и без пробелов, абзацев и строк. Таким же образом можно выделить нужный фрагмент текста и получить о нем информацию, например, количество знаков в реферате.



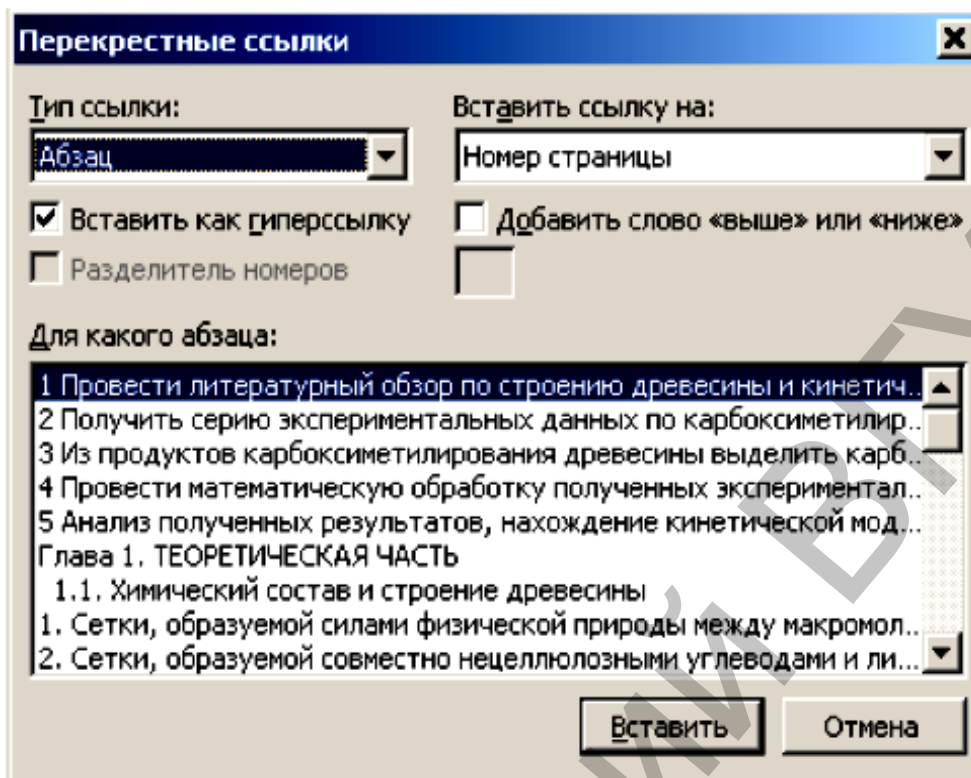


Рис. 1.14. Диалоговое окно «Перекрестные ссылки».

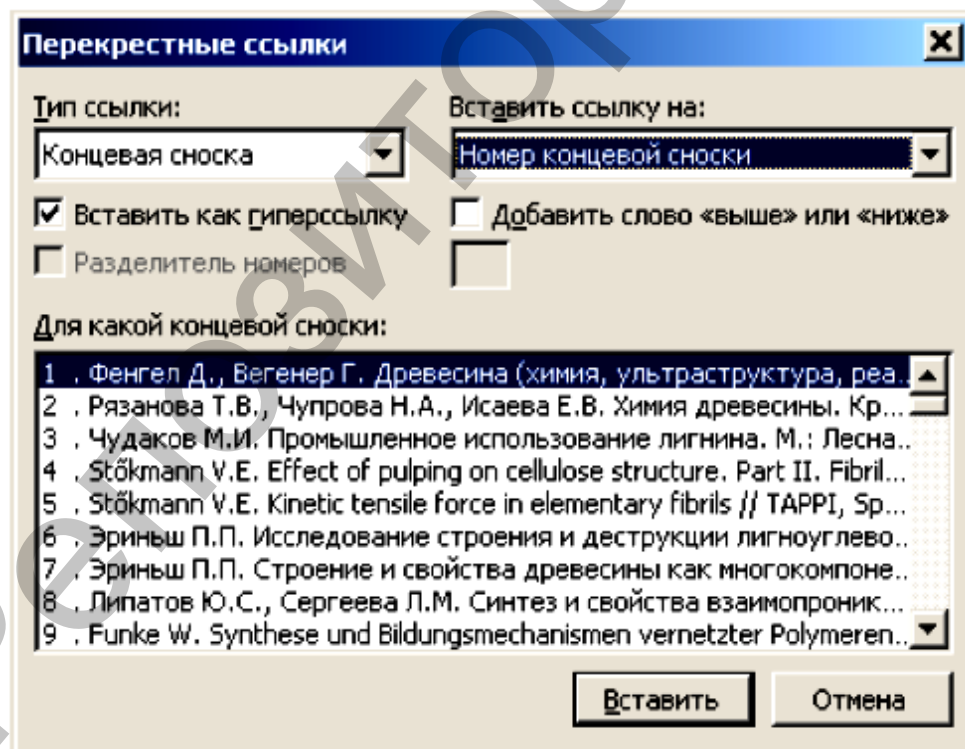


Рис. 1.15. Диалоговое окно «Перекрестные ссылки».

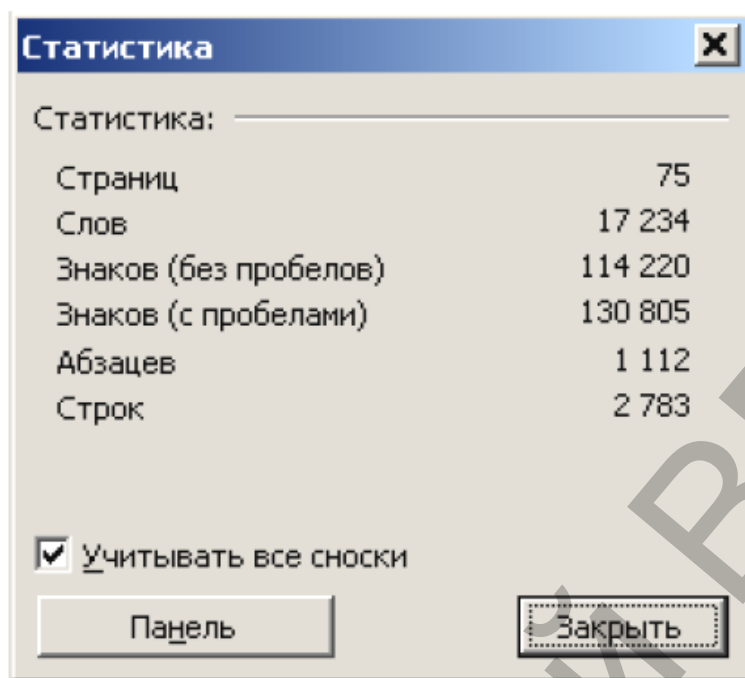


Рис. 1.16. Информационное окно «Статистика».

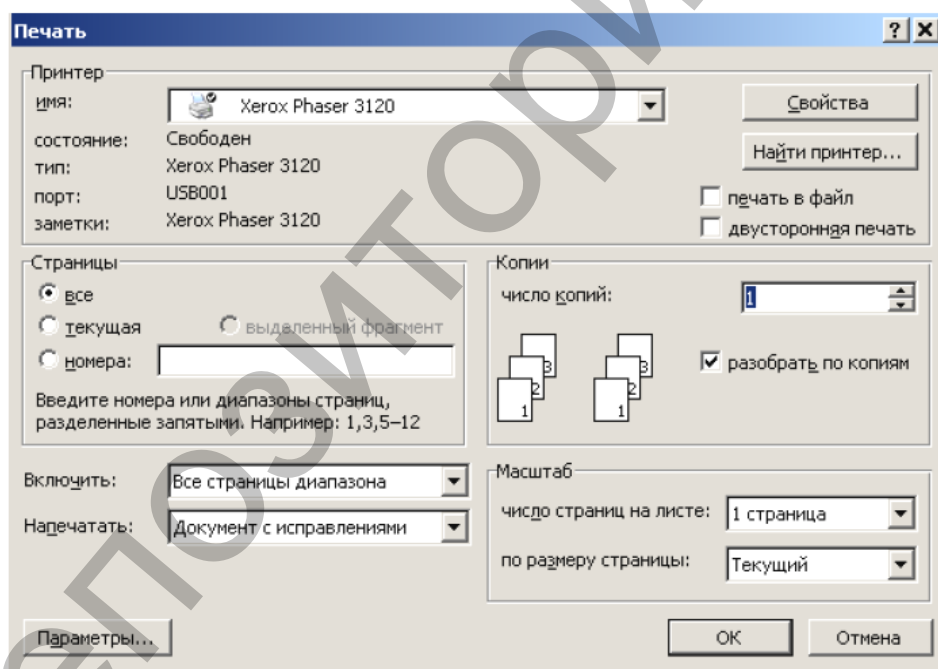



Рис. 1.17. Диалоговое окно «Печать».

Для того чтобы распечатать документ, нужно войти в меню **Файл**, выбрать элемент **Печать** (или нажать комбинацию клавиш **<Ctrl+P>**). При этом появится диалоговое окно (рис. 1.17).

Если необходимо распечатать весь документ, то никаких изменений проводить в данном окне не нужно. Следует нажать кнопку **ОК** и документ будет послан на принтер. Если нужно сделать несколько копий, то в разделе **Копии** нужно указать их число. Можно распечатать только текущую страницу, выбрав

элемент **текущая**, в разделе **Страницы** или только выделенный фрагмент текста, выбрав элемент **Выделенный текст**, который будет активен только в том случае, если имеет выделенный фрагмент текста. Можно распечатать только избранные страницы. Для этого в разделе **Номера**: нужно указать номера этих страниц. Причем можно указывать номера страниц через запятую или используя «–» тире. Например, если указать следующую комбинацию «1, 3, 5, 10–23, 48–», то будут распечатаны страницы 1, 3, 5, с 10 по 23 включительно и с 48 страницы до конца документа. Можно распечатать весь текущий документ, не используя диалог **Печать**. Для этого достаточно на панели инструментов выбрать инструмент **Печать**  .

### 1.8. Компьютерная презентация химических формул

ChemOffice – наиболее функциональный интегрированный программный комплекс, включающий следующие четыре специализированных приложения:

- 1) «химический редактор» ChemDraw, являющийся традиционным средством редактирования химических формул;
- 2) программа Chem 3D, предназначенная для визуализации химических соединений, компьютерного моделирования и расчетов;
- 3) специализированный редактор баз данных ChemFinder, предназначенный для создания, редактирования и управления базами данных химических соединений;
- 4) редактор таблиц Table Editor, предназначенный для просмотра и редактирования табличных данных, используемых в пакете Chem 3D.

При подготовке работ по химическим дисциплинам часто приходится изображать сложные структурные формулы соединений, где трудно справиться только при помощи MS Word. Пакет ChemDraw является одной из самых известных в мире индивидуальных программ для химической графики. Если вам нужно создать высококачественные химические иллюстрации или структуры для обращения к базам данных, пакет ChemDraw будет наиболее подходящим решением.


Основные возможности ChemDraw:


- многофункциональный химический редактор двумерных изображений молекулярных структур;
- простая интеграция в MS Word через буфер обмена;
- расширенные графические функции. Модуль визуализации объемных структур Chem3D использует интерфейс OpenGL для обеспечения высокого качества изображений;

- модуль TLC Plate Tool. Этот инструмент позволяет включать в документы ChemDraw графические изображения пластин тонкослойной хроматографии (TLC);
- инструмент Structure Perspective Tool. Вы можете сами устанавливать параметры перспективы для отображения молекул в пакете ChemDraw простыми горизонтальными и вертикальными движениями мыши;
- панель таблицы символов. Вы можете быстро вставлять специальные символы в любом шрифте с помощью специальной панели в любом документе ChemDraw;
- модуль ChemDraw/Excel. Этот модуль поддерживает одновременное отображение и расчет до 1400 химических структур в электронной таблице Excel;
- модуль BioArt. Это набор инструментов для пакета ChemDraw, позволяющий вставлять биохимические символы, в том числе мембраны, клеточные структуры и др.;
- модуль PolymerDraw. Данный модуль обеспечивает отображение полимеров и манипуляции с ними в среде пакета ChemDraw;
- функция очистки структур. Этот инструмент помогает проверить логичность и правильность отображенных на иллюстрации связей и структур;
- элементы искусственного интеллекта ChemDraw позволяют выводить предупреждения и объяснения при разработке структур, анализировать соответствие степеней валентности и выявлять потенциальные ошибки в схемах.

Если вы освоили особенности работы с текстовым редактором MS Word, то вам не составит труда изобразить химические формулы и составить уравнения химических реакций в среде ChemDraw. Как видно на рис. 1.18, интерфейс программы интуитивно понятен.

Рисование большинства молекулярных структур осуществляется при помощи контрольной панели.

Кнопка  (Marquee) осуществляет выделение нарисованных молекул или их фрагментов.

Кнопка  (Eraser) удаляет атомы/связи.

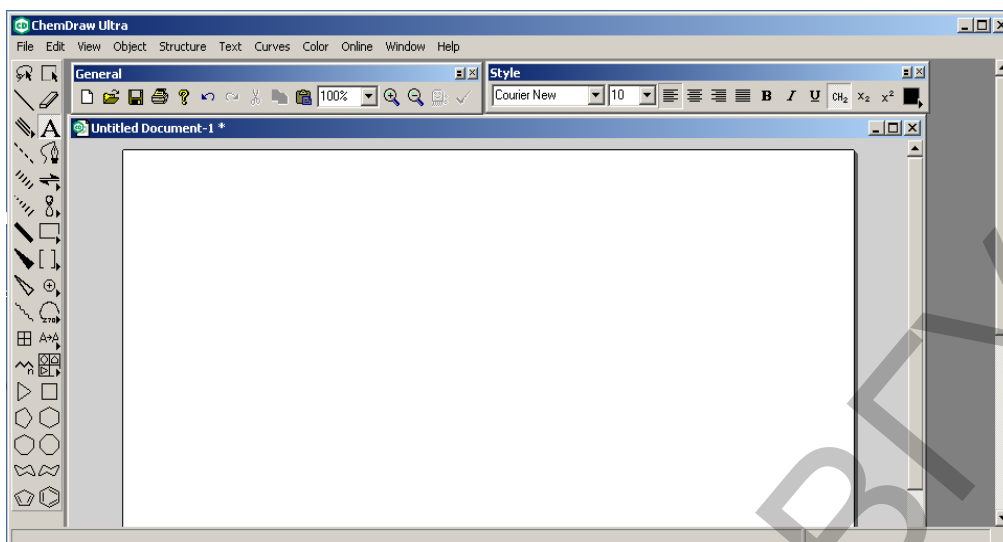






Рис. 1.18. Рабочее окно программы ChemDraw.


Кнопки (Bonds) предназначены для добавления связей (названия приведены не по химическому типу, а по виду отображения): одинарной / пунктирной / пунктирной широкой / пунктирной широкой суженной / толстой / толстой суженной / пустой суженной / направленной / волнистой.


Кнопка  (Text) предназначена для ввода текста. Параметры шрифта и индексация настраиваются с помощью главной панели.


Кнопка  (Pen) включает режим рисования векторной графики: сглаженной ломаной линии.


Добавление всевозможных стрелок производится кнопкой  (Arrow).


Кнопка  (Orbital) позволяет нарисовать различные электронные орбитали.

Кнопка  (Drawing Elements) добавляет различные элементы рисования: скобки, плоские фигуры, линии и др.

Кнопка  (Chemical Symbols) позволяет нарисовать особые химические символы (заряды ионов, значки радикалов и прочие).

Кнопка  (Atom-to-Atom mapping) отображает соответствие реакционных центров молекул. Поддерживаются только одностадийные реакции.

Кнопка  (Templates) вызывает контекстное меню заготовок: аминокислот, ароматических циклов, бициклов, конформеров и т.д. Все они могут быть вставлены в вашу работу для экономии времени.

Кнопка  (Acyclic Chain) создает цепь с указанным числом звеньев.

Серия кнопок (Rings) позволяет быстро добавить в вашу работу различные кольца циклоалканов и ароматические кольца.

Для лучшего усвоения навыков владения программой ChemDraw, приведем алгоритм составления записи схемы химической реакции. В качестве примера выберем упрощенный вариант механизма реакции Гриньяра (с магнийорганическими веществами).

1. Прежде всего нарисуем молекулу карбонильного соединения (рис. 1.19).

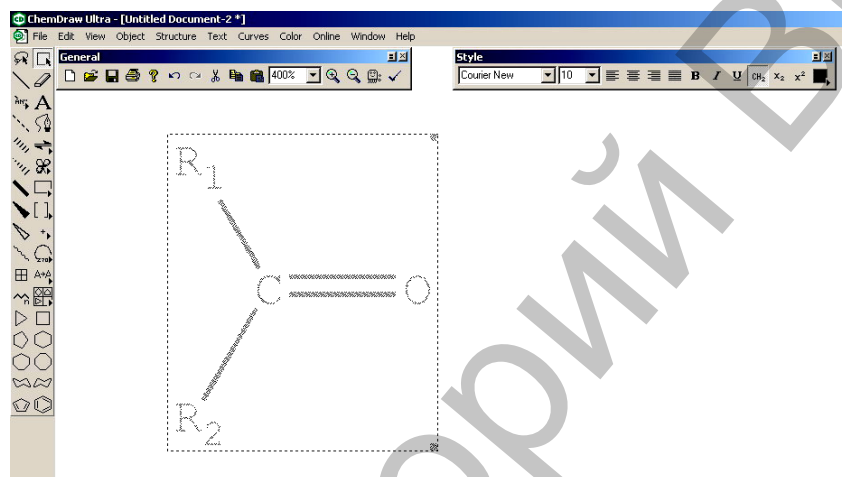









Рис. 1.19. Создание формулы.

Для этого нажмите кнопку  (Solid Bond) и с помощью нее добавьте на лист простую связь. Подведите курсор к концу связи  и добавьте еще одну связь – она будет присоединять второй радикал R2. Третья связь будет соединять углерод и кислород. Проведите ее из центрального углеродного атома: . Чтобы сделать ее двойной, необходимо повторить операцию добавления связи повторно или вызвать контекстное меню связи (правым щелчком мыши) и выбрать пункт Double-Bond . Теперь проставим названия атомов. Двойным щелчком на каждом атоме задайте его тип. Выделите созданный рисунок кнопкой Marquee  и нажмите  (Clean) для очистки структуры. Молекула карбонильного соединения готова.

2. Теперь добавим второй реагент: магнийорганическое производное. Нарисуйте его аналогичным образом: R – MgX.

3. И наконец нарисуем продукты реакции: спирт и соль магния (рис. 1.20).

Не забывайте каждый раз после создания молекулярной структуры проводить нормализацию углов и связей кнопкой  (Clean).

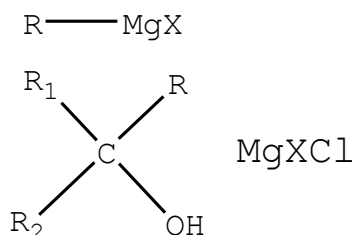






Рис. 1.20. Второй реагент.

- Для удобства увеличьте масштаб листа кнопкой  (Zoom).
- Теперь добавим стрелку и знаки «плюс». Это осуществляется с помощью кнопок  (Arrow) и  (Text). Также не забудьте подписать названия веществ и условия реакции, если это необходимо, добавляя текстовые поля кнопкой  (Text). В итоге мы получаем требуемое уравнение реакции (рис. 1.21).

Синтез Гриньяра

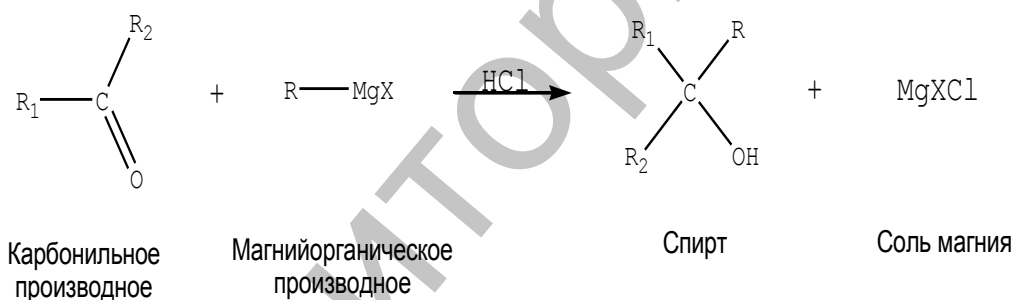


Рис. 1.21. Химическая реакция.

### Chem3D

Chem3D обеспечивает качественную графику молекулярных поверхностей и мощные вычислительные методы. В отличие от двумерных редакторов химических формул Chem3D позволяет осуществлять полное трехмерное моделирование и визуализацию химических соединений.

Основные возможности Chem3D:

- использование двумерной модели, созданной в одном из простых химических редакторов;
- автоматизированный анализ геометрии трехмерных моделей молекул (значения длины связей, валентных углов и т.д.);
- модуль ChemProp/Chem3D позволяет рассчитывать такие физические свойства, как температура кипения (BP), температура плавления (MP) и т.д.

## ChemFinder

ChemFinder является мощной системой управления базами данных химической информации.

Основные возможности ChemFinder:

- пользовательский интерфейс, позволяющий вводить и модифицировать информацию, выполнять поиск и осуществлять запросы, отображать результаты в текстовом и графическом виде;
- включает набор средств для создания и редактирования таблиц и поддержки отношений между связанными таблицами.

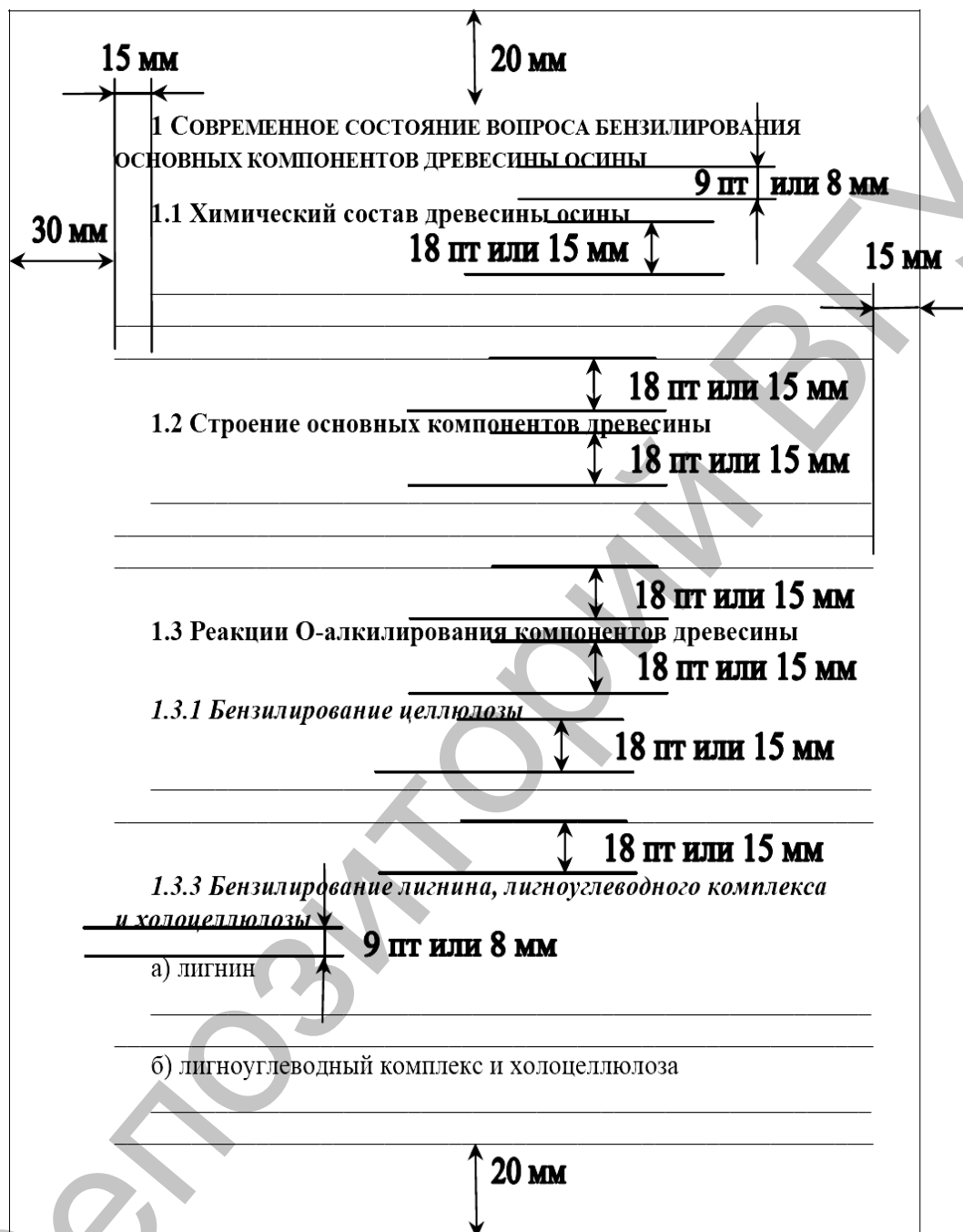
## Пример оформления содержания

### Содержание

Введение .....	5
1. Современное состояние вопроса бензопилирования компонентов древесины .....	6
1.1. Химический состав древесины осины .....	6
1.2. Строение основных компонентов древесины .....	7
1.3. Реакции О-алкилирования компонентов древе- сны .....	10
1.3.1. Бензилирование целлюлозы .....	11
1.3.2. Реакции бензилирования полисахаридов ГМЦ ...	
1.3.3. Бензилирование лигнина, лигноуглеводного комплекса .....	17
2. Получение и идентификация бензилированных произ- водных .....	19
2.1. Получение и очистка реагентов .....	19
2.2. Выделение компонентов древесины осины .....	21
2.2.1. Получение холоцеллюзы .....	21
2.2.2. Выделение 4-О-метилглюконоксина .....	22
2.2.3. Выделение диоксанлигнина .....	23
2.3. Методика бензилирования компонентов древе- сны .....	24



## Пример выполнения текстового документа



## 1.9. Примеры титульных листов и форма задания НИР

Титульный лист курсового проекта

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
БЕЛАРУСЬ  
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. П.М. Машерова**

**Биологический факультет**

Кафедра химии

**ИВАНОВ ИВАН ИВАНОВИЧ**

**ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ УТИЛИЗАЦИИ  
ПАРАФИНОВ**

Курсовой проект  
Студента 3 курса 35 группы  
Шифр и название специальности

<p>«Допустить к защите» <b>Руководитель проекта</b> _____</p> <p>«___» _____ 2006 г.</p>	<p><i>Руководитель</i> <b>Сидоров Василий Петрович</b> Доцент кафедры химии, канд. хим. наук</p>
--	--

**Витебск 2006**

Титульный лист курсовой работы

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
БЕЛАРУСЬ  
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. П.М. Машерова**

**Биологический факультет**

Кафедра химии

**ИВАНОВ ИВАН ИВАНОВИЧ**

**МЕТОДЫ УТИЛИЗАЦИИ ПАРАФИНОВ**

Курсовая работа  
Студента 4 курса 45 группы  
Шифр и название специальности

<p>«Допустить к защите» с предварительной оценкой _____ <b>Руководитель работы</b> _____ «__» _____ 2007 г.</p>	<p><i>Руководитель</i> <b>Сидоров Василий Петрович</b> Доцент кафедры химии, канд. хим. наук</p>
---	--

**Витебск 2007**

Титульный лист отчета по преддипломной практике

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
БЕЛАРУСЬ  
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. П.М. Машерова**

**Биологический факультет**

Кафедра химии

**ИВАНОВ ИВАН ИВАНОВИЧ**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА УТИЛИЗАЦИИ  
ПАРАФИНОВ**

Отчет по преддипломной практике  
Студента 5 курса 55 группы  
Шифр и название специальности

<p>«Допустить к защите» с предварительной оценкой _____ <b>Руководитель практики</b> _____ «__» _____ 2008 г.</p>	<p><i>Руководитель практики</i> <b>Сидоров Василий Петрович</b> Доцент кафедры химии, канд. хим. наук</p>
---	---

**Витебск 2008**

Титульный лист дипломной работы

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
БЕЛАРУСЬ  
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. П.М. Машерова**

**Биологический факультет**

Кафедра химии

УДК:

**ИВАНОВ ИВАН ИВАНОВИЧ**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
УСОВЕРШЕНСТВОВАННОГО МЕТОДА  
УТИЛИЗАЦИИ ПАРАФИНОВ**

Дипломная работа  
Студента 5 курса 55 группы  
Шифр и название специальности

<p>«Допустить к защите» <b>Заведующий кафедрой химии</b> _____</p> <p>«___» _____ 2008 г.</p>	<p><b>Руководитель</b> <i>Сидоров Василий Петрович</i> доцент кафедры химии, канд. хим. наук</p> <p><b>Рецензент</b> <i>Петров Иван Петрович,</i> доцент кафедры химии Витебского технологического университета, канд. хим. наук</p>
---	--

**Витебск 2008**

Пример бланка задания на курсовой проект  
(курсовую, дипломную работу, магистерскую диссертацию)

**ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ  
им. П.М. Машерова**

**Биологический факультет**

Кафедра химии

«Утверждаю»

зав. кафедрой \_\_\_\_\_

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.

**ЗАДАНИЕ  
ПО ПОДГОТОВКЕ ДИПЛОМНОЙ РАБОТЫ**

Студенту \_\_\_\_\_ курса \_\_\_\_\_

1. Тема работы: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Утверждена приказом ректора ВГУ №\_\_ от «\_\_» \_\_\_\_\_ 2008 г.

2. Срок сдачи студентом законченной работы \_\_\_\_\_

3. Исходные данные к работе \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

4. Перечень вопросов, подлежащих разработке, или краткое содержание работы \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

5. Перечень графического материала \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

6. Консультанты по работе (с указанием относящихся к ним разделов работы) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

7. Дата выдачи задания «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 200\_\_ года

8. Календарный график работы на весь период (с указанием этапов работы и сроков их выполнения) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Руководитель \_\_\_\_\_ (Ф.И.О.)

подпись

Задание принял к исполнению «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 200\_\_ года

\_\_\_\_\_

подпись студента

## **Глава 2. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОЙ РАБОТЫ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ**

### **2.1. Техника безопасности при выполнении самостоятельного химического эксперимента**

Химический эксперимент при выполнении магистерской диссертации, дипломной работы или научно-исследовательской работы студентов в научном кружке должен выполняться самостоятельно под контролем научного руководителя. Студенты первого и второго курсов работают только в присутствии преподавателя. Студенты старших курсов могут работать самостоятельно при условии полного владения методикой и техникой безопасности при выполнении данного эксперимента. Магистры и дипломники могут также работать самостоятельно, предварительно обсудив с научным руководителем все особенности работы.

### **2.2. Порядок работы в химической лаборатории магистрантов, студентов-дипломников и членов химического научного кружка**

1. Составить список реагентов и оборудования, необходимых для работы.

2. Обсудить и подписать у научного руководителя.

3. Получить реактивы и оборудование у лаборанта и разместить их, в соответствии с вышеназванными правилами, в выделенном для хранения месте под ключом (ключ у лаборанта).

4. Пройти у научного руководителя инструктаж по технике безопасности и расписаться в журнале.

5. Запрещается находиться в лаборатории одному, поэтому необходимо поставить в известность руководителя или лаборанта о начале работы в лаборатории и об ее окончании, сдав рабочее место лаборанту или научному руководителю.

6. По завершении эксперимента по написанию дипломной работы сдать оставшиеся реактивы и оборудование под роспись лаборанту (в журнале), в противном случае обходной лист для получения диплома об окончании вуза заведующим лабораторией не подписывается.

Напомним основные сведения о правилах техники безопасности при выполнении химического эксперимента.

### **2.3. Опасные в обращении химические вещества**

По характеру оказываемого на человека действия все опасные химические вещества можно разделить условно на 6 групп [9]:

1. Токсичные. 2. Вызывающие ожоги кожных покровов и слизистых оболочек. 3. Огнеопасные. 4. Взрывоопасные. 5. Вещества, вызывающие радиационное поражение. 6. Экологически опасные вещества.



**Токсические вещества.** Практически все химические вещества способны оказывать вредное воздействие на человека. Даже физиологически индифферентные аргон, углекислый газ при достаточно высоких концентрациях в воздухе оказывают наркотическое воздействие и вызывают удушье. Относительность понятия токсичность нагляднее всего продемонстрировать на кислороде, без которого невозможна сама жизнь, однако в больших концентрациях он действует на нервную систему и поражает дыхательные пути, приводя к отеку легких.

***Токсические вещества – это вещества, вызывающие острое или хроническое отравление уже в небольших дозах.***

Механизм действия этих веществ различен – канцерогенное и мутагенное влияние, или нервно-паралитический яд. С подобными веществами в лаборатории запрещается работать. Для других веществ учитывается порог их биологического действия на человека и предельно допустимые дозы, а для газов предельно допустимые концентрации ПДК.

Токсические вещества попадают в организм человека различными путями: через пищеварительный тракт, дыхательные пути, кожные покровы. Токсичность зависит не только от химической природы, но и от того, в каком виде оно попадает в организм и как усваивается. Например, хорошо растворяющийся нитрат бария – яд, а трудно растворимый сульфат бария – нетоксичен (вводится в желудок и кишечник при рентгенографии), т.к. практически не усваивается организмом, из которого быстро выводится. Сходным образом объясняется различие в токсичности хлоридов ртути (I) и (II), растворимый хлорид ртути (II) высоко токсичен, трудно растворимый хлорид ртути (I) практически нетоксичен. Токсичность веществ трудно прогнозировать, существуют справочники, где подробно описываются токсические действия химических веществ, на что следует обязательно обращать внимание при подготовке к работе с любым химическим веществом.

Некоторые авторы [9] предлагают характеризовать токсичность веществ с точки зрения классификации на s-, p-, d-, f-элементы.

*Токсичность s-элементов*

H<sub>2</sub>, He: индифферентны, но в больших концентрациях оказывают наркотическое действие.

*S-элементы I группы:* Li, Na, K, Rb, Cs

Na, K: соединения малотоксичные, вредны только в больших дозах. Однако, щелочи, пыль оксидов, пероксиды оказывают ожоговое действие, рассолы солей – раздражающее действие до язв. Li, Cs – соединения более токсичны, но не типичные яды.

*S-элементы II группы:* Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Ra

Sr, Ba: соединения высоко токсичны.

Be: соединения очень токсичны (уже в небольших дозах пыль металлического бериллия или его оксида и пероксида вызывает острое отравление).

Mg, Ca: соединения в целом не токсичны, вредное действие в больших дозах.

*P-элементы III группы:* B, Al, Ga, Zn, Tl

B: токсичны все соединения (в том числе борная кислота).

Ga, Zn: соединения высоко токсичны.

Tl: соединения сильные яды.

*P-элементы IV группы:* C, Si, Ge, Sn, Pb

C: такие соединения, как цианы, циановодород, цианиды, оксид углерода (II) высокотоксичны, родановодородная кислота и ее соли менее токсичны – только в больших дозах. Угольная пыль – хроническое отравление.

Si: из соединений высокотоксичны: силан ( $\text{SiH}_4$ ), гексафтороводородная кислота и ее соли, тетрафторид кремния ( $\text{SiF}_4$ ) токсичен, т.к. в организме гидролизуется до HF и гексафторокремниевой кислоты. Длительное вдыхание пыли  $\text{SiO}_2$  (диоксида кремния) – заболевание силикоз; асбест – канцероген.

Ge: соединения токсичны.

Sn, Pb: соединения токсичны, особенно свинца.

*P-элементы V группы:* N, P, As, Sb, Bi

N:  $\text{N}_2\text{O}$  оказывает наркотическое действие в больших дозах, остальные летучие соединения ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ) – высокотоксичны.

$\text{NH}_3$  в больших дозах вызывает раздражение дыхательных путей.

$\text{HNO}_3$ , нитриты, нитраты – токсичны. Концентрированная  $\text{HNO}_3$  оказывает и ожоговое действие.

P: белый фосфор – сильный яд, токсичен также фосфин ( $\text{PH}_3$ ), металлоорганические соединения фосфора высокотоксичны. Оксиды и галогениды фосфора, фосфины высокотоксичны.

As: все соединения высокотоксичны.

Sb: соединения – оксиды, сульфиды менее токсичны, чем соединения мышьяка, т.к. мало растворимы. Стибин  $\text{SbH}_3$  – сильный яд.

*P-элементы VI группы:* O, S, Se, Te, Po

O:  $\text{O}_3$ , озон – токсичен,  $\text{H}_2\text{O}_2$  – концентрированный раствор вызывает ожоги.

S: пыль серы – токсична, острое отравление вызывают сероводород, персульфиды, оксид серы (VI),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  – токсична (ожоги).

Se, Te: соединения высокотоксичны, особенно летучие вещества (по токсичности сопоставимы с соединениями мышьяка).

*p-элементы VIII группы:* F, Cl, Br, I, At

Все простые вещества – высокотоксичны F: F<sub>2</sub> – сильный окислитель («всё окисляющий») – особенно опасен.

Галогеноводороды токсичны, особенно фтороводород и плавиковая кислота, токсичны фториды и соединения, которые в организме образуют фториды.

Менее опасна соляная кислота в небольших концентрациях. Концентрированная соляная кислота вызывает ожоги.

*d-элементы*

Ионы многих металлов в мизерных количествах присутствуют в организме и играют важную роль в обменных процессах. *Поэтому даже в очень небольших дозах могут вызвать острые отравления!*

Из соединений, с которыми возможен контакт при организации учебного процесса, токсичны соединения хрома (смертельное отравление пылью CrO<sub>3</sub> и дихроматом аммония). CrO<sub>3</sub> – вызывает изъязвление слизистых оболочек, ожоги.

Mo, V: соединения токсичны.

Mn: KMnO<sub>4</sub> – перманганат калия высокотоксичен. Пыль диоксида марганца (MnO<sub>2</sub>), комплексные соединения менее токсичны.

Fe, Co, Ni: производные этих элементов опасны, начиная с некоторой дозы. Соединения Fe(III) несколько менее опасны, чем Fe(II). Комплексы – менее опасны.

Cu: растворы соединений в небольших дозах оказывают сильное раздражающее действие, при увеличении доз – отравление.

Ag, Au: для соединений – описаны случаи хронического отравления.

Zn, Cd, Hg: соединения высокотоксичны, соединения ртути имеют кумулятивное свойство, т.е. способность накапливаться, ртуть металлическая испаряется и остается в воздухе.

Pb, Bi, Cd: соединения тоже обладают кумулятивными свойствами. Токсичность может усиливаться при изменении баланса элементов в организме. Например, увеличение концентрации алюминия в организме приводит к фосфатному истощению за счет образования нерастворимого фосфата алюминия AlPO<sub>4</sub>.

**Вещества, вызывающие ожоги.** При работе с реактивами возможны ожоги кожи, слизистых оболочек глаз, полости рта, пищевода. Это происходит во время переливания реактивов, отмеривания жидкостей или при разбивании склянок, при вдыхании паров и пыли.

Сильные ожоги вызывают:

– щелочи – твердые и концентрированные растворы;

- концентрированные кислоты – азотная, серная, плавиковая, соляная, фосфорная;
- бром ( $\text{Br}_2$ ) – жидкий;
- пероксид водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) – концентрированный раствор;
- щелочные металлы, их оксиды, пероксиды;
- оксид серы (IV) ( $\text{SO}_3$ );
- оксид хрома (VI) ( $\text{CrO}_3$ );
- бурый газ ( $\text{NO}_2$ ) – сильнейшие ожоги дыхательных путей.

При попадании этих веществ в твердом и жидком состоянии на кожу действие их настолько быстро, что человек не успевает смыть вещества с кожи до изъязвления. Все эти вещества опасны также в виде пыли, паров аэрозолей.

**БЕРЕГИТЕ ГЛАЗА!** *Пыление некоторых веществ (например, кристаллической щелочи) ведет к серьезному поражению зрения (отслоению сетчатки).*

Концентрированная серная кислота в составе хромовой смеси очень опасна (применяется для очистки химической посуды) из-за легкости отрыва капель от поверхности смеси.

Опасно наложение термического и химического ожога (ожог горящим фосфором).

**Огнеопасные (пожароопасные) вещества и смеси.** Свойством пожароопасности обладают вещества, различные по химическим свойствам:

- 1) вещества, способные гореть на воздухе или в смеси с другими окислителями;
- 2) вещества, способные поддерживать горение;
- 3) вещества, выделяющие горючие продукты при хранении, нагревании или взаимодействии с другими соединениями;
- 4) вещества, способные вступать в реакции с большим экзотермическим эффектом.

Потенциальная способность веществ к реакции горения зависит от:

- концентрации реагентов;
- дисперсности;
- температуры и возможности отвода тепла;
- от гомогенности смеси;
- от соотношения реагентов в смеси.

Оценка огнеопасности определяется температурой воспламенения. Чем ниже этот показатель, тем выше опасность.

Напомним, что горение – это идущая с большой скоростью реакция с высоким экзотермическим эффектом. Примеры некоторых огнеопасных веществ представлены в табл. 2.1.

Таблица 2.1

## Группы огнеопасных веществ

Вещества, способные к окислению при комнатной температуре	Окислители, поддерживающие горение	Взаимодействие с другими веществами с выделением горючих продуктов
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rb, Cs, P белый – самовоспламенение.</li> <li>• Fe, Co, Ni – пирофорные (мелкодисперсные) – самовоспламеняются.</li> <li>• Угольная пыль – самовоспламеняется.</li> <li>• Mg, Al, P красный – интенсивно сгорают при нагревании с образованием раскаленных частиц.</li> <li>• H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S, CO – горят с высокотермическим эффектом.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Газообразные: F<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, Br<sub>2</sub> (жидкий), концентрированные:</li> <li>• H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub>;</li> <li>• соли: хлораты, нитриты, перманганаты, пероксиды, надпероксиды.</li> </ul> <p>Важна концентрация окислителя (например, кислород жидкий воспламеняет бумагу и ткани).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CaC<sub>2</sub> при взаимодействии с H<sub>2</sub>O – выделяется C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> (горючий газ);</li> <li>• Al<sub>4</sub>C<sub>3</sub> при взаимодействии с H<sub>2</sub>O – выделяет CH<sub>4</sub>;</li> <li>• металлы при взаимодействии с кислотами (а щелочные с водой) – выделяется H<sub>2</sub> – горючий в смеси с O<sub>2</sub></li> </ul>

**Взрывоопасные вещества и смеси.** В основе взрыва лежат физические и химические процессы, в результате которых происходит образование и быстрое расширение достаточно больших объемов газов. Расширяясь, газы производят работу взрыва, обеспечивая резкое повышение давления. При этом имеют значение количество выделяющихся газов, скорость их образования, развивающаяся в ходе процесса или поддерживаемая извне температура.

В основе процессов, обуславливающих взрыв, лежат как физические, так и химические явления. К *физическим* относятся процессы быстрого испарения жидкости или возгонки твердого вещества, расширение газов при перепаде давления от высокого к низкому, отсюда опасность работы в вакууме и при высоком давлении. *Химические* сопровождаются взрывом, если они протекают с выделением большого количества газообразных продуктов, идут с высокой скоростью, высокоэкзотермичны, способны к быстрому самораспространению по всему объему. Можно выделить две группы взрывоопасных процессов: 1) процессы, сопровождающиеся взрывом в экстремальных условиях, высокой температурой, при ударе, растирании (в других условиях они могут протекать без взрыва; 2) превращение собственно взрывчатых веществ и смесей (инициируются уже при слабых сотрясениях, растирании, нагреве).

Взрывчатость смесей химических веществ обусловлена, как правило, протеканием окислительно-восстановительных реакций. Примеры восстановителей и окислителей представлены в табл. 2.2.

Таблица 2.2

**Примеры окислителей и восстановителей,  
при смешивании которых возможен взрыв**

Восстановители	Окислители
Дисперсная сера, уголь, фосфор, металлы (особенно в порошке)	Хлораты, перхлораты, броматы, хроматы и дихроматы, нитраты, перманганаты.
<i>Газовые смеси</i>	
H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> S, CO, NH <sub>3</sub>	Воздух, кислород, озон, фтор, хлор

Еще один показатель реальной взрывоопасности – соотношение реагентов. Например, гремучая смесь 2H<sub>2</sub> + O<sub>2</sub> (один объем кислорода: 2 объема водорода).

*Меры предосторожности при работе со взрывоопасными веществами и смесями:*

- теоретический анализ на взрывоопасность;
- использование сильно разбавленных растворов;
- работа с небольшими количествами веществ;
- предварительная проба на взрывчатость;

**2.4. Экологически опасные вещества**

Экологическую опасность создают вещества, попадающие в атмосферу, почву и воду в больших количествах. Из числа неорганических веществ – это соединения свинца, ртути, кадмия и других тяжелых металлов, нитраты.

Источниками загрязнения *атмосферы* и виновниками выпадения кислотных дождей являются промышленные газовые выбросы (CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, угольная пыль), частицы соединений металлов (выброс SO<sub>2</sub> – сотни миллионов тонн), а также автотранспорт (CO<sub>2</sub>, NO).

Источниками загрязнения *воды и почвы* являются *кислотные дожди*, которые вымывают из пород соединения алюминия, цинка, марганца; *автотранспорт, сельское хозяйство бытовые отходы и стоки, промышленность* (соединения свинца и других тяжелых металлов).

Выбросы химических лабораторий незначительны для каждой, но суммарный эффект большой. В такой острой экологической обстановке недопустимо экологически небрежное отношение к утилизации отходов.

*Принципы переработки и утилизации отходов в химической лаборатории следующие:*

1. Кислотно-основная нейтрализация (например, перед сливанием в канализацию остатков щелочных растворов их нейтрализуют кислотными).
2. Сохранение драгоценных металлов (собирают в отдельную посуду вещества с драгоценными металлами для их последующего восстановления).
3. Перевод растворимых веществ в нерастворимые (например, из раствора трихлористый хром осаждают щелочью до нерастворимого гидроксида хрома (VI)).
4. Перевод нерастворимых, но неустойчивых веществ в более устойчивые соединения.
5. Использование отходов одного эксперимента в качестве реагентов для другого.
6. Окислительно-восстановительная «нейтрализация» до безопасной формы элемента.

#### **2.5. Организация хранения реактивов на индивидуальном рабочем месте.**

Выполняя химический эксперимент в рамках дипломной работы, необходимо правильно организовать хранение реактивов.

«Реактивы химические – индивидуальные вещества, их растворы или смеси строго регламентированного состава, выпускаемые в форме, обеспечивающей надежность хранения и удобство применения для научных исследований и химического анализа» (Химия: энциклопедический словарь. – М.: Советская энциклопедия, 1983, с. 497).

Для материалов (бумага фильтровальная, крахмал, парафин и др.) четких характеристик не устанавливается.

Принадлежность к той или иной группе хранения реактивов определяется в первую очередь совместимостью, т.е. смешанные в любых пропорциях вещества одной и той же группы в условиях хранения не должны взаимодействовать со значительным экзотермическим эффектом с образованием дурно пахнущих или ядовитых летучих соединений и т.д.

При размещении реактивов неукоснительно соблюдать порядок совместного хранения пожаро- и взрывоопасных веществ. *Не разрешается совместное хранение реактивов, способных реагировать друг с другом с выделением тепла или горючих газов. Нельзя также совместно хранить вещества, которые в случае возникновения пожара нельзя тушить одним огнетушащим средством.*

Классификация химических веществ по группам хранения различная в учебных и научных лабораториях. В наших лабораториях используется классификация учебная (табл. 2.3).

Таблица 2.3

### Группы хранения реактивов

№ п/п группы	Общие свойства веществ данной группы	Примеры веществ из «Типового перечня для учебного заведения»	Условия хранения
1	2	3	4
1	Взрывчатые вещества	<b>В «Типовых перечнях» не значатся</b>	Вносить в здание учебного заведения запрещено
2	Выделяют при взаимодействии с водой легко воспламеняющиеся газы	Литий, натрий, кальций металлический, карбид кальция	В лаборантской в шкафу под замком или вместе с ЛВЖ
3	Самовозгораются на воздухе при неправильном хранении	<b>В «Типовых перечнях» не значатся</b>	—
4	Легковоспламеняющиеся жидкости (ЛВЖ)	Диэтиловый эфир, ацетон, бензол, спирт этиловый, толуол, циклогексан, изобутиловый спирт и т.д.	В лаборантской в металлическом ящике или в специальной укладке
5	Легковоспламеняющиеся твердые вещества (ЛВТ)	Сера черенковая, фосфор красный	В лаборантской в шкафу под замком
6	Восламеняющиеся окисляющие реактивы	Калия перманганат, азотная кислота (плотность 1,42), нитраты калия, натрия	В лаборантской в шкафу отдельно от 4-й и 5-й групп
7	Повышенной физиологической активности	Бром, иод, бария оксид, кали едкое, кальция оксид, кальция гидроксид, натр едкий, свинца оксид, аммония дихромат, бария нитрат и хлорид и др.	В лаборантской в сейфе (надежно запирающимся металлическом ящике)
8	Малоопасные вещества и практически безопасные	Натрия хлорид, сахароза, мел, борная кислота, магния сульфат, кальция сульфат и др.	В аудитории (в запирающихся шкафах) или в лаборантской (в шкафах)



## 2.6. Правила хранения реактивов на рабочем месте

- В шкафах для реактивов, на открытых полках или в тумбах лабораторных столов можно хранить нелетучие, непожароопасные и малотоксичные твердые вещества и водные растворы, титрованные растворы кислот и щелочей, наборы реактивов для качественного химического анализа в пузырьках и капельницах объемом 10–50 мл.
- Хранить реактивы в деревянном шкафу с плотно закрывающимися дверцами.
- Полки в шкафу не должны прогибаться от тяжелого груза. Полки можно защитить полиэтиленовой пленкой (не менее, чем в 2 слоя) так, чтобы по краям полки она загибалась кверху на 2–3 см.
- Для каждой группы следует отвести отдельную полку и обозначить на ней номер группы. Допускается и хранение на одной полке, если имеется вертикальная перегородка выше самой высокой упаковки в 2 раза.
- Твердые вещества на полках шкафов располагают сверху, а жидкие снизу. Если произойдет случайный разлив, испортится меньшая поверхность и снизится вероятность взаимодействия веществ друг с другом.
- Бутылки с концентрированными минеральными кислотами – соляной, азотной, серной, а также с хромовой смесью на основе концентрированной серной кислоты получают у лаборанта и хранят во время работы в вытяжном шкафу. *Концентрированные кислоты, легко воспламеняющиеся жидкие и твердые вещества, а также физиологически активные вещества (7 группа хранения) должны получаться и сдаваться в конце рабочего дня на хранение лаборанту.*
- Нельзя хранить дымящие минеральные кислоты в нижних не-вентилируемых секциях вытяжных шкафов и в специальных выложенных асбестом ящиках. Поступающие даже в ничтожных количествах кислоты вызывают заболеваемость кариесом. Неправильное хранение или неосторожное обращение может привести к различным опасным последствиям (см. табл. 2.4).

Табл. 2.4

### Примеры возможного последствия неосторожного смешения реактивов

Смесь	Результат	Причина
Кристаллический $\text{KMnO}_4$ + сильная кислота	Взрыв	Образуется марганцевая кислота, разлагающаяся со взрывом.

Смесь	Результат	Причина
Кристаллический $\text{KMnO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$	Взрыв	Окислительно-восстановительная реакция
Кристаллический $\text{KMnO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4 +$ органическое вещество	Открытое пламя	Окислительно-восстановительная реакция
Кристаллический $\text{KMnO}_4 + \text{NH}_3$ (газ)	Воспламенение (достаточно 1–2-х кристалликов)	Перманганат раскаляется в атмосфере аммиака
Кристаллический $\text{KMnO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3$	Самопроизвольный взрыв через 1 час	Окислительно-восстановительная реакция
Кристаллический $\text{KMnO}_4 +$ глицерин (или этиленгликоль)	Сначала медленно взаимодействуют, потом скорость реакции возрастает – воспламенение	ОВР. Повышенная вязкость мешает отводу теплоты
Кристаллический $\text{KNO}_3 + \text{NaHSO}_3$	Взрыв	Окислитель + сильный восстановитель
Кристаллический $\text{KNO}_3 + \text{P}$ красный	Воспламенение	Окислитель + сильный восстановитель
Кристаллический $\text{KNO}_3 + \text{P}$ красный + $\text{KMnO}_4$ (несколько кристалликов) $\text{NH}_4\text{NO}_3 +$ органические вещества	Взрыв при перемешивании Взрыв при трении	Чувствительно к детонации, при механическом воздействии – взрыв
$\text{NH}_4\text{NO}_3 +$ дихромат калия, хлорид натрия, хлорид бария	Взрыв	Катализирующее действие солей

### 2.7. Использование тары и пробок

Материал первичной упаковки определяется физико-химическими свойствами реактива (летучестью, светочувствительностью, химическим действием на некоторые материалы. Для фасовки ядовитых веществ используют ампулы. Банки стеклянные, полиэтиленовые из оцинкованного железа используются исключительно для фасовки твердых реактивов, имеющих низкую температуру плавления.

Полученные из магазина (склада) реактивы можно хранить некоторое время в фабричной упаковке. Однако после вскрытия тару для хранения веществ в реактивном шкафу нередко приходится менять.

Важным условием является максимальное заполнение лабораторной посуды веществами и растворами, поскольку многие из них обладают высокой реакционной способностью по отноше-

нию к кислороду воздуха, особенно при нагревании. Кроме того опасно образование в замкнутом объеме взрывчатых газо- и паровоздушных смесей.

Для химических опытов необходимо иметь обыкновенные корковые, резиновые, каучковые пробки. Они должны быть в запасе и содержаться в ящике с перегородками для различных размеров.

Правильно подобранная пробка должна входить в предназначенное для нее отверстие не слишком туго и не слишком слабо. Если пробка может быть введена в отверстие сосуда лишь с большим усилием, то она непригодна: стекло может треснуть и поранить руки. Для того, чтобы изготовить простейший прибор – газотводная трубка с пробкой – стеклянную трубку, для которой в пробке сделано отверстие, вставляют в нее вращательным движением с одновременно умеренным нажатием. Конец трубки должен быть оплавлен (рис. 2.1).

Трубку нельзя вставлять в пробку с большим усилием, так как при этом может треснуть пробка или сломается трубка. Острыми краями последней легко поранить руки. Во избежание поломки трубку следует держать как можно ближе к тому концу ее, который вставляют в пробку.

Каучуковые пробки необходимы для изготовления приборов для получения газов. Каучуковыми пробками пользуются также для сосудов с растворами едких щелочей. *Нельзя пользоваться каучуковыми пробками для закрывания склянок с бензолом, бензином и другими растворителями.*

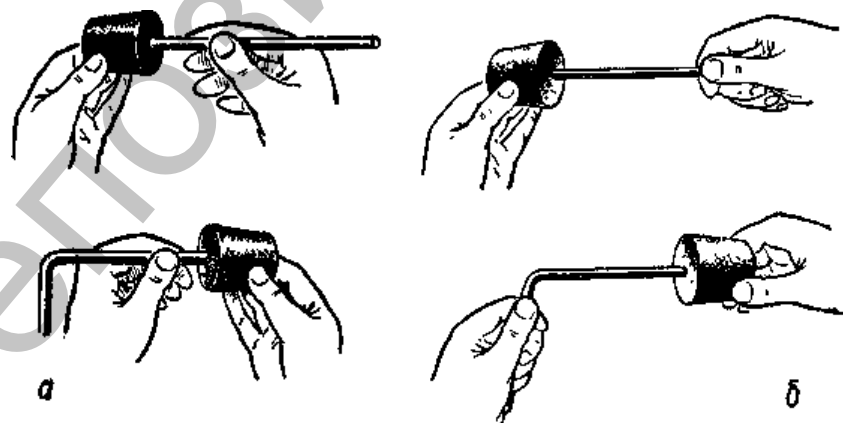


Рис. 2.1. Соединение трубок и пробок:  
а – правильно; б – неправильно.

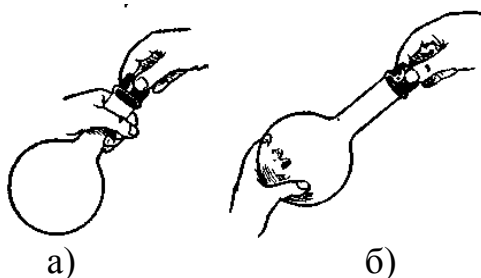


Рис. 2.2. **Вставление пробки в бутылку:**

- а – правильно;  
б – неправильно.

Стеклянные притертые пробки годятся только для тех склянок и банок, к которым они притерты. К другой посуде они не подходят.

Притертые пробки менее герметично закрывают сосуд, чем корковые или каучуковые. Поэтому в посуде с притертыми пробками нельзя хранить эфир, бензол и т.п. жидкости (рис. 2.2).

Для пробирок и стеклянных склянок годятся полиэтиленовые пробки аптечного типа. К склянкам подойдут полиэтиленовые пробки от винных бутылок. Растворы едких щелочей, соды, поташа ( $K_2CO_3$ ), растворимого стекла ( $K_2SiO_3$ ) и др. щелочных веществ нельзя закрывать притертыми пробками, их лучше хранить в полиэтиленовых сосудах, т.к. они реагируют со стеклом.

Каучуковые пробки нельзя использовать для хранения органических растворителей (подобное растворяется в подобном).

## 2.8. Техника безопасности при проведении лабораторных операций

### Приготовление реактивов, отмеривание жидких и твердых реактивов:

*Взятие навески.* При взвешивании твердого вещества открывают пробку (крышку) склянки и откладывают ее в сторону на ровную поверхность вверх той частью, которая непосредственно прилегают к горловине. Как только нужная порция взята, сосуд закупоривают. Такая последовательность операций позволяет не перепутать пробки и не загрязнить их. Навеску берут фарфоровой или пластмассовой ложечкой, недопустимо использование с этой целью металлического или деревянного шпателей, так как к их поверхности многие твердые вещества прилипают и реагируют с ней. Запрещается насыпать твердое вещество из тары через край, так как при этом неизбежно возникает пыль. Взвешивание необходимо проводить на подложке из полимерных материалов. Нельзя для этой цели пользоваться фильтровальной бумагой. Поскольку правилами техники безопасности запрещается возвращать в склянку излишек твердого реактива, последние порции при отборе навески делают минимальными.

*Отмеривание жидких реактивов.* Нужные объемы жидких реактивов в кабинетах химии берут с помощью совершенно сухой мерной посуды (мензурок, мерных цилиндров, пипеток). Желательно для кислот, щелочей, водных растворов и органических жидкостей использовать постоянно одну и ту же мерную посуду,

соответствующим образом отмеченную. *Запрещается набирать в пипетку жидкий реактив с помощью рта.*

*Измельчение.* Для уменьшения пылевыведения при растирании вещества в ступке следует периодически отсеивать измельченный материал. Запрещается совместное измельчение компонентов во избежание твердофазной реакции между ними (например, гашеной извести и солей аммония). По этой же причине после каждого вещества необходимо тщательно очищать ступку и пестик.

*Приготовление растворов.* Для кислот и щелочей предпочтительнее эту операцию проводить в лабораторной посуде, изготовленной из фарфора, обладающего высокой механической и термической прочностью. Тонкостенная стеклянная химическая посуда менее прочна, поэтому для предохранения дна и стенок стакана во время приготовления раствора содержимое перемешивают стеклянной палочкой с резиновым наконечником, на 1–2 мм более длинным, чем конец палочки.

Важно соблюдать порядок смешения компонентов раствора. Если нет специальных оговорок, всегда сначала берут некоторый объем растворителя и к нему добавляют растворяемое вещество. *При смешении двух растворов жидкость большей плотности вливают в жидкость меньшей плотности по стенке или по палочке тонкой струей, постоянно перемешивая.* Для приготовления растворов посуду выбирают такой вместимости, чтобы она оказалась заполненной не более чем на три четверти.

Операции с легколетучими веществами (например, аммиаком) проводят на сквозняке или в вытяжном шкафу. Отбор нужных объемов едких и летучих жидкостей делают пипетками с резиновой грушей.

*Приготовление раствора надо приостановить, если произошел разлив жидкости, рассыпано твердое вещество или поврежден сосуд с раствором.* Когда порядок наведен, можно работать дальше.

При наливании жидкости, особенно концентрированной кислоты, пробку следует класть на стол так, чтобы смоченное жидкостью место не касалось стола. Плоские притертые пробки кладут концом кверху, а высокие пробки обыкновенно совсем не кладут на стол, а держат между пальцами.

**Меры техники безопасности при работе со щелочами.** Действие концентрированных растворов характеризуется значительной глубиной проникновения, ибо они разрушают белок. *В связи с этим особенно опасно попадание кусочков щелочей в глаза, оно сопровождается при запоздалой первой помощи полной потерей зрения.*

Твердые щелочи гигроскопичны, кроме того, они поглощают из воздуха и оксид углерода (IV) с образованием соответствующих карбонатов. Поэтому хранить твердые щелочи следует в сосудах из полиэтилена или в толстостенных широкогорлых стеклянных банках, плотно закрывающихся пропарафиненными корковыми пробками. У склянок с притертыми пробками попадающая на шлиф щелочная пыль вскоре образует силикаты, а это ведет к «запеканию» пробки в горлышке. «Заедает» и пластмассовые навинчивающиеся крышки, поэтому щелочь из такой упаковки лучше переложить.

Из концентрированных аммиачных растворов выделяется газообразный аммиак, поэтому с большими количествами таких растворов работают под тягой или на открытом воздухе.

Во время приготовления растворов твердые щелочи из сосудов берут фарфоровыми, стеклянными или пластмассовыми ложечками, но ни в коем случае не насыпают, так как пыль может попасть в глаза и на кожу. После употребления ложечку моют, так как щелочь плотно пристает к поверхностям. При взятии навески используют тонкостенные фарфоровые чашечки или полиэтиленовую пленку. Бумагой, тем более фильтровальной, пользоваться нельзя, так как щелочь ее разъедает. В крайнем случае применяют пергамент или кальку. Приготавливают растворы в толстостенных фарфоровых кружках в два этапа. Сначала готовят концентрированные растворы, добавляя щелочь к избытку воды, охлаждают их до комнатной температуры, а потом разбавляют до нужной концентрации. Такая последовательность вызвана значительным экзотермическим эффектом растворения.

Концентрированные щелочи разрушают стекло, и их нельзя долго хранить в тонкостенной лабораторной посуде.

**Меры техники безопасности при работе с кислотами.** Минеральные кислоты вызывают локальный химический ожог. Степень тяжести его зависит от силы и концентрации кислоты. Наиболее опасные, долго не заживающие ожоги дает «царская водка» (смесь соляной и азотной кислот в соотношении 3:1). Концентрированные кислоты опасны еще и тем, что могут выделять едкие пары. Например, азотная кислота с содержанием  $\text{HNO}_3$  ей в растворе выше 63% загрязняет воздух физиологически активными оксидами азота. Ледяная уксусная кислота раздражающе действует на верхние дыхательные пути. Эти особенности концентрированных кислот требуют специальных мер предосторожности. Такие кислоты хранят в отдельном помещении или под тягой. Переливание их также проводится под тягой или на открытом воздухе, причем во время работы необходимо пользоваться средствами индивидуальной защиты. В обращении с концентрированными кислотами неприменима тонко-

стенная посуда, ее легко разбить, а кроме того, некоторые кислоты разъедают стекло.

В кабинетах химии и биологии приготовление растворов кислот очень распространенная операция, поэтому все приемы ее должны быть особенно четко отработаны.

При разбавлении или с целью повышения концентрации, а также при изготовлении смеси кислот вливают жидкость большей плотности в жидкость с меньшей плотностью. В этом случае теплота растворения хорошо распределяется по всему объему жидкости и местные перегревы и разбрызгивание исключено. Приливают кислоту к воде по стеклянной палочке. Содержимое сосуда, в котором готовится раствор, постоянно перемешивают. Первые порции обычно делают небольшими. Во время растворения нужно следить за температурой жидкости, не допуская перегрева.

В процессе приготовления растворов кислот и при работе с ними нередки случаи разлива жидкости. Кислота, попавшая в щели пола или лабораторного стола, может явиться причиной отравлений и ожогов, поэтому ее необходимо сразу же убрать. Лучший способ – засыпать лужи сухим кварцевым песком, который затем собирают в металлический или пластмассовый совок. Впоследствии песок промывают водой, жидкость сливают в сосуд для сбора отходов, а песок сушат и используют вновь.

После уборки песка место разлива обрабатывают 10–15%-ным раствором карбоната натрия, а затем моют водой. Такая последовательность наиболее целесообразна, ибо при непосредственной нейтрализации кислоты выделяется теплота, что вызывает испарение вредных веществ и порчу поверхности стола или пола.

### Техника безопасности при нагревании

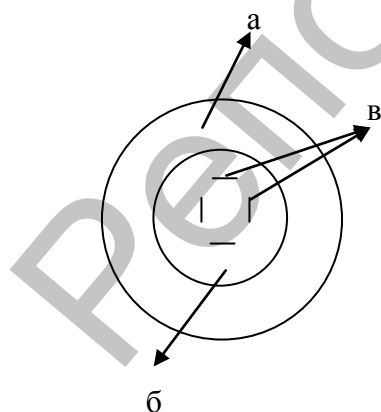
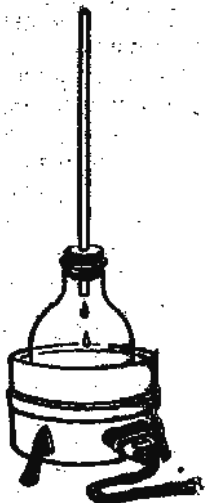


Рис. 2.3. Схема устройства асбестовой сетки.

Для нагревания используют чаще всего электроплитки с закрытым нагревательным элементом. На электроплитке можно нагревать тонкостенную посуду со стеклом марки ТС (термически стойкое). Для упаривания, в других случаях, когда требуется меньшая температура, используют асбестовые сеточки или прокладки (металлическая пластинка (а) с закрепленным при помощи проволоки (в) с двух сторон кусочками асбеста (б) (рис. 2.3).



**Рис. 2.4. Нагревание  
горючей жидкости  
в водяной бане  
с обратным  
холодильником.**

Иногда нагревание проводят на водяных банях, в качестве которых можно использовать термически стойкие стаканы, жестяные упаковки (рис. 2.4). Для достижения более высокой температуры можно использовать песчаную баню. Очень часто для нагревания используются спиртовые лампочки (спиртовки). Они просты по устройству, но требуют осторожности при эксплуатации. Перед зажиганием спиртовки следует произвести внешний осмотр и удостовериться, что корпус ее исправен, фитиль вытасчен на нужную высоту и распушен, а горловина и держатель фитиля сухие. Если спиртом смочен держатель фитиля и горловина спиртовки, при зажигании может произойти взрыв паров внутри.

Следствие этого – нарушение целостности корпуса, выброс держателя, загорание спирта в спиртовке.

Поэтому ни в коем случае нельзя зажигать спиртовку с потеками жидкости, а нужно выждать некоторое время и дать ей обсохнуть. Фитиль должен плотно входить в направляющую трубку держателя, иначе также не исключена возможность вспышки паров внутри спиртовки. Зажженную спиртовку нельзя переносить с места на место, нельзя также зажигать одну спиртовку непосредственно от другой во избежание разлива спирта и возможного пожара. Гасить спиртовку можно только одним способом – накрывать пламя фитиля колпаком. Последний должен находиться всегда под рукой.

Плохой колпачок является не только причиной потери части спирта при испарении, но затрудняет зажигание лампочки. Применяемый в лампочках спирт содержит 4% воды (нередко и больше). За счет испарения спирта верхняя часть фитиля может оказаться в значительной мере пропитанной водой, поэтому лампочку, долго стоявшую с плохим колпачком или совсем без него, бывает трудно зажечь.

Существенной деталью лампочки является металлический вкладыш, состоящий из кружка с трубкой, в которой проходит фитиль. При подборе (а нередко и при необходимости самостоятельного изготовления из жести, алюминия и пр.) вкладышей необходимо иметь в виду, что кружок вкладыша по размерам должен совпадать с наружным диаметром толстостенного горлышка лампочки, не ме-



шая закрывать ее колпачком, а трубка входит нижней частью (более длинной, чем верхняя) в горлышко лампочки свободно, но не болтаться в нем. Если кружок вкладыша заметно перемещается по обрезу горлышка лампочки, между краем его и внутренним краем горлышка образуется небольшой зазор. Через него может проскочить внутрь лампочки пламя, отчего происходит вспышка смеси паров спирта с воздухом. Вкладыш вместе с частью фитиля выбрасывает из горлышка, спирт на фитиле загорается на всем протяжении выброшенной части. Если не принять незамедлительных мер (например, накрыть лампочку стаканом или мокрой тряпкой), лампочка может треснуть, вылившийся спирт разольется по столу и загорится. Неожиданная вспышка с выбрасыванием фитиля и довольно резким звуком нередко пугает производящего опыт (особенно если держать горящую лампочку в руке), и он может бросить лампочку со всеми вытекающими отсюда последствиями.

Нельзя задувать пламя, так как при этом иногда происходит небольшой взрыв смеси паров спирта и воздуха и горящий спирт выбрасывается в лицо.

Использовать в спиртовках можно лишь этиловый спирт. Нельзя пользоваться бензином или смесью бензина с ГЖ. В крайнем случае можно заливать в спиртовки керосин.

В нерабочем состоянии спиртовки хранят в металлических ящиках для ЛВЖ или под тягой.

В спиртовке необходимо поддерживать уровень спирта не менее чем на  $2/3$  высоты резервуара, при меньшей высоте возможно образование в ней взрывоопасной газовой смеси.

*Порядок зажигания.* Снять колпачок, поправить фитиль «остро» либо «широко», просушить руки, зажечь спичку и поднести к фитилю. Если сначала зажечь спичку, а затем снимать колпачок, фитиль может прилипнуть к нему, спичка зажжет не фитиль, а спирт в спиртовке.

На открытом пламени можно нагревать реактивы в пробирках и круглодонных колбах.

При кипячении воды или другой жидкости, когда весь воздух из нее удалится, жидкость начинает кипеть очень неравномерно, причем стеклянный сосуд может треснуть. Для более равномерного кипения в жидкость следует положить кипятивники — кусочки обожженной глины, неглазурованного фарфора или поместить стеклянные капилляры. Заключающийся в них воздух выделяется постепенно, и кипение идет равномерно.

Пробирку следует сначала прогреть по всей длине, а потом нагревать реактив; *недопустимо нагревать пробирку выше жидкости*, от этого она может лопнуть, что происходит и тогда, ко-

гда сушат пробирку, обогревая ее снаружи. Колбу и пробирку можно высушить, держа их высоко над пламенем, все время поворачивая сосуд и вдувая в него воздух с помощью груши. Можно ополоснуть сосуд этиловым спиртом, слить его и сушить дальше с помощью груши, держа высушиваемый сосуд отверстием книзу. На открытом пламени нельзя нагревать выпарительные чашки из-за неравномерного нагревания. Нельзя нагревать вообще толстостенную посуду (колбы Бунзена, кристаллизаторы, ступки).

Сосуды с нагретыми жидкостями закрывают только покровными стеклами, так как при охлаждении плотно закупоренная склянка вследствие проникновения давления паров может быть разрушена атмосферным давлением.

#### **Правила работы с физиологически активными газами в вытяжных шкафах и вне их:**

- действенность вытяжной системы качественно проверяется по тому, как ведет себя пламя спички у щели под дверцей, приподнятой на 5 см. Оно должно отклоняться в сторону тяги, срываться и гаснуть;

- во время работы дверцы вытяжного шкафа полностью закрывать нельзя, т.к. из-за отсутствия подсоса шкаф перестанет работать;

- реактивы и оборудование в вытяжном шкафу должны быть расположены в пределах доступности для рук;

- нельзя захламлять шкаф посудой, т.к. в этих местах воздух застаивается;

- прежде чем работать в шкафу, необходимо все приготовить для опыта, чтобы потом не ходить с реактивом по классу;

- чтобы утилизировать или уничтожить отходы, необходимо с помощью воды вытеснить газ из посуды под тягой либо залить нейтрализующей жидкостью.

#### **Мытье посуды и приборов:**

- для мытья посуды, после удаления из нее продуктов реакции, применяют соду, мыло, горячую воду и щетки: нужно мыть посуду сразу по окончании работы, а не оставлять надолго грязной. Весьма действенными моющими средствами являются также различные стиральные порошки;

- вне вытяжного шкафа используют установки для адсорбции выделяющихся газов и аспираторы, либо используют микрореакторы с поглотителем, либо полиэтиленовые пакеты, либо приборы;

Щетки для мытья посуды бывают разнообразных сортов и размеров. Наиболее употребительны ершики. Если указанным способом все-таки не удастся отмыть посуду, прибегают к дейст-

вию соответствующих реактивов (щелочей, кислот и т.д.) в зависимости от того, после какого вещества моют посуду. Например, желтый осадок оксидов железа хорошо смывается соляной кислотой, бурый осадок оксида марганца  $MnO_2$ , получившийся после разложения перманганата калия, – щавелевой кислотой. Для глубокой очистки используется хромовая смесь.

Иногда для мытья посуды могут оказаться полезными спирт, бензин, скипидар и т.д.

Для механического удаления приставших веществ используют обрывки бумаги, овес. Их помещают в сосуд вместе с мыльной водой и некоторое время сильно взбалтывают. Для этой цели при мытье тонкостенной посуды ни в коем случае не следует употреблять песок, который сильно царапает посуду, после чего она легко трескается. (Наружные царапины не так сильно влияют на прочность посуды, как внутренние).

Проверить качество вымытой посуды визуально можно по характеру стекания воды с посуды, если она стекает не задерживаясь сплошным потоком – посуда чистая, если задерживается в некоторых местах – требуются дополнительные меры по очистке.

### **2.9. Действия в экстремальных ситуациях**

Если во время опыта отключилась вытяжная система, необходимо:

1. Закрыть створку шкафа.
2. Надеть защитную маску.
3. Открыть окна, двери, залить нейтрализующим раствором реактор.
4. Выйти самому из класса до проветривания.
5. Предупредить и позвать на помощь лаборанта.

Если в помещение по какой-нибудь случайности попадет большое количество ядовитого газа или пара, например, разобьется большая склянка с бромом или бутылка с концентрированной азотной кислотой, поступать следующим образом.

Если нет противогаса: 1) задержав дыхание, открыть или, в крайнем случае, разбить окно и вдохнуть свежий воздух; 2) затем так же быстро открыть (или разбить) второе окно, если оно имеется, вдохнуть свежий воздух, выйти из помещения немедленно и закрыть за собой дверь; 3) оставить помещение закрытым до полного проветривания.

### **Методика тушения различных видов пожаров:**

1. *Тушение ЛВЖ и ГЖ.* Лучшим средством для тушения ЛВЖ и ГЖ является пенный или углекислотный огнетушитель. Применение воды исключено, так как большинство легковоспламеняющихся и горючих жидкостей имеют меньшую плотность, поэтому они рас-

текаются по поверхности воды, способствуя расширению очага загорания. Допустимо применение песка, порошковых составов и огнестойких накидок, последние особенно пригодны для ЛВЖ и ГЖ, горящих в открытых сосудах, а также при небольших разливах, например при воспламенении пролившегося горючего из спиртовки. Одеялом или накидкой аккуратно накрывают сосуд или место разлива, чтобы не расплескать или не разбрызгать жидкость, и огонь, лишенный доступа кислорода, гаснет. Пенные огнетушители непригодны для ликвидации пламени горящих жидкостей, таких, как, например, этанола, который очень быстро разрушает пену, а также для тушения установок, находящихся под напряжением.

2. *Тушение пожара под тягой и на лабораторном столе.* Наиболее часты случаи загорания под тягой и на лабораторном столе ЛВЖ и ГЖ, поэтому важно предотвратить возможность дальнейшего распространения огня. В этом случае немедленно закрывают шибер вентиляционного канала и отключают вентилятор вытяжного шкафа. Со стола или из-под тяги убирают источник воспламенения (раскаленную плитку, воспламенившуюся спиртовку), упавшую газовую горелку отключают, отставляют от очага пожара сосуды с ЛВЖ и легковоспламеняющиеся предметы, например фильтровальную бумагу. После этого накрывают пламя накидкой, засыпают песком или применяют огнетушитель.

3. *Тушение пожаров на электроустановках.* При возникновении пожара сначала обесточивают установку, а затем гасят огонь способом, подходящим в данной ситуации (водой, пеной, порошковыми составами). Если снять напряжение невозможно, применяют огнетушители ОУ, «Спутник», «Момент-1», накидки, сухие соли (карбонаты и фосфаты) и песок. Ни в коем случае для тушения установок под током нельзя применять воду, ибо появляется вероятность поражения током на всем увлажненном участке вокруг огня.

4. *Тушение одежды на человеке.* При загорании одежды необходимо действовать с учетом конкретных обстоятельств. Если горит небольшой участок, одежду срывают и гасят вдали от легковоспламеняющихся предметов. Когда пламя охватывает всю или большую часть одежды, нужно плотно накрыть лежащего человека одеялом, огнестойкой накидкой или какой-нибудь верхней одеждой. В стоячем положении возможно развитие огня вверх к лицу. Можно воспользоваться водой, порошковым или пенным огнетушителем. Воду дают непрерывной струей или большими (не менее 3–5 л) разовыми порциями. При применении огнетушителей пострадавший должен на время закрывать глаза. Ни в коем случае нельзя допускать резких движений и бегать, если горит одежда!

## Глава 3. ТЕХНИКА ХИМИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

### 3.1. Выделение веществ из растворов

Поскольку в природе вещества присутствуют в большинстве своем в смесях или химических соединениях, в процессе химико-лабораторных исследований часто встает проблема выделения какого-либо компонента из природных материалов либо из смесей, в том числе из растворов.

Проблема выделения вещества из раствора возникает не только в случае хорошо растворимых соединений. Нередко даже плохо растворимые вещества не выпадают в осадок из реакционных смесей, присутствие примесей может сильно изменить растворимость.

Показанные на схеме приемы относятся к числу наиболее применимых.

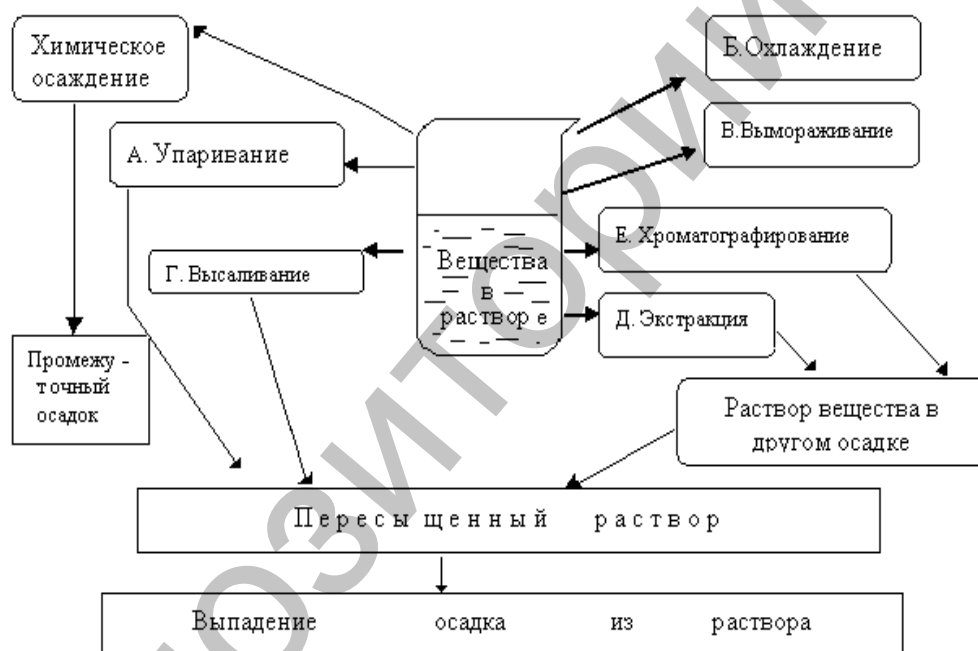


Схема 3.1. Методы и приемы выделения вещества из растворов.

Методы А, Б, В, Г, Д, Е – физические: их суть сводится к созданию пересыщенных растворов. В основе метода Ж лежат химические реакции.

Выделение из растворов твердой фазы называют *кристаллизацией*. Из растворов может выделяться также жидкая фаза. Для краткости и твердые и жидкие выделяемые вещества в дальнейшем называются осадками.

**Упаривание** – удаление части растворителя для получения более концентрированных растворов. Воду обычно упаривают в открытых сосудах, «на воздухе», а органические растворители

«отгоняют», т.е. переводят в пар при кипении с последующей конденсацией паров в приемнике. Небольшие количества низкокипящих органических растворителей также иногда упаривают на воздухе. Упаривание можно проводить без нагревания: на открытом воздухе; в вакууме; над поглотителем в эксикаторе. Это длительные процедуры. Поэтому упаривают, обычно, при нагревании, соблюдая ряд правил:

- не перегревать; использовать или водяные бани, воздушные или же работать на асбестовых сетках; *жидкость не должна кипеть*;

- никогда не упаривать досуха, могут возникнуть такие осложнения, как разложение вещества, образование твердых взрывоопасных пероксидов; обычно удаление растворителя ведут до появления твердой пленки вещества на поверхности горячего раствора (но не на стенках!);

- упаривать следует из сосуда с большой поверхностью, обычно из фарфоровой чашки;

- продувка воздуха увеличивает скорость упаривания (вытяжка);

- для равномерного нагрева жидкости ее изредка помешивают осторожным покачиванием сосуда, одновременно снимая накипь на стенках.

При упаривании могут возникать осложнения, которые следует заранее предвидеть и принять соответствующие меры. Исследователь должен подумать:

- Не будет ли выделяемое вещество окисляться на воздухе в ходе упаривания? Принятые меры – растворы легкоокисляющихся веществ упаривают в атмосфере индифферентных газов ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$  и т.д.).

- Как будут вести себя при упаривании растворы летучих веществ ( $\text{I}_2$ , органические вещества)? В этом случае следует подобрать другой метод.

- Возможно ли термическое разложение вещества при упаривании? Необходимо помнить, что температура разложения, указанная в справочнике, является ориентировочной: разложение в меньшей степени происходит при гораздо более низкой температуре.

- Существует ли опасность гидролиза выделяемого вещества? Как подавить гидролиз? Принимать меры следует в соответствии с принципом Ле Шателье), сдвигая равновесие в сторону исходных веществ.

- Не мешает ли при дальнейшей работе с веществом тот факт, что при упаривании образуются кристаллогидраты различ-

ного состава. Как избежать этого осложнения? Упаривание вести при различной температуре.

Недостатки и ограничения упаривания можно устранить упариванием в вакууме. Вакуумное выпаривание проводят в герметичных сосудах с отводом испаряющейся жидкости. В этом случае можно понизить температуру. Применяют вакуумное выпаривание для концентрирования растворов, направляемых в дальнейшем на кристаллизацию термолабильных веществ. При выпаривании под вакуумом не допускают кипения растворов, так как есть опасность уноса капель и выделение из них твердой фазы в трубках, связанных с вакуумной системой.

Полезно помнить, что выражения, характеризующие различные операции в прописях методов исследования – *упаривание, выпаривание, нагревание, кипячение*, обозначают *различные* операции. Поэтому в случае упаривания посуду следует ставить на баню, асбестовую сетку. А в случае кипячения следует пользоваться стеклянной посудой с маркером ТС (термостойкое).

**Охлаждение.** Как способ выделения вещества из растворов, охлаждение эффективно лишь в случае, если растворимость вещества заметно падает с понижением температуры. Охлаждение можно вести холодной водой или в банях: водяных, ледовых (смесь измельченного льда и воды), солевых (смесь соли и льда). Например, 1 часть NaCl + 5 частей льда дают  $t \approx -10^\circ\text{C}$ . Рабочий раствор следует время от времени помешивать для равномерного охлаждения.

Внимание! Охлаждение не должно быть слишком резким: при быстрой смене температур выпадает загрязненный мелкокристаллический осадок.

**Вымораживание растворителя.** Вымораживание растворителя – перевод части растворителя в кристаллическое состояние и отделение кристаллов от раствора, что увеличивает концентрацию вещества. Метод основан на известной способности раствора замерзнуть при более низкой температуре, чем растворитель. Недостаток метода – большие потери вещества, т.к. часть раствора адсорбируется поверхностью кристаллов. Преимущество – удобен при работе с термически нестойкими или летучими веществами.

**Высаливание.** «Высаливание» основано на понижении растворимости выделяемого вещества при добавлении к раствору так называемых высаливателей. Механизм их действия самый различный, но сводится к связыванию воды, вследствие чего происходит кристаллизация. Высаливатель должен подчиняться следующим требованиям:

– хорошая растворимость в том растворителе, из которого идет высаливание;

– плохая растворимость выделяемого вещества в самом высаливателе;

– инертность к веществу и растворителю.

Для высаливания могут быть использованы:

– жидкости: из водных растворов – спирты, ацетон, смесь спирта с эфиром; из органических растворителей – другие растворители (в том числе и вода). Например, для высаливания медного купороса из воды удобны этиловый спирт и пропиловый спирты, но не бутиловые. Комплексные и двойные соли также высаливают из воды этиловым спиртом;

– применяются неорганические соли, особенно для понижения растворимости органических веществ в воде (NaCl; NH<sub>4</sub>Cl; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>);

– при высаливании электролитов эффективно действуют одноименные ионы. Их лучше брать в составе кислот, так как посторонние катионы металлов адсорбируются и плохо удаляются с поверхности осадков. В отдельных случаях для высаливания применяют насыщение растворами газов (HCl; CO<sub>2</sub>; SO<sub>2</sub>; NH<sub>3</sub>). Механизм их действия различен: иногда это влияние одноименного иона



иногда – связывание примесей, что устраняет помехи для выделения веществ из растворов и т.д.

Добавление высаливателей следует проводить постепенно, порциями при помешивании. В противном случае выпадают грязные вещества, как и при быстром охлаждении. По тем же причинам не рекомендуется вести высаливание из очень концентрированных растворов. Однако, при сильном разбавлении высаливатель не «срабатывает»: в этом случае рекомендуется упаривать раствор до положительной пробы на высаливание.

### **3.2. Способы уменьшения загрязненности осадков, выделяемых из растворов**

Окклюзия – механический захват примесей вместе с маточным раствором. Главная причина окклюзии – адсорбция, особенно заметная для мелкокристаллических и аморфных осадков. Для уменьшения адсорбции стремятся получить кристаллы средних размеров (помните о постепенном охлаждении), а также выделять вещества из умеренно концентрированных растворов. Уменьшить окклюзию можно отжиманием твердых осадков (при вакуумном фильтровании). Для отжимания можно использовать стеклянные пробки от склянок с плоской поверхностью или специ-



ально выполненными отжималками (для фильтрования «на гвоздике»), для этого расплавляют конец стеклянной палочки и прижимают к термостойкой поверхности. Для лучшей очистки используется промывание осадка. Промывка вещества на фильтре не освобождает от адсорбированных примесей из-за кратковременности контакта с чистым растворителем (десорбция идет медленно). Наиболее эффективна промывка декантацией (см. ниже).

Низкоплавкие вещества (обычно органические) часто выделяются в виде «масла», захватывающего сравнительно маточного раствора. «Масло» стремятся закристаллизовать или внесением «затравки» или потиранием палочкой о стенки сосуда, или повторным растворением в чистом растворителе и медленным выделением осадка из не очень концентрированного раствора.

Если выделяемое вещество в обычных условиях – жидкость, то захваченные примеси удаляют промыванием в делительной воронке, после высушивания вещество перегоняют.

#### **Способы отделения осадков от жидкой фазы**

1. Отделение в делительной воронке (Ж ↓).
2. Декантация (Ж ↓, Т ↓).
3. Центрифугирование (Ж ↓, Т ↓).
4. Фильтрование (Т ↓).

Маточным раствором называют такой раствор, из которого выделился осадок (Т ↓ или Ж ↓). Отделение в делительной воронке возможно лишь для жидкого осадка (Ж ↓). Если осадка мало или он очень вязкий, то перед отделением добавляют низкокипящий органический растворитель, не смешивающийся с маточным раствором, но хорошо растворяющий вещество, раствор вещества в органическом растворителе упаривают.

**Декантация** (от франц. *dekanter* – сливать) – сливание маточного раствора или промывной жидкости с тяжелого отстоявшегося осадка (Т ↓ или Ж ↓). Метод не позволяет полностью отделить осадок от раствора. *Рекомендуется для аморфных, медленно фильтрующихся или маслянистых осадков.* Декантация – эффективный способ промывки плохо растворимых осадков, так как в процессе отстаивания идет активная десорбция примесей в чистый растворитель. Отстоявшийся раствор можно не только слить, но и собрать пипеткой или полосками фильтровальной бумаги, ваткой.

Техника декантации следующая. К осадку добавляют промывную жидкость, взбалтывают или перемешивают стеклянной палочкой (мешалками). Затем суспензии дают отстояться, и осветленную жидкость осторожно сливают по стеклянной палочке, но так чтобы осадок остался в сосуде. К оставшемуся осадку сно-

ва добавляют промывную жидкость в небольшом количестве и операцию декантации повторяют, проверяя каждый раз качественной реакцией присутствие в сливаемой жидкости удаляемого вещества. При отрицательном результате осадок переносят на фильтр. При гравиметрическом анализе в сосуде не должно остаться ни одной визуально обнаруживаемой частицы. Одиночные частицы удаляют при помощи стеклянной палочки, на одном конце которой надет кусочек резинового или полиэтиленового шланга, выступающего с конца палочки на 1–2 мм. Чтобы избежать потери осадка, надо учитывать растворимость вещества, или промывание проводить концентрированным или насыщенным раствором. Для декантации имеются специальные стаканы или колбы, однако возможно провести ее и в обычных стаканах. Декантация – это и способ промывания осадка.

**Центрифугирование** используют для отделения твердой фазы от жидкой в тех случаях, когда соприкосновение ультрафильтров с жидкой средой приводит к их разрушению. Для центрифугирования используют конические пробирки, вставляемые в металлические гильзы или стаканы центрифуг. Пробирки всегда вставляются парно во избежание децентровки вала центрифуги, и поэтому они должны иметь одинаковую массу. Стеклянные пробирки наполняют суспензией до половины объема. Если число оборотов центрифуги превышает 2000 об/мин, пробирки из полимерных материалов наполняют почти доверху, иначе они могут под действием центробежной силы деформироваться.

**Фильтрование** – самый распространенный способ отделения твердых осадков (для жидких осадков не применим).

В зависимости от размеров отделяемых от жидкой фазы твердых частиц различают четыре вида фильтрования: обычное, микрофильтрацию для выделения коллоидных частиц, ультрафильтрацию, диализ и обратный осмос, когда отфильтровывают самые мелкие частицы (для последних трех применяют мембраны).

По технике выполнения различают следующие разновидности фильтрования:

- фильтрование на химической воронке при атмосферном давлении;
- горячее фильтрование;
- фильтрование в вакууме и под давлением;
- фильтрование в атмосфере индифферентного газа.

Эффективность фильтрования зависит от среды, температуры, давления, размеров пор фильтра и задерживаемых им частиц. Чем больше размер частиц суспензии, тем легче идет фильтрование. Для мелких частиц применяют мембраны, цен-

трифуги либо прибегают к коагуляции (укрупнению частиц) перед фильтрованием.

Для фильтрования на химической воронке при атмосферном давлении применяют бумажные фильтры и гладкие стеклянные воронки с длинным узким концом. Для изготовления фильтра квадратный кусочек фильтровальной бумаги, соответствующий размерам взятой воронке, складывают два раза, чтобы получился сектор круга. Фильтр складывают в виде конуса. Гладкий фильтр должен плотно прилегать к стенкам воронки, в особенности в верхней части. Для этого рекомендуется при складывании обрезанного фильтра сгибать полукруг не по средней линии, а по близкой к ней параллельной линии. Уголок складки в верхней части фильтра у тройного слоя отрезают для более плотного прилегания фильтра к воронке и устранения проскока пузырьков воздуха вдоль складки. При вкладывании в воронку фильтр прижимают к стенке указательным пальцем, смачивают чистой водой и осторожно придавливают пальцами к воронке так, чтобы не образовались воздушные карманы. Во время фильтрования трубка воронки должна оставаться заполненной фильтратом, так как столбик фильтрата создает некоторое разрежение, что облегчает фильтрование. Края фильтра должны быть на 5–10 мм ниже кромки воронки, а осадок не должен заполнять фильтр более чем на  $1/3$  его высоты, так как тонкий слой осадка обладает способностью подниматься по стенкам фильтра. При фильтровании воронку наполняют только на  $3/4$  объема фильтра, при этом кончик трубки должен касаться внутренней стенки сосуда, в котором собирается фильтрат, чтобы предотвратить разбрызгивание. Воронку вставляют в кольцо штатива Бунзена. Можно изготовить стационарный прибор.

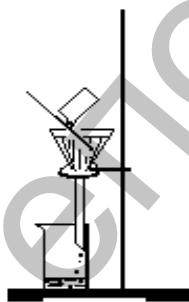


Рис. 3.1. **Фильтрование при атмосферном давлении.**

Для ускорения фильтрации, если для последующих операций нужен фильтрат, а не осадок, применяют складчатые фильтры. Их готовят попеременно отгибая складки круглого фильтра то в одну, то в другую сторону, следя чтобы линии сгиба не сходились в одну точку, иначе острый край фильтра может порваться. После сгибания весь фильтр разворачивают в гармошку и вкладывают в воронку. Перед фильтрованием осадку дают отстояться.

Затем осторожно, не взмучивая осадка, сливают жидкость по палочке на фильтр. Стеклянную палочку прикладывают к носику сосуда с осадком, а нижний конец палочки приставляют к фильтровальной бумаге, не прикасаясь к ней.

Жидкость должна стекать в ту сторону, где находится тройной слой фильтровальной бумаги, или то в одно, то в другое углубление складчатого фильтра. Выливать жидкость на фильтр следует порциями, иначе бумага может порваться. После того как через фильтр будет пропущена основная масса жидкости, к осадку добавляют чистый растворитель (если требуется очистка препарата), взмучивают осадок и взбалтывают содержимое сосуда, суспензию переносят на фильтр, не оставляя в сосуде ни одной видимой частицы осадка. Отдельные его частицы смывают на фильтр небольшими порциями чистого растворителя. Такой порядок операций важен в гравиметрическом анализе. В синтезе достаточно ограничиться одной декантацией, а осадок промывают прямо на фильтре.

**Фильтрование при пониженном давлении.** Для фильтрования применяется воронка Бюхнера, колба Бунзена, водоструйный насос (или насос Комовского). На фарфоровую перфорированную поверхность воронки Бюхнера помещают кружок фильтровальной бумаги (для больших воронок – два кружочка). Для этого кусочек фильтровальной бумаги накладывают на воронку и прижимают ладонью, чтобы отпечаталась окружность воронки. Вырезают на 3–4 мм (ширина стенки) внутри отпечатавшейся линии. Уложенные кружки фильтровальной бумаги не должны находить на стенку воронки, их располагают на 1 мм от нее. Затем воронку соединяют с колбой Бунзена, полученный прибор подсоединяют к водоструйному насосу при помощи резинового шланга через предохранительную склянку, немного открывают его и убеждаются в отсутствии под кружками воздушных полостей пузырьков. Колбу необходимо *обернуть тканью*, предохраняющей от осколков стекла, которые могут появиться при разрыве сосуда атмосферным давлением. Для усиления безопасности необходимо *работать в защитных очках* (как, впрочем, в любых случаях при работе с приборами, находящимися под вакуумом). После этого, не выключая насоса, наливают по палочке суспензию, равномерно распределяя по всей поверхности фильтра. Отсасывание проводят до прекращения поступления фильтрата в колбу. Порядок выключения следующий: сначала отсоединяют шланг насоса от колбы, потом выключают насос. При мутном фильтрате операцию проводят повторно на этом же фильтре, что позволяет очистить фильтрат и уплотнить осадок. В процессе фильтрования насос можно периодически отключать. Так как вакуум в колбе Бунзена и предохранительной склянке сохраняется.

Стеклянные фильтры (воронки Шотта) подключаются таким же способом, используются они для фильтрования агрессивных жидкостей.

Стеклянные фильтры применяют только для фильтрования под вакуумом. После работы стеклянные фильтры очищают, пропуская через пористую пластинку поток чистой воды в обратном направлении. Если поры не очищаются, применяют соответствующие химические реагенты.

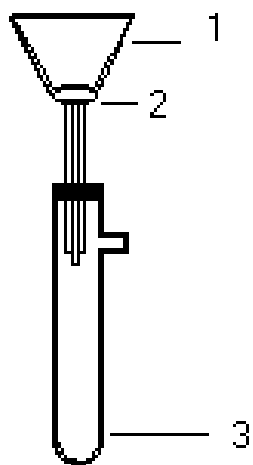


Рис. 3.2.  
«Фильтрование  
на гвоздике».

Если осадка образуется очень мало, применяется фильтрование «на гвоздике» (рис. 3.2). Для этого в стеклянную коническую воронку (1) вставляется стеклянный гвоздик (2), на головку которого накладывается маленький кружочек по ее размеру. Воронку при помощи резиновой пробки соединяют с колбой Бунзена или воронкой для отсасывания (3). После фильтрования гвоздик приподнимается, и фильтр с осадком хорошо отъединяется от стеклянного гвоздика. Промывание осадка на фильтре ведут небольшими порциями промывной жидкости, наливая ее столько, чтобы она полностью покрыла осадок. *Новую порцию промывной жидкости не добавляют, пока полностью не будет отфильтрована предыдущая.* Далее проводят отжимание осадка отжималками.

Горячее фильтрование применяется в том случае, если кристаллизация вещества начинается на фильтре. Для этого применяются различные способы нагревания воронок. Можно нагреть воронку в сушильном шкафу и быстро отфильтровать. В другом случае используют специальное оборудование.

**Высушивание осадка.** Самый обычный способ сушки – *выдерживание вещества на воздухе.* При выборе способа сушки необходимо проанализировать свойства вещества, его отношение к температуре, действию кислорода, взаимодействию с осушителями и пр.

При сушке вещества в *сушильном шкафу* следует знать температуру его плавления, разложения или возгонки. Для кристаллогидратов температуру следует подбирать с учетом возможности получения продуктов с меньшим содержанием кристаллизационной воды либо полного обезвоживания вещества. Практически сушат при температуре на  $30^{\circ}\text{C}$  ниже указанных процессов. Сушат вещества в сушильном шкафу в чашках Петри или фарфоровых чашках. Чтобы не образовалась корка, вещество перемешивают стеклянной палочкой, одновременно определяя степень влажности. Влажное вещество прилипает к стеклу, сухое вещество вследствие сыпучести не остается на палочке. Не сле-

дует сушить на бумаге, так как вещество (соль) может образовать с бумагой неотделимую корку.

В случае возможного окисления продуктов (или других осложнений) при нагревании используют сушку *между листочками фильтровальной бумаги*. Вещество помещают между двумя листками и меняют внешние листы бумаги, отжимая до тех пор, пока они не будут без следов влаги.

Если вещество очень гигроскопично, его сушат в *эксикаторах над осушителями*.

Эксикаторы (Шейблера) – толстостенные стеклянные или из полимерных материалов сосуды, с пришлифованной крышкой. Все эксикаторы имеют перфорированный фарфоровый диск, покрытый с одной стороны глазурью. На диске размещаются сосуды с высушиваемыми веществами. Чтобы открыть эксикатор, надо с некоторым усилием сдвинуть в сторону крышку, после чего она легко снимается. При переносе эксикатор берут двумя руками за верхнюю кромку цилиндрической части корпуса, придерживая большими пальцами крышку.

В качестве осушителя используют концентрированную серную кислоту. Ее помещают в эксикатор только в чашках с плоским дном, наполненных пемзой или сухим бесцветным песком либо обрезками стеклянных трубочек во избежание расплывания кислоты. Чашку с кислотой меняют, когда цвет станет коричневым. Рекомендуются помещать серную кислоту в смеси с сульфатом бария (18 г  $\text{BaSO}_4$  на 1 л  $\text{H}_2\text{SO}_4$  плотностью 1,84 г/мл). При понижении концентрации в процессе поглощения влаги выделяются кристаллы. Их появление – признак необходимой смены кислоты. Безводный плавленный КОН по эффективности сравним с концентрированной серной кислотой. Хлорид кальция  $\text{CaCl}_2$  – осушитель средней эффективности, его применяют в виде порошка или кусков. Отработанный реагент достаточно прокалить и отсеять мелкие частицы. При дальнейшем поглощении влаги он расплывается. Он применяется также для высушивания органических жидкостей. Осушителями также могут быть кристаллические  $\text{NaOH}$ ,  $\text{CaO}$ , а также силикагель. Для более быстрого высушивания порошков применяют вакуум – эксикаторы.

Еще один способ сушки – *применение веществ, связывающих воду*, таких органических растворителей, как этиловый спирт, ацетон.

При сушке в атмосфере, например, углекислого газа, его пропускают через стеклянную трубку с веществом, кроме того, что газ оберегает вещество от действия кислорода, он еще играет роль носителя паров влаги, что обеспечивает более высокую ско-

рость сушки.

### 3.3. Техника экстракции

Метод экстракции, или извлечения, основан на переводе извлекаемого вещества из твердой или жидкой фазы в другую, жидкую фазу, называемую экстрагентом.

Экстрагент подбирается так, чтобы извлекаемое из смеси вещество (или несколько веществ) избирательно в нем растворялись. Очистка достигается за счет перехода основного вещества А в растворитель – экстрагент и отделения примесей, остающихся в исходной фазе, или же, напротив, за счет перехода примесей в экстрагент, в результате чего в исходной фазе остается очищенное основное вещество. Метод экстракции широко используется не только для очистки веществ, но и для извлечения нужных компонентов из различных природных объектов, например, жиров и масел из семян.

Существуют различные приемы экстрагирования. Выбор конкретного приема зависит, в первую очередь, от значения коэффициента распределения. При малом значении этого коэффициента используется непрерывная экстракция, которая требует специального оборудования и продолжительна по времени. Периодическая экстракция требует обычно двух- или трехкратного повторения. Техника проведения экстракции зависит также от характера фаз, из которых ведется извлечение вещества. В случае *жидких фаз* при периодической экстракции используется *делительная воронка* (рис. 3.3); из твердых фаз экстрагирование проводят путем растирания твердой смеси с растворителем-экстрагентом *в ступке* (при комнатной температуре) или путем кипячения в колбе с обратным холодильником (рис. 3.4).



Рис. 3.3.

#### Делительные воронки.

Техника работы с делительной воронкой (рис. 3.3):

– прежде чем приступить к работе с делительной воронкой, убедитесь, что она не протекает; затем смажьте пришлифованные части (на сухую поверхность) специальной смазкой.

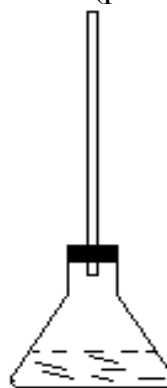


Рис. 3.4. Колба с обратным воздушным холодильником.

**ВНИМАНИЕ!** Притертый кран на носике воронки строго индивидуален: при замене кранов воронка будет течь. Кроме того, при высушивании в сушильном шкафу воронки с краном его обычно заклинивает (заедает). Во избежание этих неприятностей в лаборатории синтеза *введено правило*: делительные воронки в сушильном шкафу *сушить нельзя!* Если для работы нужна сухая воронка, следует обратиться к лаборанту;

- для эффективной экстракции жидкость в воронке нужно осторожно встряхивать, переворачивая воронку и выравнивая в ней давление приоткрыванием крана или пробки;

- экстракция обычно проводится несколькими порциями экстрагента. Общий объем экстрагента ориентировочно просчитывают (и берут в 1,5–2-кратном избытке) с учетом количества извлекаемого вещества, его растворимости или коэффициента распределения. Если последний неизвестен, то объем экстрагента подбирается эмпирически. Каждая отдельная порция экстрагента *не должна превышать половины объема жидкой исходной фазы*;

- предельно допустимое заполнение делительной воронки для проведения экстракции – две трети ее объема (суммарно двумя фазами);

- нижний слой из воронки сливается через носик при условии, что воронка имеет *сообщение с атмосферой*, иначе жидкость не будет вытекать. Верхний слой выливают через верхнее отверстие воронки во избежание его загрязнения жидкостью нижней фазы, оставшейся в носике;

- если из-за близости плотностей обеих фаз при отстаивании долго не появляется граница раздела фаз, можно попытаться исправить ситуацию добавлением в водный слой небольшого количества поваренной соли. Соль должна полностью раствориться, иначе ее кристаллы «забьют» отверстие крана;

- если экстракция из органической фазы проводилась с помощью водных растворов кислот или щелочей, не забудьте *промыть* органический слой водой объемом не более трети от рабочего объема.

Техника проведения экстракции из *твердых фаз* включает хорошо известные операции растирания в ступке или нагревание в колбе с обратным холодильником при периодическом встряхивании и помешивании и последующее фильтрование по обычным правилам. Здесь, как и при экстракции из жидких фаз, операцию следует повторить не менее двух раз.



### 3.4. Перекристаллизация как метод очистки

Важнейшим способом очистки твердых веществ является кристаллизация. Существуют несколько ее разновидностей: кристаллизация из расплава (зонная плавка); кристаллизацией из паробразного состояния – возгонка и кристаллизация из раствора, называемая в случае очистки перекристаллизацией. Это наиболее широко применяемый в условиях школьной и учебной вузовской лаборатории метод очистки кристаллических веществ.

**Общая характеристика метода.** Перекристаллизация основана на переводе твердого вещества в раствор и последующем выделении этого вещества из раствора. При этом важно, чтобы по основному веществу раствор был *насыщен*, а по примесям – *ненасыщен*; в таких условиях из раствора будет выделяться преимущественно основное вещество. Приемы приготовления и техника работы с насыщенными растворами – вот первый этап овладения методом перекристаллизации.

Перекристаллизация может быть политермическая и изотермическая. Первую применяют в том случае, если растворимость вещества при различных температурах заметно различается и если вещество индифферентно к повышению температуры; в противных случаях используют изотермическую перекристаллизацию.

*Выбор растворителей* для перекристаллизации – важнейший этап в реализации метода. Первоначально при выборе растворителя руководствуются старым, установленным на соединениях более прочного строения правилом: «подобное растворяется в подобном», т.е. соединение хорошо растворимо в растворителях, химически и по структуре близких с растворенным веществом. Для подбора растворителя можно пользоваться следующей схемой (схема 3.2).

Для неорганических веществ обычно используют воду и водно-спиртовые смеси; для органических соединений выбор растворителей значительно шире: помимо воды и спирта широко применяют ацетон, различные углеводороды, их галогенозамещенные и пр. Еще большие возможности предоставляют смеси растворителей: если в одном из растворителей вещество хорошо растворимо, а в другом – плохо, то их смесь оказывается удобной для работы.

В любых случаях растворитель должен быть: а) *пассивным по отношению к очищаемому веществу и изменению температуры*; б) *легко удаляться с поверхности кристаллов при промывке и высушивании*; в) *хуже (или лучше) растворять примеси, чем основное вещество, причем первое предпочтительнее, так как уменьшается вероятность соосаждения примесей при выделе-*

нии основного вещества. Кроме того, растворимость вещества в выбранном растворителе не должна быть слишком высокой, поскольку кристаллизация из концентрированных растворов обычно менее эффективна и осложнена технически. Как правило, нежелательно, чтобы массовая доля вещества в насыщенном растворе была более 40%.

Схема 3.2



Если очищаемое вещество загрязнено окрашенными примесями, то при перекристаллизации используют адсорбенты: в случае воды и спирта – *активированный уголь*, а в неполярных растворителях – *оксид алюминия*. Адсорбент должен быть измельчен в порошок и взят в количестве 2–4% от массы очищаемого вещества. При работе с активированным углем обычно проводят 5–15-минутное кипячение смеси, с оксидом алюминия работают без повышения температуры.

**ВНИМАНИЕ!** Перед добавлением осветляющих адсорбентов следует немного охладить раствор, т.к. эти вещества могут ин-

*тенсифицировать процесс кипения и привести к энергичному, взрывообразному вскипанию. Из активированного угля выделяется много воздуха, который вызывает вспенивание.*

Перекристаллизация заканчивается *высушиванием* – удалением остатков растворителя, которые являются, по существу, примесями, и обычно вредят дальнейшей работе с веществом. В учебных лабораториях для твердых веществ используют следующие способы *высушивания*:

- между листками фильтровальной бумаги – *способ, удобный только для крупнокристаллических осадков;*

- на воздухе в тонких слоях, при периодическом *перемешивании;*

- на воздухе в тонких слоях, но с *подогревом на воздушной бане;*

- *высушивание в термостатах при температурном контроле (регулируемых сушильных шкафах);*

- *выдерживание в эксикаторах над поглотителями паров растворителя; способ требует осторожного применения в случае кристаллогидратов, которые над осушителями могут терять часть кристаллизационной воды и становиться веществами неопределенного состава;*

- то же, что предыдущий, но *используется вакуум-эксикатор;*

- *высушивание в специальных вакуум-пистолетах над поглотителем и при нагревании; для организации такого высушивания требуется сборка прибора, самодельного или заводского.*

### **Политермическая перекристаллизация**

Этот вид перекристаллизации основан на различии в растворимости вещества при низкой и повышенной температурах (схема 3.3).

Очистка достигается за счет того, что часть примесей к основному веществу *нерастворима* в выбранном растворителе и удаляется при горячем фильтровании, когда основное вещество еще находится в растворе. Примеси же растворимые остаются в растворе после охлаждения, так как из-за малого их содержания в грязном веществе (на то они и примеси, а не равноценные компоненты смеси!) раствор примесями *не насыщен*. Основное же вещество после охлаждения горячего насыщенного раствора *выпадает в осадок*, поскольку растворимость его в холодном растворителе, по условию, *значительно ниже*, чем в горячем.

Для реализации этой схемы должна быть решена главная проблема – *подбор растворителя для перекристаллизации.*

Приступая к выбору, сначала принимают во внимание общие требования к растворителям (см. выше), а затем руководствуются специфическим для политермической перекристаллизации требованием: *растворимость вещества в нем при различных температурах должна заметно различаться*. Выбор по этому критерию можно осуществить двумя путями:

Схема 3.3



1. Используют справочные данные о растворимости вещества при различных температурах. В случае неорганических веществ такие данные приводятся в справочниках, главным образом для воды; количественные данные по растворимости органических веществ не систематизированы и лишь в случае наиболее распространенных веществ их можно найти в справочной литературе. Качественные данные («р» – растворимы, «н» – нерастворимы) для органических веществ приведены также в справочниках.

2. Если сведений о растворимости вещества нет, растворитель подбирают *опытным путем*: навеску вещества около 0,1 г обрабатывают сначала 1–2 мл холодного растворителя и, убедившись в плохом растворении, осторожно нагревают. Если даже при кипении вещество растворилось не полностью, добавляют 0,3–0,5 мл растворителя и снова нагревают. Растворитель считается непригодным для перекристаллизации, если взятая навеска легко растворилась при слабом нагревании в 1 мл или же если она не растворяется даже при кипячении в 3-х мл. Если данные приводятся, находят значения коэффициентов растворимости.  $K_s$  при комнатной (или более низких температурах) и при температурах, близких к температуре кипения растворителя; например,

в случае воды – для 80–90°C. Желательно, чтобы коэффициенты растворимости при выбранных температурах отличались по меньшей мере в *полтора раза* (или около того), а значение высокотемпературного коэффициента растворимости не было слишком высоким, чтобы не работать с концентрированными растворами ( $K_s < 60$ ). Впрочем, в исключительных случаях эти оптимальные условия приходится нарушать. *В настоящее время принято следующее определение: «Растворимость или коэффициент растворимости – масса растворенного вещества, насыщающая растворитель объемом 1 л при данной температуре (г/л)».*

Расчеты с использованием найденных коэффициентов позволяют:

а) найти *объем* растворителя, требуемого для перекристаллизации определенной навески вещества;

б) определить *навеску* грязного вещества для получения заданной массы очищенного препарата;

в) высчитать *потери* вещества в растворе, а также решить ряд других задач, возникающих в ходе эксперимента. Приведем примеры их решения путем составления пропорциональных соотношений (есть и другие варианты решений).

*Пример 1.* Пусть требуется перекристаллизовать 8 г некоего вещества из воды.

*Решение:*

*Для проведения работы нужно найти объем растворителя и оценить возможные потери, чтобы продумать ход эксперимента.*

*1. По справочнику находим:  $K_s(0^\circ\text{C}) = 7\text{ г}$ ;  $K_s(90^\circ\text{C}) = 15\text{ г}$ .*

*2. Для приготовления горячего насыщенного раствора нужно:*

*На 15 г в-ва требуется 100 г воды  
на 8 г — «— X г*

$$\frac{15}{8} = \frac{100}{x} \Rightarrow x = 53,3\text{ г.}$$

*3. После охлаждения горячего насыщенного раствора до  $10^\circ\text{C}$  в растворе останется:*

*7 г в-ва растворяется в 100 г воды  
y г в-ва — « в 53,3 г*

$$\frac{7}{y} = \frac{100}{53,3} \Rightarrow y = 3,71\text{ г,}$$

*что составляет более 46% ( $\frac{3,71}{8} \cdot 100\%$ ) от взятого кол-ва.*

Потери велики. Если не удастся подобрать другой растворитель, в котором потери будут меньше, то холодный раствор

после отделения чистого вещества можно упарить до начала кристаллизации. После охлаждения выпадет дополнительное количество вещества, однако оно часто бывает более загрязненным из-за соосаждения примесей, концентрация которых в упаренном растворе увеличилась. Как видно из приведенного примера, для расчета нужно знать массу взятого для перекристаллизации вещества. Поскольку справочные значения  $K_s$  всегда приводятся на массу безводного вещества, при работе с кристаллогидратами делают пересчет.

*Пример 2.* Рассчитаем объем воды, требуемый для перекристаллизации 12,5 г кристаллогидрата (кр/г) щавелевой кислоты  $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ .

*Решение:*

1. Находим справочные данные:  $K_s(0^\circ C) = 3,54 \text{ г}$ ;  $K_s(20^\circ C) = 9,5 \text{ г}$ ;  $K_s(70^\circ C) = 35,7 \text{ г}$  безводного вещества (б/в).

2. Делаем пересчет массы кр/г на безводную кислоту:

$M(H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O)$  126 г/моль соответствует  $M(H_2C_2O_4)$  90 г/моль  
 $m(H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O)$  12,5 г кр/г —»—  $X$  г б/в кислоты

$$\frac{126}{12,5} = \frac{90}{x} \Rightarrow x = 8,93 \text{ г}$$

3. Рассчитываем объем воды для приготовления горячего насыщенного раствора:

100 г воды при  $70^\circ$  растворяет 35,7 г б/в кислоты  
 $y$  г воды —»— 8,93 г б/в кислоты

$$\frac{100}{y} = \frac{35,7}{8,93} \Rightarrow y = 25 \text{ г(мл) воды,}$$

необходимой для приготовления горячего раствора.

Кристаллизационной водой, содержащейся в навеске кислоты, пренебрегаем, поскольку техника эксперимента при перекристаллизации, как будет видно из дальнейшего, столь высокой точности объемов растворителя не требует.

4. Оцениваем потери кислоты в холодном растворе. Если охладить горячий насыщенный раствор до  $20^\circ C$ , то в растворе останется:

100 г воды растворяет 9,5 г б/в кислоты  
 25 г воды —»—  $a$  г б/в кислоты,

$$\frac{100}{25} = \frac{9,5}{a} \Rightarrow a = 2,38,$$

что в пересчете на кристаллогидрат составит:

$$m(\text{кр} / \text{г}) = \frac{2,38}{0,714} = 3,33$$

Потери можно уменьшить, если охладить раствор до 0°С:

$$\begin{array}{l} \text{В } 100 \text{ г } \text{H}_2\text{O} \text{ растворяется } 3,54 \text{ г б/в к-ты} \\ \text{в } 25 \text{ г} \quad \quad \quad \text{— «—} \quad \text{в } \text{г}, \\ \frac{100}{25} = \frac{3,54}{v} \Rightarrow v = 0,88 \text{ г, что в пересчете} \end{array}$$

на кристаллогидрат составит:

$$m(\text{кр/г}) = \frac{0,88}{0,714} = 1,23 \text{ г (где } 0,714 \text{ — массовая доля } \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$$

в кристаллогидрате).

Итак, 1,23 г кристаллогидрата будут потеряны в растворе, а  $3,33 - 1,23 = 2,1$  г кристаллогидрата дополнительно выпадет в осадок, причем вещество будет более чистым, чем, если бы маточный раствор пришлось упаривать.

Столь заметный выигрыш получен из-за значительной разницы в растворимости вещества при 0°С и 20°С. Это наблюдается не всегда. Поэтому прежде чем затрачивать усилия на охлаждение до 0°С (что требует дополнительного времени и особой охлаждающей ледово-соляной бани), оцените целесообразность своих действий.

Подобным же образом решается задача, если известна масса безводного препарата, а работать (брать навеску) приходится с кристаллогидратом.

Нетрудно заметить, что расчеты в вышеприведенных примерах носят ориентировочный характер.

Несмотря на вынужденные неточности расчетов (примеси изменяют справочные данные), они значительно облегчают экспериментальную работу, которую при отсутствии ориентиров приходится выполнять путем трудоемкого подбора необходимого объема растворителя.

### **Техника политермической перекристаллизации:**

**1. Приготовление горячего насыщенного раствора.** Операцию проводят в колбе с обратным холодильником, иначе будут наблюдаться потери растворителя. Помещают в колбу навеску вещества и несколько меньший (~на 10%), по сравнению с рассчитанным, объем растворителя. Нагревают при периодическом помешивании до кипения или до выбранной температуры (учтите, что температура бани на 7–10°С выше, чем в нагреваемом сосуде!). Если через 3–5 мин выдерживания при избранной температуре растворения не наступило, добавляют половину растворителя, оставшегося от рассчитанного объема, и снова выдерживают при выбранной температуре. В случае необходимости повторяют добавление растворителя, пока вещество не растворится.

Однако учтите, что раствор может оставаться мутным из-за присутствия нерастворимых примесей.

**2. Горячее фильтрование насыщенного раствора.** Эта операция требует определенных навыков и скрупулезного выполнения; в противном случае нередко всю работу приходится повторять заново. Поэтому, если горячий насыщенный раствор получился прозрачным, без нерастворимых примесей, то операцию можно опустить.

*Горячее фильтрование* проводят через *нагретую воронку(!)*. Подогрев ведут или в сушильном шкафу или в парах кипящего растворителя. Если фильтрование идет медленно, то воронку приходится термоизолировать или даже подогревать в ходе фильтрования, что требует специального оборудования. Хотя обычное фильтрование – более длительный процесс по сравнению с вакуумным, *предпочтительнее* все же работать на обычной химической воронке, т.к. в вакууме горячий растворитель быстро выкипает.

При горячем фильтровании необходимо иметь под рукой небольшое количество (~10 мл) горячего чистого растворителя, поэтому *не забудьте заранее его подготовить* в чистой колбочке или пробирке.

Фильтр смачивают несколькими каплями горячего растворителя и немедленно фильтруют горячий насыщенный раствор. Залив на фильтр очередную порцию этого раствора, остаток в колбе продолжают подогревать в колбе с обратным холодильником. Если на фильтре начинает выпадать осадок, его следует немедленно растворить небольшим количеством чистого горячего растворителя, иначе начнется массовая кристаллизация и фильтр забьется осадком.

Закончив фильтрование, не забудьте обмыть колбу и воронку малыми объемами горячего растворителя! Делают это обычно 2–3 раза; *суммарный объем растворителя для обмывки не должен превышать 10% от рабочего объема*. В этом случае не произойдет заметного увеличения количества растворителя, так как часть его испаряется при горячем фильтровании. Если обмывка произведена большим объемом растворителя, то раствор может стать ненасыщенным и очищаемое вещество в осадок не выпадет; раствор придется упаривать, что может привести к загрязнению вещества.

**3. Следующий этап – кристаллизация при охлаждении.** Чтобы осадок не был слишком мелким, горячий фильтрат сначала медленно, при помешивании палочкой охлаждают на воздухе и лишь в конце на охлаждающей бане.



**4. Отделение осадка** от маточного раствора проводят в вакууме по обычным правилам вакуумного фильтрования. После отжимания осадка на фильтре стеклянной пробкой или другим приспособлением его промывают на фильтре холодным *чистым* растворителем, *затрачивая на это от нескольких капель до (максимально!) десяти процентов от рабочего объема*. Отнеситесь внимательно к операции промывки! *Чтобы осадок на фильтре не «растаял», оцените по значению  $K_S$  допустимый объем промывной жидкости*.

**5. Способ сушки** выбирают в зависимости от характера и устойчивости вещества к термическим и атмосферным воздействиям. Маточный, оставшийся после отделения осадка, может быть использован или для выделения дополнительного количества вещества путем упаривания или в некоторых синтезах, не чувствительных к небольшому количеству примесей.

Методом политермической перекристаллизации в лаборатории химического синтеза очищают, например:

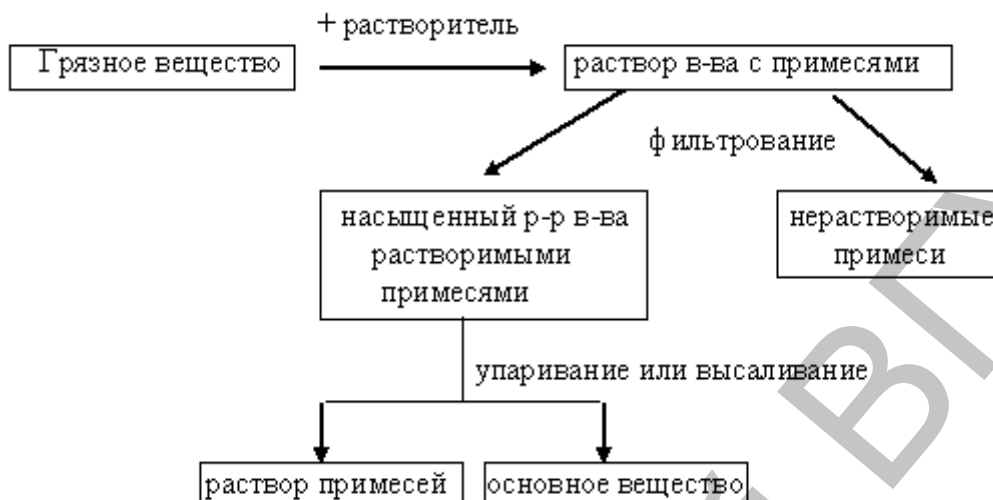
- квасцы  $\text{Me(I)Me(III)(SO}_4) \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ , или другие двойные соли, – из воды;
- хлорид аммония, гидрофосфат натрия, нитрат калия, дихромат калия – из воды;
- бензойную и щавелевую кислоты, ацетанилид и др. органические вещества – из воды;
- новый неролин – из водного спирта; бензальанилин, иодид калия – из спирта;

#### **Изотермическая перекристаллизация**

Этот вид перекристаллизации применяется в тех случаях, когда растворимость вещества мало изменяется с изменением температуры или когда повышение температуры нежелательно. Метод менее популярен, чем вышеописанный, из-за необходимости дополнительных, иногда трудоемких операций по выделению вещества из раствора (схема 3.4).

Нерастворимые примеси отделяются фильтрованием. Затем подбирают такой способ кристаллизации основного вещества, чтобы растворимые примеси оставались в растворе. Чаще всего избирают метод *высаливания*, иногда – *упаривание* при повышенной или комнатной температуре.

### Изотермическая перекристаллизация



Основные приемы проведения работы – практически те же, что и в политермической перекристаллизации. Дополнительно необходимо принять во внимание следующие советы.

- Определив по значению  $K_S$  объем растворителя, необходимый для приготовления насыщенного при 20–25°C раствора, растворение взятой навески вещества ведут (если допустимо повышение температуры) при 30–40°C, что убыстряет операции. Работать можно в открытых сосудах.

- Необходимости в горячем фильтровании нет, поэтому отделение нерастворимых примесей можно проводить в вакууме. Разумеется, обмывка сосудов и в этом случае должна производиться так, чтобы не было заметного разбавления раствора (учтите, что в этом случае испарение жидкости невелико), иначе дальнейшие операции затрудняются.

- Выделение очищаемого вещества из раствора методом *высаливания* проводят таким образом: к теплomu или даже горячему (если допустимо повышение температуры) раствору добавляют небольшими порциями высаливатель при перемешивании до тех пор, пока не станет заметным *устойчивое* помутнение раствора. Обычно требуется равный рабочему объему высаливателя или даже вдвое превышающий его. Мутный раствор постепенно охлаждают при периодическом помешивании, пока не закончится выпадение кристаллов.

- После отделения осадка фильтрат можно использовать для регенерации высаливателя, если в качестве такового применялись летучие органические вещества. Если высаливают с помощью газообразных веществ, то процесс приходится вести при низких температурах.

– Высаливание *эффективно* только тогда, когда проводится из *насыщенных* или близких к ним растворов.

Выделение вещества из раствора методом *упаривания* проводят, как обычно, с учетом термической и гидролитической устойчивости соединения, а также других возможных осложнений.

В лаборатории синтеза методом изотермической перекристаллизации очищают, например: путем высаливания спиртом – сульфат железа (II), сульфаты алюминия и марганца (II), комплексные соединения; высаливанием газообразным хлороводородом – толуолсульфоокислоту, хлорид натрия. Высаливанием из спирта эфиром – новый неролин.

Насыщенные растворы указанных органических и комплексных соединений готовят подбором необходимого объема растворителя, поскольку данных по их растворимости нет.

### **3.5. Приготовление растворов**

**Растворение.** Растворение твердых веществ производят после их измельчения, так как скорость растворения зависит от размеров кристаллов. Растворимость веществ практически не зависит от давления. Повышение температуры может повысить растворимость, а может понизить. Растворение большинства солей и электролитов – процесс эндотермический. Растворение проводят, обычно, в стаканах при перемешивании смеси твердой и жидкой фаз стеклянной палочкой с надетым на ее конец кусочком резинового или полиэтиленового шланга. Лучше этот процесс проводить в колбах Эрленмейера (конических колбах), в которых ручное перемешивание содержимого не вызовет разбрызгивания жидкости. Если процесс проходит медленно, смесь нагревают и применяют механическое перемешивание. Если растворение ведут при нагревании, порошок вводят порциями. Появление на дне нагреваемого сосуда нерастворившегося вещества может вызвать местный перегрев сосуда и его *разрушение*. Растворение при нагревании органического растворителя проводят в трехгорлой колбе, снабженной мешалкой, с делительной воронкой для добавления растворителя и обратным холодильником для возвращения испаряющегося растворителя в колбу.

Растворы заданной концентрации готовят с применением мерных колб, в которые вводят с помощью ковшеобразных воронок порошкообразные вещества. Использовать для этой цели часовые стекла или кальку не рекомендуют из-за возможной потери части взвешенного вещества. Навеску можно пересыпать из бюкса небольшими порциями через сухую и чистую воронку с короткой и широкой трубкой, слегка постукивая пальцем по воронке, чтобы не забивалась.

Твердые вещества взвешиваются на лабораторных весах. При этом, как правило, кристаллические соли можно отвешивать на тарной «лодочке» из вощенной бумаги. Из нее же удобно пересыпать соли в посуду. Для приготовления лодочки необходимо взять два одинаковых кусочка бумаги размером 1 x 8 см, из одного листочка приготовить лодочку, другой листочек – для уравновешивания весов.

**Перемешивание** улучшает контакт между фазами. Для перемешивания используют палочковые центробежные, лопастные якорные, пропеллерные, винтовые, вибрационные магнитные мешалки.

Перемешивание может осуществляться с помощью барботирования, т.е. пропускания газа или воздуха через жидкость.

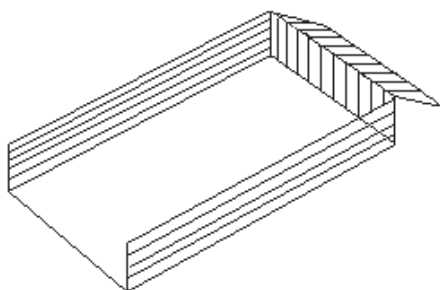


Рис. 3.5. Тарная лодочка из вощенной бумаги.

Для изготовления лодочки бумагу перегнуть по линиям 1, 2, 3, 4, образуются бортики высотой  $\approx 1,5$  см; далее по линиям 5, 6 согнуть уголки и завернуть их за бортик В, бортик Г загнуть за борт В.

В готовом виде лодочка представлена на рис. 3.5.

Приготовление растворов кислот и щелочей – часто применяемая операция. Этот процесс экзотермический.

**Отмеривание жидких реактивов.** Нужные объемы жидких реактивов в кабинетах химии берут с помощью совершенно сухой мерной посуды (мензурок, мерных цилиндров, пипеток). Желательно для кислот, щелочей, водных растворов и органических жидкостей использовать постоянно одну и ту же мерную посуду, соответствующим образом отмеченную. Запрещается набирать в пипетку жидкий реактив с помощью рта.

**Приготовление растворов.** Предпочтительнее эту операцию проводить в лабораторной посуде, изготовленной из фарфора, обладающего высокой механической и термической прочностью. Тонкостенная стеклянная химическая посуда менее прочна, поэтому для предохранения дна и стенок стакана во время приготовления раствора содержимое перемешивают стеклянной палочкой с резиновым наконечником, на 1–2 мм более длинным, чем конец палочки.

Важно соблюдать порядок смешения компонентов раствора. Если нет специальных оговорок, всегда сначала берут некоторый объем растворителя и к нему добавляют растворимое веще-

ство. При смешении двух растворов жидкость большей плотности вливают в жидкость меньшей плотности по стенке или по палочке тонкой струей, постоянно перемешивая. Для приготовления растворов посуду выбирают такой вместимости, чтобы она оказалась заполненной не более чем на три четверти.

Для приготовления растворов следует отвести стол, рабочая химически стойкая поверхность которого позволит заметить следы веществ и удалить их полностью. Наиболее стойким защитным материалом является фторопласт. Операции с легколетучими веществами (например, аммиак) проводят в вытяжном шкафу. Отбор нужных объемов едких и летучих жидкостей делают пипетками с резиновой грушей или их наливают из сосудов для хранения через химические воронки в мерные цилиндры.

*Приготовление раствора надо приостановить, если произошел разлив жидкости, рассыпано твердое вещество или поврежден сосуд с раствором.* Когда порядок наведен, можно работать дальше.

Для сбережения этикеток следует принять за правило: при наливании реактива из склянки держать ее этикеткой кверху, к ладони руки. Тогда, если часть реактива и стечет по стенке склянки, этикетка не будет испачкана. Для того чтобы реактив по возможности не стекал и не пачкал склянку, ее следует еще некоторое время подержать наклонно, пока на нижнем крае ранта соберется капелька, а затем снять эту капельку, касаясь ею края сосуда, в который наливали жидкость. Это особенно необходимо выполнять при работе с концентрированной серной кислотой, но здесь образование небольшого стока по стенкам почти неизбежно. Поэтому лучше всего после наливания концентрированной серной кислоты каждый раз вытирать горлышко склянки фильтровальной бумагой.

При наливании жидкости, особенно концентрированной кислоты, пробку следует класть на стол так, чтобы смоченное жидкостью место не касалось стола. Плоские притертые пробки кладут концом кверху, а высокие пробки обыкновенно совсем не кладут на стол, а держат между пальцами.

**Техника и меры безопасности приготовления растворов щелочей.** Щелочи на организм оказывают в основном местное действие, вызывая омертвление (некроз) только тех участков кожного покрова, на которые они попали. Однако в дальнейшем возникает общее отравление за счет всасывания в кровь продуктов взаимодействия мышечных тканей и щелочей. Действие концентрированных растворов характеризуется значительной глубиной проникновения, ибо они разрушают белок. *В связи с этим осо-*

*бенно опасно попадание кусочков щелочей в глаза, оно сопровождается при запоздалой первой помощи полной потерей зрения.*

Твердые щелочи гигроскопичны, кроме того, они поглощают из воздуха и оксид углерода (IV) с образованием соответствующих карбонатов. Поэтому хранить твердые щелочи следует в сосудах из полиэтилена или в толстостенных широкогорлых стеклянных банках, плотно закрывающихся пропарафиненными корковыми пробками. У склянок с притертыми пробками попадающая на шлиф щелочная пыль вскоре образует силикаты, а это ведет к «запеканию» пробки в горлышке. Заедает и пластмассовые навинчивающиеся крышки, поэтому щелочь из такой упаковки лучше переложить.

Из концентрированных аммиачных растворов выделяется газообразный аммиак, поэтому с большими количествами таких растворов работают под тягой или на открытом воздухе.

Во время приготовления растворов твердые щелочи из сосудов берут фарфоровыми, стеклянными или пластмассовыми ложечками, но *ни в коем случае не насыпают*, так как пыль может попасть в глаза и на кожу. После употребления ложечку моют, так как щелочь плотно пристает к поверхностям. При взятии навески используют тонкостенные фарфоровые чашечки или полиэтиленовую пленку. *Бумагой, тем более фильтровальной, пользоваться нельзя, так как щелочь ее разъедает.* Приготавливают растворы в толстостенных фарфоровых кружках в два этапа. Сначала готовят концентрированные растворы, добавляя щелочь к избытку воды, охлаждают их до комнатной температуры, а потом разбавляют до нужной концентрации. Такая последовательность вызвана значительным экзотермическим эффектом растворения.

Концентрированные щелочи разрушают стекло, и их нельзя долго хранить в тонкостенной лабораторной посуде.

**Техника и меры безопасности при приготовлении растворов кислот.** Минеральные кислоты вызывают локальный химический ожог. Степень тяжести его зависит от силы и концентрации кислоты. Наиболее опасные, долго не заживающие ожоги дает «царская водка» (смесь соляной и азотной кислот в соотношении 3:1). Концентрированные кислоты опасны еще и тем, что могут выделять едкие пары. Например, азотная кислота с содержанием ей в растворе выше 63% загрязняет воздух физиологически активными оксидами азота. Ледяная уксусная кислота раздражающе действует на верхние дыхательные пути. Эти особенности концентрированных кислот требуют специальных мер предосторожности. Такие кислоты хранят в отдельном помещении

или под тягой. Переливание их также проводится под тягой или на открытом воздухе, причем во время работы необходимо пользоваться средствами индивидуальной защиты. В обращении с концентрированными кислотами неприменима тонкостенная посуда, ее легко разбить, кроме того, некоторые кислоты разъедают стекло.

Приготовление растворов кислот – очень распространенная операция, поэтому все приемы ее должны быть особенно четко отработаны.

При разбавлении или с целью повышения концентрации, а также при изготовлении смеси кислот вливают жидкость большей плотности в жидкость с меньшей плотностью. В этом случае теплота растворения хорошо распределяется по всему объему жидкости и местные перегревы и разбрызгивание исключены. Приливают кислоту к воде по стеклянной палочке. Содержимое сосуда, в котором готовится раствор, постоянно перемешивают. Первые порции обычно делают небольшими. Во время растворения нужно следить за температурой жидкости, не допуская перегрева.

В процессе приготовления растворов кислот и при работе с ними нередки случаи разлива жидкости. Кислота, попавшая в щели пола или лабораторного стола, может явиться причиной отравлений и ожогов, поэтому ее необходимо сразу же убрать. Лучший способ – засыпать лужи сухим кварцевым песком, который затем собирают в металлический или пластмассовый совок. Впоследствии песок промывают водой, жидкость сливают в сосуд для сбора отходов, а песок сушат и используют вновь.

После уборки песка место разлива обрабатывают 10–15%-ным раствором карбоната натрия, а затем моют водой. Такая последовательность наиболее целесообразна, ибо при непосредственной нейтрализации кислоты выделяется теплота, что вызывает испарение вредных веществ и порчу поверхности стола или пола.

Для приготовления растворов следует освоить быстрые способы расчета.

### **Расчеты для приготовления насыщенных растворов**

*Пример 1.* Приготовить 20 мл насыщенного раствора хлорида кальция

Алгоритм

Что сделать?	Действия
<b>Дано:</b> $V(\text{нас. р-ра}) = 20 \text{ мл}$	<b>Найти:</b> $m(\text{соли}) \text{ г};$ $m \text{ г}(V \text{ мл}) \text{ воды}$
1. По справ. [ ] найти $K_s(\text{CaCl}_2)$ при 20°C	$K_s = 74,5 \text{ г}$
2. Вычислить $W(\text{CaCl}_2)$ в насыщенном растворе	$W = 74,5/174,5 = 0,427 = 0,43$

3. По справочнику раствор( $\text{CaCl}_2$ ) с $W = 0,43$ имеет плотность $\rightarrow$	$\rho = 1,43 \text{ г/мл}$
4. $m$ насыщенного раствора = $V(p\text{-ра}) \cdot \rho(p\text{-ра})$	$m(p\text{-ра}) = 20 \cdot 1,43 = 28,6 \text{ (г)}$
5. $m(\text{CaCl}_2) = m(p\text{-ра}) \cdot W(\text{CaCl}_2)$	$m(\text{соли}) = 28,6 \cdot 0,427 = 12,21 \text{ (г)}$
6. $m(\text{H}_2\text{O}) = m(p\text{-ра}) - m(\text{CaCl}_2)$	$m(\text{H}_2\text{O}) = 28,6 - 12,21 = 16,39 \text{ (г)}$
7. Если хлорид кальция берется в виде кристаллогидрата (к-г) ( $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), то следует сделать пересчет: $n(\text{CaCl}_2) = n(\text{к-г})$ $n(\text{CaCl}_2) = m(\text{CaCl}_2) / M(\text{CaCl}_2)$ ; $m(\text{к-г}) = n(\text{к-г}) \cdot M(\text{к-г})$	$n(\text{CaCl}_2) = 12,21 \text{ г} / 111 \text{ г/моль} = 0,11 \text{ моль}$ $m(\text{к-г}) = 0,11 \text{ моль} \cdot 219 \text{ г/моль} = 24,09 \text{ г}$
8. Масса $\text{H}_2\text{O}$ для растворения к-г: $m(\text{Мнас. р-ра}) - m(\text{к-г}) = m(\text{H}_2\text{O})$	$m(\text{H}_2\text{O}) + 28,6 \text{ г} - 24,09 \text{ г} = 4,5 \text{ г}$

Ответ: для приготовления 20 мл насыщенного раствора  $\text{CaCl}_2$  следует взять 12,21 г б/в соли и 16,4 мл воды, или 24,09 г ( $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) и 4,5 мл  $\text{H}_2\text{O}$ .

**Расчет для приготовления растворов с концентрацией «С» или массовой долей «w» из чистого вещества**

*Пример 2.* Приготовить раствор с массовой долей кислоты  $W=0,09$  из ледяной уксусной кислоты. Ледяной называют безводную кислоту, т.к. она замерзает в льдоподобную массу при +17 С. Если в задании не указан объем, его выбирают условно.

**Дано:**

Пусть надо приготовить

$V(p\text{-ра укс. к-ты}) = 100 \text{ мл}$

Справочные данные []:

$\rho(\text{лед. к-ты}) = 1,050 \text{ г/мл}$

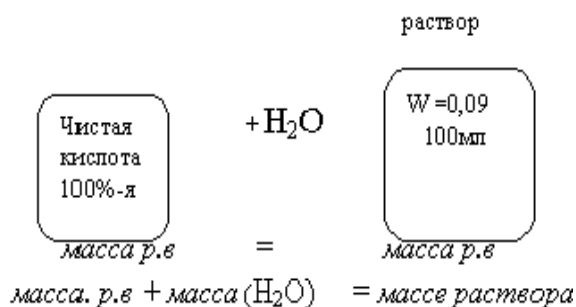
$W(\text{укс.-ты разб.}) = 0,09$ :

$\rho(p\text{-ра } \text{CH}_3\text{COOH}) =$

$1,011 \text{ г/мл}$

**Найти:**  $V$  (ледяной к-ты),

$V$  (воды)



Расчеты по приготовлению растворов удобно визуализировать рисунком. Этот метод называется метод «стаканчиков». На основании рисунка составляются алгебраические уравнения.



### Решение

1. Масса раствора разбавленной кислоты:

$$m(p\text{-ра}) = V \times \rho(p\text{-ра}) = 100 \times 1,011 = 101,1 \text{ г.}$$

2. Масса растворенного вещества в разбавленном растворе:

$$m(p.v.) = m(p.v.) \times \rho(p\text{-ра}) \times W(p.v.) = 101,1 \times 0,09 \approx 9,1 \text{ (г)}$$

$$m(p.v. \text{ в разбавленном растворе}) = m(\text{ледяной } CH_3COOH) = 9,1 \text{ (г)}$$

3. Объем ледяной уксусной кислоты:

$$V(\text{лед. ук.к-ты}) = 9,1 / 1,05 \approx 8,7 \text{ мл.}$$

4. Масса воды:

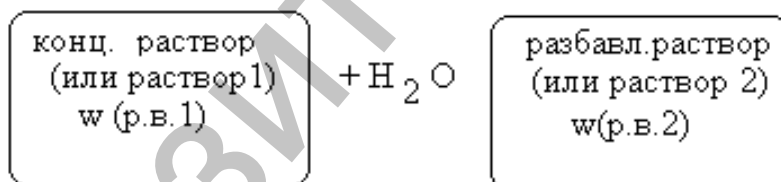
$$m(\text{воды}) = 101,1 - 9,1 = 92 \text{ (г)}$$

Ответ: к 8,7 л «ледяной» уксусной кислоты следует добавить 92 мл воды. Практически 8,7 мл «ледяной» уксусной кислоты развести водой до объема 100 мл в мерной колбе.

### Расчет для приготовления разбавленных растворов из более концентрированных

Рекомендуется использовать при расчетах следующие методические приемы:

- провести четкую индексацию данных: С (конц.), С(разб.) или нумерацию, при этом раствор, из которого готовят, удобно обозначить как первый, а раствор, который готовят – вторым;
- учесть, что количество вещества и его масса при разбавлении не изменяются:



$$\text{масса растворенного в-ва 1} = \text{массе растворенного в-ва 2}$$

$$\text{масса раствора 1} + \text{масса воды} = \text{массе раствора 2}$$

$$n(\text{р.в. 2}) = n(\text{р.в. 1}); \text{ при подстановке значений получаем}$$

$$C(\text{р.в. 2}) \cdot V(\text{р-ра 2}) = C(\text{р.в. 1}) \cdot V(\text{р-ра 1})$$

или

$$m(\text{р-ра 2}) \cdot W(\text{р.в. 2}) = m(\text{р-ра 1}) \cdot W(\text{р.в. 1})$$

**Пример 3.** Приготовить 10 мл раствора с концентрацией H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, равной C = 2 моль/л, из продажного реактива.

Массовая доля серной кислоты в продажном реактиве находится в диапазоне W = 0,936 – 0,956. При неправильном хранении вследствие гигроскопичности H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ее концентрация падает. Поэтому перед работой следует уточнить концентрацию кислоты путем измерения ее плотности.

Дано:  $V(\text{разб.}) = 10 \text{ мл}$   
 $C_{\text{разб.}} = 2 \text{ моль/л}$

Найти:  $V(\text{конц.})$

1. Пусть измерение плотности показало:  $\rho(\text{р-ра}) = 1,824 \text{ г/мл}$ .
2. По справочнику: этой плотности соответствует  $W = 0,92$ ;  $C = 17,11 \text{ моль/л}$ .

$$V(\text{конц.}) = (V_{\text{разб.}} \cdot C_{\text{разб.}}) / C_{\text{конц.}};$$
$$V_{\text{конц.}} = (0,010 \text{ мл} \cdot 2 \text{ моль/л}) / 17,11 \text{ моль/л} \approx 1,17 \text{ мл}.$$

$$4. \quad m(\text{H}_2\text{O}) = m(\text{разб. р-ра}) - m(\text{конц. р-ра})$$
$$m(\text{H}_2\text{O}) = V_{\text{разб.}} \cdot \rho(\text{разб.}) - V_{\text{конц.}} \cdot \rho(\text{конц.})$$
$$m(\text{H}_2\text{O}) = 10 \text{ мл} \cdot 1,120 \text{ г/мл} - 1,17 \text{ мл} \cdot 1,824 \text{ г/мл} \approx 9,1 \text{ г};$$
$$V(\text{H}_2\text{O}) = 9,1 \text{ мл}.$$

Ответ: следует к 9,1 мл  $\text{H}_2\text{O}$  добавить 1,17 мл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Последовательность практических действий:

1. В мерную посуду отмерить половину объема воды.
2. Отмерить 1,2 мл концентрированной серной кислоты.
3. Добавить ее в воду, перемешать смесь.
4. Довести объем остатком воды до 10 мл.

*Примечание.* Если рассчитать  $V(\text{H}_2\text{O})$  по разности объемов, получаем:

$$V(\text{H}_2\text{O}) = V_{\text{разб.}} - V_{\text{конц.}} = 10 \text{ мл} - 1,16 \text{ мл} = 8,84 \text{ мл}$$

Ошибка:  $\Delta V = 0,17 \text{ мл}$ , что допустимо только при приготовлении вспомогательных растворов.

Пример 4. Приготовить 10 мл раствора карбоната натрия ( $C = 1 \text{ моль/л}$ ) из насыщенного раствора.

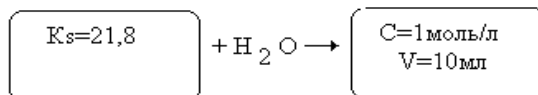
Дано:  $V(\text{разб.}) = 10 \text{ мл}$

$C(\text{разб.}) = 1 \text{ моль/л}$

Найти:  $V(\text{нас. р-ра})$ ,

$V(\text{H}_2\text{O})$

$M(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 106 \text{ г/моль}$



### Решение

1. По справочнику находим коэффициент растворимости карбоната натрия и плотность раствора с концентрацией 1 моль/л.
2.  $K_s(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 21,8 \text{ г/100 г}(\text{H}_2\text{O})$ ;  $\rho(\text{разб. р-ра}) = 1,091 \text{ г/мл}$ .
3. Определить массу растворенного вещества в разбавленном растворе:  $m(\text{р.в. в разб. р-ре}) = n \times M = 3V(\text{разб.}) \times C(\text{разб.}) \times M(\text{р.в.}) = 0,010 \text{ л} \times 1 \text{ моль/л} \times 106 = 1,06 \text{ г}$ .
4. Перевести коэффициент растворимости в массовую долю.
5.  $W(\text{р.в. нас.}) = (K_s / (100 + K_s)) = 21,8 / 121,8 = 0,18$ , при разбавлении массы растворенных веществ не меняются, поэтому:  $m(\text{р.в. в разб. р-ре}) = m(\text{р.в. в нас. р-ре}) = 1,06 \text{ г}$ .

6. Плотность, найденная по значению массовой доли в справочнике, равна:  $\rho$  (нас. р-ра) = 1,190 г/мл.

7. Масса насыщенного раствора =  $m(\text{р.в.})/W(\text{р.в.нас.})=1,06/0,18=5,9$  г.

8.  $V_{\text{нас. р-ра}} = m(\text{нас. р-ра})/\rho$  (нас. р-ра) =  $5,9/1,19=4,96$  мл  $\approx 5$  мл.

Приготовление: отмерить 5 мл насыщенного раствора и разбавить его водой до 10 мл.

### Расчет по приготовлению раствора из кристаллогидрата

*Пример 5.* Для проведения колориметрического анализа необходимо приготовить раствор с массовой долей сульфата меди 20% (0,2) из кристаллогидрата пентагидрата сульфата меди.

Решение.

Пусть необходимо приготовить 50 мл раствора.

1. По справочнику найти плотность 20%-ного раствора. Плотность равна 1,06 г/мл.

2. Масса раствора равна =  $50 \times 1,06=53$  г.

3. Масса растворенного сульфата меди в нем =  $53 \times 0,2=10,6$  г.

4. Провести перерасчет на кристаллогидрат по стехиометрической схеме  $\text{CuSO}_4 \rightarrow \text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  можно тремя способами:

а) используя понятие «количество вещества»:

– из схемы видно, что количество вещества кристаллогидрата равно количеству вещества безводной соли =  $m/M=10,6/160=0,067$  (моль)

– отсюда масса кристаллогидрата =  $m \times M=0,067 \times 250=16,75$  (г)

б) используя понятие массовой доли:

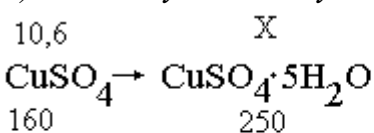
– определить массовую долю безводного вещества в кристаллогидрате

$W(\text{CuSO}_4) = M(\text{CuSO}_4)/M(\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O})=160/250=0,64$

– определить массу кристаллогидрата

$m(\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}) = m(\text{CuSO}_4)/W(\text{CuSO}_4)=16,6$  (г)

в) используя массовую пропорцию:



$$\frac{10,6}{160} = \frac{X}{250} \quad x = 250 \cdot 10,6/160 = 16,6 \text{ (г)}$$

5. *Масса воды равна разности массы раствора и массы кристаллогидрата:  $53 - 16,6 = 36,4$  г или 36,4 мл.*

Практически: отвесить массу кристаллогидрата, растворить в небольшом количестве воды и довести до 50 мл.

Иногда, если данные даны в массовых долях или процентном содержании, удобно использовать «правило креста». Сущность его в следующем. Слева записывают содержание растворенного вещества в % (или в массовой доле). Посередине – процентное содержание (массовую долю) растворенного вещества в растворе, который следует приготовить. Справа записывают разность между большим и меньшим значением по диагонали (кресту). Полученные при вычитании данные означают массовые соотношения исходных растворов. Если участвует вода, то содержание растворенного вещества в ней принимают за 0. Если участвует кристаллогидрат, то за содержание вещества в нем принимают процентное содержание безводной соли в кристаллогидрате. Например, в случае примера 4 имеем:

$$\begin{array}{rcc}
 \text{кристаллогидрат} & 64 & \begin{array}{l} 20 \text{ м.ч.} \\ \diagdown \\ 20 \\ \diagup \\ 44 \text{ м.ч.} \end{array} \\
 & & \\
 \text{вода} & 0 & 
 \end{array}
 \left| \frac{53 \text{ г}}{64 \text{ м.ч.}} = 0,83 \right| \begin{array}{l} 0,83 \cdot 20 = 16,6 \text{ г} \\ 0,83 \cdot 44 = 36,5 \text{ г} \end{array}$$

Проверка:  $16,6 + 36,5 \approx 53$  г.

Показана удобная форма записи для быстрого расчета. Следующая после «креста» запись означает определение массы, приходящейся на одну массовую часть, и далее масса, приходящаяся на 20 массовых частей и на 44 массовые части. Итак, для приготовления раствора следует взять 16,6 г кристаллогидрата и 36,5 г воды.

*Пример 5.* В результате допущенной ошибки вместо раствора  $\text{H}_2\text{SO}_4$  с массовой долей  $W = 0,02$  объемом 100 мл приготовлен раствор, плотность которого равна 1,070 г/мл. Как исправить ошибку, имея в распоряжении концентрированную  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , плотность которой 1,80 г/мл?

Дано:  $V_{\text{приг.}} = 100$  мл

$W(\text{задан.}) = 0,2$

$P(\text{конц.}) = 1,80$  г/мл

Найти:  $V_{\text{конц.}}$

Решение

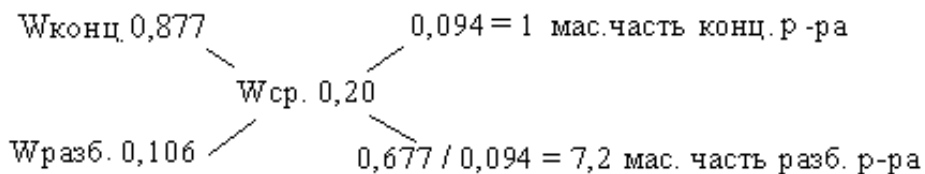
– По справочнику находят массовую долю концентрированной серной кислоты. Она равна 0,88 (88%).

– Плотность 20%-ного раствора  $P = 1,140$  г/мл.

– Массовая доля серной кислоты в приготовленном растворе равна (по справочнику)  $W = 0,106$  (10,6).

– Масса приготовленного раствора  $100 \times 1,070 = 107$  г.

– Масса 20%-го раствора  $100 \times 1,140 = 114$  г.



– Всего массовых частей 8,2. Масса, приходящаяся на 1 массовую часть, равна  $114/8,2 = 13,90$ . Это масса концентрированного раствора.

–  $V$  конц. р-ра =  $13,90$  г /  $1,80$  г/мл =  $7,72$  мл.

– Масса разбавленной  $13,90 \times 7,2 = 100,19$  (г);  $V$  разб. р-ра =  $100,1$  г /  $1,070$  г/мл =  $93,55$  мл

Ответ: к  $93,55$  мл ошибочно приготовленного раствора следует добавить  $7,72$  мл концентрированной серной кислоты.

Способы регенерации и приготовления некоторых реактивов.

### 3.6. Обезвоживание и очистка реагентов

**Обезвоживание и очистка этилового спирта.** Этанол нельзя сушить  $\text{CaCl}_2$  вследствие образования растворимого соединения  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ . Высушивать этиловый спирт следует негашеной известью, прибавляемой в количестве, зависящем от содержания в спирте воды. Молекула негашеной извести присоединяет одну молекулу воды:  $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} = \text{Ca(OH)}_2$ , т.е.  $56$  г извести поглотят  $18$  г воды. Следовательно, чтобы обезводить  $1 \text{ дм}^3$  80%-ного спирта ( $200$  г воды), требуется  $622$  г  $\text{CaO}$ ; практически  $\text{CaO}$  требуется в  $1,5$ – $2$  раза больше, т.е.  $900$ – $1200$  г.

**Обезвоживание спирта.** Колбу на  $1,6$ – $2 \text{ см}^2$  наполовину заливают отмеренным количеством спирта известной концентрации, ранее очищенного и несколько обезвоженного перегонкой, и осторожно добавляют куски доброкачественной извести (по расчету). Затем колбу с обратным холодильником нагревают на водяной бане  $1,6$ – $2$  часа. Нагревание происходит и от реакции воды с известью, поэтому смесь нагревают только до слабого кипения. Охладив колбу, в которой известь рассыпалась в порошок, и установив холодильник в наклонное положение для отгонки, присоединяют к колбе дефлегматор с  $2$ – $3$  шариками, заполненными стеклянной ватой (во избежание переброса в конце отгонки известковой пыли в холодильник и приемник), и перегоняют до тех пор, пока не отгонится весь спирт; при этом собирают фракции спирта, кипящие при  $76$ – $80\%$ , – это и будет очищенный спирт с небольшой примесью воды. Фракции спирта, кипящие ниже и выше  $76$ – $80^\circ\text{C}$ , собирают отдельно и пускают в дальнейшую очистку.

Другим веществом, применяемым для обезвоживания спирта, является безводный медный купорос. Кристаллический медный купорос – синего цвета, содержит 5 молекул кристаллизационной воды ( $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ), на сухом воздухе выветривается, переходя в светло-голубой гидрат ( $\text{CuSO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ), а при сильном нагревании ( $200\text{--}300^\circ\text{C}$ ) переходит в безводную сернокислую соль ( $\text{CuSO}_4$ ), которая и применяется для обезвоживания спирта и других растворителей. Обезвоживание медным купоросом производится так же, как и негашеной известью. Теоретически молекулы безводного купороса присоединяют 5 молекул воды, или 161 г безводной соли присоединяют 90 г воды. Практически медного купороса следует брать в 2 раза больше, учитывая его меньшую по сравнению с известью водоотнимающую способность и гигроскопичность.

Обезвоживать растворители медным купоросом менее выгодно, чем известью, вследствие меньшей поглощающей воду способности этого реактива и большей его стоимости.

Получить безводный абсолютный спирт при помощи негашеной извести и медного купороса нельзя вследствие того, что он с водой дает постоянно кипящую при  $78,15^\circ\text{C}$  смесь, содержащую около 4,5% воды. После многократного обезвоживания свежепрокаленной известью можно получить 99,5%-ный спирт.

*Получение абсолютного спирта.* Абсолютный спирт получают следующими способами.

1) На каждый  $\text{дм}^3$  99,5%-ного спирта добавляют 27,5 г диэтилфталата и 7 г металлического натрия. Металлический натрий, реагируя со спиртом, образует этилат натрия, который с диэтилфталатом в присутствии воды реагирует с образованием спирта:  
 $\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOC}_2\text{H}_5)_2 + 2\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_4(\text{COONa})_2 + 4\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ .

2) Из обезвоженного спирта (этилового, метилового, н-пропилового), содержащего 0,5–0,8% воды, абсолютный спирт получают следующим образом. В колбу на  $1,6 \text{ дм}^3$  с обратным холодильником помещают 5 г стружек магния,  $70 \text{ см}^3$  99% спирта, 0,5 г иода и нагревают до исчезновения последнего. При этом весь магний переходит в этилат и выделяется водород. К этому раствору приливают  $850 \text{ см}^3$  предварительно обезвоженного спирта и кипятят с обратным холодильником в течение 30 минут. После этого отгоняют абсолютный спирт на установке со шлифами. От альдегидов и кетонов спирт очищают добавлением холодного насыщенного раствора кислого сернистоокислого натрия или калия. При этом выпадает белое кристаллическое бисульфитное соединение альдегидов и кетонов  $[\text{CH}_3\text{CHO} + \text{NaHSO}_3 = \text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{SO}_3\text{Na}]$ . Спирт сливают, прибавляют 20–30% щелочь

до явно щелочной реакции с фенолфталеином, перегоняют с дефлегматором и собирают фракции, кипящие при 77–79°.

Для получения насыщенного раствора *бисульфита натрия* к кристаллической соде прибавляют воду в таком количестве, чтобы жидкость только покрывала кристаллы, и пропускают в смесь сернистый газ до тех пор, пока осадок не растворится и раствор не приобретет бледно-зеленой окраски. При отстаивании из раствора выделяется осадок бисульфита натрия. Желтый раствор, получающийся при насыщении раствора соды сернистым газом, содержит свободную сернистую кислоту, которая растворяет бисульфитное соединение альдегида.

**Очистка метилового спирта.** Метиловый спирт –  $\text{CH}_3\text{OH}$ , молекулярная масса 32,03, температура кипения 64,5°C, плотность 0,790. Хорошо растворяется в воде, сам растворяет многие органические вещества, ядовит. В биохимии широко используется. От примесей метиловый спирт может быть очищен теми же способами, что и этиловый спирт. С водой метиловый спирт не образует постоянно кипящей смеси, вследствие чего значительно лучше, чем этиловый спирт, может быть отделен от воды (фракционированной отгонкой). Для спектрометрических методов абсолютный метанол (этанол) очищают следующим способом. В 3  $\text{дм}^3$  абсолютного метанола растворяют 5 г чистого гранулированного  $\text{NaOH}$  и добавляют 5 г чистого  $\text{AgNO}_3$ . Эту смесь кипятят 3 часа с обратным холодильником и после охлаждения перегоняют, отбрасывая первые 200  $\text{см}^3$  отгона. Оптическую плотность проверяют на спектрометре или фотометре, при длине волны 280  $\text{нм}$  в 4-сантиметровой кювете против дистиллированной воды. Оптическая плотность не должна быть выше 0,010. Очищенный метанол хранят в желтой склянке.

**Очистка других спиртов.** Изобутиловый спирт, нормальный бутиловый, амиловый спирт и другие спирты, применяемые для определения витаминов группы В, могут быть очищены и обезвожены способами, указанными для этилового и метилового спиртов. Обычно перегонку проводят с водяным паром в присутствии активированного угля, чтобы получить достаточной чистоты спирты для работы с витаминами.

**Очистка диэтилового (серного) эфира.** Серный эфир – молекулярная масса 74,08, температура кипения 35°C, плотность 0,714. Эфир чрезвычайно летуч и легко воспламеняется. *Распространяясь в воздухе, пары его дают опасные, взрывчатые, гремучие смеси, поэтому он является веществом чрезвычайно огнеопасным.* Использованный серный эфир бывает загрязнен главным образом органическими веществами и содержит воду (100 г

серного эфира могут поглотить 7,6 г воды). При длительном стоянии продажный эфир содержит перекиси, которые опасны при перегонке. Для очистки эфир перегоняют с дефлегматором. Перед перегонкой его обязательно промывают 15%-ным раствором железного купороса. Промывание с целью удаления спирта, ацетона и разрушения перекисных соединений в эфире проводят (0,2 объема раствора от объема эфира), подкисляя серной кислотой до слабокислой реакции и добавляя железный купорос, чтобы разрушить перекиси, которые могут образоваться в неочищенном эфире и при перепонках могут вызвать взрыв. Эфир, содержащий перекиси, обладает резким запахом. На каждый куб. дециметр этилового эфира берут 10 г кристаллического железного купороса. Затем отгоняют, собирая фракции, кипящие при 33–37°C; остальные фракции собирают отдельно и употребляют для дальнейшего фракционирования. Фракции эфира, кипящие при 33–37°C, обезвоживают гранулированным свежепросушенным при 100–105°C или прокаленным при 725°C плавленным хлористым кальцием, для чего в склянку на 6–7 дм<sup>3</sup> наливают 3–4 дм<sup>3</sup> перегнанного эфира и добавляют хлористый кальций. Склянку с эфиром и хлористым кальцием оставляют на ночь, после чего производят отгонку с дефлегматором. Собирают фракции эфира, кипящие при 34–36°C, приемник плотно соединяют с аллонжем холодильника и снабжают трубкой, наполненной хлористым кальцием, для устранения поглощения эфиром воды из воздуха.

Примесь спирта, содержащегося в эфире, может быть удалена одним из следующих двух способов:

1. Эфир многократно промывают небольшими порциями воды. Этот способ довольно легко и быстро приводит к цели, но недостатком его является значительная потеря эфира вследствие его заметной растворимости в воде.

2. Спирт в эфире окисляют до уксусного альдегида или уксусной кислоты, которые затем удаляют в виде альдегидной смолы или уксуснокислого натрия. В склянку с эфиром прибавляют небольшое количество тщательно растертого в порошок марганцевокислого калия и 1–2 куски (10 г) едкого натра. Через несколько часов поверхность кусков едкого натра покрывается бурным осадком альдегидной смолы. Операцию эту повторяют до тех пор, пока через 12 часов больше не будет наблюдаться выделение окрашенной смолы на едком натре. Эфир сливают в чистую сухую колбу, сушат над хлористым кальцием в течение 24 часов и перегоняют с дефлегматором.

Для получения абсолютного эфира обезвоженный эфир сушат несколько дней над свежеплавленным хлористым кальцием.



ем, которого берут 15–20% от веса жидкости, после чего быстро отфильтровывают через складчатый фильтр в сухую склянку, куда кладут затем натрий в виде проволоки или небольших кусочков, очищенных от окиси. (Пока продолжается выделение водорода, склянку закрывают пробкой со вставленной в нее хлоркальциевой трубкой, на которую для уменьшения испарения надевают короткую, вытянутую в капилляр стеклянную трубку).

**Очистка хлороформа.** Хлороформ –  $\text{CHCl}_3$ , молекулярная масса 119,39, температура кипения  $61^\circ\text{C}$ , плотность 1,488. В 100 г хлороформа растворяется 10,82 г воды; спирт и эфир в нем растворяются хорошо. (При действии света хлороформ окисляется кислородом воздуха, образуя хлор, соляную кислоту, угольный ангидрид и фосген ( $\text{COCl}_2$ ); *последний сильно ядовит*)! При действии слабой водной щелочи получаются соли муравьиной кислоты. С крепкой щелочью образуется окись углерода. Вследствие хорошей способности растворять органические вещества и невысокой температуры кипения хлороформ широко применяется в биохимической практике. Подобно другим органическим растворителям (спирту, эфиру), хлороформ загрязняется всякого рода органическими веществами, от которых может быть очищен: 1) перегонкой с дефлегматором (при этом собирают фракции, кипящие при  $59\text{--}62^\circ\text{C}$ ); 2) удалением спирта, ацетона и эфира (хлороформ промывают водой в делительной воронке 3–4 раза, затем сушат хлористым кальцием и перегоняют, собирая фракции, кипящие при  $60\text{--}61^\circ$ ).

**Обезвоживание и очистка ацетона.** Ацетон –  $\text{CH}_3\text{OCH}_3$ , молекулярная масса 60,05, температура кипения  $56^\circ\text{C}$ , плотность 0,792. Смешивается с водой, спиртом, эфиром во всех отношениях. При добавлении к водному ацетону раствора солей (поваренной соли, поташа и др.) происходит «высаливание» ацетона, причем жидкость разделяется на 2 слоя; таким путем можно освободить его от значительного количества воды. Использованный ацетон обезвоживают следующими приемами: 1) перегонкой водного ацетона с дефлегматором (собирают фракции, кипящие при  $64\text{--}58^\circ\text{C}$ ) после дополнительного обезвоживания хлористым кальцием или медным купоросом и повторной перегонкой (собирают фракции, кипящие при  $55\text{--}57^\circ\text{C}$ ); 2) высаливанием его из водных растворов, отделением на делительной воронке, отгонкой с дефлегматором, обезвоживанием и повторной перегонкой. От спирта, эфира и хлороформа ацетон очищают бисульфитным соединением (см. этиловый спирт), отделением спирта и эфира (слить), разрушением бисульфитного соединения, прибавлением раствора соды и последующей фракционированной перегонкой.

**Обезвоживание и очистка бензола.** Бензол –  $C_6H_6$ , молекулярная масса 78,05, температура кипения  $80^\circ C$ , плотность 0,879. В воде нерастворим, с эфиром и спиртом смешивается во всех отношениях. При  $+6^\circ$  бензол переходит в твердое кристаллическое состояние, чем пользуются для отделения его от примесей; для этого (бензол охлаждают до  $0^\circ C$  и после того как он перейдет в кристаллическое состояние, примеси сливают. От примесей бензол можно освободить также следующими способами: 1) от воды – обезвоживанием хлористым кальцием и перегонкой с дефлегматором; 2) от спирта, эфира и ацетона – промыванием водой, отделением на делительной воронке, обезвоживанием и перегонкой; 3) от хлороформа – а) (вымораживанием или обработкой 5–40%-ным раствором щелочи; при этом образуется соль муравьиной кислоты, водный раствор которой отделяют на делительной воронке, бензол фракционируют и собирают фракции, кипящие при  $79–81^\circ C$ .

**Очистка уксусной кислоты.** Уксусная кислота –  $CH_3COOH$ , молекулярная масса 60, температура кипения  $118^\circ C$ , температура плавления  $16,5^\circ C$ , плотность 1,062. Чрезвычайно стойка по отношению к окислителям, даже таким сильным, как хромовая кислота и марганцевокислый калий. Ледяная уксусная кислота является прекрасным растворителем для многих органических веществ и находит широкое применение в лабораторной практике. От примесей уксусную кислоту очищают: 1) дробной перегонкой с дефлегматором; 2) перегонкой сухой уксуснонатриевой соли с серной кислотой; 3) вымораживанием из водных концентрированных растворов при температуре от 0 до  $-10^\circ C$ .

**Очистка петролейного эфира.** Петролейный эфир, бензин – это легко кипящие фракции нефти (обыкновенно не выше  $150^\circ C$ ). По плотности и температуре кипения бензины делятся на легкие, средние и тяжелые. Легкие бензины ( $\rho = 0,64–0,66$ , температура кипения главной части – от  $40$  до  $80^\circ C$ ) обыкновенно называют петролейным эфиром, или газOLIном. Использованный петролейный эфир можно очистить: 1) от примесей спирта, ацетона, серного эфира – промыванием водой в делительной воронке, отделением от промывных вод, обезвоживанием хлористым кальцием и последующей перегонкой; 2) от примесей хлороформа – обработкой слабым раствором щелочи, промыванием водой, отделением промывных вод, обезвоживанием хлористым кальцием, фракционированием.

#### **Обезвоживание минеральных веществ**

*Хлористый кальций.* Хлористый кальций –  $CaCl_2$ , молекулярная масса 110,92. Образует белую, чрезвычайно гигроскопическую массу, плавящуюся около  $800^\circ C$  и улетучивающуюся при

температуре белого каления. Плотность переплавленного хлористого кальция 2,2. Безводный хлористый кальций получают из содержащего воду хлорида кальция нагреванием выше 260°C. Обезвоживать следует осторожно, так как при слишком быстром нагревании происходит частичный гидролиз и выделение соляной кислоты. Для получения пористого препарата (гранулированного хлористого кальция ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) раствор безводного хлористого кальция (полученный так, как указано выше) выпаривают до появления на поверхности раствора пленки сухой соли, после чего уменьшают нагревание, прибавляют немного концентрированной соляной кислоты, перемешивают до образования гранул и оставляют на 4–6 часов, пока хлористый кальций не сделается совершенно сухим. Массу еще в горячем состоянии разбивают на куски и складывают в хорошо закрывающуюся банку.

*Окись кальция.* Окись кальция, или негашеная известь, —  $\text{CaO}$ , молекулярная масса 66,07. В лабораторных условиях чистую негашеную известь получают прокаливанием мрамора или мела в муфельной печи при 800°C. Совершенно чистая окись кальция плавится чрезвычайно трудно, поэтому получаемая при прокаливании совершенно чистого углекислого кальция (мрамора) окись, даже если нагревание производилось до очень высокой температуры, представляет собой рыхлый, аморфный порошок, легко реагирующий с водой. Реакция обожженной извести с водой известна под названием гашения извести. Она сопровождается выделением значительного количества тепла:  $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} = \text{Ca}(\text{OH})_2 + 16,2 \text{ кал.}$

*Сернокислая медь.* Сернокислая медь, или медный купорос, —  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ , молекулярная масса 249,7. Безводная соль ( $\text{CuSO}_4$ ) белого цвета, при поглощении воды синее и переходит в гидратные формы. Из водных растворов сульфат меди кристаллизуется с 5 молекулами воды, образуя лазурно-голубые кристаллы, которые на воздухе с поверхности выветриваются и переходят в светло-голубой гидрат ( $\text{CuSO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ). Способностью безводного сульфата меди хорошо поглощать воду и синеть от ее присоединения пользуются для обезвоживания и обнаружения воды в органических растворителях. Кристаллический сульфат меди при нагревании теряет воду; сначала он переходит в тригидрат ( $\text{CuSO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ), затем в моногидрат ( $\text{CuOSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ ) и лишь при 258°C происходит полное его обезвоживание. Нагревать выше 258°C не следует во избежание его разложения. Серый цвет сульфата меди указывает на перегрев. В 100 см<sup>3</sup> воды сульфат меди растворяется при 0°C — 14,8 г, при 15°C — 19,3, при 50°C — 33,6, при 100°C — 73,6 г. Регенерация медного купороса, исполь-

зованного для обезвоживания, состоит: 1) в удалении органического растворителя, подвергнувшегося обезвоживанию (проветривание); 2) в обезвоживании нагреванием (твердой соли) при 200–258°C; 3) если медный купорос в виде растворителя – в фильтровании, обезвоживании нагреванием. Использованный медный купорос можно очистить перекристаллизацией.

### **3.7. Приготовление некоторых реагентов**

**Приготовление фосфорновольфрамовой кислоты.** Вольфрамвокиелый натрий растворяют в кипящей воде и в этот раствор прибавляют половинное по массе количество фосфорной кислоты (плотность 1,13). При выпаривании раствора получают кубические кристаллы фосфорновольфрамовой кислоты. К растворенному в кипящей воде вольфрамвокислороду натрия прибавляют (до кислой реакции) фосфорную кислоту; после охлаждения жидкость сильно подкисляют уксусной или соляной кислотой и после суточного стояния фильтруют. В случае отсутствия фосфорной кислоты к раствору 200 г вольфрамвокислородного натрия в 600 см<sup>3</sup> воды прибавляют раствор 120 г фосфорнокислого натрия в 500 см<sup>3</sup> воды, затем прибавляют 100 см<sup>3</sup> серной кислоты (плотность 1,84).

**Приготовление кремневольфрамовой кислоты.** Раствор вольфрамвокислородного натрия кипятят со свежесажженной кремневой кислотой (кремнекислоту готовят смешением водных растворов кремненатриевой соли и серной кислоты в количествах, определяемых из уравнения взаимодействия; полученный студенистый осадок промывают водой). Из полученного раствора осаждают кремневольфрамвоую кислоту прибавлением азотнокислой закиси ртути. Осадок ртутной соли переносят на фильтр, промывают и разлагают соляной кислотой. Отфильтрованный раствор выпаривают для удаления соляной кислоты. При отстаивании из концентрированного раствора выпадают кристаллы (в форме больших октаэдров) кремневольфрамвоовой кислоты. В качестве реактива употребляют 10–12%-ный раствор кремневольфрамвоовой кислоты.

**Приготовление растворимого крахмала.** Картофельный крахмал в количестве 260–500 г помещают в колбу и заливают 1,2%-ной соляной кислотой так, чтобы уровень кислоты был выше уровня крахмала на 1,6–2 см, и настаивают в течение 6–7 суток, ежедневно сливая кислоту и наливая новую ее порцию. Под действием кислоты оболочки крахмальных зерен растрескиваются; отделившиеся оболочки сливаются вместе с кислотой. Уже на вторые сутки в пробе такого настоя можно наблюдать (под микроскопом) отшелушивание оболочек крахмальных зерен. После 6–7-дневного настаивания крахмал отмывают от кислоты водой (на воронке Бюхнера или мно-

гократном промывании путем декантации) и высушивают на воздухе или в сушильном шкафу при невысокой температуре. Таким способом получают образцы хорошо растворимого крахмала.

**Получение хлорофилла.** Навеску в 1 кг свежих листьев высушивают в токе воздуха при температуре 30–35°C до 400–500 г, затем листья измельчают на мясорубке и добавляют 200 г порошка негашеной извести. Из полученной сухой массы листьев и извести извлекают желтые пигменты петролейным эфиром (температура кипения 70°C). Извлечение лучше производить в шаровой мельнице. Для этого в сосуд шаровой мельницы насыпают исследуемый материал и приливают туда 1 дм<sup>3</sup> петролейного эфира. Более полное извлечение желтых пигментов достигается в аппаратах Сокслета. Из обработанной петролейным эфиром смеси листьев и извести извлекают хлорофилл, настаивая в банке на 1,5 дм<sup>3</sup> с 0,05 дм<sup>3</sup> чистого серного эфира. После этого раствор хлорофилла сливают и приливают новую порцию эфира (300 см<sup>3</sup>), снова встряхивают, настаивают и сливают. Наконец, массу переносят на фарфоровую воронку и вымывают из нее хлорофилл порциями эфира, применяя отсасывание. Затем эфир отгоняют из раствора под вакуумом. Хлорофилл в колбе растворяют в небольшом количестве петролейного эфира (температура кипения 50°C) и переносят в маленькую фарфоровую чашку. Растворитель выпаривают в вакуум-эксикаторе, и хлорофилл выпадает в виде тонких блестящих пластинок.

**Приготовление силикагеля для колоночной и тонкослойной хроматографии.** Силикагель марки КСК, размолотый на шаровой мельнице, заливают концентрированной соляной кислотой. Через сутки кислоту сливают, осадок многократно промывают дистиллированной водой до отрицательной реакции на ион  $\text{Cl}^-$  (проба с  $\text{AgNO}_3$ ). Затем осадок промывают несколько раз ацетоном и метанолом на воронке Бюхнера. Отфильтровывают и высушивают при 120°C в течение 4 часов. Для хроматографии используют фракцию, проходящую через сито 150–200 меш.

**Заполнение колонки сефадексом.** Для разделения белков, декстранов и очистки ферментов применяют сефадексы типа G. Основным условием хорошего разделения является правильное заполнение колонки. Колонку укрепляют строго вертикально, в основание ее помещают диск из плексигласа с отверстиями и сверху – кружок фильтровальной бумаги. Порошок сефадекса предварительно намачивают в воде или рабочем буфере, приливая в количествах, рассчитанных на основании свойств сефадекса (например, для набухания 1 г сефадекса G100 требуется 10 см<sup>3</sup> воды). Величина навески определяется объемом колонки. В ста-

кан наливают воду или буфер с небольшим избытком и при помешивании всыпают навеску сефадекса и 20 мг/100 см<sup>3</sup> смеси – азида натрия (антисептик). Через 5 дней из смеси, а также из буферного раствора удаляют пузырьки воздуха. После этого колонку с закрытым краном заполняют буферным раствором и, перемешивая, переносят взвесь сефадекса тонкой струей. После того, как в колонке осядет слой сефадекса высотой 5 см, открывают внизу кран так, чтобы жидкость вытекала медленно и продолжают наполнять колонку. Слой сефадекса в колонке должен быть горизонтальным и подсыхание его не допускается.

### 3.8. Таблицы буферных растворов

Для приготовления растворов используют чистые реактивы, перекристаллизованные и просушенные. Вода должна быть освобождена от CO<sub>2</sub>. Раствор со щелочными значениями pH предохраняют от поглощения CO<sub>2</sub>.

#### **Боратная буферная смесь (pH 3,0–5,8)**

Готовят путем смешивания объемов в указанном процентном соотношении 0,05 н растворов буры и янтарной кислоты.

pH	0,05 н растворы		pH	0,05 н растворы	
	буры	янтарной кислоты		буры	янтарной кислоты
3,0	1,4	98,6	4,6	30,0	70,0
3,2	3,5	96,5	4,8	33,5	66,5
3,4	6,0	94,0	5,0	36,8	63,2
3,6	9,5	90,5	5,2	39,5	60,5
3,8	13,7	86,3	5,4	42,2	57,8
4,0	17,8	82,2	5,6	44,3	55,7
4,2	22,2	77,8	5,8	46,0	54,0
4,4	26,2	73,8			

#### **Боратная буферная смесь (pH 7,62–9,17)**

Готовят путем смешивания 0,05 н растворов буры и соляной кислоты.

pH	0,05 н растворы (см <sup>3</sup> )		pH	0,05 н растворы (см <sup>3</sup> )	
	буры	HCl		буры	HCl
7,62	52,5	47,5	8,80	75	25
7,94	55	45	8,91	80	20
8,14	57,5	42,5	9,01	85	15
8,29	60	40	9,09	90	10
8,51	65	35	9,17	95	5
8,68	70	30	—	—	—

### **Цитратный буфер Серенсена II (pH 1,1–6,6)**

Готовят путем смешивания растворов: 0,1 н лимоннокислого натрия (21,008 г лимонной кислоты, моногидрата и 200 см<sup>3</sup> 1 н NaOH в 1 дм<sup>3</sup>), 0,1 н HCl, 0,1 н NaOH. Для получения соответствующих значений pH берут следующие соотношения объемов растворов.

pH	0,1 н раствора		pH	0,1 н раствора		
	лимонно-кислого натрия	соляной кислоты		лимонно-кислого натрия	соляной кислоты	едкого натрия
1,1	4,8	95,2	4,0	56,0	44,0	—
1,3	15,9	84,1	4,2	61,1	38,9	—
1,5	22,2	77,8	4,4	67,9	32,1	—
1,7	26,5	73,5	4,6	76,9	23,1	—
1,9	29,5	70,5	4,8	88,0	12,0	—
2,0	30,6	69,4	5,0	96,4	—	3,6
2,2	32,6	67,4	5,2	85,1	—	14,6
2,4	34,5	65,5	5,3	80,7	—	19,3
2,6	36,4	63,6	5,4	76,3	—	23,7
2,8	38,3	61,7	5,6	69,6	—	31,0
3,0	40,3	59,7	5,8	63,9	—	36,4
3,2	42,7	57,4	6,0	59,6	—	40,4
3,4	45,4	54,6	6,2	56,6	—	43,4
3,6	48,4	51,6	6,4	54,6	—	45,4
3,8	51,9	48,1	6,6	53,0	—	47,0

### **Фосфатная смесь Серенсена (pH 4,94–9,18)**

Для приготовления смеси растворяют в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды 11,876 г кислого Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 12H<sub>2</sub>O и в 1 дм<sup>3</sup> воды 9,078 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Для получения приведенных значений pH растворы смешивают в указанных соотношениях (при расчете на 10 частей).

pH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	pH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
4,94	0,10	9,90	6,98	6,00	4,00
5,29	0,25	9,75	7,17	7,00	3,00
5,59	0,50	9,50	7,38	8,00	2,00
5,91	1,00	9,00	7,73	9,00	1,00
6,24	2,00	8,00	8,04	9,50	0,50
6,47	3,00	7,00	8,34	9,75	0,25
6,64	4,00	6,00	8,67	9,90	0,10
6,81	5,00	5,00	9,18	10,00	0,00

### **Универсальная буферная смесь (pH 1,81–11,82)**

Для приготовления буфера к смеси равных объемов 0,04 М растворов фосфорной, уксусной и борной кислот прибавляют 0,2 н раствор NaOH. Для получения необходимых значений pH к 100 см<sup>3</sup> смеси указанных кислот добавляют следующие количества щелочи (в см<sup>3</sup>).

pH	NaOH	pH	NaOH	pH	NaOH
1,81	0,0	4,56	30,00	8,69	65,00
1,98	5,0	5,02	35,00	9,15	70,00
2,09	5,5	5,72	40,00	9,62	75,00
2,21	10,00	6,37	45,00	10,98	80,00
2,56	15,00	6,80	50,00	11,20	85,00
3,29	20,00	7,24	55,00	11,58	90,0
4,10	25,00	7,96	60,00	11,82	95,00

Для получения промежуточных значений pH добавляют соответствующее промежуточное количество щелочи.

### **Фосфатно-цитратная буферная смесь Мак-Ильвейна (pH 2,2–8,0)**

Приготовление: 0,2 М раствор Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 12H<sub>2</sub>O и 0,1 М раствор лимонной кислоты смешивают в указанных соотношениях (при расчете на 20 частей).

pH	Растворы		pH	Растворы	
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Лимонная кислота		Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Лимонная кислота
2,2	0,40	19,60	5,2	10,72	9,28
2,4	1,24	18,76	5,4	11,15	8,85
2,6	2,18	17,82	5,6	11,6	8,40
2,8	3,17	16,83	5,8	12,09	7,91
3,0	4,11	15,89	6,0	12,63	7,37
3,2	4,94	15,06	6,2	13,22	6,78
3,4	5,70	14,30	6,4	13,85	6,15
3,6	6,44	13,56	6,6	14,55	5,45
3,8	7,10	12,90	6,8	15,45	4,55
4,0	7,71	12,29	7,0	16,47	3,53
4,2	8,28	11,72	7,2	17,39	2,61
4,4	8,82	11,18	7,4	18,7	1,83
4,6	9,35	10,65	7,6	18,73	1,27
4,8	9,86	10,14	7,8	19,15	0,85
5,0	10,36	9,70	8,0	19,45	0,55



### **Ацетатная буферная смесь (рН 3,65,8)**

Для получения растворов с указанными значениями рН при 18°С смешивают 0,2 М растворы уксуснокислого натрия ( $\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$ ) и уксусной кислоты в следующих соотношениях (при расчете на 10 частей).

рН	0,2 М растворы		рН	0,2 М растворы	
	уксусно-кислого натрия	уксусной кислоты		уксусно-кислого натрия	уксусной кислоты
3,6	0,75	9,25	4,8	5,90	4,10
3,8	1,20	8,80	5,0	7,00	3,00
4,0	1,80	8,20	5,2	7,90	2,10
4,2	2,65	7,35	5,4	8,60	1,40
4,4	3,70	6,30	5,6	9,10	0,90
4,6	4,90	5,10	5,8	9,40	0,60

### **Трис-буфер (рН 7,2–9,1)**

(буферная смесь 0,05 М: трис-оксиметиламинометан –  $\text{HCl}$ ).

Готовят 0,2 М раствор трис-оксиметиламинометана (24,23 г в 1 дм<sup>3</sup> воды) и 0,1 н  $\text{HCl}$ . Для получения соответствующего рН смешивают растворы в нижеприведенных соотношениях и доводят водой до 100 см<sup>3</sup>.

рН		0,2 М трис (см <sup>3</sup> )	0,1 н $\text{HCl}$ (см <sup>3</sup> )	рН		0,2 М трис (см <sup>3</sup> )	0,1 н $\text{HCl}$ (см <sup>3</sup> )
при 23°	при 37°			при 23°	при 37°		
9,10	8,95	25	5,0	8,14	8,00	25	25,0
8,92	8,78	25	7,5	8,05	7,90	25	27,5
8,74	8,60	25	10,0	7,96	7,82	25	30,0
8,62	8,48	25	12,5	7,87	7,73	25	32,5
8,50	8,37	25	15,0	7,77	7,63	25	35,0
8,40	8,27	25	17,5	7,66	7,52	25	37,0
8,32	8,18	25	20,0	7,54	7,40	25	40,0
8,23	8,10	25	222,5	7,36	7,22	25	42,5
—	—	—	—	7,20	7,05	25	45,0

**3.9. Справочные таблицы для работы**  
***Плотность растворов различной концентрации сильных кислот и щелочей при 15°C***

Концентрация, %	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HNO <sub>3</sub>	HCl	KOH	NaOH	NH <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
2	1,013	1,011	1,009	1,016	1,023	0,992	1,010
4	1,027	1,022	1,019	1,033	1,046	0,983	1,022
6	1,040	1,033	1,029	1,048	1,069	0,973	1,033
8	1,055	1,044	1,039	1,065	1,092	0,967	1,045
10	1,069	1,055	1,049	1,082	1,115	0,96	1,056
12	1,083	1,068	1,059	1,100	1,137	0,953	1,067
14	1,098	1,080	1,069	1,118	1,159	0,946	1,079
16	1,112	1,098	1,079	1,137	1,181	0,939	1,091
18	1,127	1,106	1,089	1,156	1,203	0,932	1,103
20	1,143	1,119	1,100	1,176	1,225	0,926	1,119
22	1,158	1,132	1,110	1,196	1,247	0,919	1,129
24	1,174	1,145	1,121	1,217	1,268	0,913	1,143
26	1,190	1,158	1,132	1,240	1,289	0,908	1,156
28	1,205	1,171	1,142	1,263	1,310	0,903	1,170
30	1,224	1,184	1,152	1,286	1,332	0,898	1,188
32	1,238	1,198	1,163	1,310	1,352	0,893	1,204
34	1,255	1,211	1,173	1,334	1,374	0,889	1,219
36	1,273	1,225	1,183	1,358	1,395	0,884	1,233
38	1,290	1,238	1,194	1,384	1,416	—	1,249
40	1,307	1,251	—	1,411	1,437	—	1,265
42	1,324	1,204	—	1,437	1,458	—	1,281
44	1,342	1,277	—	1,460	1,478	—	1,297
46	1,361	1,290	—	1,485	1,499	—	1,314
48	1,380	1,303	—	1,511	1,519	—	1,331
50	1,399	1,316	—	1,538	1,540	—	1,348
56	1,460	1,351	—	1,616	1,601	—	1,402
60	1,503	1,373	—	—	1,643	—	1,439
66	1,571	1,403	—	—	—	—	1,475**
68	1,594	1,405*	—	—	—	—	1,528***
70	1,617	1,413*	—	—	—	—	1,526*
80	1,733	1,452*	—	—	—	—	1,633*
90	1,819	1,483*	—	—	—	—	1,746*

Концентрация, %	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HNO <sub>3</sub>	HCl	KOH	NaOH	NH <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
92	1,830	1,485*	—	—	—	—	1,770*
94	1,837	1,491*	—	—	—	—	1,794*
96	1,840	1,495*	—	—	—	—	1,819*
98	1,841	1,501*	—	—	—	—	1,844*
100	1,838	1,513*	—	—	—	—	1,870*

\*При 20°.

\*\*При 20° и концентрации раствора 65%.

\*\*\*При 20° и концентрации раствора 69, 57%.

**Охлаждающие смеси солей со льдом или снегом и другие охлаждающие смеси**

Вещество	% вещества в смеси со льдом	Температура смеси (°C)	Вещество	Температура смеси (°C)
NH <sub>4</sub> Cl	20	-15,5	Твердая CO <sub>2</sub>	-78,8
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16	-14	Твердая CO <sub>2</sub> с этанолом	от -72 до -115
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	31	-26	Твердая CO <sub>2</sub> с ацетоном	- 80
NaCl	24	-21		
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	55	-40	Жидкий азот	-196
Спирт	50	-24	Жидкий азот с ацетоном	до -150

**Растворы солей для получения температур выше 100°**

Насыщенные растворы солей	NaCl	NaNO <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	CaCl	ZnCl <sub>2</sub>
Температура (°C)	108	120	135	180	350

Сплавы солей, приготовленные из 45%-ного NaNO<sub>3</sub> и 55%-ного KNO<sub>3</sub>, расплавляются при 218°; сухая соль KNO<sub>3</sub> плавится при 337°.

**Вес 1 дм<sup>3</sup> газов при 0° и 760 мм давления**

Газ	Вес (г)	Газ	Вес (г)
Воздух	1,2930	Хлористый водород	1,6392
Азот	1,2505	Окись азота	1,3402
Кислород	1,4289	Аммиак	0,7708
Углекислый газ	1,9767	Ацетилен	1,1791
Водород	0,0899	Сероводород	1,5392
Аргон	1,7809	Сернистый газ	1,4289
Гелий	0,1784	Пропан	2,0196
Хлор	3,2140	Бутан	2,6726

**Плотность ( $\rho$ ) некоторых органических жидкостей при комнатных температурах**

Жидкость	Температура			Жидкость	Температура		
	16°	20°	24°		16°	20°	24°
Этанол	0,797	0,791	0,788	Бензол	0,882	0,879	0,876
Метанол	0,799	0,795	0,792	Хлороформ	1,484	1,476	1,468
Ацетон	0,796	0,792	0,787	Уксусная кислота	1,062	1,058	1,054
Этиловый эфир	0,718	0,713	0,709	Муравьиная кислота	1,225	1,221	1,217

**Соответствие размеров частиц разным единицам измерения**

меш	мм	мкм	меш	мм	мкм
20–50	0,84–0,297	840–297	100–200	0,149–0,074	149–74
50–110	0,297–0,149	297–149	200–400	0,074–0,038	74–38

**Индикаторы, применяемые в аналитической химии и для колориметрического определения pH**

Индикатор	Окраска раствора		pH интервала перехода окраски	Концентрация индикатора, (%)	Растворитель
	в кислой среде	в щелочной среде			
Кристалл фиолетовый	Зеленая	Фиолетовая	0–2	—	Вода
Тропеолин	Красная	Желтая	1,3–3	1,0 и 0,1	Вода
Метиловый желтый (диметил-амидоазобензол)	Красная	Желтая	2,9–4	0,1 и 0,01	Спирт 90°
Метиловый оранжевый	Красная	Оранжево-желтая	3,1–4,4	0,1	Вода
Метиловый красный	Красная	Желтая	4,4–6,2	0,1 и 0,2	Спирт 60°
Бромтимоловый синий	Желтая	Синяя	6–7,5	0,05	Спирт 20°*
Нейтральный красный	Красная	Янтарно-желтая	6,8–8	0,1	Спирт 60°
Крезоловый красный (2-й переход)	Янтарно-желтая	Пурпурно-красная	7,2–8,8	0,1	Спирт 20°**

Фенолфта- леин	Бесцвет- ная	Пурпур- ная	8,2–10	0,1 и 1	Спирт 60°
Тимолфта- леин	Бесцвет- ная	Синяя	9,3–10,5	0,1	Спирт 90°
Ализарино- вый желтый	Желтая	Лиловая	10,1–12,1	0,1	Вода
Тропеолин	Желтая	Оранжево- коричне- вая	11–13	0,1	Вода

\* Добавляют 3,2 см<sup>3</sup> 0,05 н NaOH на 100 мг индикатора.

\*\* Добавляют 5,3 см<sup>3</sup> 0,05 н NaOH на 100 мг индикатора.

### **Некоторые свойства сефадексов типа G**

Сефадекс типа G	Диаметр частиц (мкм)	Количество воды, необ- ходимое для набу- хания 1 г сухого се- фадекса	Общий объем (см <sup>3</sup> /г) сухого сефадекса после на- бухания	Пределы фракциониро- вания (молекулярный вес в тыс.)	
				пептидов и глобуляр- ных протеинов	декстранов
10	40–120	1,0	2–3	Не более 0,7	Не более 0,7
15	40–120	1,5	2,5–3,5	Не более 1,5	Не более 1,5
25 – грубый	100–300	2,5	4–6	1–5	0,1–5
25 – средний	50–150	2,5	4–6	1–5	0,1–5
25 – тонкий	20–80	2,5	4–6	1–5	0,1–5
25 – очень тон- кий	10–40	2,5	4–6	1–5	0,1–5
50 – грубый	100–300	5,0	9–11	1,5–30	0,5–10
50 – средний	50–150	5,0	9–11	1,5–30	0,5–10
50 – тонкий	20–80	5,0	9–11	1,5–30	0,5–10
50 – очень тон- кий	10–40	5,0	9–11	1,5–30	0,5–10
75	40–120	7,5	12–15	3–80	1–50
75 – очень тон- кий	10–40	7,5	12–15	3–70	1–50
100	40–120	10,0	15–20	4–150	1–100
100 – очень тон- кий	10–40	10,0	15–20	4–100	1–100

150	40–120	15,0	20–30	5–300	1–150
150 – очень тонкий	10–40	15,0	18–22	5–150	1–150
200	40–120	20,0	30–40	5–600	1–200
200 – очень тонкий	10–40	20,0	20–25	5–250	1–200

***Соотношение длин волн фильтров фотометров с окраской растворов***

Длина волн (нм)	Пропущенный свет (окраска раствора)	Поглощенный свет (дополнительная краска)
400–435	Фиолетовый	Желто-зеленый
435–480	Синий	Желтый
480–490	Зелено-голубой	Оранжевый
490–500	Сине-зеленый	Красный
500–560	Зеленый	Пурпуровый
560–580	Желто-зеленый	Фиолетовый
580–595	Желтый	Синий
595–610	Оранжевый	Зелено-голубой
610–750	Красный	Сине-зеленый

## Глава 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА

Физико-химические методы используют чаще всего для определения биохимических параметров крови (сыворотки, плазмы, эритроцитов), мочи и биопсии органов. Такие методы предназначены для лечебно-профилактических, санаторно-курортных и судебно-химических лабораторий. Эти лаборатории должны иметь право для исследования биологических материалов, полученных от человека, поэтому используются методики, прошедшие сертификацию. Обратите внимание на особенности описания таких методик.

### 4.1. Методика определения содержания гликогена в тканях

Основная роль углеводов состоит в обеспечении энергией процессов, протекающих в организме. Углеводный обмен является наиболее лабильным, и поэтому при ряде патологических состояний отмечаются выраженные сдвиги со стороны его показателей.

*1. Средства измерений, вспомогательные устройства, посуда, материалы, реактивы*

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, устройства и реактивы:

#### *1.1. Средства измерений*

Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2 МП-УХЛ4.2. ГОСТ 15150-69

Весы лабораторные типа ВЛР-200 г по ГОСТ 24104-88 2-го класса точности

Весы аналитические по ГОСТ 24104-88 3-го класса точности

Цилиндры измерительные по ГОСТ 1770-74 вместимостью 50, 100 см<sup>3</sup>

Колба мерная по ГОСТ 1770-74 вместимостью 100 см<sup>3</sup>

Стаканы стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336-82 вместимостью 50, 100 см<sup>3</sup>

Стаканчики для взвешивания СВ-34/12 по ГОСТ 25336-82

Градуированные пробирки по ГОСТ 1770-74 вместимостью 10 см<sup>3</sup>

Дозатор медицинский лабораторный по ГОСТ 28311-89

Пипетки мерные лабораторные 2-го класса точности по ГОСТ 20292-74 вместимостью 10 см<sup>3</sup>

#### *1.2. Вспомогательные устройства и материалы*

Центрифуга ОПН-8 УХЛ 4.2 ТУ 5.375-4261-76

Баня комбинированная лабораторная БКЛ-М ТУ 4274-002-02077107-94

Холодильник бытовой

Мойка для мытья лабораторной посуды (двухсекционная)  
Дистиллятор  
Флаконы из стеклодрота ФО-10нс-1А-ТЗМС(1) – ТУ 9467-001-44111344-01

Шкаф сушильный с диапазоном температуры от 80° до 200°С  
Вата медицинская хирургическая по ГОСТ 5556-81  
Набор инструментов для отбора пробы тканей (ножницы медицинские, пинцет)

Штативы для пробирок пластмассовые  
Металлический штатив для подогрева пробирок  
Пробирки центрифужные пластиковые  
Фильтровальная бумага  
Палочки стеклянные

### 1.3. Реактивы

Вода очищенная	ФС 42-2619-97
Спирт этиловый 96%	ГФХ ст. 631
Иод кристаллический	ГОСТ 4159-79
Калия иодид	ГОСТ 4232-74
Кальция хлорид (CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O)	ФС 42-2567-00
Аммония хлорид	ГОСТ 3773-72
Калия гидроксид	ГОСТ 24363-80
Гликоген «Sigma»*	Cat. № G 0885

\*В качестве стандарта может быть использован гликоген другой фирмы-производителя сходной квалификации

Квалификация используемых реактивов должна быть х.ч. или ч.д.а.

Допускается применение других средств измерений и оборудования с характеристиками не хуже указанных выше.

### 2. Описание методики

Традиционные методы определения концентрации гликогена основаны на преципитации гликогена этиловым спиртом с последующим гидролизом и измерением концентрации свободной глюкозы. Тем не менее, эти методы нельзя назвать специфическими, поскольку концентрация гликогена определяется расчетным путем по свободной глюкозе, образованной после гидролиза. По сути, в данном случае полученные результаты говорят о суммарном содержании углеводов в тканях.

Метод определения концентрации гликогена по Р. Крисман является специфичным, простым технологически и непродолжительным по времени. Принцип метода основан на окраске молекул гликогена иодом. Для выделения гликогена ткань разрушается кипячением с гидроксидом калия. После осаждения гликогена этиловым спиртом с последующим центрифугированием и нейтрализа-



ции щелочи насыщенным раствором хлорида аммония молекулы гликогена окрашиваются иодом. Растворы гликогена в зависимости от концентрации имеют цвет от желтого до темно-коричневого. Окраска стабильна и не подвержена влиянию температуры. Отсутствует влияние полисахаридов, которые не дают окраску с иодом, но высвобождают редуцирующие сахара при гидролизе. Расчет концентрации гликогена производят по градуировочной кривой.

*3. Описание технологии использования метода с указанием этапов*

### *3.1. Подготовка реактивов*

Настоящая методика регламентирует приготовление растворов иодного реактива, насыщенного раствора кальция хлорида, рабочего иодного реактива, насыщенного раствора хлорида аммония, гидроксида калия и растворов гликогена для построения калибровочной кривой.

На склянках с реактивами должны быть наклеены этикетки с наименованием и концентрацией реактива, датой изготовления, сроком годности и подписью лица, изготовившего реактив.

#### *3.1.1. Приготовление раствора иодного реактива*

На весах в стаканчиках для взвешивания взвешивают 0,26 г кристаллического иода и 2,6 г калия иодида. Соли переносят в градуированную пробирку. Доводят до 10 см<sup>3</sup> водой очищенной и перемешивают. Срок хранения раствора – 90 дней в темном месте.

#### *3.1.2. Приготовление насыщенного раствора кальция хлорида*

В склянку вносят воду очищенную и добавляют хлористый кальций до прекращения растворения. Срок хранения раствора – 180 дней.

#### *3.1.3. Приготовление рабочего иодного реактива*

В химическом стакане смешивают 130 см<sup>3</sup> раствора кальция хлорида с 0,5 см<sup>3</sup> иодного реактива. Объемы реактивов могут быть изменены в зависимости от потребности. Срок хранения – 7 дней в емкости из темного стекла в холодильнике.

#### *3.1.4. Приготовление насыщенного раствора хлорида аммония*

В склянку вносят воду очищенную и добавляют хлористый аммоний до прекращения растворения. Срок хранения раствора – 180 дней.

#### *3.1.5. Приготовление раствора гидроксида калия, 330 г/дм<sup>3</sup>.*

В химическом стакане взвешивают 33 г гидроксида калия, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, доводят очищенной водой до метки и перемешивают. Срок хранения раствора – 60 дней.

#### *3.2.6. Приготовление растворов гликогена для построения*

*градуировочной кривой*

На аналитических весах взвешивают 10 мг гликогена, количественно переносят во флакон из стеклодрота и растворяют в 5,0 см<sup>3</sup> воды очищенной (раствор 1, концентрация 2 мг/см<sup>3</sup>). Для лучшего растворения гликогена флакон помещают в водяную баню при температуре 37°C.

К 1,0 см<sup>3</sup> раствора 1 добавляют 9,0 см<sup>3</sup> воды очищенной и раствор перемешивают стеклянной палочкой (раствор 2, концентрация 0,2 мг/см<sup>3</sup>).

Для приготовления градуировочных растворов дозатором медицинским переносят указанные в таблице объемы растворов 1 и 2 гликогена и воды очищенной в химические пробирки.

№ пробирки	Раствор гликогена	Объем раствора гликогена, см <sup>3</sup>	Объем воды очищенной, см <sup>3</sup>	Содержание гликогена в пробе, мг	Концентрация гликогена, мг/см <sup>3</sup>
1	1	0,20	0,20	0,4	1
2	1	0,15	0,25	0,3	0,75
3	1	0,10	0,30	0,2	0,50
4	1	0,05	0,35	0,1	0,25
5	2	0,40	–	0,08	0,20
6	2	0,30	0,10	0,06	0,15
7	2	0,20	0,20	0,04	0,10
8	2	0,15	0,25	0,03	0,075
9	2	0,10	0,30	0,02	0,05
10	2	0,05	0,35	0,01	0,025

Градуировочные растворы готовятся непосредственно перед построением градуировочной кривой.

### 3.2. Подготовка оборудования

3.2.1. Включают колориметр фотоэлектрический концентрационный и подготавливают его к работе в соответствии с техническим описанием и инструкцией по эксплуатации.

### 3.3. Выполнение исследования

3.3.1. Кусочки ткани печени, скелетной мышцы и сердечной мышцы освобождают от соединительной и жировой ткани.

3.3.2. В пластиковые центрифужные пробирки (по 2 параллельные пробы) вносят по 100 мг исследуемой ткани и добавляют 0,9 см<sup>3</sup> раствора гидроксида калия 330 г/дм<sup>3</sup>.

3.3.3. Пробирки помещают в металлический штатив и нагревают в течение 20 минут при 100°C в водяной бане до полного растворения ткани.

3.3.4. Пробирки охлаждают под проточной водой.

3.3.5. В пробирки добавляют по 1,3 см<sup>3</sup> 96% этилового спирта и перемешивают.

3.3.6. Пробирки помещают в водяную баню, доводят до начала кипения и быстро охлаждают под проточной водой для преципитации гликогена. На этом этапе пробирки можно оставить в бытовом холодильнике на 18–24 часа.

3.3.7. После охлаждения пробирки центрифугируют 15 минут при 3000 об/мин.

3.3.8. Надосадочную жидкость сливают и пробирки высушивают переворачиванием на фильтровальную бумагу.

3.3.9. Для нейтрализации избытка щелочи в пробирки добавляют 0,2 см<sup>3</sup> насыщенного раствора хлорида аммония и осадок аккуратно перемешивают стеклянной палочкой.

3.3.10. Пробирки нагревают в течение 5 минут в водяной бане при 100°C и охлаждают под проточной водой.

3.3.11. В пробирки добавляют 0,2 см<sup>3</sup> воды очищенной и 2,6 см<sup>3</sup> рабочего иодного реактива.

3.3.12. Для приготовления контрольной пробы смешивают 0,2 см<sup>3</sup> хлористого аммония, 0,2 см<sup>3</sup> воды очищенной и 2,6 см<sup>3</sup> рабочего иодного реактива.

3.3.13. Оптическую плотность измеряют на колориметре фотоэлектрическом концентрационном КФК-2 МП в кювете толщиной 5 мм при длине волны 440–490 нм против контрольной пробы. Окраска стабильна в течение 1 часа.

#### *3.4. Построение градуировочной кривой*

К приготовленным градуировочным растворам добавляют 2,6 см<sup>3</sup> рабочего иодного реактива. Оптическую плотность измеряют на колориметре фотоэлектрическом концентрационном КФК-2 МП в кювете толщиной 5 мм при длине волны 440–490 нм против контрольной пробы, которая готовится смешиванием 0,4 см<sup>3</sup> воды очищенной и 2,6 см<sup>3</sup> рабочего иодного реактива. Если оптическая плотность анализируемой пробы выше 0,7, то раствор разводят и расчет производят, учитывая разведение.

Для каждой концентрации гликогена делают 3–5 фотометрических измерений. Градуировочную кривую строят, откладывая на оси абсцисс (горизонтальной) содержание гликогена в мг; на оси ординат (вертикальной) – усредненные (соответствующие отдельным концентрациям) величины оптической плотности. Градуировочная кривая линейная и проходит через начало координат.

#### *3.5. Расчет концентрации гликогена*

Концентрацию гликогена рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{E}{F} \times 1000 \times k \text{ (мг/100 г ткани),}$$

где E – оптическая плотность анализируемой пробы, F – фактор, который рассчитывается как тангенс угла наклона градуировоч-

ной кривой, 1000 – коэффициент для пересчета в мг/100 г ткани, k – коэффициент разведения пробы.

### *3.6. Проверка градуировочной кривой*

Проверка градуировочной кривой проводится не менее 2 раз в год. Для этого к 0,4 см<sup>3</sup> стандартных растворов, содержащих 0,08 и 0,3 мг гликогена, добавляют 2,6 см<sup>3</sup> рабочего иодного реактива и определяют оптическую плотность 10 параллельных проб. Рассчитывают средние значения оптических плотностей. Используя уравнение кривой, находят концентрацию гликогена в пробе. Градуировочная кривая считается точной, если разность измеренного и истинного значений содержаний гликогена не превышает 15%.

При переходе на реактивы иной серии (квалификации), изменении юстировки лампы, замене каких-либо деталей в приборе необходимо проверить градуировочную кривую.

### *3.7. Контроль качества определения гликогена*

Контроль качества проводится методом стандартных добавок.

3.7.1. Кусочки ткани скелетной (или сердечной) мышцы освобождают от соединительной и жировой ткани.

3.7.2. В пластиковые центрифужные пробирки (по 2 параллельные пробы) вносят 200 мг исследуемой ткани и добавляют 1,8 см<sup>3</sup> раствора гидроксида калия 330 г/дм<sup>3</sup>.

3.7.3. Пробирки помещают в металлический штатив и нагревают в течение 20 минут при 100°C в водяной бане до полного растворения ткани.

3.7.4. Пробирки охлаждают под проточной водой.

3.7.5. В 2 чистые пластиковые центрифужные пробирки отбирают по 1,0 см<sup>3</sup> полученного гидролизата ткани.

3.7.6. В одну пробирку добавляют 0,4 см<sup>3</sup> раствора, содержащего 0,08 мг гликогена (опыт), в другую пробирку – 0,4 см<sup>3</sup> воды очищенной (контроль).

3.7.7. В пробирки добавляют по 1,3 см<sup>3</sup> 96% этилового спирта и перемешивают.

3.7.8. Далее выполняют п.п. 3.3.6–3.3.13.

3.7.9. По оптической плотности с использованием уравнения калибровочной кривой рассчитывают содержание гликогена в исследуемых пробах.

3.7.10. По разности содержания гликогена в опытной и контрольной пробе определяют, какое количество гликогена добавлено в опытную пробирку.

3.7.11. Разность измеренного и истинного значения содержания гликогена не должна превышать 40%.

3.8. *Преимущества метода:* 1) прямое измерение концентрации гликогена без разрушения его структуры; 2) сокращение времени исследования по сравнению с традиционными методами

(исследование выполняется в течение 2–2,5 ч); 3) позволяет проводить исследование при наличии минимального количества объекта исследования (100 мг).

#### **4.2. Количественное определение белка по Лоури**

Из количественных методов определения белков наиболее широкое применение в биохимической практике получил метод Лоури. Он является наиболее чувствительным и точным из всех существующих методов количественного определения белков, который позволяет определять 10–100 мкг белка в образце. Данный метод основан на измерении интенсивности окраски раствора белка и сочетает в себе биуретовую реакцию на пептидные связи и реакцию Фолина на ароматические аминокислоты (тирозин и триптофан). Благодаря высокой чувствительности метод Лоури позволяет вести определение белков в сильно разбавленных растворах биологических жидкостей (сыворотка крови, слюна, гемолимфа) и экстрактах органов и тканей. Этот метод также широко применяется для учета белков в элюатах колонок при фракционировании на ионообменных смолах, сефадексах, электрофорезе в полиакриламидных гелях (ПААГ).

##### **Оборудование:**

1. Электрофотокориметр (ФЭК-М) любого типа или спектрофотометр.
2. Центрифуга.
3. Воронки.
4. Фильтровальная бумага.
5. Центрифужные пробирки на 10 мл.
6. Штативы с химическими пробирками.
7. Пипетки на 1, 2 и 5 мл.
8. Автоматические микропипетки на 0,05; 0,1; 0,2 мл.

##### **Реактивы:**

1. Раствор А:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – 2% раствор в 0,1 н растворе  $\text{NaOH}$ .
2.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 1% раствор.
3. Натрий лимонно-кислый (цитрат натрия) – 2% раствор.
4. Раствор В (готовится перед определением): смесь равных объемов 1%  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  и 2% раствора цитрата натрия.
5. Раствор С: смесь 50 мл раствора А и 1 мл раствора В (объемы выдерживают точно!). Раствор готовится перед началом работы.
6. Раствор Е, или реактив Фолина. Готовится следующим образом: в круглодонную колбу на 0,5 л наливают 350 мл дистиллированной воды. Добавляют 50 г вольфрамата натрия ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 12,5 г молибдата натрия ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) и перемешивают до полного растворения. К полученному раствору приливают 25 мл 85%-ного раствора фосфорной кисло-

ты и 50 мл концентрированной HCl. Полученную смесь кипятят с обратным холодильником 10 часов. Затем добавляют 75 г  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ , 25 мл дистиллированной воды и 3 капли брома. Кипятят, но уже без холодильника, в течение 15 мин. Охлаждают до комнатной температуры и доводят до 500 мл дистиллированной водой. Перемешивают, фильтруют. Из фильтрата отбирают 1 мл, разводят в 10 раз дистиллированной водой и титруют 0,1 н NaOH по фенолфталеину. Перед определением реактив разбавляют дистиллированной водой (1:1).

7. Стандартный раствор кристаллического сывороточного альбумина, содержащий 0,25 мг белка в 1 мл (25 мг белка, растворенного в 100 мл 0,1 н раствора NaOH).
8. NaOH – 1 н раствор.
9.  $\text{CCl}_3 - \text{COOH}$  (ТХУ) – 6% раствор.
10. Ацетон.
11. Материал исследования: сыворотка крови, гемолимфа, слюна, экстракты растворимых белков из органов и тканей (мышцы, печень, селезенка, почки, легкие и др.).

*Экстракты растворимых белков* из органов и тканей готовятся следующим образом. Навеску ткани около 100 мг гомогенизируют в стеклянном гомогенизаторе или растирают в фарфоровой ступке со стеклянным песком с небольшим количеством дистиллированной воды (около 1 мл). Затем добавляют 9 мл воды с тем расчетом, чтобы общий объем гомогената составлял 10 мл. Через 5 минут гомогенат фильтруют или центрифугируют в течение 10–15 мин в центрифуге при 5–6 тыс. об/мин. Фильтрат или центрифугат используется для определения количества белка.

При экстрагировании белков из органов и тканей иногда целесообразно провести предварительное их осаждение с последующим растворением в щелочных растворах. В этом случае можно рекомендовать следующую методику. К исследуемому фильтрату или центрифугату добавляют равный объем 6%-ного раствора ТХУ. Избыток ТХУ можно дополнительно удалить ацетоном. Осадок белка растворяют при подогревании 1–2 мл 1 н NaOH. Щелочной раствор белка растворяют 10-кратным объемом дистиллированной воды, перемешивают и используют для количественного определения белка.

#### **Ход работы:**

В центрифужные пробирки помещают по 0,05–0,1 мл исследуемого раствора белка (в 3–5-кратной повторности каждого образца), содержащего 10–100 мкг белка и доводят объем до 1 мл раствором 0,1 н NaOH. Затем приливают 2 мл рабочего раствора С (смесь растворов А и В), хорошо перемешивают и оставляют

на 10 мин при комнатной температуре. Далее добавляют 0,2 мл реактива Е (реактив Фолина) и немедленно тщательно перемешивают, оставляя затем на 30 мин для развития окраски, после чего измеряют оптическую плотность (А) образцов на фотоколориметре или спектрофотометре в кюветах толщиной слоя в 0,5 см при длине волны 750 нм, против «слепой» пробы, не содержащей белка. По данным оптической плотности с помощью калибровочного графика, построенного заранее по стандартному раствору сывороточного альбумина, определяют содержание белка в пробе.

#### **Построение калибровочного графика**

Построение калибровочной кривой проводят в одинаковых условиях, используя тот же электрофотоколориметр, ту же пару кювет, те же соотношения реактивов.

В шесть химически чистых пробирок помещают с помощью микропипетки соответственно (в 3-кратной повторности) 0,04; 0,08; 0,16; 0,24; 0,32 и 0,4 мл стандартного раствора сывороточного альбумина, содержащего 0,25 мг белка в 1 мл. Доводят объем каждой пробирки до 1 мл дистиллированной водой. Дальнейшую обработку ведут так же, как и исследуемых образцов. При выполнении последовательности подготовки стандартных растворов и результатов измерения их оптической плотности удобно пользоваться схемой, указанной в табл. 4.1.

Таблица 4.1

#### **Построение калибровочной кривой**

№	Объем станд. раствора белка	Объем H <sub>2</sub> O	Объем реактива С	Объем реактива Е (Фолина)	Общий объем раствора	Концентрация белка в пробе	Значение оптической плотности (А)			
							A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	Аср.
1	0,04	0,96	2	0,2	3,2	0,01	0,04	0,03	0,04	0,036
2	0,08	0,92	2	0,2	3,2	0,02	0,07	0,065	0,07	0,068
3	0,16	0,84	2	0,2	3,2	0,04	0,125	0,110	0,125	0,117
4	0,24	0,76	2	0,2	3,2	0,06	0,180	0,170	0,170	0,173
5	0,32	0,68	2	0,2	3,2	0,08	0,230	0,232	0,220	0,227
6	0,40	0,60	2	0,2	3,2	0,10	0,265	0,270	0,280	0,271

По данным статистической плотности (А) и концентрации белка строят график – калибровочную кривую (рис. 4.1). Величины оптической плотности откладывают на оси ординат, а концентрацию белка в мкг – на оси абсцисс. По калибровочной кривой находят содержание белка в исследуемой пробе и делают соответствующий перерасчет. В случае биологических жидкостей (сыворотка крови, гемолимфа и др.) концентрацию белка выра-

жают в г/л; а в случае органов или тканей – в г/кг, или другую размерность, например, в г или мг на 100 г.

### Калибровочная кривая

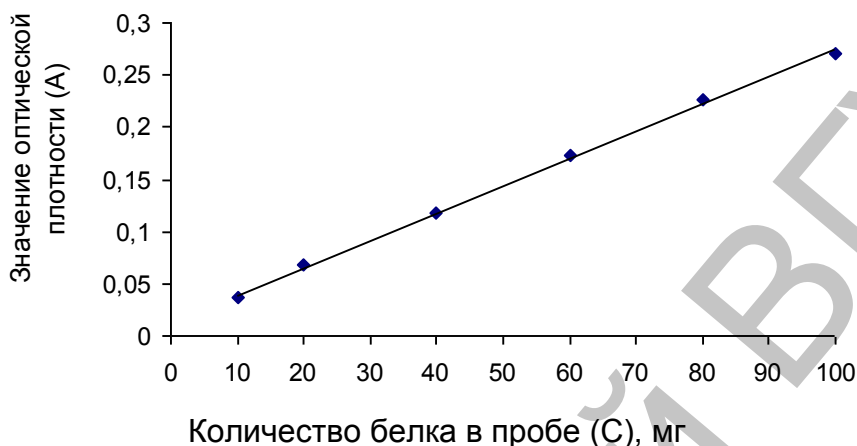


Рис. 4.1. Калибровочная кривая.

Примечание: вещества, мешающие проведению работы: глицин при концентрации 0,5% уменьшает интенсивность окраски примерно на 50%. Если определение вести в присутствии 0,1 М фосфатного буфера, то наблюдается образование осадка.

Вещества, не влияющие на интенсивность окраски в конечной концентрации: мочеви́на – 0,5%, гуанидин – 0,5%, вольфра́мат натрия – 0,5%, сульфат натрия – 1%, хлорная кислота нейтрализованная – 0,5%, ТХУ нейтрализованная – 0,5%, сульфат цинка – 0,1%, сульфат аммония – 0,15%.

#### 4.3. Определение концентрации белка по Брэ́дфорду

Раствор для определения: 100 мг кумасси синего G-250 растворяют в 50 мл 95% этанола и 100 мл 85% (вес на объем) фосфорной кислоты, затем доводят до 1 л дистиллированной водой. Раствор оставляют на ночь и затем фильтруют.

Для каждого определения используют компоненты в следующем соотношении: образец – 100 мкл, дистиллированная вода – 1 мл, раствор для определения – 1 мл. Определяют поглощение пробы при 595 нм. Строят калибровочную кривую, используя бычий сывороточный альбумин в концентрации от 0 до 100 мкг.

#### 4.4. Спектрофотометрический метод определения белка

Метод основан на способности ароматических аминокислот поглощать УФ свет с максимумом при 280 нм. Измеряя величину оптической плотности при этой длине волны, находят количество белка в растворе. Условно считают, что при концентрации «усредненного» белка в растворе, равной 1 мг/мл, величина оптической плотности равна 1,0 (при толщине слоя жидкости 1 см). Оп-



ределению белка данным способом мешает присутствие нуклеиновых кислот и нуклеотидов. Измеряют оптическую плотность при 260 нм (для учета поглощения соединений нуклеотидной природы) и 280 нм и рассчитывают содержание белка по формуле:

*Содержание белка (мг / мл) = 1,45 · A<sub>280</sub> – 0,74 · A<sub>260</sub>*, где A – это оптическая плотность раствора при соответствующей длине волны.

#### **4.5. Препаративный метод выделения ядерных гистонов**

**Характеристика гистонов.** Гистоны – одна из групп хромосомных белков. Хромосомы состоят из хроматина, который содержит около 40% ДНК, 40% гистонов, 20% негистоновых белков и немного РНК. Основную массу хроматина клеточного ядра эукариот составляют дезоксирибонуклеопротеиновые комплексы (ДНП), имеющие непосредственное отношение к биосинтезу белков, процессам роста, размножения и регуляции.

Гистоновые белки хорошо растворимы в разбавленных растворах кислот. Изоэлектрическая точка их лежит в области рН 10,5–12,0, что указывает на их основные (щелочные) свойства. Основной характер гистонов обусловлен высоким содержанием диаминомонокрбонных кислот. Содержание лизина и аргинина в некоторых фракциях составляет до 30 мол%. Белковая молекула гистонов представлена одной полипептидной цепочкой. Молекулярная масса не высока – от 11000 до 21000 дальтон. По своему составу гистоны представляют неоднородную группу белков. Их гетерогенность легко выявляется при химическом, хроматографическом и электрофоретическом фракционировании. Так, методом электрофореза в крахмальном и полиакриламидном гелях суммарные препараты гистонов можно разделить на 20–30 компонентов. Однако, как считает большинство исследователей, в ядрах клеток высших организмов имеется всего пять основных фракций гистонов, характеризующихся определенным аминокислотным составом, концевыми аминокислотами, молекулярной массой электрофоретической подвижностью и, вероятно, обладающих различными биологическими функциями. Общепринятое обозначение этих фракций: Н1 – богатые лизином; Н3 – богатые аргинином; Н2А + Н2В – умеренно богатые лизином; Н4 – богатые лизином и аргинином.

**Оборудование.** Микроизмельчитель тканей; фарфоровая ступка или гомогенизатор типа Уорринга; центрифуга; магнитная мешалка; водоструйный насос; вакуумный эксикатор; мерные стаканы на 100–150 мл; пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл; капроновое сито, марля; целлофановые мешочки для диализа; ткани и органы животных, богатые ядерным веществом (зобная железа, селезенка).

**Реактивы.** Буферный раствор А: содержит NaCl (0,14 М подкисленный до pH 5,8; CaCl<sub>2</sub> (0,0018 М); октанол (0,1%). Буферный раствор В: содержит NaCl (0,14 М); CaCl<sub>2</sub> (0,0018М); тритон X-100 (0,2%); 1,5 М NaCl; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,001 н и 0,25 н); HCl (0,1 н и 0,25 н); HClO<sub>4</sub> (0,74 н и 5%); ТХУ; абсолютный этанол; этанол (80% и 96%).

#### **Методика выделения тотальных (суммарных) препаратов гистонов**

Из тканей с высоким содержанием ядер, таких, как зубная железа и селезенка, тотальный препарат гистонов можно получить без предварительного выделения ядер. Для других тканей требуется предварительно выделить ядра. Наиболее подходящим для этой цели является метод Шово и сотр. В основе способа выделения тотальных препаратов гистонов из зубной железы и селезенки лежит метод Батлера. Ниже дается описание этого метода с некоторыми изменениями. Все операции по выделению проводятся на холоду при температуре +2 – +4°C. Основные этапы выделения показаны на схеме (рис. 4.2).

Взятые от животных ткани зубной железы и селезенки освобождали от оболочек и измельчали ножницами, затем гомогенизировали с 5-кратным объемом буферного раствора А. Гомогенизацию вначале проводили в микроизмельчителе тканей типа РТ-2 (30 сек), а затем в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. Полученный гомогенат фильтровали через капроновое сито или через 4–5 слоев марли. Фильтрат центрифугировали в рефрижераторной центрифуге при 3500 g в течение 20 мин. После центрифугирования надосадочную жидкость отбрасывали, а осадок многократно (5–6 раз) промывали 10 объемами буферного раствора В. Суммарный препарат гистона можно извлечь из осадка 0,25 н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или HCl. Однако на этой стадии извлечения гистоны могут быть загрязнены ядерными белками негистонового характера. Для того, чтобы исключить возможность загрязнения, рекомендуется выделять гистоновые белки из ДНП. ДНП из отмытого осадка извлекали 6-кратным объемом 1,5 М NaCl осторожной гомогенизацией в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком.

Вязкий раствор центрифугировали при 10 000–12000 g, 20 мин, надосадочную жидкость, содержащую ДНП, собирали. Для полноты извлечения ДНП обработку осадка 1,5 М NaCl проводили 5–6 раз до получения прозрачной надосадочной жидкости. ДНП из объединенных надосадочных жидкостей осаждали 6-кратным объемом бидистиллированной воды. Образующиеся нити наматывали на стеклянную палочку или осаждали центри-

фугированием. ДНП промывали 0,14 М NaCl и экстрагировали из него гистоны 10 объемами 0,25 н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или HCl. Экстракцию проводили в стеклянном гомогенизаторе с притертыми стенками и пестиком, растирая ДНП до тонкой суспензии. Суспензию оставляли на один час и центрифугировали при 6000 g в течение 20 мин. Супернатант собирали, а осадок обрабатывали кислотой аналогичным образом еще раз, но кислоту брали в объеме 1/2 от первоначального.

Полученные супернатанты от 1-й и 2-й обработки объединяли и ставили на 24 часа на диализ в целлофановых мешочках против 0,001 н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или HCl. После диализа раствор просветляли центрифугированием при 10000–12000 g, 30 мин. Из центрифугата гистоны осаждали 6 объемами охлажденного до –8–10°С ацетона в течение 18–20 часов. Выпавший осадок гистонов собирали центрифугированием, промывали 3 раза холодным ацетоном и высушивали под вакуумом. Полученный этим способом суммарный препарат гистонов представляет собой белый порошок, хорошо растворимый в воде. Выход из зубной железы – 1,8–2 г, а из селезенки около 1 г из 100 г сырой ткани.

#### **Методика выделения гистоновых фракций**

Существуют несколько методов фракционирования гистоновых белков: дифференциальной экстракции, фракционного осаждения, колоночной хроматографии, электрофореза в крахмальном или полиакриламидном гелях. Наиболее распространенным из них является метод химической экстракции спиртом и кислотами, разработанный Джонсом применительно к цельной ткани зубной железы. Метод позволяет получать четыре фракции: H1, H3, H2A, H2B. Боннер и сотр. успешно применили этот метод для выделения гистоновых фракций из неочищенного хроматина или нуклеогистона (ДНП) [2].

Ниже дается химический метод препаративного выделения основных гистоновых фракций (H1, H3, H2A и H2B), представляющий комбинацию методов Джонса и Боннера с внесенными нами изменениями. Предлагаемый метод позволяет выделять гистоновые фракции непосредственно из цельной ткани, предварительно выделенных ядер или из ДНП зубной железы и селезенки. Начальные этапы обработки тканей тимуса и селезенки до стадии получения из них ДНП аналогичны этапам выделения из этих органов суммарных препаратов гистонов. В дальнейшем последовательность операций по извлечению индивидуальных фракций проводится по единой схеме.

	Гомогенат	Центрифугирование (3500 g, 20 мин)
Центрифугат (отброс.)	Осадок	5-кратное промывание буферной смесью В
	Отмытый материал	Обработка 1,5 М NaCl центрифугирование (10000–12000 g, 20 мин)
Осадок (отброс.)	ДНП	Осаждение 6 объемами бидистиллированной H <sub>2</sub> O
	Осадок (ДНК + гистон)	2-кратная экстракция 0,25 н H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; центрифуги- рование (6000 g, 20 мин)
Осадок (отброс.)	Супернатант I	Диализ против 0,001 н H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; просветление центрифугированием (10000–12000 g; 30 мин)
	Супернатант II	Осаждение 6 объемами ацетона при -8–10°C в те- чение 18–20 ч
	Гистон (сырой осадок)	Высушивание под вакуу- мом
	Тотальный препарат гистона	

**Рис. 4.2. Схема выделения суммарных гистонов из биологического материала.**

Все операции проводились при пониженной температуре не выше +4°C. Отмытые 0,14 М NaCl осадки тканей тимуса, селезенки, ядер или ДНП из этих органов гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе (0,74 н) HClO<sub>4</sub>. Отношение кислоты должно составлять 1 мл на 5 мг суммарного гистона. Гомогенат перемешивали в течение 1 часа на магнитной мешалке, а затем центрифугировали 30 мин при 1500 g. Надосадочную жидкость, содержащую HI фракцию, собирали, а осадок обрабатывали аналогичным образом еще 2 раза 0,74 н HClO<sub>4</sub> в объеме, равном 1/2 от первоначального. Объединенные супернатанты просветляли центрифугированием при 10000 g 30 мин. К прозрачному центрифуги-

гату добавляли ТХУ до конечной концентрации 18–20% и оставляли на 24 часа. В осадок выпадают лизин – богатые гистоны (Н1). Белок отделяли центрифугированием, осадок промывали смесью: ацетон – HCl (200 мл ацетона + 0,1 мл концентрированной HCl). На каждые 2,5 мг суммарного гистона берут 1 мл смеси. Далее белок промывали 3 раза ацетоном и высушивали под вакуумом.

Осадок, оставшийся после экстракции фракции Н1 0,74 н HClO<sub>4</sub>, суспензировали в 96% этаноле (2 мл на 5 мг суммарного гистона), перемешивали и оставляли на ночь. Суспензию центрифугировали при 5000 g в течение 15 минут. Надосадочную жидкость (супернатант), содержащую фракции Н3 и Н2А, сливали и сохраняли. Осадок дважды обрабатывали при помешивании в течение 5 минут 80% этанолом (2 мл на 5 мг гистона) и центрифугировали. Супернатант объединяли с супернатантом, полученным при обработке осадка 96% этанолом, просветляли центрифугированием в течение 30 минут при 15000 g. Фракцию Н2А отделяли от аргининбогатой фракции Н3 путем 2-кратного диализа против абсолютного этанола. Первый диализ проводили 18 часов, второй – 4 часа. Объем этанола в первом случае составлял 6 мл на 2,5 мг гистона, а во втором в 2 раза меньше. Выпавшую в осадок фракцию Н3 отделяли центрифугированием, промывали 3 раза ацетоном и высушивали под вакуумом. Супернатант, оставшийся после осаждения фракции Н3, содержит фракцию Н2А, которую осаждали добавлением 3-х объемов ацетона, подкисленного концентрированной HCl (0,1 мл HCl на 200 мл ацетона). Выпавший осадок Н2А гистоновой фракции промывали 3 объемами ацетона и высушивали под вакуумом.

Осадок, оставшийся после извлечения фракций Н3 и Н2А, содержит фракцию Н2В. Ее извлекали гомогенизированием осадка 0,25 н HCl в стеклянном гомогенизаторе с притертыми стенками. Количество кислоты составляет 1 мл на 5 мг суммарного гистона. Гомогенат центрифугировали при 5000 g в течение 15 минут. Осадок еще 2 раза обрабатывали 0,25 н HCl аналогичным образом. Надосадочные жидкости после каждой обработки собирали и объединяли, а затем просветляли центрифугированием при 15000 g в течение 30 минут. Из просветленного центрифугата Н2В гистоновую фракцию осаждали 5 объемами ацетона. Выпавший в осадок белок промывали 3 раза ацетоном и высушивали под вакуумом. Выделенные таким способом индивидуальные фракции гистонов могут быть использованы для изучения их физико-химических характеристик, гетерогенности, аминокислотного состава, а также для исследования специфичности их связывания с ДНК в опытах по реконструированию нуклеогистоновых комплексов и т.д.

## **Фракционирование гистонов методом электрофореза в полиакриламидном геле**

Из современных методов фракционирования биополимеров, в том числе и белков, наиболее широко используется метод электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ). Преимуществами его в сравнении с другими методами являются высокая разрешающая способность и хорошая воспроизводимость результатов. Ниже дается описание 2-х вариантов аналитического и препаративного метода фракционирования гистонов в системе 15% ПААГ в 6,25 М растворе мочевины (рН 3,2).

**Оборудование.** Прибор для вертикального электрофореза, источник электрического тока модели ЭФА-1 или иного типа, стеклянные трубки для гелей длиной 120 мм с внутренним диаметром 10–12 мм, центрифуга, стеклянный гомогенизатор, пипетки обыкновенные на 1, 2, 5, 10 мл, автоматические микропипетки на 100–200 мкл, лейкопластырь или резиновые колпачки от глазных пипеток, специальный штатив для стеклянных трубок.

### **Реактивы:**

1. 60% акриламид и 0,4% N, N – бисакриламид.
2. 2% ТЕМЕД (N, N, N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> – тетраметилэтилендиамин) в 43,2% ледяной уксусной кислоте.
3. 0,2% персульфат аммония (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> в 10 М растворе мочевины.
4. Электродный буфер – 0,9 н уксусная кислота, рН 2,35.
5. Краситель – 0,1% амидовочерный 10 Б в смеси 20% этанола и 7% уксусной кислоты.
6. Раствор для отмывания гелей – 7% уксусная кислота.
7. Раствор для элюции окрашенных белковых зон при аналитическом электрофорезе – 50% диметилформамид в 1 н NaOH.
8. Раствор для элюции белковых фракций при препаративном электрофорезе – 1% додецилсульфат в 0,1 н NaOH (SDS-Na).
9. Сахароза – 40% раствор.

Приборы для электрофореза в ПААГ могут быть самых разнообразных типов. В продажу они поступают обычно в комплекте с набором соответствующих химических реактивов и блоком питания постоянного тока (выпрямитель). В практике широко используются и самодельные приборы, их нетрудно изготовить в лабораторных условиях. Такой прибор нами сконструирован из органического стекла и на протяжении ряда лет успешно используется в учебных и научно-исследовательских целях. Прибор состоит из верхнего и нижнего цилиндрических электродных сосудов для буферного раствора и крышки. Размеры – высота 90 мм, диаметр верхнего сосуда 125 мм, нижнего 130 мм. На дне верхнего

сосуда по окружности на равных расстояниях друг от друга и от центра высверлено 10 отверстий диаметром 15 мм для размещения стеклянных трубок с гелем. В центре дна нижнего сосуда вмонтирован электрод из платиновой проволоки, который имеет выход к источнику блока питания. Такой же электрод вмонтирован в крышку верхнего сосуда, с выходом к источнику питания. В качестве источника питания нами используется выпрямитель типа ЭФА-1. Трубки для гелей нарезаны из стеклянного дрота соответствующего размера, концы трубок тщательно отшлифованы.

### **Приготовление ПААГ и проведение электрофореза**

Полимеризующий гель готовится смешением двух частей раствора 1, одной части раствора 2 и пяти частей раствора 3. Смесь аэрируют под водоструйным насосом для удаления воздуха, а затем быстро, но аккуратно разливают в подготовленные заранее стеклянные трубки. Трубки предварительно должны быть тщательно вымыты и высушены. До внесения в них смеси для полимеризации геля одно из отверстий заклеивается кусочком лейкопластыря, заклеенный конец трубки смачивают расплавленным парафином на глубину 2–3 мм. Вместо лейкопластыря для этой цели можно использовать резиновые колпачки от глазных пипеток. На трубках наносят метки на расстоянии 10–12 мм от верхнего не заклеенного конца и строго вертикально размещают в специальном штативе. Залив в трубки смесь полимеризующего геля до отметки, с помощью пипетки с тонко оттянутым концом на поверхность геля осторожно наслаивают воду или бутиловый спирт слоем 5–10 мм. Эта операция делается для того, чтобы исключить контакт геля с кислородом воздуха, препятствующего полимеризации, и для образования ровной поверхности геля. Полимеризация длится 1,5–2 часа при дневном освещении. Конец ее можно определить по слабому нагреванию трубок, а также по четко видимой границе раздела между гелем и наслоенной жидкостью. По окончании полимеризации наслоенную жидкость с гелем удаляют встряхиванием, а остатки кусочками фильтровальной бумаги, с помощью скальпеля с донца трубок снимают также кусочки лейкопластыря. Растворы белков, подлежащих фракционированию, готовят на 20% сахарозе в 0,9 н уксусной кислоте. В зависимости от целей фракционирования концентрация и объем растворов гистонов могут быть различными.

### **Аналитический электрофорез**

После подготовки стеклянных трубок с гелем последующие операции проводят в такой последовательности. Заполняют нижний сосуд прибора электродным буфером (0,9 н уксусная кислота рН 2,35 в объеме 600–700 мл). Стеклянные трубки с гелем закреп-

пляют через пробки в отверстиях верхнего электродного сосуда и соединяют с нижней камерой. С помощью автоматической микропипетки в трубки на поверхность гелей вносят растворы анализируемых образцов суммарных гистонов в концентрации не более 500 мкг/гель в объеме 100 мкл. Оставшееся пространство в трубках заполняют электродным буфером, не допуская перемешивания с нанесенным раствором белка. Заполняют электродным буфером верхний сосуд прибора так, чтобы уровень буфера на 2–3 см был выше верхнего конца гелиевых трубок. Для контроля за ходом электрофореза в буфер верхнего сосуда вносят 0,5 мл 0,001% раствора красителя – метилового зеленого. Закрыв верхний сосуд крышкой и соблюдая полярность, подключают прибор к соответствующим клеммам выпрямителя, а через него к сети переменного тока напряжением 220 V. Независимо от рН геля и буферного раствора при электрофорезе белки должны двигаться сверху вниз. При электрофорезе гистонов в данном случае электрод нижней камеры должен быть присоединен к отрицательному полюсу выпрямителя. Электрофорез длится 17 часов при силе тока 5,5 мА/гель и напряжением 60 V. К концу электрофореза сила тока обычно снижается до 2,2 мА/гель, а напряжение до 40 V.

По окончании электрофореза прибор отключают от источника тока; трубки с гелем вынимают из отверстий верхней камеры. Гели из трубок извлекают тонкой стальной проволокой осторожно, чтобы не повредить гель круговыми движениями, проталкивая ее между гелем и стенкой трубки.

Гели помещают в раствор амидово-черного красителя 10Б на 1 ч при 80<sup>0</sup>С. Окрашивание проводят или в больших пробирках или в специальной ванночке. После окрашивания гели промывают водой и помещают в дифференциатор 7% уксусную кислоту для отмывки красителя, не связавшегося с белками. Эту операцию проводят 1–2 суток с многократной сменой отмывающего раствора.

Гистоновые фракции могут быть охарактеризованы по относительной электрофоретической подвижности (ОЭП). ОЭП индивидуальных фракций рассчитывается путем деления пути, пройденного индикаторной краской, начиная от маркерного белка (МБ).

Для количественной оценки электрофореграмм применяют методы сканирования с помощью микрофотометров, снабженных автоматическим самописцем и интегратором, выдающим данные о площади пиков. Данные об абсолютном содержании гистоновых фракций можно получить методом элюции с последующим фотометрическим измерением плотности окраски. Для этих целей окрашенные белковые зоны индивидуальных гистоновых фрак-



ций от нескольких гелей вырезают лезвием безопасной бритвы и тщательно измельчают в стеклянном гомогенизаторе с притертыми стенками. Краситель извлекают 5 мл элюционной смеси 50% диметилформамида в 1 н NaOH в течение 18 часов при 37°C. Суспензию центрифугируют 20 мин при 3 500 об/мин. Оптическую плотность надосадочной жидкости измеряют спектрофотометрически при 610 нм. Контролем служат кусочки геля из неокрашенных участков. Относительное содержание отдельных фракций определяют по следующей формуле:

$$X = \frac{A}{\sum B \cdot 100}, \text{ где}$$

$X$  – % содержание отдельной фракции,

$A$  – величина оптической плотности,

$\sum B$  – сумма оптической плотности всех фракций.

В табл. 4.2 приведены данные по относительному содержанию основных гистоновых фракций тотальных препаратов из различных источников.

Таблица 4.2

**Содержание основных гистоновых фракций в составе тотальных препаратов гистонов**

Органы	Ф р а к ц и и, в %			
	H1	H2	H2B + H2A	H4
Селезенка	16,55	18,06	47,37	18,02
Печень	19,63	20,87	40,33	19,17

**Препаративный электрофорез**

Выделение индивидуальных гистоновых фракций из суммарных препаратов в своей практике мы проводим по следующей методике. Раствор суммарного гистона наносили в концентрации 2 мг/гель в объеме 0,2 мл. Режим электрофореза такой же, как и для аналитического варианта. Окрашивание гелей амидово-черным 10Б красителем проводили без нагревания, однако время окрашивания увеличивали до 2 часов. Отмывание не связавшего красителя проводили обычным способом.

Белковые фракции из гелей вырезали и после измельчения в гомогенизаторе элюировали 1% раствором SDS в 0,1 н NaOH. Продолжительность элюции – 36 часов при комнатной температуре. Суспензию фильтровали, а белок из фильтрата осаждали 6 объемами охлажденного до -10°C ацетона. Выпавший осадок гистона собирали центрифугированием и перерастворяли в 5 мл дистиллированной воды, подкисленной небольшим количеством HCl (0,15 мл HCl на 5 мл воды), белок вновь осаждали ацетоном и высушивали в вакууме. Выделенные препаративно таким способом индивидуальные фракции гистонов могут быть использо-

ваны для исследования аминокислотного состава, а также для изучения физико-химических свойств и др.

#### **4.6. Методика электрофореза белков в полиакриламидном геле**

Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ) благодаря его преимуществам перед другими методами фракционирования нашел широкое применение в различных областях биологической, медицинской, судебной химии, энзимологии, иммунологии, фармакологии, молекулярной биологии и др. Полиакриламидный гель по сравнению с другими носителями обладает рядом особых качеств: химической стабильностью, прозрачностью, отсутствием адсорбции и электроосмоса, устойчивостью к изменению pH и температуры, нерастворимостью в большинстве растворителей. Метод отличается высокой разрешающей способностью, так как отдельные молекулы разделяются не только по общему заряду, но также по величине и форме.

Полиакриламидный гель представляет собой продукт сополимеризации акриламида и какого-либо сшивающего агента, например N,NR-метилен-бисакриламида. Благодаря образованию поперечных связей между растущими полиакриламидными цепями, возникающими в результате полимеризации, такой гель имеет структуру трехмерной сетки. Степень полимеризации и степень сшивки характеризуются размером пор. Этот параметр играет важную роль при разделении молекул разной формы и веса. Принцип действия молекулярного сита в гелях заключается в том, что крупные молекулы анализируемого образца движутся сквозь него тем медленнее, чем меньше размер пор. Размер пор определяется числом поперечных сшивок в геле. Диаметр пор зависит от процентной концентрации акриламида и его соотношения с сшивающим агентом, т.е. N,NR-метилен-бисакриламидом. Например, средний размер пор в 7,5%-ных гелях равен 5 нм, а в 30%-ных – около 2 нм. Выбрав подходящую концентрацию акриламида, можно получить гель с порами нужного размера.

Реакция сополимеризации акриламида с N,NR-метилен-бисакриламидом ускоряется как химическими катализаторами – надсернокислым аммонием (персульфат аммония –  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) и ТЕМЕД (N,N,NR,NR-тетраметилэтилендиамин), так и фотохимическими катализаторами – солнечный свет или сильное искусственное освещение в присутствии рибофлавина.

В настоящее время существует множество модификаций метода электрофореза в ПААГ. Наибольшей известностью пользуется так называемый диск-электрофорез (от англ. discontinuos – прерывистый), представляющий собой метод разделения, в котором ис-

пользуется неоднородная (прерывистая) разделяющая система, состоящая из двух слоев ПААГ: верхнего крупнопористого (концентрирующего) геля и нижнего мелкопористого (разделяющего) геля. Верхний и нижний гели отличаются друг от друга составом, размерами пор и значениями рН.

Преимущество диск-электрофореза перед обычными методами зонального электрофореза заключается в малых количествах анализируемого материала (1–100 мкг), отсутствии необходимости предварительного концентрирования разбавленных растворов разделяемых веществ, высокой разделяющей способности для молекул различного размера и формы (эффект концентрирования и эффект молекулярного сита), скорости разделения (60–90 мин) и хорошей воспроизводимости. Электрофоретическое разделение белков можно проводить в стеклянных трубочках, а также в тонком слое геля между двумя стеклами. На пластинках электрофорез осуществляют в горизонтальном или вертикальном исполнении.

**Оборудование:** прибор для электрофореза, источник питания, трубки стеклянные для гелей с внутренним диаметром 6–8 мм, центрифуга, гомогенизатор или фарфоровая ступка, скальпель, пинцеты, ножницы, медицинские шприцы, автоматические микропипетки на 10–200 мкл, пипетки обыкновенные на 1, 2, 5, 10 мл, стеклянные капилляры, лейкопластырь или резиновые колпачки от глазных пипеток, штативы для пробирок, специальный штатив для стеклянных трубок.

Спектрофотометр или фотоколориметр.

**Реактивы:**

*Состав запасных растворов для разделения кислых белков в щелочной среде и основных (щелочных) белков в кислой среде:*

Раствор № 1 (рН 8,9): 1 н HCl – 48 мл; трисоксиметиламинометан – 36,6 г; N,N,NR,NR – тетраметилэтилендиамин (ТЕМЕД) – 0,3 мл; дистиллированная вода до 100 мл.

Раствор № 2: акриламид – 30 г; N,NR – метилен-бисакриламид – 0,8 г; вода до 100 мл.

Раствор № 3: надсерноокислый аммоний  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  – 0,14 г, вода до 100 мл (готовится перед употреблением).

Раствор № 4 (рН 6,85–6,95): 1М  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (уд. вес 1,05) – 25,6 мл (готовится путем разбавления 8,3 мл 86% кислоты водой до 1 л); трисоксиметиламинометан – 5,7 г; ТЕМЕД – 0,05 мл; вода до 100 мл.

Раствор № 5: акриламид – 10 г; N,NR – метиленбисакриламид – 2,5 г; вода до 100 мл.

Раствор № 6: рибофлавин – 4 мг; вода до 100 мл.

Раствор № 7 (рН 2,9): 1 н КОН – 12 мл; ледяная уксусная кислота – 53 мл; ТЕМЕД – 1,2 мл; вода до 100 мл.

Раствор № 8: надсерноокислый аммоний – 0,56 г; вода до 100 мл.

Раствор № 9 (pH 5,9): 1 н КОН – 48 мл; ледяная уксусная кислота – 2,9 мл; ТЕМЕД – 0,05 мл; вода до 100 мл.

В целях экономии реактивов запасные растворы № 1, 4, 5 и 6 целесообразно готовить в меньших объемах (30–50 мл).

*Состав буферных систем для электродных сосудов:*

Раствор № 10 (pH 8,3). Буфер для разделения кислых белков в щелочной среде: трис-оксиметиламинометан – 6 г; глицин – 29 г, вода до 1 л. Перед работой разводится в 10 раз.

Раствор № 11 (pH 4,0). Буфер для разделения основных белков в кислой среде: глицин – 2,8 г; ледяная уксусная кислота – 0,3 мл; вода до 1 л.

Раствор № 12: сахароза – 40% раствор, для создания антиконвекционной среды.

Раствор № 13: трихлоруксусная кислота (ТХУ) – 5% раствор, для фиксации белковых зон в ПААГ.

Растворы № 14: краситель амидово-черный 10Б – 0,5% раствор в смеси: метанол – уксусная кислота – вода (10:1:30) – 0,5 л. Вместо амидово-черного 10Б можно использовать кумасси ярко-голубой R-250 – 2% раствор в смеси: метанол – уксусная кислота – вода (10:1:30). Перед употреблением красители необходимо отфильтровать.

Растворы № 15: красители в качестве свидетелей границы подвижности белков в гелях: а) бромфеноловый синий – 0,001% раствор для щелочных буферных систем; б) метиленовый зеленый – 0,1% раствор для кислых буферных систем.

Раствор № 16: уксусная кислота – 7% водный раствор для обесцвечивания гелей от избытка красителей.

Для синтеза ПААГ из запасных растворов готовятся смеси рабочих растворов. Для их приготовления удобно пользоваться схемой, приведенной в табл. 4.3.

Таблица 4.3

**Рабочие растворы для синтеза ПААГ и приготовления буферных систем для электродных сосудов**

1. Состав гелей для разделения белков в щелочной среде.		
Соотношение компонентов для мелкопористого (разделяющего) геля pH 8,9	Соотношение компонентов для крупнопористого (концентрирующего) геля pH 6,5–6,8	Буфер для электродных сосудов pH 8,3
1 ч раствора № 1 2 ч раствора № 2 4 ч раствора № 3 1 ч воды	1 ч раствора № 4 2 ч раствора № 5 1 ч раствора № 6 4 ч воды	Раствор № 10 Трис-глициновый буфер: трис-оксиметиламинаметан – 6 г; Глицин – 29 г; Вода – до 1 л Перед работой разводится в 5–10 раз

2. Состав гелей для разделения белков в кислой среде.		
Соотношение компонентов для мелкопористого (разделяющего) геля рН 2,9	Соотношение компонентов для крупнопористого (концентрирующего) геля рН 5,9	Буфер для электродных сосудов рН 4,0
2 ч раствора № 2 4 ч раствора № 7 2 ч раствора № 8	2 ч раствора № 5 1 ч раствора № 6 1 ч раствора № 9 4 ч воды	Раствор № 11 Глицин – 2,8 г; Ледяная уксусная кислота – 0,3 мл; Вода – до 1 л

### Аппаратура:

Приборы для диск-электрофореза в ПААГ могут быть самых разнообразных типов, они конструируются и изготавливаются рядом фирм. Такие приборы поступают в продажу обычно в комплекте с набором химических реактивов и блоком питания постоянного электрического тока (выпрямитель).

### Подготовка материала для электрофоретического разделения

Исследуемые препараты растворимых белков сыворотки крови, экстрактов животных тканей, гемолимфы насекомых не требуют каких-либо дополнительных процедур их обработки. Белки же из других источников (молоко, слюна, спинномозговая жидкость и др.) предварительно подлежат специальной подготовке их к анализу (очистка, обессоливание, концентрирование и т.д.). Описание некоторых таких приемов дается в приложении данной методики. Более подробные сведения по этому вопросу можно почерпнуть из литературных источников по электрофорезу в ПААГ. Здесь же мы кратко остановимся на подготовке препаратов белков сыворотки крови, экстрактов тканей животных и гемолимфы насекомых. Взятые от животных в необходимых количествах ткани прополаскивают в холодной воде. Затем, просушив на фильтровальной бумаге, взвешивают и подвергают гомогенизации на холоду в присутствии небольшого количества воды или разбавленного в 5 раз электродного буфера. Вместо гомогенизации ткань можно тщательно растереть в фарфоровой ступке с кварцевым песком. Эту операцию нужно проводить на холоду и быстро, чтобы предотвратить денатурацию белков.

Далее гомогенаты тканей, сыворотку крови и гемолимфу переносят в центрифужные пробирки и подвергают центрифугированию 5 мин при 6–7 тыс. оборотов в мин. В надосадочной жидкости определяют содержание белков по методу Лоури. В сыворотке концентрацию белков можно определить и другими методами – рефрактометрически или спектрофотометрически.

Измерив поглощение в УФ-свете при 260 и 280 нм, по формуле Калькара находят содержание белка:

$$C = 1,45 \times A_{280} - 0,74 \times A_{260} \text{ мг/мл}$$

Путем разведения центрифугатов трис-глициновым буфером для электродных сосудов доводят в них концентрацию белков до 2–4 мг/мл, и в дальнейшем используют для электрофоретического анализа в ПААГ.

#### **Техника безопасности**

1. Акриламид токсичен даже в разбавленных растворах (около 1%), поэтому следует остерегаться попадания его на открытые участки кожи и вдыхания распыленных частиц. Работать нужно в резиновых перчатках.
2. Источник питания обязательно должен быть заземлен.
3. Во время работы прибора категорически запрещается открывать крышку камеры и касаться токопроводящих частей в приборе.

#### **Проведение электрофореза**

1. Электрофорез белков в ПААГ состоит в выполнении следующих основных операций: получение из рабочих растворов гелей; подготовка электрофоретического прибора к работе; внесение исследуемых образцов белковых препаратов в гелевые колонки; определение режима проведения электрофореза; извлечение гелей из стеклянных трубок; фиксация, окрашивание и обесцвечивание гелей от избытка красителя; качественная и количественная оценка результатов анализа. Ниже дается более подробное описание выполнения последовательности техники и приемов при фракционировании кислых белков в щелочных буферных системах (рН 8,3). Запасные растворы для получения гелей № 1, 2, 3, 4 и 5 (см. табл. 4.3) вынуть из холодильника и довести до комнатной температуры.
2. Полимеризацию гелей ведут в стеклянных трубках, которые предварительно должны быть тщательно вымыты и высушены. До внесения в них смеси растворов для полимеризации одно из отверстий заклеивают кружочками лейкопластыря, заклеенный конец трубки смачивают расплавленным парафином на глубину 1–2 мм. Вместо лейкопластыря можно использовать для этой цели резиновые колпачки, например от глазных пипеток. Эта операция делается для того, чтобы предотвратить вытекание полимеризующей смеси. На трубках наносят метки на расстоянии 65 и 70 мм от заклеенного конца, надевают на них резиновые пробки, подходящие по диаметру отверстий верхнего электродного сосуда. Трубки строго вертикально размещают в специальном штативе.
3. Вначале готовят из рабочих растворов смесь разделяющего мелкопористого геля. Для этого в стаканчике последовательно

смешивают в соотношении: 1 часть раствора № 1, 2 части раствора № 2, 4 части раствора № 3 и 1 часть воды. Смесь аэрируют для удаления воздуха под водоструйным насосом, а затем быстро, но аккуратно разливают в стеклянные трубки до отметки 60 мм.

4. Поверх раствора геля с помощью капиллярной пипетки осторожно по стенкам наслаивают воду или изобутиловый спирт до отметки 80 мм. Наслаивание воды или спирта – одна из критических операций при приготовлении гелей, которая дает образование ровной поверхности геля и исключает доступ кислорода, препятствующего полимеризации. Полимеризация длится 40–60 мин, конец ее можно заметить по слабому нагреванию трубок, а также по видимой границе раздела между гелем и наслоенной жидкостью.

5. После образования геля определенным движением руки стряхивают с его поверхности наслоенную жидкость, а остатки удаляют кусочками фильтровальной бумаги.

6. Подготавливают раствор крупнопористого концентрирующего геля, последовательно смешивая в стаканчике: 1 часть раствора № 4, 2 части раствора № 5, 1 часть раствора № 6 и 4 части воды. Смесь дополнительно перемешивают стеклянной палочкой. Аэрация в этом случае необязательна.

7. В трубки поверх разделяющего геля заливают смесь только что приготовленного крупнопористого геля слоем 5–7 мм, осторожно наслаивают воду или изобутиловый спирт. Наслаивание жидкости здесь играет ту же роль, что и в случае мелкопористого геля.

8. Трубки выставляют для фотополимеризации или на солнечный свет, или освещая лампой накаливания на 500 Вт, или ультрафиолетом. Начало полимеризации замечают по переходу желто-зеленого цвета в опаловый, конец – по резкому отделению геля от наслоенной жидкости. Длительность фотополимеризации продолжается 10–15 минут. После удаления наслоенной жидкости с помощью скальпеля с донца трубок снимают кружочки лейкопластыря и оставляют до внесения образцов.

9. В нижний электродный сосуд заливают разбавленный в 5 раз трис-глициновый буфер pH 8,3. Объем буфера 600–700 мл.

10. В отверстия резиновых трубок плотно вставляют стеклянные трубки с гелем так, чтобы верхняя часть их на 3 см от дна верхнего электродного сосуда входила вовнутрь его.

11. С помощью автоматической микропипетки или откалиброванного капилляра на поверхность гелей вносят анализируемые растворы или экстракты белков в объеме не более 100 мкл. Количество вносимого белка зависит от его гомогенности: для индивидуального белка 25–50 мкг, для гетерогенных смесей от 50 до 250 мкг. Для лучшего разделения белков плотность их растворов

повышают добавлением 40% раствора сахарозы до конечной концентрации 20%. Это необходимо для предотвращения смешивания белка с электродным буфером. Образцы с высокой ионной силой должны быть предварительно обессолены. После нанесения образцов на гели доверху наслаивают электродный буфер. Затем осторожно стеклянные трубки строго вертикально вставляют через резиновые пробки в отверстия дна верхнего сосуда.

12. Собранную верхнюю часть прибора присоединяют к нижнему буферному сосуду. Воздушные пузырьки, мешающие прохождению тока, с концов стеклянных трубок, входящих в раствор нижнего сосуда, удаляют или многократным обмакиванием, или встряхиванием, или навешиванием на них капли буфера.

13. Осторожно через воронку по стенкам заполняют триглицериновым буфером (600 мл) верхний сосуд, подмешивают к нему 0,5 мл 0,001% раствора красителя – бромфенолсинего (раствор № 16). Краситель можно вносить и в раствор белка вместе с сахарозой. При использовании кислых буферных систем при электрофорезе основных (щелочных) белков в качестве красителя нужно брать метиловый зеленый (0,001% раствор).

14. Закрыв верхний сосуд крышкой, соблюдая полярность, прибор подключают к соответствующим клеммам выпрямителя. Независимо от рН геля щелочного или кислого в любом случае белки должны двигаться в трубках сверху вниз. В щелочных гелях большинство белков движется обычно к аноду, поэтому электрод нижней камеры должен быть присоединен к положительному полюсу выпрямителя. В случае кислых гелей полюса электродов необходимо поменять на противоположные.

15. Подключают выпрямитель к сети переменного тока на 220 V. В первые 20–30 мин электрофорез ведут в режиме 1,5–2 мА на трубку. При этом происходит концентрирование белков на границе разделяющего геля. Затем силу тока увеличивают до 3,5–5 мА на трубку при напряжении 200–300 V. В процессе электрофореза нужно следить за постоянством силы тока. Электрофорез заканчивают, когда зона индикаторной краски окажется на расстоянии 4–5 мм от нижнего конца трубок (по времени около 70–90 мин).

16. По окончании электрофореза прибор отключают от сети и источника питания. Трубки с гелем вынимают из верхнего сосуда и извлекают из них гели. Тонкой стальной проволокой отслаивают гель от стенок стеклянной трубки, делают это в ванночке с водой. Можно использовать другой прием удаления геля: введение шприцем воды между гелем и стенкой трубки. Позицию индикаторной краски отмечают прокалыванием геля в этом месте тонкой проволокой.

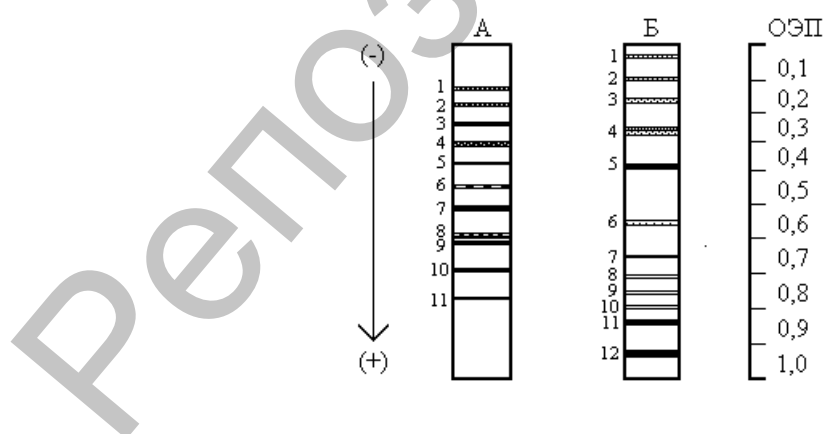


17. Изъятые гели помещают на 15 мин в широкие пробирки с 5% ТХУ для фиксации белковых зон. Затем трижды по 10 мин промывают их дистиллированной водой от остатков ТХУ.

18. Гели переносят в специальные ванночки и окрашивают раствором амидово-черным 10Б или кумасси ярко-голубым R-250 (раствор № 15). Время окрашивания 20–30 мин.

19. После окрашивания гели промывают водой и помещают в раствор дифференциатор – 7% уксусную кислоту для отмывки красителя, не связанного с белком. Отмывку проводят 1–2 суток с многократной сменой отмывающего раствора. Хорошо отмывтые гели с проявленными белковыми окрашенными зонами можно хранить до 3 месяцев в холодильнике при температуре 3–5<sup>0</sup>С, в пробирках в растворе 7% уксусной кислоты. Для более длительного хранения гели высушивают на пластмассовом листе или стеклянной пластинке. В высушенном состоянии их можно хранить несколько лет. При повторном помещении в раствор уксусной кислоты гелевые стерженьки принимают свой первоначальный объем.

20. Белковые фракции могут быть охарактеризованы по относительной электрофоретической подвижности (ОЭП). ОЭП индивидуальных фракций рассчитываем путем деления длины пути пройденного фракцией, на длину пути, пройденного индикаторной краской. Измерения ведут с точностью до 0,1 мм. Шкала ОЭП приведена на рис. 4.3. Результаты, полученные при фракционировании, оформляют в виде схем, где расположение каждой белковой фракции соответствует вычисленному значению ее ОЭП. Сопоставляя схемы друг с другом, делают вывод о специфичности анализируемых белков.



А и Б – белковые фракции из различных источников;  
ОЭП – шкала величин относительной электрофоретической подвижности; 1–12 – номера белковых фракций.

Рис. 4.3. Схема расположения белковых фракций на колонках ПААГ.

Для количественной оценки электрофореграмм применяют методы сканирования с помощью микрофотометров, снабженных автоматическим самописцем и интегратором, выдающим данные о площади пиков. Данные об абсолютном содержании белковых фракций можно получить, используя метод элюции окрашенных белковых зон, соответствующими растворителями с последующим фотометрическим измерением плотности окраски. Для этих целей белковые зоны индивидуальных белковых фракций от нескольких гелей вырезают лезвием безопасной бритвы и тщательно измельчают в гомогенизаторе с притертыми стенками. Краситель извлекают 5 мл элюционной смеси (50% диметилформамида в 1 н NaOH) в течение 18 часов при 37°C. Суспензию центрифугируют 20 мин при 3500 об/мин. Оптическую плотность надосадочной жидкости измеряют спектрофотометрически или фотоколориметрически при 610 нм. Контролем служат кусочки геля из неокрашенных участков. Относительное содержание отдельных фракций определяют по следующей формуле:

$$X = \frac{A}{\sum B \cdot 100},$$

X – % содержание отдельной фракции,

A – величина оптической плотности,

$\sum B$  – сумма оптической плотности всех фракций.

#### **4.7. Методы исследования растительных фенолов**

Фенолами называются ароматические соединения, имеющие гидроксильную группу, непосредственно связанную с ароматическим ядром. При содержании большего количества гидроксил в бензольном ядре часто их называют полифенолами.

Среди организмов растения способны синтезировать много тысяч соединений, содержащих один или более фенольных остатков. Их разделяют по количеству ароматических колец в молекуле на три типа: одноядерные, двухъядерные и полимерные. Фенольные соединения обладают высокой реакционной способностью, характеризуются многообразием биологических свойств, поэтому они востребованы в медицине, парфюмерной, пищевой промышленности, кожевенном производстве и др. отраслях. Среди фенолов есть как активные метаболиты, так и конечные продукты обмена, выполняющие в растениях ту или иную функцию. Но имеется большое число и таких фенольных соединений, физиологическая роль которых в растениях до сих пор совершенно не установлена. Разнообразие строения и физико-химических свойств фенольных соединений делает их анализ сложным и многоступенчатым.

**Характеристика флавоноидных соединений и их распространение в растениях.** К флавоноидам относится большая группа веществ вторичного происхождения фенольной природы (катехины, лейкоантоцианы, флавоны, флавонолы, халконы, ауроны, антоцианы и др. соединения). Они представляют собой кислородсодержащие гетероциклические соединения, в основе строения которых лежит углеродный скелет  $C_6-C_3-C_6$ . Большинство этих соединений относится к фенилпроизводным флавана. Флавоноиды широко распространены в растениях. Они определяют окраску цветков, плодов, стеблей, а также листьев у некоторых видов растений. Среди различных флавоноидных веществ катехины, лейкоантоцианы, флавоны, флавонолы, дигидрохалконы – бесцветные вещества, остальные окрашенные. Из последних по распространению в растениях антоцианы занимают одно из первых мест, обуславливая яркую и разнообразную окраску цветков. В растениях флавоноиды редко встречаются в свободном состоянии, кроме катехинов и лейкоантоцианов; в основном находятся в форме гликозидов. При кислотном и ферментативном гидролизе они расщепляются на сахар и агликоны. Разнообразие флавоноидных гликозидов определяется видом сахаров, порядком их сочетания, местом присоединения к молекуле флавоноида и другими особенностями. Наиболее восстановленными соединениями среди флавоноидов являются катехины. Многие из флавоноидов обладают Р-активным действием. Высокой Р-витаминной активностью обладают катехины. В настоящее время известно, что свободные катехины, олигомерные лейкоантоцианидины (проантоцианидины) и, в меньшей степени, олигомерные катехины в сочетании с аскорбиновой кислотой обладают высокой капилляроукрепляющей способностью.

**Определение общего содержания фенольных соединений, флавонолов и антоцианов в плодах.** Для определения разных групп флавоноидов применяют различные окислительные реагенты; полученные после окисления продукты определяют на фотоэлектроколориметре или на спектрофотометре.

*Реактивы:* 1) реактив Фолина–Дениса (готовят, смешивая 100 г вольфрамата натрия  $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$  с 20 г фосфорномолибденовой кислоты, 50 см<sup>3</sup> 85%  $H_3PO_4$  и 750 см<sup>3</sup> воды; смесь кипятят с обратным холодильником 2 ч, фильтруют и доводят водой до 1 дм<sup>3</sup>; 2) 20% раствор  $Na_2CO_3$ ; 3) 2% раствор  $AlCl_3$ ; 4) 8% раствор ацетата калия или 5% раствор ацетата натрия; 5) 1% раствор  $HCl$ ; 6) 96° этанол.

Получение спиртовых экстрактов из плодов. Навеску измельченных плодов массой 10–20 г заливают 96° этано-

лом (из расчета  $80^\circ$  его конечной концентрации), кипятят на водяной бане с обратным холодильником 10 мин, затем охлаждают, закрывают пробкой. Пробы хранят в темноте и используют по мере надобности. Затем этанол сливают, а навеску растирают, промывая многократно  $80^\circ$  этанолом на воронке Бюхнера, и фильтруют. Полноту экстракции фенольных соединений проверяют по реакции с 15% раствором NaOH: при нагревании раствор не должен желтеть.

Общий объем экстракта  $200\text{--}250\text{ см}^3$ ; затем его концентрируют отгонкой на роторном испарителе под вакуумом (при подогреве  $50 \dots 60^\circ\text{C}$  на водяной бане), добавляют  $200\text{--}250$  мг метабисульфита натрия против окисления фенольных соединений. Каротиноидные пигменты и хлорофилл удаляют промыванием остатка петролейным эфиром. Очищенный остаток растворяют последовательно несколькими порциями  $80^\circ$  этанола до объема  $20\text{--}30\text{ см}^3$  (при необходимости экстракт может храниться в темном и прохладном месте продолжительное время).

Определение общего содержания фенолов. К  $1\text{ см}^3$  (с содержанием фенольных соединений от  $0,01$  до  $0,150\text{ мг/см}^3$  и концентрацией спирта не выше  $50^\circ$ ) прибавляют  $0,3\text{ см}^3$  реактива Фолина–Дениса, тщательно взбалтывают и ровно через 20 с прибавляют  $5\text{ см}^3$  20% раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (кристаллического); через 30 с измеряют оптическую плотность при  $725\text{--}730\text{ нм}$  на фотокolorиметре в кювете с рабочей длиной  $5\text{ мм}$ ; контролем служит вода с добавлением всех указанных реактивов.

Количество фенольных соединений находят по калибровочной кривой, построенной по хлорогеновой кислоте. Расчет производят по формуле  $x = aVp \times 100/n$ , где  $x$  – количество фенольных соединений,  $\text{мг/100 г}$  сырой массы;  $a$  – содержание хлорогеновой кислоты, определяемое по калибровочному графику,  $\text{мг/см}^3$ ;  $V$  – объем спиртовой вытяжки,  $\text{см}^3$ ;  $p$  – степень разведения;  $n$  – масса навески растительного материала,  $\text{г}$ .

Определение суммы флавонолов. Берут  $2\text{ см}^3$  исходного спиртового раствора, добавляют  $2\text{ см}^3$  2% раствора  $\text{AlCl}_3$  и  $6\text{ см}^3$  5% раствора ацетата натрия (или 8% раствора ацетата калия). В контроль вместо  $2\text{ см}^3$  2% раствора  $\text{AlCl}_3$  добавляют  $2\text{ см}^3$   $\text{H}_2\text{O}$ . В случае помутнения растворов их фильтруют или центрифугируют при  $1000\text{--}1200$  об/мин в течение 30 мин. Через 2,5 ч после начала реакции измеряют оптическую плотность на ФЭК или спектрофотометре с синим светофильтром при  $440\text{ нм}$  и с рабочей длиной кюветы  $10\text{ мм}$ .

Содержание суммы флавонолов ( $\text{мг/100 г}$  в пересчете на рутин) находят по формуле  $x = k (D - D_1) Vp \cdot 100/n$ , где  $k$  – коэффициент

пересчета по калибровочной кривой, построенной по рутину (0,655);  $D$  – оптическая плотность опытного раствора;  $D_1$  – оптическая плотность контрольного раствора;  $V$  – объем спиртовой вытяжки,  $\text{см}^3$ ;  $p$  – степень разведения;  $n$  – масса навески растительного материала, г.

*Примечание.* Для количественного определения отдельных флавонолов и других фенолов используют методы хроматографии на бумаге.

**Определение антоцианов.** Берут 2 навески кожуры яблок по 1 г; окрашенную часть мякоти быстро измельчают и берут 2 навески по 0,5 г. Навески сразу заливают смесью 10–20  $\text{см}^3$  или этилового спирта с 1% НС1 и выдерживают 24 ч при 4°C. Затем их растирают и извлекают антоцианы на воронке Бюхнера. После измерения объема экстрактов (40–60  $\text{см}^3$ ) определяют их оптическую плотность на фотоколориметре или на спектрофотометре при 529 нм в кювете с рабочей длиной 1 см и количество антоцианов находят по калибровочному графику, построенному по одному из них.

При высоком содержании в пробе других красящих веществ в контроль необходимо добавить 2–3 капли 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  и провести измерения через 2 мин. Полученные значения вычесть из опытной пробы.

Количество антоцианов (мг/100 г) находят по формуле  $x = kDV \cdot 100/n$ , где  $k$  – коэффициент, рассчитанный по калибровочной кривой;  $D$  – оптическая плотность раствора;  $V$  – объем экстракта,  $\text{см}^3$ ;  $n$  – масса навески, г.

**Фракционирование фенольных соединений на полиамиде.** Метод, модифицированный Г.Б. Самородовой-Бианки и С.А. Стрельчиной, позволяет выделить фракции суммарных водорастворимых фенольных соединений (фенолкарбоновых кислот и др.), свободных катехинов, олигомерных катехинов и лейкоантоцианов (проантоцианидинов). По данным лаборатории биохимии ВИРа, мономерные формы лейкоантоцианов в плодах и ягодах практически отсутствуют.

*Реактивы:* 1) реактив Фолина–Дениса; 2) ванилиновый реактив [1 г кристаллического ванилина растворяют в 100  $\text{см}^3$  НС1 ( $\rho = 1,19$ ), раствор используют в течение 15–20 мин]; 3) реактив на лейкоантоцианы (смешивают предварительно перегнаный  $n$ -бутанол с концентрированной НС1 в соотношении 3:1); 4) диметилформамид; 5) метиловый спирт; 6) полиамид.

*Ход анализа.* Извлечение и определение водорастворимых фенольных соединений. Навеску полиамида массой 0,2–0,3 г помещают в фарфоровую чашечку, прили-

вают 1–3 см<sup>3</sup> спиртового экстракта плодов, содержащего 25–50 мг фенольных соединений (количество предварительно можно определить с реактивом Фолина–Дениса). Затем прибавляют туда 5 см<sup>3</sup> воды и слегка подогревают для удаления следов спирта. Полученную водную суспензию полиамида после охлаждения переносят на стеклянный фильтр (с пористым дном) № 2 и вымывают водорастворимые фенольные соединения, не сорбируемые на полиамиде, холодной перегнанной водой до объема 30 см<sup>3</sup>. Для количественного определения этих веществ берут 1 см<sup>3</sup> раствора, добавляют 0,3 см<sup>3</sup> реактива Фолина–Дениса, взбалтывают и через 20 с приливают 5 см<sup>3</sup> 20% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, через 30 с измеряют оптическую плотность на ФЭК-56М в кювете толщиной 5 мм при 730 нм. Калибровочную кривую строят по хлорогеновой кислоте (по растворам, содержащим 0,025; 0,075; 0,10 и 0,185 мг/см<sup>3</sup>).

Расчет производят по формуле  $x = aVV_2 \cdot 100 / (nV_1)$ , где  $x$  – количество водорастворимых фенольных соединений, мг/100 г;  $a$  – количество фенольных соединений, найденное по калибровочной кривой, мг/см<sup>3</sup>;  $V$  – объем исходного спиртового экстракта, см<sup>3</sup>;  $V_2$  – объем водной фракции, см<sup>3</sup>;  $n$  – масса навески, г;  $V_1$  – объем спиртового экстракта, нанесенного на полиамид, см<sup>3</sup>.

Извлечение и определение свободных катехинов. После удаления водорастворимых фенольных соединений приступают к выделению фракции свободных катехинов. Для этого остаток на фильтре сначала промывают 15 см<sup>3</sup> 50° метилового спирта, а потом 10 см<sup>3</sup> 70° метилового спирта. Из полученного метанольного элюата берут 1 см<sup>3</sup>, добавляют 5 см<sup>3</sup> ванилинового реактива и через 15 мин измеряют окраску на ФЭК-56М в кювете толщиной 3 мм при 530 нм. Калибровочную кривую строят по d-катехину (готовят растворы с содержанием 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10 мг/см<sup>3</sup>).

Расчет производят по формуле  $x = DkVV_3 \cdot 100 / (nV_1)$ , где  $x$  – количество свободных катехинов, мг/100 г;  $D$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $k$  – коэффициент пересчета по калибровочной кривой (ориентировочно  $k = 0,332$ ; каждый исследователь вычисляет величину  $k$  по собственной калибровочной кривой);  $V_3$  – объем метанольного элюата, см<sup>3</sup>; остальные обозначения те же, что в первой формуле.

Извлечение и определение олигомерных катехинов и лейкоантоцианов (проантоцианидинов). После удаления свободных катехинов полиамид промывают 10 см<sup>3</sup> 0,01 н р-ра КОН в 100Q метиловом спирте и обязательно нейтрализуют его эквивалентным количеством 0,1 н р-ра HCl, ко-

торый приливают в ту колбочку, где собирают элюат. Проводят реакции с ванилиновым реактивом на катехины + лейкоантоцианы (1 см<sup>3</sup> элюата + 5 см<sup>3</sup> реактива) и с реактивом на лейкоантоцианы.

Количество собственно лейкоантоцианов определяют по методу Свайна и Хиллиса. Берут в градуированную пробирку 1 см<sup>3</sup> щелочного метанольного раствора, приливают к нему 3 см<sup>3</sup> реактива на лейкоантоцианы и нагревают в течение 30 мин на слабокипящей водяной бане. В случае изменения объема его следует довести до 3 см<sup>3</sup> смесью н-бутанола с HCl. Оптическую плотность определяют на ФЭК или спектрофотометре при 530 нм в кювете толщиной 3 мм. Калибровочную кривую строят по реакции димера (эпикатехина с лейкоантоцианидом) с н-бутанолом и соляной кислотой в тех же условиях.

Расчет производят по формуле  $x = D_1 k_1 V V_4 \cdot 100 / (n V_1)$ , где  $x$  – количество лейкоантоцианов, мг/100 г;  $D_1$  – оптическая плотность раствора;  $k_1$  – коэффициент пересчета (ориентировочно 2,44), который находят опытным путем по калибровочной кривой;  $V_4$  – объем щелочного метанольного элюата, см<sup>3</sup>; остальные обозначения те же, что в первой формуле.

У ряда растительных объектов (особенно крыжовник, земляника и др.) олигомерные катехины полностью не извлекаются щелочным метанолом. Поэтому проводят дополнительное их извлечение диметилформамидом (5–20 см<sup>3</sup>). Реакцию на олигомерные катехины этой фракции проводят также с ванилиновым реактивом. Оптическую плотность измеряют на ФЭК или спектрофотометре при 530 нм в кювете толщиной 5 мм. Калибровочную кривую строят также по димеру эпикатехина с лейкоцианидом.

Количество олигомерных катехинов рассчитывают по формуле  $x = [(D_2 k_2 - D_1 k_1) V_4 + (D_3 k_2 V_5)] V \cdot 100 / (n V_1)$ , где  $x$  – количество олигомерных катехинов, мг/100 г;  $D_2$  – оптическая плотность окрашенного раствора фенольных соединений в щелочном метаноле при реакции с ванилиновым реактивом;  $D_3$  – оптическая плотность окрашенного раствора фенолов в диметилформамиде с ванилиновым реактивом;  $k_2$  – коэффициент пересчета (ориентировочно 1,198);  $V_5$  – объем фракции, вымываемой диметилформамидом, см<sup>3</sup>; остальные обозначения те же, что в первой и третьей формулах.

**Быстрый метод определения антоцианов и суммы катехинов и лейкоантоцианов.** Приведены простой способ получения спиртовой вытяжки из плодов и ягод и ее использование для определения антоцианов при массовых анализах. Полученная вытяжка может служить и для приближенно-количественного опре-

деления суммы катехинов и лейкоантоцианов (проантоцианов) – веществ, реагирующих с ванилиновым реактивом.

*Реактивы:* 1) реактив № 1 (раствор 0,5 н HCl в 85–80° этаноле или метаноле); 2) реактив № 2 (раствор 3 н HCl в метаноле – 1:5); 3) свежеприготовленный реактив № 3 (к 9 см<sup>3</sup> реактива № 2 приливают 1 см<sup>3</sup> 30% перекиси водорода); 4) ванилиновый реактив [раствор 50 мг ванилина в 20 см<sup>3</sup> HCl ( $\rho = 1,19$ )].

*Ход анализа.* **О п р е д е л е н и е а н т о ц и а н о в .** Берут 10 г измельченных ягод в коническую колбу и кипятят 10 мин с метанолом или этанолом. После охлаждения навеску растирают и переносят в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, объем доводят метанолом до метки. Затем фильтруют или центрифугируют часть вытяжки. Берут 1 см<sup>3</sup> фильтрата и разбавляют до 10 см<sup>3</sup> реактивом № 1. Из разбавленной жидкости в 2 пробирки берут по 4,5 см<sup>3</sup> и добавляют в одну пробирку 1,5 см<sup>3</sup> реактива № 2, а в другую – 1,5 см<sup>3</sup> реактива № 3. Пробирки встряхивают, выдерживают в темноте (15 мин) и определяют оптическую плотность раствора на ФЭК или спектрофотометре при 529 нм. Расчеты количества антоцианов проводят по калибровочным графикам, построенным по соответствующим антоцианам (по преобладающим в том или ином объекте или по суммарному препарату).

**П р и б л и ж е н н о - к о л и ч е с т в е н н о е о п р е д е л е н и е с у м м ы к а т е х и н о в и л е й к о а н т о ц и а н о в .** Сумму последних определяют из той же навески, что и антоцианы. В 3 пробирки берут по 1 см<sup>3</sup> фильтрата и в две из них добавляют по 3 см<sup>3</sup> HCl ( $\rho = 1,19$ ), а в третью – ванилинового реактива. Растворы в пробирках перемешивают и через 3 мин определяют оптическую плотность на ФЭК или спектрофотометре с зеленым светофильтром в кювете с рабочей длиной 5 мм. Расчет количества веществ проводят по калибровочной кривой, построенной по d-катехину или другим катехинам.

*П р и м е ч а н и е .* Данным способом нельзя определять количественно катехины или лейкоантоцианы (проантоцианидины). Обе группы веществ реагируют с ванилиновым реактивом, но последние в результате реакции дают более слабую окраску. Кроме того, соотношение катехинов и лейкоантоцианов, так же как и их индивидуальных компонентов, у плодов изменяется в неодинаковой степени. Количество катехинов и лейкоантоцианов (проантоцианидинов) в плодах можно определять после разделения их на полиамиде.

**Определение антоцианов методом тонкослойной хроматографии.** Этот метод позволяет разделить антоцианы в тонком слое.

*Реактивы:* 1) метанол; 2) 2% HCl в метаноле, 6% HCl;



3) целлюлоза (марка № 300, фирмы Machezey, Nageel S. C. O.): ее в гомогенизаторе превращают в однородную массу, после чего на пластинки размером 20 x 20 см наносят слой целлюлозы толщиной 0,5 мм и сушат 24 ч.

*Ход анализа.* К навеске массой 10–20 г добавляют 20 см<sup>3</sup> н-пропанола для осаждения пектиновых веществ и отфильтровывают. Для удаления сахаров добавляют ионообменную смолу (Дауэкс 50 N X 8 – кислый), которую перед употреблением выдерживают в дистиллированной воде 15–20 мин, а затем отфильтровывают. Около 40 г смолы добавляют к раствору, освобожденному от пектиновых веществ, и оставляют на ночь. Полученную смесь помещают на колонку с ватным тампоном на дне и промывают водой. Антоцианы образуют на колонке кольца. Вымывание антоцианов из колонки производят 100 см<sup>3</sup> 6% HCl. Затем через колонку пропускают метанол, подкисленный HCl (98:2) со скоростью одна капля в минуту. Экстракт антоцианов упаривают в вакууме при 50°C до сухого состояния и полученный порошок растворяют в 5 см<sup>3</sup> метанола. Метанольный раствор с помощью шприца или дозатора наносят в виде полос на заранее приготовленные пластинки и подсушивают.

Пластинки помещают в стеклянный сосуд, содержащий на дне смесь H<sub>2</sub>O, HCl (концентрированная) и муравьиной кислоты (8:4:1), для хроматографирования в течение 45 мин. Затем пластинки подсушивают и определяют *R<sub>f</sub>* каждого пятна (полоски). Для количественного определения пятна соскабливают в отдельные колбочки, куда заранее добавлена 2% HCl в метаноле. Полученные растворы профильтровывают через вату. Экстракт упаривают до сухого состояния. Полученный сухой остаток растворяют в 5–10 см<sup>3</sup> чистого метанола, затем производят спектрофотометрирование. Калибровочные кривые строят по дельфинидину.

**Определение рутина.** Рутин является гликозидом, который широко распространен в листьях, цветках и плодах культурных растений. В состав рутина входят флавонол (кверцетин) и сахар рутиноза (6, β-L-рамнозидо-D-глюкоза).

Принцип метода определения по И.К. Мурри основан на цветной реакции рутина с солями алюминия в присутствии избытка уксуснокислого калия. Интенсивность окраски измеряют на фотоэлектроколориметре.

*Реактивы:* 1) 2% раствор AlCl<sub>3</sub>; 2) 8% раствор уксуснокислого калия или натрия; 3) 80° этиловый спирт; 4) диэтиловый эфир; 5) колбы Бунзена и Вюрца.

*Ход анализа.* Извлечение рутина из вегетативных органов. Берут 2 навески по 2–5 г ± 0,01 г

листьев (или цветков),  $5 \text{ г} \pm 0,01 \text{ г}$  плодов в фарфоровые ступки и тонко растирают со стеклянным песком в присутствии спирта. Растертую навеску переносят на воронку Бюхнера и экстрагируют спиртом до полного обесцвечивания остатка и стекающего экстракта. Доводят фильтрат спиртом до  $100$  или  $150 \text{ см}^3$  и из этого объема берут для определения  $25$  или  $50 \text{ см}^3$  в колбу Вюрца. Спирт отгоняют почти досуха и остаток в колбе обрабатывают малыми порциями этилового спирта до получения неокрашенного экстракта (для удаления кверцетина, хлорофилла, каротиноидов и других эфирорастворимых веществ). Эфирные извлечения сливают через фильтр на маленькой воронке Бюхнера и отбрасывают. Рутин растворяют в спирте при  $30^\circ\text{C}$  на водяной бане в колбе и фильтруют через тот же фильтр на воронке Бюхнера в чистый приемник. Спиртовой р-р рутина доводят  $80^\circ$  спиртом до  $15, 25, 50 \text{ см}^3$  (в зависимости от содержания рутина). Затем приступают к проведению реакции и колориметрированию.

**Извлечение рутина из семян.** При небольших концентрациях рутина в семенах ( $10\text{--}50 \text{ мг}/100 \text{ г}$ ) берут навески тонкоразмолотой муки массой  $10 \text{ г} \pm 0,01 \text{ г}$ , а при более высоких концентрациях  $\text{--}2,5 \text{ г} \pm 0,01 \text{ г}$ , помещают в ступку и растирают с помощью стеклянного песка в присутствии  $80^\circ$  этилового спирта. Осадок переносят на воронку Бюхнера и промывают чистым спиртом, доводят до определенного объема ( $100 \text{ см}^3$ ). При малом содержании рутина в пробе для работы берут весь экстракт, переносят в колбу Вюрца или колбу роторного испарителя и отгоняют спирт под вакуумом почти досуха. При высоких концентрациях рутина из первоначального объема ( $100 \text{ см}^3$ ) берут  $25 \text{ см}^3$ , а спирт удаляют одним из вышеуказанных способов.

**Колориметрирование.** В мерный цилиндр на  $25 \text{ см}^3$  или в коническую колбу на  $50 \text{ см}^3$  с притертой пробкой вносят  $5 \text{ см}^3$  спиртового экстракта, приливают  $5 \text{ см}^3$  2% раствора  $\text{AlCl}_3$ , встряхивают, а затем приливают  $15 \text{ см}^3$  8% раствора уксуснокислого калия. Перемешивают и оставляют стоять в темном месте около 2 ч для развития желтой окраски. Затем измеряют оптическую плотность ( $D$ ) окрашенного раствора на ФЭК или спектрофотометре с синим светофильтром в кювете с рабочей длиной 10 мм. Одновременно ставят контроль, который готовят, как и опытный раствор, только вместо  $5 \text{ см}^3$  раствора  $\text{AlCl}_3$  приливают  $5 \text{ см}^3 \text{ H}_2\text{O}$ . Если полученные растворы мутные (опыт и контроль), то их следует профильтровать через плотный бумажный фильтр. Измерения проводят против раствора, состоящего из  $5 \text{ см}^3 80^\circ$  спирта,  $5 \text{ см}^3 \text{ AlCl}_3$  и  $15 \text{ см}^3$  уксуснокислого калия. Содержание рутина находят по калибровочной кривой на основании  $\Delta D (D_0 - D_k)$ .

Построение калибровочной кривой. Стандартный раствор готовят растворением 20 мг чистого рутина в 100 см<sup>3</sup> 80° спирта. Для лучшего растворения рутина раствор можно слегка подогреть. В мерные цилиндры на 25 см<sup>3</sup> приливают 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 см<sup>3</sup> стандартного раствора и каждый доводят до 5 см<sup>3</sup> 80° спиртом. Затем в цилиндры добавляют по 5 см<sup>3</sup> 2% раствора AlCl<sub>3</sub> и по 15 см<sup>3</sup> 8% раствора уксуснокислого калия, перемешивают и оставляют стоять в темном месте 2 ч. В 1 см<sup>3</sup> полученного раствора содержится 0,004; 0,008; 0,012; 0,016; 0,020; 0,024 мг рутина. Для построения калибровочного графика откладывают на оси абсцисс количество миллиграммов рутина, а на оси ординат – величины оптической плотности окрашенных растворов.

Расчет производят по формуле  $x = aVV_2V_4 / (V_1V_3n)$ , где  $x$  – количество рутина, мг/100 г;  $a$  – количество рутина, найденное по калибровочной кривой, мг/см<sup>3</sup>;  $V$  – общий объем экстракта, см<sup>3</sup>,  $V_1$  – количество спиртового экстракта, взятого для работы (из общего объема), см<sup>3</sup>;  $V_2$  – объем спиртового экстракта рутина (после эфирной обработки), см<sup>3</sup>;  $V_3$  – объем раствора рутина, взятого для проведения цветной реакции, см<sup>3</sup>;  $V_4$  – конечный объем в цилиндре, см<sup>3</sup>;  $n$  – масса навески, г.

#### 4.8. Химические исследования в экологии

**Определение кислотности и щелочности воды.** *Определение кислотности воды.* Кислотность природных вод обусловлена наличием свободной угольной кислоты, а также растворимых солей, образованных слабым основанием и сильной кислотой. Такие соли, подвергаясь гидролизу, образуют свободные кислоты.

Производственные стоки могут содержать свободные кислоты, подлежащие нейтрализации перед выпуском в водоем. Кислотность, обусловленная присутствием свободных кислот, считается первичной кислотностью. Соли, гидролизующиеся до свободных кислот, характеризуют вторичную кислотность. Рассчитывают нейтрализующий реагент, обычно во внимание принимают только первичную кислотность.

Кислотность воды определяют методом нейтрализации ( $H^+ + OH^- = H_2O$ ).

В зависимости от силы реагирующих кислот и оснований в точке эквивалентности раствор может быть нейтральным, слабокислым или слабощелочным.

Так как кислоты, содержащиеся в природных водах, имеют малую степень диссоциации, т.е. являются слабыми, то при определении кислотности в качестве рабочего раствора берут гидроксид натрия и титруют в присутствии фенолфталеина.

Объем 0,1 н раствора щелочи, израсходованный на титрование в воде веществ, вступающих в реакцию с сильными щелочами, соответствует **общей кислотности воды ( $\rho$ )**. Та часть общей кислотности, при которой рН воды снижается до 4,5 ниже, называется **свободной кислотностью воды ( $m$ )**.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) метиловый оранжевый;
- 2) фенолфталеин;
- 3) 0,1 н раствор NaOH;
- 4) коническая колба на 250 мл;
- 5) пипетка на 20 мл;
- 6) бюретка для титрования.

*Ход работы:*

1. **Определение свободной кислотности  $m$ .** Предварительно определяют наличие свободной кислотности по метиловому оранжевому (кислая реакция) или измеряя рН ( $\text{pH} < 4,5$ ).

Если предварительное определение показало наличие свободной кислоты, то к 20 мл исследуемой воды добавляют 2 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия до появления желтой окраски. Свободную кислотность  $m$  (моль(эк)/л) рассчитывают по формуле:

$$m = \frac{V_1 \cdot C_n(\text{NaOH}) \cdot 1000}{V_{\text{H}_2\text{O}}},$$

где  $V_1$  – объем 0,1 н раствора NaOH, израсходованного на титрование по метиловому оранжевому, мл;  $C_n(\text{NaOH})$  – нормальность раствора NaOH;  $V_{\text{H}_2\text{O}}$  – объем исследуемой воды, взятой для титрования, мл.

2. **Определение общей кислотности  $\rho$ .** К 20 мл исследуемой воды прибавляют 3 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия до появления розовой окраски.

Общую кислотность  $\rho$  (моль(эк)/л) выражают по формуле:

$$\rho = \frac{V_2 \cdot C_n(\text{NaOH}) \cdot 1000}{V_{\text{H}_2\text{O}}},$$

где  $V_2$  – объем 0,1 н раствора NaOH, израсходованного на титрование по фенолфталеину, мл;  $C_n(\text{NaOH})$  – нормальность раствора NaOH;  $V_{\text{H}_2\text{O}}$  – объем исследуемой воды, взятой для титрования, мл.

**Определение общей щелочности.** Общая щелочность воды обусловлена наличием свободных гидроксидов, а также солей слабой кислоты и сильного основания. Такие соли, гидролизуясь, образуют свободные гидроксильные ионы. В природных водах

щелочность обычно характеризуется концентрацией гидрокарбоната, в щелочных водах – карбонатов.

Щелочность, обусловленная растворимыми гидроксидами, называется гидратной.

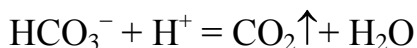
Щелочность определяется количеством мл кислоты, необходимой для нейтрализации 1 л воды, и выражается в моль(эк)/л.

Общая щелочность воды обусловлена присутствием ионов  $\text{OH}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  и  $\text{CO}_3^{2-}$ . Ионы  $\text{OH}^-$  и  $\text{CO}_3^{2-}$  титруются соляной кислотой в присутствии индикатора фенолфталеина (при  $\text{pH} = 8,3$ ) и обуславливают щелочность по фенолфталеину. При титровании воды соляной кислотой в присутствии фенолфталеина протекают следующие реакции:



Ионы  $\text{HCO}_3^-$  титруют соляной кислотой в присутствии индикатора метилового оранжевого (при  $\text{pH} = 2,6$ ).

Протекающую при этом реакцию можно выразить уравнением:



Если щелочность по фенолфталеину равна нулю, то общая щелочность обусловлена присутствием только гидрокарбонатов ( $\text{HCO}_3^-$ ).

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) метиловый оранжевый;
- 2) фенолфталеин;
- 3) 0,1 н раствор  $\text{HCl}$ ;
- 4) коническая колба на 250 мл;
- 5) пипетка на 20 мл;
- 6) бюретка для титрования.

*Ход работы:*

К 20 мл исследуемой воды, отмеренной пипеткой в коническую колбу на 250 мл, добавляют 2–3 капли раствора фенолфталеина. Если появится розовая окраска, воду титруют 0,1 н раствором соляной кислоты до обесцвечивания.

Затем в эту же колбу добавляют 2–3 капли раствора метилового оранжевого и продолжают титрование 0,1 н раствором соляной кислоты до перехода желтой окраски в розовую окраску. Записывают общий объем 0,1 н раствора соляной кислоты, израсходованного на все титрование.

Общую щелочность (*Щоб.*) вычисляют по формуле:

$$\text{Щ}_{об.} = \frac{V \cdot C_n(\text{HCl}) \cdot 1000}{V_{\text{H}_2\text{O}}}, \text{ моль(эк)/л,}$$

где  $V$  – общий объем раствора соляной кислоты, израсхо-

дованный на титрование взятого объема исследуемой воды, мл;  
 $V_{H_2O}$  – объем воды, взятой для исследования, мл;  $C_n(HCl)$  – нормальность раствора соляной кислоты.

**Определение жесткости воды.** Жесткость воды обусловлена присутствием в ней растворимых кальциевых и магниевых солей различных кислот (угольной, серной, соляной, азотной, фосфорной и кремниевой).

*Карбонатная жесткость* обусловлена присутствием в воде гидрокарбонатов кальция и магния и называется *временной*.

*Некарбонатная жесткость* обусловлена присутствием кальциевых и магниевых солей серной, соляной, азотной, фосфорной и кремниевой кислот и называется *постоянной*.

Жесткость выражают в моль(экв) растворимых солей кальция и магния на литр, одному моль(экв) жесткости соответствуют 20,04  $Ca^{2+}$  или 12,16 мг  $Mg^{2+}$  в 1 литре воды.

По ГОСТу допустимой жесткостью для хозяйственного водоснабжения считается жесткость не более 7 моль(экв)/л.

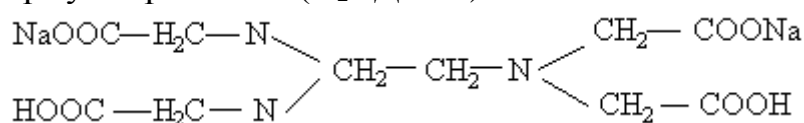
*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) аммиачный раствор ( $NH_4OH + NH_4Cl$ );
- 2) эриохром черный Т (ЭХЧ);
- 3) 0,05 н раствор трилона Б;
- 4) метиловый оранжевый;
- 5) 0,1 н раствор  $HCl$ ;
- 6) специальный буферный раствор (к 67,5  $NH_4Cl$  приливают 570 мл 25% аммиака и доводят дистиллированной водой до 1 л);
- 7) 5% раствор оксалата аммония;
- 8) коническая колба на 250 мл (4 шт.);
- 9) мерный цилиндр на 25 мл;
- 10) пипетка на 5 мл;
- 11) воронка;
- 12) фильтровальная бумага;
- 13) бюретка для титрования (2 шт.).

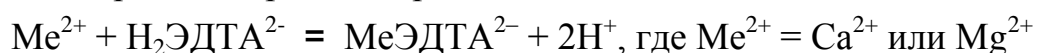
*Ход работы:*

*Определение жесткости воды комплексонометрическим методом.* Комплексонометрический метод определения общей жесткости основан на том, что ионы кальция и магния связываются трилоном Б в комплексные соединения.

Формула трилона Б ( $H_2ЭДТА^{2-}$ )



При этом протекает реакция



Так как ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  образуют с трилоном Б малостойкие комплексы, то титрование ведут в щелочной среде, применяя для этого буферную смесь гидроксида аммония с хлоридом аммония.

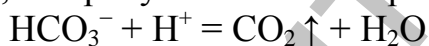
К 25 мл исследуемой воды, отмеренной цилиндром в коническую колбу на 250 мл, приливают 5 мл аммиачного раствора ( $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$ ) и 6–7 капель раствора индикатора эриохрома черного Т (ЭХЧ), который с ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  образует комплексы красно-малинового цвета.

Этот раствор медленно титруют 0,05 н раствором трилона Б до изменения окраски на синевато-серую. Это свидетельствует о том, что все ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  связаны с трилоном Б. Общую жесткость воды ( $J_{\text{об.}}$ ) рассчитывают по формуле:

$$J_{\text{об.}} = \frac{V_1 \cdot C_n(\text{трилона Б}) \cdot 1000}{V},$$

где  $J_{\text{об.}}$  – общая жесткость воды, моль(эк)/л;  $V_1$  – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование исследуемой воды, мл;  $C_n(\text{трилона Б})$  – нормальность раствора трилона Б;  $V$  – объем исследуемой воды, мл.

*Определение карбонатной жесткости воды.* Определение карбонатной жесткости основано на реакции, протекающей при  $\text{pH}=3,6$  в присутствии метилоранжа



К 25 мл исследуемой воды, отмеренной цилиндром в коническую колбу на 250 мл, добавляют 2–3 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н раствором соляной кислоты до перехода окраски из желтой в оранжевую. Карбонатную жесткость рассчитывают по формуле:

$$J_{\text{карб.}} = \frac{V_2 \cdot C_n(\text{HCl}) \cdot 1000}{V},$$

где  $J_{\text{карб.}}$  – карбонатная жесткость воды, моль(эк)/л;  $V_2$  – объем раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование исследуемой воды, мл;  $C_n(\text{HCl})$  – нормальность раствора соляной кислоты;  $V$  – объем исследуемой воды, мл.

Постоянную жесткость воды (некарбонатную) находят по разности между общей и карбонатной жесткостью

$$J_{\text{пост.}} = J_{\text{об.}} - J_{\text{карб.}}$$

*Определение кальциевой и магниевой жесткости воды (содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ).* Сначала определяют общую жесткость воды комплексонометрическим методом с помощью трилона Б. Потом осаждают ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в виде осадка оксалата каль-

ция  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ :  $\text{CaCl}_2 + (\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 = \downarrow \text{CaC}_2\text{O}_4 + 2\text{NH}_4\text{Cl}$ , и в фильтрате определяют магниевую жесткость. Кальциевую жесткость определяют как разность между общей и магниевой жесткостью.

К 25 мл исследуемой воды, отмеренной в коническую колбу емкостью 250 мл, приливают 1 мл специального буферного раствора и 10–15 мл 5% раствора оксалата аммония. При этом выпадает осадок оксалата кальция  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , который отфильтровывают через плотный беззольный фильтр. Осадок на фильтре промывают холодной дистиллированной водой. Промывные воды присоединяют к фильтру и определяют жесткость: к раствору приливают 5 мл аммиачного буферного раствора, 6–7 капель раствора индикатора эрихрома черного Т и титруют 0,05 н раствором трилона Б.

Магниевую жесткость вычисляют по формуле:

$$Ж_{Mg} = \frac{V_3 \cdot C_n(\text{трилона Б}) \cdot 1000}{V},$$

где  $Ж_{Mg}$  – магниевая жесткость воды, моль(эк)/л;  $V_3$  – объем раствора трилона Б, израсходованного на титрование, мл;  $V$  – объем исследуемой воды;  $C_n(\text{трилона Б})$  – нормальность раствора трилона Б.

Кальциевую жесткость вычисляют по формуле:

$$Ж_{Ca} = Ж_{об} - Ж_{Mg} \text{ моль(эк)/л.}$$

Содержание ионов кальция в мг/л ( $X_1$ ) вычисляют по формуле:

$$X_1 = 20,04 \cdot Ж_{Ca},$$

Содержание ионов магния в мг/л ( $X_2$ ) вычисляют по формуле:

$$X_2 = 12,16 \cdot Ж_{Mg},$$

где 20,04 и 12,16 – эквивалентные массы кальция и магния.

#### **Определение перманганатной окисляемости воды.**

Окисляемость воды – это условная величина, характеризующаяся загрязнением воды различными легко окисляющимися веществами, главным образом органического происхождения, а также легко окисляющимися некоторыми неорганическими примесями ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ).

Окисляемость выражается в миллиграммах кислорода, необходимого для окисления примесей (органические вещества), содержащихся в 1 л воды. В чистых родниковых и артезианских водах окисляемость обычно составляет 1,0–2,0 мг/л. Окисляемость речной воды колеблется в широких пределах 1–60 мг/л. Резкое повышение окисляемости воды свидетельствует о загрязнении источника и требует применения соответствующих мероприятий при его использовании. Различают *перманганатную* (дает представление о содержании в воде легко окисляемых органических веществ) и *бихроматную* (дает представление о полном

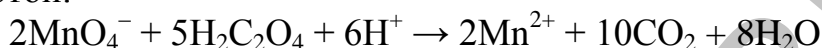


окислении веществ, за исключением некоторых белковых соединений).

Определение основано на том, что  $\text{KMnO}_4$ , будучи в кислой среде сильным окислителем, реагирует с присутствующими в воде восстановителями (органические вещества, соли железа (II), нитраты). Ион  $(\text{Mn}^{+7}\text{O}_4)^-$  принимает при этом 5 электронов и переходит в двухвалентный катион  $\text{Mn}^{2+}$  по уравнению:



Избыток  $\text{KMnO}_4$  реагирует с вводимой в раствор щавелевой кислотой:



Не вступившая в реакцию щавелевая кислота оттитровывается  $\text{KMnO}_4$  по приведенному уравнению.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) бюретка для титрования;
- 2) пипетки 5 мл, 20 мл, 50 мл;
- 3) цилиндр на 100 мл;
- 4) колба коническая термостойкая 250 мл;
- 5) электроплитка;
- 6) стеклянная воронка;
- 7) 0,01 н раствор  $\text{KMnO}_4$ ;
- 8) 0,01 н раствор  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ;
- 9) серная кислота  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3), предварительно ее окисляют на холоде раствором  $\text{KMnO}_4$  до слабо-розовой окраски для удаления возможных восстановителей.

*Ход работы:*

В термостойкую колбу помещают 100 мл исследуемой пробы, приливают 5 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3) и 15 мл 0,01 раствора  $\text{KMnO}_4$  из бюретки. Затем нагревают пробу до появления первых пузырьков пара, и с этого момента содержимое колбы кипятят 10 мин. Во избежание разбрызгивания содержимого колбы при нагревании необходимо в горло колбы вставить стеклянную воронку.

В процессе кипячения могут произойти следующие изменения первоначального фиолетового цвета раствора перманганата:

- 1) жидкость обесцвечивается, что свидетельствует о большом содержании в данном объеме пробы восстанавливающих веществ (в таком случае определение повторяют и берут меньший объем исследуемой пробы);
- 2) жидкость приобретает коричнево-бурый цвет, что свидетельствует о недостаточном количестве  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . В таком случае в раствор следует добавить еще 5 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и продолжить определение;

3) жидкость приобретает красноватый оттенок или остается после 10-минутного кипячения окрашенной в фиолетовый цвет. Это свидетельствует о том, что определение идет правильно.

В окрашенную жидкость приливают пипеткой 15 мл 0,01 н раствора  $H_2C_2O_4$  (количество раствора должно строго соответствовать первоначальному объему  $KMnO_4$ , добавленному в пробу при кипячении). Содержимое колбы при этом обесцвечивается,  $H_2C_2O_4$  окисляется атомарным кислородом, который образуется при распаде  $KMnO_4$ . Так как частично  $KMnO_4$  расходуется на окисление органических веществ в исследуемой пробе, при добавлении в пробу 15 мл раствора  $H_2C_2O_4$  создается ее избыток. Не доливая в бюретку раствор  $KMnO_4$ , титруют пробу до появления устойчивой слабо-розовой окраски от одной прибавленной капли  $KMnO_4$ . Записывают суммарное количество  $KMnO_4$ , израсходованное как на окисление органических веществ в пробе, так и на окисление 15 мл  $H_2C_2O_4$  (обозначим его через **A**).

*Определение нормальности  $KMnO_4$ .* Для определения поправочного коэффициента к нормальности  $KMnO_4$  в колбу, в которой производился анализ, приливают пипеткой 15 мл стандартного 0,01 н раствора  $H_2C_2O_4$  (в зависимости от первоначально прилитого объема  $KMnO_4$ ). Пробу титруют вновь раствором  $KMnO_4$  до появления слабо-розовой окраски (температура пробы при титровании должна быть  $\sim 50-60^\circ C$ ). Записывают количество  $KMnO_4$ , израсходованное на окисление 15 мл  $H_2C_2O_4$  (обозначим его через **B**).

Поправочный коэффициент к нормальности  $KMnO_4$  вычисляют по формуле:

$$K = \frac{n_{ML} H_2C_2O_4}{n_{ML} KMnO_4}.$$

Вычисление результатов производится по формуле:

$$\text{окисляемость} = \frac{8 \cdot N \cdot K (A - B)}{V} \text{ мг/л,}$$

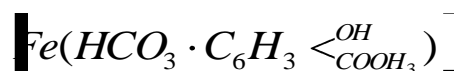
где **8** – эквивалентная масса кислорода; **K** – поправочный коэффициент к нормальности  $KMnO_4$ ; **N** – нормальность раствора  $KMnO_4$  (0,01 н); **A** – количество  $KMnO_4$ , затраченное на окисление органических веществ и 15 мл  $H_2C_2O_4$ , мл; **B** – количество  $KMnO_4$ , израсходованное на окисление 15 мл  $H_2C_2O_4$ , мл; **V** – объем пробы воды, взятой для анализа, мл.

**Определение железа (общего) фотометрическим способом.** В поверхностных водах железо (II) содержится в виде достаточно устойчивого гуминовокислого железа, в подземных водах встречается, главным образом, в виде бикарбоната  $Fe(HCO_3)_2$ . При контакте подземной воды с воздухом бикарбонат железа

окисляется с образованием бурых хлопьев  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  придающих воде мутность и желтую окраску (если содержание железа превышает 0,3 мг/л). При концентрации железа выше 1 мг/л вода приобретает вязущий привкус. Высокое содержание железа ухудшает органолептические свойства воды, делает воду непригодной в масло-сыродельном и текстильном производстве, усиливает размножение железоусваивающих микроорганизмов в водопроводных трубах, что ведет к зарастанию труб. В водопроводной воде содержание железа не должно превышать 0,3 мг/л.

В некоторых сточных водах железо встречается в больших количествах, например, в стоках травильных цехов, в сточных водах от крашения тканей и др.

Пробы для определения железа не требуют консервации. Метод определения основан на том, что сульфосалициловая кислота в щелочной среде ( $\text{pH} = 8-11,5$ ) образует с солями  $\text{Fe}(\text{II})$  и  $\text{Fe}(\text{III})$ , окрашенные в желтый цвет комплексные соединения следующего состава:



Интенсивность окраски образующихся комплексов пропорциональна концентрации железа в растворе. Ее измеряют на фотоколориметре и по величине оптической плотности определяют концентрацию железа. Определению мешает окраска и высокое содержание органических веществ.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) фотоэлектроколориметр;
- 2) электроплитка;
- 3) пипетки на 1 мл и 10 мл с делениями; на 2, 5, 10 мл без делений;
- 4) пробирки на 25–30 мл;
- 5) термостойкий стакан на 200 мл;
- 6) мерная колба на 100 мл;
- 7) дистиллированная вода;
- 8) сульфосалициловая кислота, 10% раствор;
- 9) аммиак, 10% водный раствор (2:3): смешивают 200 мл 25% раствора  $\text{NH}_4\text{OH}$  с 300 мл дистиллированной воды;
- 10) серная кислота, ч. д. а., пл. 1,84 г/мл;
- 11) азотная кислота, х. ч.;
- 12) стандартный раствор железа (железоаммонийные квасцы  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ ). 0,8634 г квасцов растворяют в дистиллированной воде, прибавляют к раствору 10 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  конц. и разбавляют в мерной колбе до 1 л, отбирают 100 мл полученного раствора, разбавляют водой до 1 л в мерной колбе.

В 1 мл рабочего стандартного раствора содержится 0,01 мг Fe.

*Ход работы:*

1. Для построения калибровочного графика наливают в пробирки 0,1; 0,3; 0,5; 0,6; 0,8; 1 мл рабочего стандартного раствора, разбавляют до 10 мл дистиллированной водой (табл. 4.4). Прибавляют 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты и 5 мл раствора  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Перемешивают и через 10 минут измеряют оптическую плотность растворов при длине волны 420 нм по отношению к холостому раствору, используя кюветы с толщиной светопоглощающего слоя 1 см. Каждое измерение обязательно повторяют 3 раза. Средние значения заносят в табл. 4.4. По средним значениям в координатах  $A = f(C)$  строят градуировочный график.

2. При отсутствии окраски и органических веществ 10 мл пробы вносят в колориметрическую пробирку на 25–30 мл. Прибавляют 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты и 5 мл раствора  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Перемешивают и через 10 мин измеряют оптическую плотность на фотоколориметре при длине волны 420 нм.

Таблица 4.4

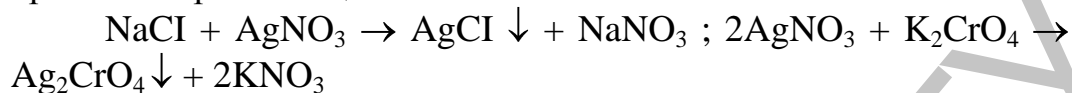
#### Калибровочная кривая

Номер стандарта	Стандартный раствор железа 0,01 мг/мл, мл	Дистиллированная вода, мл	Содержание железа, мг	Оптическая плотность
1	0,1	9,9	0,001	
2	0,3	9,7	0,003	
3	0,5	9,5	0,005	
4	0,6	9,4	0,006	
5	0,8	9,2	0,008	
6	1,0	9,0	0,01	

3. Концентрацию железа  $C$  мг/л определяют по формуле:  $C = C_x \cdot 100$ , где  $C_x$  – концентрация железа, найденная по калибровочному графику.

**Определение хлоридов.** Высокая растворимость хлоридов объясняет широкое распространение их во всех природных водах. В проточных водоемах содержание хлоридов обычно невелико (20–30 мг/л). Незагрязненные грунтовые воды в местах с несолончаковой почвой обычно содержат до 30–50 мг/л хлорид-иона. В водах, фильтрующихся через солончаковую почву, в 1 л могут содержаться сотни и даже тысячи миллиграммов хлоридов. Вода, содержащая хлориды в концентрации более 350 мг/л, имеет солоноватый привкус, а при концентрации хлоридов 500–1000 мг/л неблагоприятно влияет на желудочную секрецию. Содержание хлоридов является показателем загрязнения подземных

и поверхностных водоисточников и сточных вод. Определение хлоридов ведется по методу Мора. Принцип метода Мора основан на осаждении хлоридов азотнокислым серебром в присутствии хромата калия  $K_2Cr_2O_7$ . При наличии в растворе хлоридов  $AgNO_3$  связывается с ними, а затем образует хромат серебра оранжево-красного цвета.



*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) конические колбы на 250 мл (5 шт.);
- 2) пипетка на 10 мл;
- 3) цилиндр мерный на 100 мл (2 шт.);
- 4) бюретка для титрования;
- 5) дистиллированная вода;
- 6) 0,01 н раствор  $AgNO_3$ : растворяют 1,6987 г  $AgNO_3$  в 1 л дистиллированной воды;
- 7) 0,01 н раствор  $NaCl$  (готовится из фиксанала);
- 8) 5% раствор  $K_2CrO_4$ .

*Ход работы:*

1. Устанавливают титр  $AgNO_3$ . Для этого в 3 конические колбы на 250 мл вносят по 10 мл раствора  $NaCl$  и по 90 мл дистиллированной воды, прибавляют 5 капель  $K_2CrO_4$ . Содержимое колб титруют раствором  $AgNO_3$  до перехода лимонно-желтой окраски мутного раствора в оранжево-красную, не исчезающую в течение 15–20 сек.

2. Поправочный коэффициент к титру  $AgNO_3$  рассчитывают по результатам трех титрований.

$$K = \frac{30}{P_1 + P_2 + P_3}, \text{ где}$$

$P_1, P_2, P_3$  – объем в мл  $AgNO_3$ , использованный на каждое из трех титрований.

3. При содержании хлоридов менее 250 мг/л берут 100 мл фильтрованной испытуемой воды. При большем содержании хлоридов берут 10–50 мл. Испытуемую воду наливают в две конические колбы, доводят до 100 мл дистиллированной водой, прибавляют 5 капель раствора  $K_2CrO_4$ . Раствор в одной колбе титруют  $AgNO_3$ , а вторая колба используется для контроля.

4. Содержание хлорид-иона в воде рассчитывается по формуле:

$$X = \frac{P \cdot K \cdot 0,355 \cdot 1000}{V}, \text{ где}$$

$X$  – содержание хлорид-иона в мг/л;  $P$  – количество раствора  $AgNO_3$ , затраченное на титрование, мл;  $K$  – поправочный

коэффициент к титру;  $0,355$  – эквивалентное количество хлора, соответствующее  $1$  мл  $0,01$  н раствора  $\text{AgNO}_3$ , мг;  $V$  – объем исследуемой пробы, мл.

**Турбидиметрическое определение сульфат-ионов в природных объектах.** Турбидиметрический метод основан на измерении интенсивности света, прошедшего через коллоидный раствор.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

1) стандартный раствор сульфата калия, содержащий  $1$  мг  $\text{SO}_4^{2-}$ /мл:  $1,8125$  г сульфата калия растворить в  $1$  литре дистиллированной воды;

2) раствор  $\text{HCl}$  (1:1);

3) смешанный реактив (готовится за 1–2 суток до работы с ним; состоит из 5% раствора  $\text{BaCl}_2$ , этанола и этиленгликоля (1:3:3); после смешивания реагентов величину рН раствора доводят до 3 с помощью раствора  $\text{HCl}$  (1:1);

4) мерные колбы на  $100$  мл (8 шт.);

5) пипетки на  $5$  мл, на  $10$  мл;

6) КФК-2;

7) пробирки на  $25$ – $30$  мл.

*Ход работы:*

1. *Построение калибровочного графика.* В восемь мерных колб на  $100$  мл внесите стандартный раствор сульфата калия, содержащий  $1$  мг  $\text{SO}_4^{2-}$ /мл в количестве  $0$ ;  $1$ ;  $2$ ;  $3$ ;  $5$ ;  $10$ ;  $15$ ;  $20$  мл. Доведите объемы растворов до метки дистиллированной водой. Концентрации полученных растворов соответственно будут равны  $0$ ;  $10$ ;  $20$ ;  $30$ ;  $50$ ;  $100$ ;  $150$ ;  $200$  мкг  $\text{SO}_4^{2-}$ /мл. Из каждой колбы возьмите по  $5$  мл раствора, добавьте 1–2 капли раствора  $\text{HCl}$  (1:1) и  $5$  мл смешанного реактива. Все тщательно перемешайте и через  $40$  минут измерьте на КФК-2 интенсивность выходящего светового потока  $A$  при длине волны  $\lambda=315$  нм в кюветах с толщиной слоя 1–2 см относительно дистиллированной воды. По полученным данным постройте калибровочный график зависимости  $A = f(C\text{SO}_4^{2-}, \text{мкг/мл})$ .

2. *Анализ природных объектов.* В пробирку внесите  $5$  мл исследуемой пробы воды, добавьте 1–2 капли раствора  $\text{HCl}$  (1:1) и  $5$  мл смешанного реактива. Все тщательно перемешайте и через  $40$  минут измерьте на КФК-2 интенсивность выходящего светового потока  $A$  при длине волны  $\lambda=315$  нм в кюветах с толщиной слоя 1–2 см относительно дистиллированной воды. Содержание сульфатов (мкг/мл) определяется по калибровочному графику.

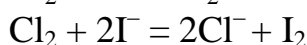
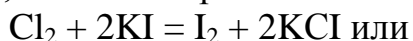
3. *Расчеты.* Содержание сульфат-ионов в воде рассчитывается по формуле:

$$X = \frac{C \cdot 10}{V},$$

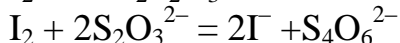
где  $X$  – содержание сульфатов в воде, мг/л;  $C$  – концентрация  $\text{SO}_4^{2-}$ , мкг/мл, найденная по калибровочному графику;  $V$  – объем пробы воды, взятый для анализа (5 мл); 10 – общий объем смеси, мл.

**Определение остаточного хлора в водопроводной воде.**

При наличии активного хлора в воде, в которую добавлен 10% раствор иодида калия при pH 4,6, появляется синяя окраска раствора, так как хлор вытесняет из KI свободный иод



Количество выделившегося иода определяется титрованием раствором тиосульфата:



Раствор обесцвечивается, когда весь иод связывается тиосульфатом натрия.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) коническая колба на 25 мл;
- 2) мерный цилиндр на 25 мл;
- 3) пипетки на 5 мл;
- 4) 10% раствор KI;
- 5) 1 н раствор  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ;
- 6) 1 н раствора  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ;
- 7) 1% раствор крахмала;
- 8) бюретка для титрования

*Ход работы:*

В коническую колбу 250 мл отмерить пипеткой 25 мл водопроводной воды, прибавить 5 мл 10% раствора KI, 5 мл ацетатной буферной смеси (готовят, смешивая равные объемы 1 н растворов  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 1 н раствора  $\text{CH}_3\text{COONa}$  и 1 мл раствора крахмала 1%).

Оттитровать пробу 0,005 н раствором  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  до исчезновения синей окраски раствора

$$\rho_{\text{Cl}_2} = \frac{V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot M_{\text{экв}}(\text{Cl}_2) \cdot 1000}{V(\text{H}_2\text{O})}, \text{ где}$$

$\rho_{\text{Cl}_2}$  – содержание остаточного хлора, мг/л;

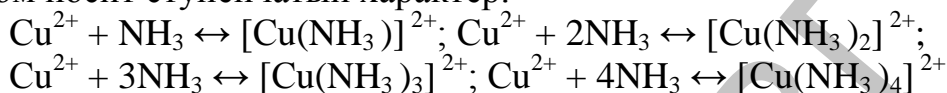
$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$  – объем рабочего раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , израсходованного на титрование пробы воды, мл;

$C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$  – молярная концентрация эквивалента рабочего раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ;

$M_{\text{экв.}}(\text{Cl}_2)$  – молярная масса эквивалента  $\text{Cl}_2$ ;

$V(\text{H}_2\text{O})$  – объем исследуемой воды, л.

**Фотометрическое определение меди в виде аммиачного комплекса.** Метод основан на образовании комплексного соединения ионов меди с аммиаком, обладающего интенсивной синефиолетовой окраской. Процесс взаимодействия ионов меди с аммиаком носит ступенчатый характер:



Так как устойчивость образующихся комплексов различается мало, то в растворе будет находиться смесь нескольких аммиакатов меди, количественное соотношение которых зависит от концентрации аммиака, присутствующего в растворе.

Окраска аммиаката меди обусловлена  $d \rightarrow d^*$  переходами вследствие расщепления основного электронного состояния ионов меди в поле лигандов.

Молярный коэффициент поглощения ( $E_\lambda$ ) тетрааммиаката меди при  $\lambda=640$  нм равен  $1 \cdot 10^2$ . Низкое значение  $E_\lambda$  позволяет определять достаточно высокие концентрации ионов меди.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) фотоколориметр;
- 2) кюветы с толщиной слоя 2 см;
- 3) рабочий раствор соли меди, содержащий 1 мг меди в 1 мл. Для приготовления одного литра этого раствора навеску 3,981 г сульфата меди  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  растворяют в мерной колбе, добавляют 25 мл 2М раствора серной кислоты и объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

- 4) 5% раствор аммиака;
- 5) мерный цилиндр объемом 10 мл;
- 6) мерные колбы объемом 50 мл (7 шт.)

*Ход работы:*

1. Для построения градуировочного графика готовят серию стандартных растворов. Для этого в мерные колбы на 50 мл переносят соответственно 5; 7,5; 10; 12,5; 15 и 17,5 мл рабочего раствора соли меди, добавляют в каждую колбу 10 мл 5% раствора аммиака мерным цилиндром и доводят объем до метки дистиллированной водой. Полученные стандартные растворы содержат соответственно 5; 7,5; 10; 12,5; 15 и 17,5 мг меди в 50 мл. Через 10 минут измеряют оптическую плотность растворов при длине волны 640 нм (красный светофильтр), используя кюветы с толщиной светопоглощающего слоя 2 см. Каждое измерение обяза-

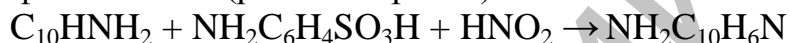


тельно повторяют 3 раза. По средним значениям в координатах  $A = f(C)$  строят градуировочный график.

2. В мерную колбу на 50 мл помещают 10 мл исследуемого раствора, прибавляют 10 мл 5% раствора аммиака, доводят раствор до метки дистиллированной водой и перемешивают. Через 10 минут измеряют оптическую плотность полученного раствора (3–5 раз) и по калибровочному графику определяют концентрацию в нем меди.

3. Концентрацию меди  $C$  мг/л определяют по формуле  $C = C_x \cdot 100$ , где  $C_x$  – концентрация меди, найденная по калибровочному графику.

**Определение нитритного азота.** Метод основан на способности нитритных ионов давать интенсивно окрашенные диазосоединения с первичными ароматическими аминами. При определении используется реакция с сульфосалициловой кислотой и  $\alpha$ -нафтиламином (реактив Грисса).



Чувствительность метода – 0,5 мкг в 1 л. При большом содержании нитритов исследуемую воду необходимо разбавлять.

Определению мешают взвешенные вещества, мутность, окраска воды, а также сильные окислители и восстановители. Мутность и цветность удаляют фильтрованием и коагулированием. К 300 мл пробы прибавляют 0,5 г активированного угля или гидроксида аммония. Влияние окислителей и восстановителей в сильно загрязненных пробах устраняют соответствующим разбавлением пробы дистиллированной водой.

*Оборудование, реактивы, материалы:*

1) фотоколориметр;  
2) кюветы с толщиной слоя 5 см;  
3) реактив Грисса, 10% раствор. Если нет готового сухого препарата, то его готовят: 0,1 г  $\alpha$ -нафтиламина растворяют в 100 мл дистиллированной воды при кипячении в течение 15 мин. Раствор охлаждают, добавляют 5 мл ледяной уксусной кислоты и 100 мл 1% раствора сульфаниловой кислоты. Смесь хранят в склянке из темного стекла;

4) уксусная кислота (конц.);

5) сульфаниловая кислота (тв.);

6) стандартные растворы нитрита натрия  $NaNO_2$ . Основной стандартный раствор: 4,927 г высушенного при  $110^{\circ}C$   $NaNO_2$  растворяют в мерной колбе на 1 л в дистиллированной воде, доводят до метки. 1 мл раствора содержит 1000 мкг азота нитритного. Рабочий стандартный раствор: разбавляют основной стандартный раствор дистиллированной водой в мерной колбе сначала в 50 раз,

а затем полученный раствор еще в 10 раз. 1 мл рабочего стандартного раствора содержит 2 мкг азота нитритного. Раствор консервируют прибавлением 1 мл хлороформа. Хранят в склянке из темного стекла;

7) мерные колбы объемом 100 мл (12 шт.);

8) пипетки на 1 мл, 5 мл.

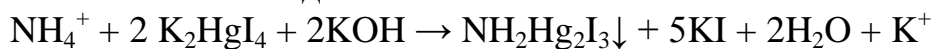
*Ход работы:*

1. Для построения градуировочного графика готовят серию стандартных растворов. Для этого в мерные колбы на 100 мл переносят соответственно 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0 мл рабочего стандартного раствора, что соответствует содержанию 0,2; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2; 3; 4 мкг нитритного азота. Добавляют в каждую колбу 5 мл 10% раствора реактива Грисса и доводят объем до метки дистиллированной водой. Через 40 минут измеряют оптическую плотность растворов при длине волны 530 нм (зеленый светофильтр), используя кюветы с толщиной светопоглощающего слоя 5 см по отношению к дистиллированной воде. Каждое измерение обязательно повторяют 3 раза. По средним значениям в координатах  $A = f(C)$  строят градуировочный график. Целесообразно строить два калибровочных графика, для содержания азота нитритов от 0 до 4 мкг и от 0 до 1,6 мкг.

2. 50 мл исследуемой пробы (в ней должно содержаться до 0,004 мг азота) помещают в мерную колбу на 100 мл, прибавляют 5 мл 10% раствора реактива Грисса и доводят раствор до метки дистиллированной водой. Через 40 минут раствор фотометрируют и по калибровочному графику определяют в нем концентрацию нитритного азота.

3. Содержание нитритного азота  $C$  мг/л определяют по формуле  $C = \frac{C_x}{V}$ , где  $C_x$  – концентрация нитритного азота, найденная по калибровочному графику (мкг);  $V$  – объем пробы, взятой для анализа (мл).

**Определение ионов аммония.** Ионы аммония определяют фотометрически по реакции с реактивом Неслера. Принцип метода основан на том, что аммоний с реактивом Неслера образует иодид меркураммония, который окрашивает раствор в желто-коричневый цвет. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию аммония в воде:



Так как соли кальция и магния, обычно содержащиеся в природных водах, при взаимодействии с реактивом Неслера могут выпадать в осадок, их связывают раствором виннокислого на-

трия-калия (сегнетова соль). Диапазон определяемых концентраций ионов аммония – 0,05–4 мг/л.

Как правило, в чистых природных водах содержится 0,01–0,1 мг/л аммонийных солей. Предельно допустимые концентрации аммиака в воде водоемов 2 мг/л (по азоту).

*Оборудование, реактивы, материалы:*

- 1) фотоколориметр;
- 2) электроплитка;
- 3) кюветы с толщиной слоя 1 см;
- 4) мерные колбы на 50 мл (7 шт.); 100 мл (3 шт.);
- 5) пипетки на 1 мл; 10 мл;
- 6) пробирки (7 шт.);
- 7) раствор сегнетовой соли  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  – растворяют 50 г соли при нагревании в дистиллированной воде, доводят раствор до 100 мл, перемешивают, фильтруют, добавляют 5 мл 10% раствора  $\text{NaOH}$  и кипятят 30 мин (для удаления следов  $\text{NH}_3$ ). Объем раствора вновь доводят до 100 мл;
- 8)  $\text{NaOH}$  (тв.);
- 9) сегнетова соль (тв.);
- 10) реактив Неслера (щелочной раствор тетраидомеркурата калия  $\text{K}_2\text{HgI}_4$ , торговый препарат);
- 11) безаммиачная вода – дистиллированную воду с добавкой щелочи (25 мл 5% раствора  $\text{NaOH}$  на 1 л воды) кипятят 1 час;
- 12) стандартный раствор  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Основной раствор: растворяют в безаммиачной воде 296,5 мг безводного  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , высушенного при 100°C, и разбавляют такой же водой до 100 мл; 1 мл полученного раствора содержит 100 мкг  $\text{NH}_4^+$ . Рабочий раствор: разбавляют безаммиачной дистиллированной водой 5 мл основного стандартного раствора до 100 мл; 1 мл полученного раствора содержит 5 мкг  $\text{NH}_4^+$ .

*Ход работы:*

1. Для построения градуировочного графика готовят серию стандартных растворов. Для этого в мерные колбы на 50 мл переносят соответственно 0, 1, 2, 3, 4, 6 и 10 мл стандартного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  концентрации 5 мкг  $\text{NH}_4^+$  в 1 мл. Разбавляют до метки безаммиачной водой, перемешивают, отбирают из каждой колбы по 10 мл и переносят в пробирки. Концентрация ионов аммония в растворах составляет 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6 и 1 мг/л. Добавляют в каждую пробирку 0,2 мл сегнетовой соли и 0,2 мл реактива Неслера, перемешивают и через 10 минут измеряют оптическую плотность растворов при длине волны 425 нм, используя кюветы с толщиной светопоглощающего слоя 1 см по отношению к дистиллированной воде. Каждое измерение обязательно повторяют

3 раза. Из полученных значений оптической плотности вычитают оптическую плотность холостой пробы. По средним значениям в координатах  $A = f(C)$  строят градуировочный график.

2. К 100 мл исследуемой пробы воды добавляют 0,2 мл сегнетовой соли и 0,2 мл реактива Неслера, перемешивают и через 10 минут измеряют оптическую плотность раствора. Из полученного значения оптической плотности вычитают оптическую плотность холостой пробы.

3. Концентрацию ионов аммония в пробе определяют по калибровочному графику.

**Определение свинца в биологическом материале.** В тканях животных и растений свинец может находиться в виде органических и неорганических соединений. Для определения общего количества свинца требуется предварительная минерализация для разрушения органических соединений свинца.

*Принцип метода.* Метод основан на определении свинца по реакции с хромовокислым калием после минерализации биологического материала.

Чувствительность метода: 0,05 мг в объеме 5 мл;

0,02 мг – в 1 л биологической жидкости.

*Аппаратура:* вытяжной шкаф, центрифуга, весы.

*Посуда:* колбы Кельдаля, химические стаканы, пипетки, мерные цилиндры, воронки.

*Реактивы:* 1.  $H_2SO_4$  концентрированная.

2.  $HNO_3$  концентрированная.

3. Хлорная кислота 35 мкл 55% (осторожно обращаться!).

4. Пергидроль.

5. Аммиак.

6. Дифениламин.

7. 30% раствор уксуснокислого аммония.

8. 10% раствор хромовокислого калия.

9. Этиловый спирт 95% и 30%.

10. Стандартный раствор азотнокислого свинца (1 мл содержит 1 мг свинца). В 100 мл воды растворяют 0,16 г азотнокислого свинца.

11. Рабочий раствор свинца (1 мл содержит 0,1 мг свинца). Готовят разведением стандартного раствора разведением в 10 раз 30% раствором уксуснокислого аммония.

12. Аммиачная смесь: к 100 мл воды добавляют 10 мл аммиака и 30 мл 95% этанола.

13. Лакмусовая бумага.

Все реактивы должны быть проверены на ион свинца. Таким же образом обрабатывают контроль на реактивы.

Для анализа в две колориметрические пробирки берут по 5 мл фильтрата из опытной и контрольной проб. Одновременно готовят стандартную шкалу с содержанием от 0 до 0,05 мг свинца в 0,005 мг (0; 0,005; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030; 0,035; 0,040; 0,045; 0,05 мг). Во всех пробирках шкалы и исследуемых проб объем жидкости доводят до 5 мл 30% раствором уксуснокислого аммония. Затем прибавляют по 5 капель (0,5 мл) хромовокислого калия, переливают и через 10–15 минут сравнивают степень помутнения раствора пробы со стандартной шкалой на черном фоне.

Количество свинца рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 10}{5} = a \cdot 2 \text{ мг/г},$$

где  $a$  – количество свинца в пробе шкалы, которой соответствует проба, в мг;

5 – объем пробы, взятой для анализа;

10 – объем всей пробы.

**Определение железа в биологическом материале.** Железо является одним из важнейших химических элементов живой природы. В организме животных и человека железо содержится в виде различных органических и неорганических соединений. Наиболее важными железосодержащими органическими соединениями являются: гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза и пероксидаза и ряд других соединений.

*Принцип метода.* Железо при взаимодействии с сульфосалициловой кислотой образует комплексное соединение желтого цвета. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию железа.

*Аппаратура:*

1. Фотоэлектроколориметр.
2. Колбочки Кельдаля на 25–30 мл.
3. Весы.

*Реактивы:*

1. 20% раствор сульфосалициловой кислоты.
2. 10% раствор аммиака.
3. Смесь равных объемов азотной и серной кислот.
4. Пергидроль.
5. Стандартный раствор железа, содержащий 0,1 мг железа в 1 мл. Рабочий раствор готовят разведением в 10 раз.

*Ход анализа.* В колбу Кельдаля вносят 50–100 мг ткани (в зависимости от содержания железа), 3 мл смеси кислот, оставляют на сутки и затем сжигают, добавляя по несколько капель пергидроля в горячую смесь до полного обесцвечивания. Следует вносить пергидроль в горячую смесь, не касаясь стенки колбочки.

После охлаждения добавляют 3 мл дистиллированной воды и кипятят 2 минуты. После охлаждения приливают 0,2 мл 20% раствора сульфосалициловой кислоты и прибавляют аммиак по каплям до перехода красного цвета в желтый. Объем доводят водой до 5 мл, переливают и колориметрируют (синий светофильтр) в кювете с рабочей длиной 10 мм.

Одновременно ставят контроль на реактивы, где вместо ткани берут воду.

*Расчет.* Из экстинкции опытной пробы вычитают экстинкцию контрольной пробы. Полученную величину сопоставляют с заранее приготовленной калибровочной кривой, которую строят на растворах железа с калибрациями 0,01; 0,2; 0,4; 0,08 мг, обработанных аналогично опытным пробам.

Содержание железа выражают в мг на грамм ткани по формуле:

$$X = \frac{E_{оп.} \cdot a}{E_{ст.}} \cdot 10,$$

где X – содержание железа в 1 грамме ткани;

$E_{оп}$  – экстинкция опытной пробы;

$E_{ст}$  – экстинкция стандартной пробы;

10 – коэффициент перерасчета на 1 грамм ткани.

**Определение легко отщепляемого железа по С.Д. Балаховскому и И.С. Балаховскому в модификации К.М. Маленковой.** *Принцип метода:* сыворотку крови подвергают действию слабой соляной кислоты; после осаждения белков в фильтрате определяют легко отщепляющееся железо по цветной реакции с роданистым калием.

*Аппаратура:* 1. Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр. 2. Термостат на 37°.

*Посуда:* 1. Пробирки с притертыми пробками. Центрифужные пробирки. Пипетки на 1 и 2 мл.

*Реактивы:*

1. 1,2% раствор соляной кислоты.
2. 0,3% раствор соляной кислоты. Готовят из 1,2% раствора разведением в 4 раза.
3. 20% раствор трихлоруксусной кислоты.
4. Смесь равных объемов 0,3% соляной и 20% трихлоруксусной кислот.
5. 10% раствор роданистого калия.
6. Пероксидный эфир: 0,5 мл 0,3% раствора перекиси водорода, приготовленного из пергидроля, хорошо встряхивают в делительной воронке с 25 мл эфира и отделяют от водной фазы. Следует по возможности применять свежеприготовленным.

7. Стандартный раствор железа в 0,3% растворе соляной кислоты. Готовят из невыветрившихся кристаллов железоаммиачных квасцов: растворяют 0,4822 г в 1 л 0,3% раствора соляной кислоты, 1 мл содержит 0,001 моля железа и служит основным раствором. Из него готовят рабочий раствор разведением основного раствора в 10 раз 0,3% раствором соляной кислоты. Раствор стоек.

*Ход анализа.* 2 мл сыворотки или плазмы вносят в центрифужную пробирку, прибавляют 1 мл 1,2% раствора соляной кислоты и оставляют стоять в термостате при 37° на 1 час. Затем прибавляют 1 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты и оставляют еще на 1 час при комнатной температуре. Центрифугируют и прозрачную жидкость сливают в чистую пробирку.

В пробирку с притертой пробкой вносят 1 мл центрифугата (соответствует 0,5 мл сыворотки), добавляют 0,5 мл смеси соляной и трихлоруксусной кислот, тщательно перемешивают. Затем приливают 1 мл 10% раствора роданистого калия, хорошо встряхивают и быстро добавляют 1 мл пероксидного эфира. Пробирку закрывают пробкой, встряхивают и оставляют для расслаивания жидкостей.

Через 15–20 минут берут 0,5 мл верхнего слоя и фотометрируют при длине волны 520 нм. Одновременно ставят контроль на реактивы, где вместо крови берут воду.

*Расчет.* Из экстинкции опытной пробы вычитают экстинкцию контрольной пробы. Количество железа вычисляют по калибровочной кривой, которую строят следующим образом. В ряд пробирок вносят 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мл рабочего раствора железа, добавляют 0,3% раствора соляной кислоты до объема 0,5 мл и обрабатывают аналогично опытной пробе в условиях, соответствующих условиям опыта. Содержание легко отщепляющегося железа выражают в мкм/л.

## Глава 5. ПОЛЕЗНЫЕ СОВЕТЫ

### 5.1. Общение на научном мероприятии (по П.А. Косинцеву, 2004)

Участие в научных мероприятиях – конференциях, школах, семинарах, симпозиумах – важная составляющая деятельности ученого. Эмоциональный рассказ о научных фактах и гипотезах, живое обсуждение и дискуссии по разным проблемам обеспечивают эффективное усвоение новой информации, расширяют кругозор, нередко провоцируют на критический пересмотр собственных представлений и стимулируют рождение новых идей.

Соблюдение определенных правил поведения на научном мероприятии:

- создает комфортные условия работы для всех участников;
- снижает вероятность возникновения и силу проявления негативных эмоций;
- повышает эффективность прямого общения с коллегами.

Правил общения, специфических для научных мероприятий, нет – они общие почти для любого собрания:

- соблюдайте регламент, предложенный организаторами мероприятия;
- уважайте мнение собеседника (оппонента, докладчика, спрашивающего);
- будьте доброжелательны;
- говорит только один (на сессиях устных докладов, «круглых столах»);
- старайтесь соответствовать своим внешним видом уровню и месту проведения мероприятия; если Вам выдали бейдж – наденьте его, это упростит для оргкомитета и участников Вашу идентификацию;
- следует запастись визитными карточками (их формат гораздо менее важен, чем наличие).

Участвуя в работе сессий устных докладов:

- старайтесь не опаздывать к началу заседания;
- опоздав, не входите в зал заседаний во время доклада – дождитесь перерыва между докладами;
- **отключите мобильный телефон (!)**; в случае острой необходимости в оперативной связи переключайтесь в режим вибровызова или минимальной громкости звонка;
- выслушав интересующий доклад, не спешите покинуть зал заседаний, демонстрируя присутствующим свое пренебрежение к следующему докладу; если Вы знаете, что должны будете выйти до конца заседания, выбирайте место ближе к выходу из зала и в задних рядах;



- будучи докладчиком, перед началом заседания представьтесь Председателю;
- если известно, что Вы сами не будете управлять презентационным оборудованием во время доклада, подготовьте еще один экземпляр текста доклада с указанием места или времени переключения слайдов, иллюстраций и т.п.

Задавая вопрос докладчику на сессии устных докладов:

- поднимите руку и дождитесь, когда Председатель даст Вам слово;
- вопрос задавайте стоя, не очень прилично задавать вопрос сидя, ведь докладчик стоит (!);
- по возможности, задавайте вопрос кратко и ясно;
- после ответа, если он Вас не удовлетворил, дождитесь разрешения Председателя на уточняющий вопрос; если ответ Вас удовлетворил, поблагодарите докладчика;
- собственно во время заседания старайтесь не высказывать свое отношение к докладу или докладчику, для обсуждения докладов обычно выделяется специальное время.

Участие в работе сессий постерных докладов регламентировано менее жестко. Будучи докладчиком, не отходите далеко от постера и имейте бейдж. Заинтересовавшись докладом, представьтесь, прежде чем задавать вопросы.

## **5.2. Зарубежная текущая библиография (по И.В. Братцевой, 2004)**

Зарубежная текущая библиография по естествознанию представлена в основном библиографическими и реферативными базами данных (БД). Большинство БД распространяются на компакт-дисках, к некоторым возможен доступ через Интернет. Наиболее распространенные и авторитетные БД по естествознанию и технике приведены ниже.

***Current Contents*** (Institute for Scientific Information, USA) – электронный аналог одноименного печатного издания, включает оглавления ведущих научных журналов мира.

***Science Citation Index (SCI)*** (Institute for Scientific Information, USA) – отражает статьи и сделанные в них ссылки более чем из 3400 лучших научных журналов 70-ти стран мира; благодаря РФФИ доступна для всех академических институтов с сайта Электронной научной библиотеки (охватывает период с 1991 по 2007 г.) – <http://wos.elibrary.ru/wos/ciw.cgi/>.

***CONFSCI (Conference Papers Index)*** (Cambridge Scientific Abstracts, USA) – библиографическое описание докладов на конференциях и симпозиумах.

**PASCAL** (*Programme Applique a le Selection et a la Compilation Automatique de la Literature*) (Franch National Research Council) – политематическая БД по всем отраслям естествознания, отражает статьи из периодических и продолжающихся изданий, сборников, монографии, отчеты, материалы конференций, диссертации; формируется на английском и французском языках.

**Biological Abstracts** (BIOSIS) – информация о статьях из журналов по всем отраслям биологии.

**MEDLINE** (*Medical literature analysis and retrieval system on-LINE*) (National Library of Medicine) – статьи в области медицины, молекулярной биологии и биохимии из 4200 журналов.

### 5.3. Электронные информационные ресурсы

В сети Интернет представлены огромные массивы информации. Важно не утонуть в этом море и найти именно то, что Вам необходимо. Используйте поисковые системы общего назначения:

**Яндекс:** русскоязычный Интернет – <http://www.yandex.ru/>;

**Рамблер:** русскоязычный Интернет – <http://www.rambler.ru/>;

**Google:** русско- и англоязычный Интернет – <http://www.google.com/>;

**Yahoo:** англоязычный Интернет – <http://www.yahoo.com/>;

**AltaVista:** англоязычный Интернет – <http://www.altavista.com/>.

Для поиска библиографической информации используйте поисковые системы специального назначения:

**Scirus:** поиск библиографии <http://www.scirus.com/srsapp/>;

**ISI:** Институт научной информации (библиография, цитирование) – <http://wos.elibrary.ru/wos/ciw.cgi/>.

Не забывайте, что эффективность поиска зависит от того, насколько правильно был сформулирован запрос и набраны ключевые слова. Во всех поисковых системах существует так называемый «расширенный поиск» с разветвленной логикой запросов (операторы AND, OR, NOT). Лучше потратить время на составление и отладку запроса, чем просматривать сотни случайно отобранных страниц.

Поиск можно начать с этих мест в Интернете:

<http://vm.cfsan.fda.gov/~frf/biologic.html/>;

<http://biodiversty.uno.edu/>;

<http://vlib.org/>;

<http://media.lib.kth.se/ejournal/>.

Сайты крупных органов НТИ и библиотек России, на которых бывает открыт полнотекстовый доступ к российским и зарубежным журналам:

**ВИНИТИ** – <http://www.viniti.msk.ru/>;

**Государственная публичная научно-техническая библиотека России** (ГПНТБ России) – <http://www.gpntb.ru/>;

**Библиотека Российской академии наук** – <http://www.csa.ru/>;  
**Российская национальная библиотека** – <http://www.nlr.ru/>;  
**Библиотека по естественным наукам РАН** – <http://www.benran.ru/>;  
**Государственная публичная научно-техническая библиотека  
Сибирского отделения Российской академии наук (ГПНТБ СО  
РАН)** – <http://www.spsl.nsc.ru/>;  
**Корпоративная сеть библиотек Урала, сводный электронный  
каталог** – <http://consensus.eunnet.net/>;  
**Свердловская областная научная библиотека им. В.Г. Белин-  
ского** – <http://book.uraic.ru/>;  
**Библиотека Конгресса США** – <http://www.copyright.ru/loc/index.html/>.

#### **5.4. Справочно-библиографический аппарат библиотек на бумажных носителях**

##### **5.4.1. Каталоги**

При поиске научной информации не следует игнорировать традиционные карточные каталоги и картотеки библиотек, хотя бы потому, что, перебирая карточки каталога в поисках вполне определенной информации, часто находится информация «неожиданно полезная». Существует сложная система каталогов и картотек, назначение которых – возможно полное раскрытие фонда библиотеки. В качестве примера можно рассмотреть структуру каталогов научной библиотеки ИЭРиЖ.

*Алфавитный каталог* наиболее удобен в использовании, если Вы знаете автора книги или название сборника; он дает возможность установить наличие интересующей книги в библиотеке.

*Систематический каталог* отражает те же книги, что и алфавитный, но группирует их описания в логическом порядке соответственно их содержанию по разным отраслям знания; классификация может быть различной в разных библиотеках, в ИЭРиЖ – это УДК (Универсальная десятичная классификация); он дает возможность установить наличие в библиотеке книг по интересующей теме.

*Алфавитный каталог авторефератов и диссертаций* построен в алфавитном порядке фамилий авторов.

*Алфавитный каталог периодики* – перечень отечественных и иностранных журналов, включающий основное описание журнала, годы, тома, номера и выпуски, которые есть в библиотеке.

*Алфавитный каталог продолжающихся изданий* построен в алфавитном порядке коллективных авторов (названия организаций) трудов, ученых записок, бюллетеней. Научные учреждения ведут также *картотеки трудов* своих сотрудников. В ИЭРиЖ она создана в 1945 году. Группируется материал по персональным рубрикам, внутри них – в обратной хронологии публикаций, в пределах года – по заглавию работ.

#### **5.4.2. Справочники**

К справочно-библиографическому аппарату библиотек относятся печатные справочные издания: универсальные и отраслевые энциклопедии, справочники (издания, содержащие краткие сведения научного, производственного или прикладного характера с большими объемами статей и наличием списков литературы к ним), словари (толковые, лингвистические, отраслевые, терминологические, двуязычные и многоязычные).

#### **5.4.3. Библиографические материалы**

Не существует единого указателя, в котором были бы собраны все работы по биологии за какой-либо период. Поэтому при поиске литературы за прошедшие годы приходится пользоваться несколькими взаимно дополняющими источниками. Репертуар ретроспективной библиографии чрезвычайно богат. Несмотря на то, что большинство указателей было издано достаточно давно, значения своего они не утратили.

#### **5.5. Как написать научную статью (по Д.В. Веселкину, 2004)**

*Использованы материалы:*

1) Эллиотт С.М., Литвинов Б.В. *Основные правила опубликования научно-технических статей в западных технических журналах* (<http://www.vniitf.ru/rig/books/cilia/cilia.html>)

2) Калугев А.В. *Что полезно знать ученому перед тем, как писать свой труд. Центр физиолого-биохимических проблем. – 3-е изд., перераб. и доп. – Киев, 2001* (<http://www.nature.ru/db/msg.html?mid=1159261&uri=index.htm>)

3) Владимиров Ю.А. *Как написать научную статью* (<http://travmatology.narod.ru/naust.html>)

4) *Как написать и опубликовать научную статью* (<http://www.andronet.ru/CONTENT/pravstat.html>)

Научная публикация – основной, а в фундаментальной науке – практически единственный результат деятельности ученого. Соответственно, написание публикаций – основное занятие ученого. Главная цель научной публикации для автора – сделать свою работу достоянием других исследователей и обозначить свой приоритет в избранной сфере исследований. Это достигается публикацией трех блоков информации: 1) результаты исследований; 2) результаты анализа; 3) сообщение о себе, как об авторе(ах) исследований и/или анализа. С точки зрения читателя, публикация выполняет иную цель. Она должна содержать краткий, но в то же время подробный отчет о проведенном исследовании, так же как и объективное обсуждение его значения. Отчет должен содержать достаточное количество данных и ссылок

на опубликованные источники информации, чтобы коллегам можно было оценить и самим проверить работу. Написать хорошую публикацию – значит достичь этих двух целей.

При всем многообразии форм научных публикаций наиболее важная из них – статья в журнале или другом периодическом или неперидическом издании. Монографии пишутся редко, а краткие публикации (тезисы докладов) не позволяют в должной мере ни отразить результаты, ни обсудить их. Во многих случаях, например, при написании заявки на поддержку исследований в солидные фонды или в мировых базах цитирования, тезисы докладов вообще не учитываются как публикации.

Можно выделить четыре основных условия успешной писательской деятельности: грамотное мышление, изложение, цитирование и оформление.

**Грамотное мышление.** Чтобы написать хорошую публикацию, необходимо грамотно думать. Например, перед началом работы над рукописью и после окончания работы ответьте на следующие вопросы. «Надо ли писать то, что Вы желаете изложить? Представляет ли Ваш материал научный интерес?» Можно запросить работы, представляющие интерес для Вашей статьи. Dear Dr. .... I would greatly appreciate receiving a copy of your article: ..... published in ..... Best regards, ..... (почтовый адрес) или Dear Dr. .... Please send me a copy of your article: ..... published in ..... Best regards, ..... (почтовый адрес). Если адрес электронной почты в публикации отсутствует, не отчаивайтесь, воспользуйтесь поисковыми системами Интернета. Обычно без больших проблем можно найти сайт организации, где работает автор. И уже на этом сайте разыскать адрес его электронной почты. Соответствуют ли методы работы, фактические результаты и выводы поставленным задачам? Соответствуют ли использованные методы сбора, обработки и анализа материалов структуре фактических данных? Помните, что методические ошибки – самые серьезные из возможных ошибок на этапе непосредственного выполнения работы. Во многих областях науки процедуры отбора и обработки исходных данных предельно стандартизированы. Соответствуют ли интерпретация и выводы фактическим данным? При отрицательном ответе на любой из этих вопросов следует или отказаться от публикации, или выполнить исследование заново, или переписать работу (переформулировать задачи и название работы, внести другие исправления).

**Грамотное изложение.** Чтобы написать хорошую статью, необходимо соблюдать стандарты построения общего плана научной публикации и требования научного стиля речи. Это обес-

печивает однозначное восприятие и оценку данных читателями. Основные черты научного стиля: логичность, однозначность, объективность. Логичность подразумевает жесткую смысловую связь на всех уровнях текста: информационных блоков, высказываний, слов в предложении. Важное условие понимания прочитанного – простота изложения, поэтому одно предложение должно содержать только одну мысль. Однозначность утверждений достигается правильным использованием научных терминов. В биологии особое значение имеет правильное наименование видов и других таксонов. При этом необходимо руководствоваться требованиями кодексов биологической (зоологической, ботанической) номенклатуры и сверяться с наиболее авторитетными сводками по анализируемой группе организмов. Требование объективности научной речи обуславливает недопустимость личных и эмоциональных оценок и высказываний. Но это не означает, что писать обязательно надо сухим, казенным языком. Научный текст – это не художественное произведение, но читать его должно быть также интересно, как детективный роман. Минимальному искажению мысли автора при ее восприятии читателем способствует также правильное построение абзаца. Например, предложение, открывающее абзац, должно быть тематическим – содержать вопрос или краткое вступление к последующим данным. Затем следует собственно информация – данные, идеи, обсуждения. В этой части обычно производится обсуждение иллюстраций. Закрывается абзац предложением, содержащим вывод – некоторое обобщение сказанного.

**Грамотное цитирование.** Чтобы написать хорошую статью, необходимо не только знать и учитывать, но и грамотно цитировать труды предшественников. Пространственная, временная и интеллектуальная целостность научного сообщества возникает во многом благодаря цитатным связям ученых. При приведении или обсуждении чьих-либо конкретных результатов старайтесь цитировать первоисточники, а не извлекайте отдельные факты из обзорных работ. Обзоры используйте обязательно, но именно как обзоры (!), указывая, например, что такой-то, обобщив то-то, пришел к тому-то. Разграничивайте степень достоверности цитируемых данных, обращая внимание на их завершенность: теория, обобщение, гипотеза или факт. Старайтесь не цитировать работы из реферативных журналов и не увеличивайте искусственно объем списка цитируемых публикаций, перенося в него работы из списков других авторов.

**Грамотное оформление.** Чтобы получилась хорошая публикация, необходимо грамотно оформить:

- иллюстративную часть публикации (таблицы, графики, рисунки, фотографии);
- статистическую (математическую) часть публикации;
- цитатные ссылки в тексте и пристатейный список литературы.

Если у Вас нет желания соблюдать изложенные требования – не соблюдайте, но и не расстраивайтесь из-за отказов в публикации и критики, поступающей на Ваши рукописи. Если Вы желаете донести свои результаты и идеи до коллег, быть воспринятым научным сообществом, Вам придется придерживаться определенных правил.

### **5.5.1. Работа над статьей**

Перед тем как начать писать, полезно ответить на следующие вопросы и держать ответы в голове, а лучше на листочке перед собой (!), в течение всего времени работы над статьей.

1. Какова основная цель Вашей работы? Ответ поможет четко определить и выдержать формат изложения:

- описываете ли Вы новые и важные результаты исследований (экспериментальная статья – наиболее распространенный тип);
- даете ли Вы новое толкование ранее опубликованным результатам (сводная аналитическая статья; используется для выдвижения и обоснования крупной гипотезы);
- делаете ли Вы обзор литературы или крупной темы.

2. В чем состоит отличие этой работы от других работ по данной теме, ее новизна:

- какой новый вклад в науку дают результаты;
- печатался ли этот материал ранее;
- какое он имеет отношение к другим работам в этой области.

3. Где будет опубликована статья, на кого она ориентирована? Желательно познакомиться с «Правилами для авторов», чтобы с самого начала стараться выдержать требования редакции конкретного журнала.

Следующий этап работы – определение **идеи** или **основной гипотезы**. Безусловно, она у Вас давно есть, раз Вы надумали писать статью. Однако проанализировать ее не помешает. Идея должна быть простой. В идеале в статье должен быть задан один вопрос и содержаться такой объем информации, который позволяет исчерпывающе на него ответить. Сформулируйте рабочие гипотезы, продумайте весь возможный спектр ответов на основной вопрос статьи: и те, которые Вы собираетесь доказать, и те, которые намерены опровергнуть. Если Вам это удалось, считайте, что статья наполовину написана – во всяком случае, Вы имеете название.

**Название.** Это очень важный элемент статьи! Поэтому помните: не вникнув в смысл названия статьи, многие просто не станут читать Ваш труд. Основные достоинства названия – краткость и ясность. В большинстве рекомендаций длина заголовка ограничивается 10–12 словами. Работа над приданием заголовку краткости, содержательности и выразительности – работа непростая, поэтому не бойтесь переделывать заголовок много раз. Ключевые слова, отражающие суть работы, старайтесь ставить в начале. Название должно в большей степени характеризовать проблему, над которой Вы работаете, чем полученные Вами результаты.

**Структура статьи.** Экспериментальная статья обычно строится по единому стандарту:

- введение (основной вопрос, на который в нем предстоит ответить – «Зачем это надо?»);
- описание материала и методов работы («Как это получено?»);
- результаты («Что, где и когда наблюдается?»);
- обсуждение, заключение и/или выводы («Почему это наблюдается и что это означает?»);
- список цитированных источников.

Обычно статья включает также «Реферат» и «Ключевые слова». В обзорных и аналитических статьях некоторые разделы опускаются, а рубрикация может быть существенно сложнее.

**Введение** имеет целью:

- определить гипотезу;
- дать вводную информацию;
- объяснить, почему Вы предприняли исследование;
- критически проанализировать исследования в данной области;
- показать актуальность темы.

Нередко «Введение» пишется на последнем этапе, после изложения результатов и их обсуждения, то есть «под результат». Это не страшно. Во всяком случае, проверить соответствие «Введения» остальным частям статьи после завершения работы необходимо. Однако написание «Введения» в начале работы над статьей структурирует процесс мыслительной активности автора и дальнейшее изложение. Само «Введение» необходимо проанализировать по следующим ключевым пунктам:

- четко ли сформулированы цели и исходные гипотезы, если они существуют;
- нет ли противоречий;
- упомянули ли Вы основную использованную литературу;
- подчеркнули ли Вы актуальность и новизну работы.



**Методы исследований.** Смысл информации, излагаемой в данном разделе, в том, чтобы другой ученый достаточной квалификации смог воспроизвести исследование, основываясь на приведенных методах. В статьях по биологической тематике в этом разделе принято описывать место, время, условия проведения исследований, при необходимости объект исследований, объем и структуру материала, план эксперимента для экспериментальных работ, использованные лабораторные и статистические процедуры. Обязательно укажите ограничения и допущения для использованных методов и пути их «обхода», если это предпринималось. Отсылка к литературным источникам без описания сути метода возможна только при условии его стандартности или в случае написания статьи для узкоспециализированного журнала. При ориентации на широкий круг читателей (или при комбинации исследовательских подходов из нескольких научных дисциплин) методы должны быть изложены предельно подробно. При использовании сложного экспериментального или аналитического оборудования, от работы которого последующие результаты существенно зависят, указывайте марку прибора и производителя, так же как и производителей уникальных веществ, программных продуктов и пр. При необходимости в «Методах» следует давать определение используемых терминов.

**Результаты.** Основной раздел, цель которого – показать, какими данными подтверждается рабочая гипотеза (гипотезы). При структуре статьи, включающей отдельные разделы «Результаты» и «Обсуждения», в результатах следует описывать только данные. К вопросам «Почему результаты таковы?» и «Что они означают?» следует обращаться только в том объеме, в каком это необходимо для сохранения логики повествования. Результаты, как правило, наиболее насыщены иллюстрациями – таблицами, графиками, фотографиями, которые несут основную функцию доказательства, представляя в свернутом виде Ваш исходный материал. Важно, чтобы данные иллюстраций не дублировали текст. В текстовой части в идеале должны приводиться только объяснения значений данных таблиц и рисунков и разъясняться логика перехода к последующему блоку данных или к следующему шагу анализа. Повествовательная текстовая часть уподобляется, таким образом, ниточке, на которую нанизываются отдельные бусины – Ваши фактические данные. Оформление иллюстраций жестко регламентируется всеми журналами и редакциями, поэтому обязательно сверяйтесь с «Правилами для авторов». Некоторые общие рекомендации при подготовке иллюстративных материалов следующие:

- надписи, цифровые и текстовые обозначения на рисунках должны быть пропорциональны масштабу изображения; на рисунках биологических объектов обязательно приводится масштаб измерений;
- для числовых данных в рисунках и таблицах (и в тексте) выбирайте единицы измерения таким образом, чтобы максимум данных приходилось писать с минимальным количеством нулей до или после десятичного знака;
- расшифровывайте все подписи, обозначения и сокращения в таблицах и рисунках.

**Обсуждение результатов.** Обсуждение результатов может быть вынесено в отдельный раздел, но может входить и в раздел «Результаты». Важно, чтобы такое обсуждение было. Задача этого раздела объяснительная. Обсуждение должно показать, почему представленные результаты именно таковы, и как они соотносятся с основной идеей статьи. В «Обсуждении» надо указать характерные особенности результатов работы, оценить пределы работы, т.е. те рамки, в которых правомерны выводы из результатов работы. Практически никогда не бывает так, чтобы полученные результаты можно было бы с очевидностью распространить на смежные области знаний. Чем на больший круг смежных областей знаний Вы хотите распространить свои выводы, тем труднее это будет доказывать. Результаты, полученные в ограниченной области знаний или с помощью только одной методики, можно будет распространить не дальше возможностей примененной методики. Необходимо сравнить представленные в статье результаты с предыдущими работами в этой области, как Вашими, так и других авторов. Такое сравнение лучше выявит новизну Вашей работы, чем словесные доказательства, неподтвержденные фактами. Высшая ценность работы – ее объективность!

**Заключение и выводы.** В этом разделе необходимо сопоставить полученные результаты с начальной целью проведения работы. Насколько они совпадают? Чему способствует Ваша статья? Чем Вы обогатили науку? Важно в этом разделе определить значение Ваших результатов для дальнейших исследований. Ответьте на вопрос: какие направления для будущей работы предполагают Ваши результаты? А может быть, Ваши результаты выявили тупиковую ситуацию, и продолжение работ бессмысленно? Отрицательных результатов в науке не бывает, даже если они указывают на необходимость отказа от выбранного направления исследований. Лучше быть честным до конца. Чем раньше Вы выявите перспективность или безнадежность дальнейших работ, тем меньше лет своей жизни потеряете на пути к успеху. Други-

ми словами, от Вашей объективности зависит успех или неудача Вашей работы.

**Реферат.** Этот раздел готовится последним. Характерная черта хорошего реферата – освещение ключевых моментов без их детализации. Большинство журналов ограничивают размер реферата, который должен строго соответствовать статье и отражать следующие моменты:

- цель исследования;
- использованные методы или технологии;
- основные результаты;
- авторские (т.е. Ваши) выводы.

**Список цитированной литературы.** Еще один очень важный элемент. Большинство журналов не примут Вашу статью, если список литературы будет составлен не по правилам. Причина этого понятна: если Вы не справились даже с литературой, что говорить о самой статье.

При финальной проверке статьи следует ответить на такие вопросы.

Объяснили ли Вы, зачем делали данную работу? Достаточно ли полно изложены принципы и методы исследования для того, чтобы Ваши результаты могли быть независимо проверены коллегами? Достаточно ли полно представлены и описаны фактические данные – по отношению к самим данным и последующим выводам? Обсудили ли Вы именно те смысловые аспекты, вытекающие из представленных данных, которые хотели бы или следовало бы обсудить? Оформлена ли рукопись в соответствии с требованиями редакции? Требования к объему, содержанию, рубрикации и оформлению статей различные в разных журналах. Поэтому техническую доработку и оформление статьи необходимо проводить в соответствии с «Правилами для авторов». Эти правила регулярно публикуются журналами и часто доступны в электронном виде, например:

- 1) <http://www.maik.rssi.ru/win/journals/biology.htm> – список журналов биологического профиля, выпускаемых Международной академической издательской компанией «Наука/Интерпериодика»; на страничках журналов представлены правила для авторов;
- 2) <http://herba.msu.ru/russian/index.html> – список российских ботанических изданий с правилами публикаций в некоторых из них;
- 3) <http://www.mco.edu/lib/instr/libinsta.html> – правила публикаций в более чем 2-х тысячах зарубежных научных журналов.

Важно: после окончания работы над рукописью дайте ей «полежать». Просмотрите ее свежим взглядом через неделю, две или месяц. Обсудите статью с коллегами, в частной беседе или

на семинаре. В случае необходимости внесите поправки. Самое важное: не затягивайте совершенствование до бесконечности, обязательно отправьте статью в редакцию!

### **5.5.2. Тезисы доклада**

Более чем вероятно, что первым опытом научной публикации для начинающего исследователя будет не статья, а краткая публикация. Наиболее распространенный ее вид – **тезисы доклада**. В исходном понимании тезисы – это отнюдь не маленькая статья, а совершенно особый тип публикации. Тезисы обычно издаются до начала какого-либо научного мероприятия и позволяют ознакомиться с тем, что собирается высказать докладчик в своем сообщении. Таким образом, одно из отличий тезисов от статьи в том, что написание тезисов преследует цель заинтересовать собравшихся, обеспечить некоторую рекламу доклада и (или) докладчика. Соответственно, они могут (но совсем не обязательно должны) быть более броскими, более провокационными. Обычный формат тезисов доклада близок к формату «Реферата» научной статьи (цель исследования, методы, основные результаты, выводы). Но вполне допустимо, что в тезисах доклада не отражаются некоторые обязательные для статьи разделы, например, «Материалы и методы» или «Результаты», а акцент делается на формулировке проблемы или на изложении гипотезы, которую автор намерен доказать в своем выступлении. В кратких публикациях, издаваемых после научного мероприятия, которые также принято называть тезисами, свободы для творчества меньше, так как рекламная функция публикации отпадает.

**5.5.3. Цитатные ссылки в тексте и пристатейный список литературы** можно подготовить по материалам:

- 1) *Сергеев Н.М. Этика соавторства и этика цитирования // Российский химический журнал. – 1999. – № 6. (<http://www.ibmh.msk.su/vivovoco/VV/PAPERS/ECCE/ETHICS/SERG.HTM>)*
- 2) *Батыгин Г.С. Лекции по методологии социологических исследований: учебник для студентов гуманитарных вузов и аспирантов. – М., 2002. – Гл. 7. Подготовка научной публикации (<http://www.i-u.ru/biblio/archive/batigin%5Flection/8.aspx>)*

Регулярная научная работа обязательно основывается на предыдущих результатах, поэтому научные статьи и другие значительные по объему публикации содержат библиографические ссылки в качестве документального подтверждения знания этих результатов. Помните: использование в работе чужих идей, данных, методов или воспроизведение текста без ссылки на их авторов – это плагиат, одно из главных нарушений научной этики! Приводимые в публикации библиографические сведения дают

возможность читателю быстро определить связь работы с предшествующими исследованиями и показать ее источниковедческую базу, во многих случаях позволяют составить представление о научных позициях автора, его принадлежности к определенной научной школе, проверить фактическую достоверность приводимых данных.

Практика показывает, что специалист, знакомясь с новой публикацией, часто просматривает ее в такой последовательности: «Название» – «Реферат» – «Список литературы» – «Выводы» – «сама публикация». Это свидетельствует о существенной важности правильного подбора и оформления ссылок и их библиографических описаний. Ссылка производится в двух случаях: а) когда упоминается произведение и б) когда воспроизводятся чужой текст либо сведения в виде цитаты или переложения. Ссылаться можно на публикацию, архивный документ, рукопись сочинения, личное сообщение. В последних двух случаях необходимо личное разрешение автора упоминаемого произведения или сообщения. В пристатейный список следует включать только цитированные источники. Прикнижный список может быть расширен за счет включения в него рекомендуемой литературы, вспомогательных, правовых и других источников. Уместно подчеркнуть несколько очень желательных условий:

- со всеми работами, приводимыми в списке цитированной литературы, автор должен быть знаком лично;
- ввиду ограниченного объема большинства публикаций следует, прежде всего, цитировать самые важные работы, чему должен предшествовать определенный отбор источников;
- нет ничего хорошего в том, чтобы устраивать в тексте статьи «братские могилы» из 10–20 следующих в одной ссылке фамилий авторов цитируемых работ.

Главное требование при оформлении ссылок и списка библиографических описаний – никакого творчества! Необходимо постоянно сверяться с ГОСТами, справочниками, «Правилами для авторов», консультироваться со специалистами-библиографами. Ссылки на источник могут оформляться тремя способами, при этом первые два способа не требуют формирования в конце публикации списка библиографических описаний.

**Первый способ** – внутритекстовый – довольно неудобный и встречается редко.

**Второй способ** – подстрочное размещение ссылок на странице. Научные журналы используют этот метод, но в естественнонаучной литературе он не имеет большого распространения. (В естественнонаучных публикациях таким способом могут оформ-

ляться примечания – другой вид вспомогательного аппарата публикации.)

**Третий способ** – наиболее распространенный – затекстовые ссылки, которые представляют собой пристатейные (прикнижные) библиографические списки. Связь библиографического описания в списке с текстом публикации может оформляться разными способами:

- путем сквозной нумерации цитируемых источников в соответствии с порядком их упоминания в тексте (нумерация в тексте помещается в квадратные скобки);
- путем нумерации цитируемых источников в порядке их следования в составленном по определенному (чаще всего алфавитному) принципу списке библиографических описаний;
- путем приведения в тексте фамилии автора(ов) и года публикации; в таком случае список описаний формируется по алфавитному принципу.

Разные отечественные журналы практикуют все три способа, в западной научной литературе широко распространен третий способ. Последнее обусловлено требованиями компьютерной сортировки ссылок и, кроме этого, способ удобен и функционален, так как нередко позволяет читателю (если это специалист) сразу, не заглядывая в описание, определить цитируемый источник. Кратко описать все тонкости оформления ссылок невозможно. Не жалейте времени – читайте «Правила для авторов» и соответствующую справочную литературу.

#### **5.6. Как избежать «недоразумений» при проведении статистического анализа данных и представлении результатов (по И.А. Кшняеву, 2004)**

*Использованы материалы сайта <http://www.biometrica.tomsk.ru>*

**Совет первый** и самый главный: при применении статистики всегда следуйте совету Винни-Пуха: «Нужно делать то, что нужно, а что не нужно – делать не нужно». Все остальное вытекает из этого мудрого правила.

**Совет второй:** читайте хорошие учебники по анализу данных:

Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ: подход с использованием ...: пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – 488 с.

Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Наука, 1991. – 271 с.

Sokal R.R., Rohlf F.G. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. – 3-ed. – N. Y.: Freeman & Co., 1995. – 850 p.

StatSoft, Inc. (2001). Электронный учебник по статистике. Москва, StatSoft. WEB: <http://www.statsoft.ru/home/textbook/default.htm>.

**Совет третий:** помните о проблеме мнимых повторностей: Козлов М.В. Мнимые повторности (Pseudoreplication) в экологических исследованиях: проблема, не замеченная российскими учеными // Журн. общ. биологии. – 2003. – Т. 64, № 4. – С. 292–307.

**Совет четвертый:** прочитайте внимательно текст данного раздела и, может быть, это позволит Вам избежать «недоразумений», а иногда и нелепостей при представлении результатов статистического анализа в Ваших публикациях. Не стесняйтесь обращаться за консультациями к специалистам. Корректно проведенный и описанный статистический анализ данных эксперимента или наблюдений влияет на достоверность выводов и является обязательным элементом научной публикации. Поэтому авторам работ, содержащих обобщение результатов экспериментов и наблюдений, необходимо обратить особое внимание на правильное использование статистических методов и описание результатов анализа такого рода данных.

Наиболее типичные ошибки при представлении результатов следующие:

- не приведены размеры выборок;
- не приведены единицы измерения переменных;
- не приведены проверяемые гипотезы;
- не указан используемый статистический критерий;
- не указано число степеней свободы критерия;
- отсутствует проверка предположений статистической модели;
- некорректно использован  $t$ -критерий для случая множественных сравнений;
- не дана расшифровка приводимых параметров;
- отсутствует легенда или расшифровка обозначений в подписи к рисунку;
- нет округления приводимых величин;
- приведены лишь точечные оценки центральной тенденции, без оценки доверительного интервала и характеристики рассеивания.

При проверке гипотез (используйте двухсторонние критерии!) обязательно укажите уровень значимости (вероятность отклонения справедливой нулевой гипотезы), выбранный в качестве критического, с которым сравнивали « $p$ -уровень» использованных статистических критериев. Например: «При проверке статистических гипотез использован 5% уровень значимости». Недопустимы выражения типа «...достоверность различий с контролем  $p < 0.05$ ». Некорректны фразы: «при статистической обработке полученных данных был использован  $t$ -критерий Стьюдена»

та» (критерии применяются для проверки гипотез!) или «статистический анализ проводился по Лакину (Плохинскому и т.п.)» или «математическая обработка проводилась в программах MS EXCEL и Statistica».

В книгах и статистических пакетах приводится обычно очень много вариантов разных методов. Если анализ данных производился с использованием конкретного пакета программ, то укажите название этого пакета, версию и разработчика. Например: «Анализ данных выполнен в ПСП *STATISTICA 5.5*. (StatSoft, Inc. 2001)». Указывайте, какую статистическую модель (метод, критерий) использовали для статистического вывода. Для параметрических статистических критериев, хотя и относительно устойчивых к отклонению от исходных предположений, существуют ограничения по применению (например, предположения для  $t$  и  $F$  статистик – нормальность распределения, независимость ошибок и равенство дисперсий). Поэтому укажите, с помощью каких критериев Вы проверяли эти предположения и каковы результаты теста. Например: «для проверки предположения однородности дисперсий использован критерий Бартлета: с  $\chi^2(3)=3.75$ ,  $p=0.15$ ». Опишите процедуру проверки характера распределения (например, критерии  $\chi^2$ ,  $d$ -критерий Колмогорова–Смирнова с критическими уровнями Лиллиефорса) и ее результаты. Если использовали преобразования переменных для стабилизации дисперсии и нормализации распределения, укажите их. Например: «...использовали угловое преобразование долей», или логарифмирование, или Бокс-Кокс преобразование ( $\lambda=0.14$ ) и др.

В разделе «Материалы...» (до подраздела статистического анализа) опишите массив данных: число наблюдений и переменных, в каких единицах измерены переменные. Помните, что для зависимых переменных, измеренных в ранговых (порядковых) шкалах, использование параметрических методов не является корректной процедурой. В тексте или таблицах раздела «Результаты...» следует приводить фактическую величину достигнутого  $p$ -уровня. Не забудьте (!) указать число степеней свободы ( $df$ ) используемого статистического критерия (степени свободы – это параметры теоретических распределений; приведение статистики критериев без указания параметров *бессмысленно*). Например, при использовании  $t$ -критерия:  $t(36)=3.25$  (или  $t_{36}=3.25$ ),  $p<0.005$ , где цифра в скобках или нижний индекс – число степеней свободы ( $df=36$ ). Не применяйте  $t$ -критерий для множественных сравнений без корректировки полученных  $p$ -значений, а используйте модель дисперсионного анализа и методы множественных сравнений или вводите поправку (Бонферрони или Данна–Шидака



и др.).  $F$ -статистика имеет два (!) параметра – степени свободы числителя и знаменателя (например,  $F(2;28)=15.6, p<0.0001$ ).

Не забывайте расшифровать используемые сокращения и символические обозначения. Например,  $M$  – выборочное среднее,  $m$  (*s.e.*) – ошибка среднего,  $s.d.$  – выборочное стандартное отклонение и т.д. Если используется выражение  $M\pm m$ , укажите значение каждого символа, а также обязательно (!) укажите объем выборки –  $n$ .

Для иллюстраций вместо столбиковых диаграмм лучше использовать диаграммы размаха, которые дают информацию не только о точечной оценке центральной тенденции, но и обеспечивают характеристику изменчивости признака или точности оценки параметра или его доверительный интервал. Не забудьте убрать линии сетки с приводимых графиков (часто они затрудняют восприятие) и привести легенду или расшифровку обозначений, использованных на диаграмме. Используйте область диаграммы рационально.

Результаты вычислений как описательных статистик, так и критериев должны быть разумно округлены. Средние значения не следует приводить точнее, чем на один десятичный знак по сравнению с данными измерения, *s.e.* и *s.d.* – еще на один знак точнее. Помните, что статистический вывод имеет вероятностный характер и могут быть допущены ошибки I и II рода. Не пишите «...статистически достоверно различаются», используйте корректный термин «статистически значимо». Избегайте голословных (не статистических) выводов, не подкрепленных проверкой соответствующих гипотез, например: «выявлено значительное...» и далее никаких критериев; или «из рисунка легко видно, что...», или «оценка доли ... показала наличие обратной корреляции с...» и далее никаких оценок коэффициента корреляции.

Подробный анализ типичных ошибок применения статистического анализа и описания результатов в биомедицинских исследованиях доступен в Интернете по адресу <http://www.biometrica.tomsk.ru/kk/index.htm/>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Горячкин, В.В. Методические указания по оформлению и защите курсовых, дипломных работ и других отчетных документов студентов университета: учеб. пособие / В.В. Горячкин, Н.Н. Демеш, Н.А. Коротаев. – Минск: БГУ, 2005. – 49 с.
2. Катраков, И.Б. Курсовые и выпускные квалификационные работы по специальности «Химия»: метод. рекомендации / И.Б. Катраков, В.И. Маркин, М.К. Котванова. – Барнаул: Изд-во Алт. гос. ун-та, 2005. – 80 с.
3. Луд, Н.Г. Основы науковедения: учеб. пособие / Н.Г. Луд, А.П. Солодков, В.А. Косинец. – Витебск: ВГМУ, 2007. – 347 с.
4. Советы молодому ученому: метод. пособие для студентов, аспирантов, младших научных сотрудников и, может быть, не только для них. – Екатеринбург: Институт экологии растений и животных, 2004. – 62 с.
5. Спиричев, В.Б. Методы оценки витаминной обеспеченности населения: учеб.-метод. пособие / В.Б. Спиричев [и др.]. – М.: Изд. ООО «ПКЦ Альтекс», 2001. – 66 с.
6. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений. – 2-е изд., перераб. / под ред. д-ра биол. наук А.И. Ермакова. – Л.: «Колос», Ленингр. отд-ние, 1972. – 456 с.
7. Степин, Б.Д. Техника лабораторного эксперимента в химии: учеб. пособие для вузов / Б.Д. Степин. – М.: Химия, 1999. – 600 с.
8. Васильева, Н.В. Органический синтез / Н.В. Васильева [и др.]. – М.: Просвещение, 1986.
9. Свиридов В.В. и др. Неорганический синтез: учеб. пособие / В.В. Свиридов, Г.А. Попкович, Е.И. Василевская. – Мн.: Універсітэцкае, 1996. – 165 с.
10. Семенов А.С. Безопасность труда в кабинете химии: практ. пособие для преподавателей ПТУ / А.С. Семенов. – Мн.: Выш. шк., 1990. – 80 с.
11. Верховский, В.Н. Техника химического эксперимента: пособие для учителей / В.Н. Верховский, А.Д. Смирнов. – 7-е изд., перераб. – М.: Просвещение, 1975. – 368 с.
12. Карякин, Ю.В. Чистые химические вещества / Ю.В. Карякин, Н.И. Ангелов. – М.: Химия, 1974. – 300 с.
13. Лурье, Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – 6-е изд., перераб. и доп. / Ю.Ю. Лурье. – М.: Химия, 1989. – 448 с.

14. Лидин, Р.А. Справочник по неорганической химии. Константы неорганических веществ / Р.А. Лидин, Л.Л. Андреева, В.А. Молочко. – М.: Химия, 1987. – 320 с.
15. Справочник химика. – М.: Химия, 1971. – 1150 с.
16. Вредные химические вещества: в 4 т. / под ред. В.А. Филова. – Л.: Химия, 1986, 1989, 1990. – 600 с.
17. Воскресенский, П.И. Техника лабораторных работ / П.И. Воскресенский. – Л.: Химия, 1973. – 720 с.
18. Захаров, Л.Н. Техника безопасности в химических лабораториях / Л.Н. Захаров. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л.: Химия, 1991. – 336 с.