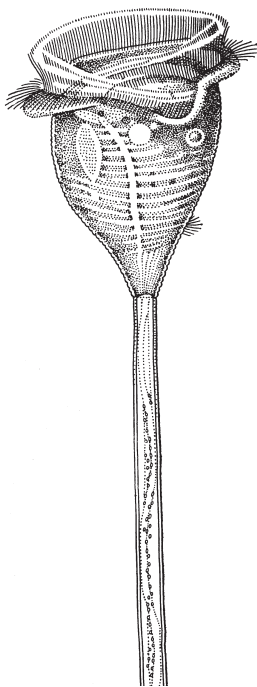


Е.В. СЕЛИВАНОВ

КРАСИТЕЛИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

СПРАВОЧНИК



БАРНАУЛ • 2003

Селиванов Е.В. **Красители** в биологии и медицине: Справочник.
— Барнаул: Азбука, 2003. — 40 с.

В брошюре представлен обобщенный материал по классификации, применению и номенклатуре красителей, использующихся для окраски микропрепаратов в биологии и медицине, а также наиболее часто используемые индикаторы. Предназначена для биологов, гистологов, цитологов, врачей клинической лабораторной диагностики, преподавателей, аспирантов, ординаторов и студентов ВУЗов биологических специальностей.

© Селиванов Е.В., 2003 г.

© Звягинцев Е.Н., 2003 г. (оформление)

© Издательство «Азбука», 2003 г.

Красителями, в широком смысле этого слова, называют органические соединения, обладающие способностью поглощать и преобразовывать световую энергию в видимой и ближних ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Поглощая часть световых лучей определенной длины волны, эти соединения становятся цветными.

Применение веществ, способных придавать тот или иной цвет предметам, в том числе волокнам, тканям, поверхности тела, известно с незапамятных времен. Для этого использовались цветные глины, минеральные пигменты, вытяжки из растений и животных.

Ремесленники окрашивали ткани в синий цвет, используя индиго, который добывали из листьев растения индигоферы, произрастающего в Индии и Индонезии. Для получения 3 кг красителя нужно было переработать 100 кг листьев растения. В красный цвет красили ализарином, извлекая его из корней растения марены. Для получения красителей использовали также крушину, чернику, резеду, кору дуба, ольхи. Некоторые из красителей, например, пурпур древних, или тирийский пурпур, были дороже золота. Его добывали из улитки-багрянки, обитающей в Средиземном море. Сама улитка не окрашена, но одежда, пропитанная соком багрянки, при окислении кислородом воздуха окрашивалась в пурпур. Из десяти тысяч улиток можно было получить всего около 1 г красителя; не удивительно, что он так высоко ценился.

Только в XVIII веке стали предприниматься попытки создания дешевых синтетических красителей. К этому, безусловно, химиков подтолкнуло бурное развитие текстильной промышленности и переход к машинному производству.

Первый синтетический краситель был получен в 1855 г. профессором Варшавского университета Я. Натансоном. Нагреванием анилина с дихлорэтаном в запаянной трубке он получил соединение красного цвета, окрашивавшее шерсть и шелк в красивый красный цвет. Тремя годами позже, во Франции, Верген получил этот же краситель другим способом и назвал фуксином за сходство окраски с цветком фуксии. Под этим названием он известен и сейчас. В том же 1858 г. П. Грисс открыл реакцию диазотирования, положившую начало синтезу азокрасителей – самого многочисленного класса красителей, и позднее ставшую основой многих гистохимических методик.

Однако не только текстильщики и полиграфисты были заинтересованы в красителях. Начиная с изобретения Леонардо да Винчи микроскопа, начали проявлять все возрастающий интерес к красителям и биологи. Теперь уже невозможно достоверно сказать, кому первому пришла в голову мысль использовать красители для окраски микропрепаратов, да это и не важно. Идея, что называется, носилась в воздухе. Большинство живых объектов, попадающих в поле зрения микроскопа, практически не окрашены, да и клеточные органеллы едва различимы в цитоплазме. Поэтому с возникновением микроскопа появляются и два

пути преодоления бесцветности биологических объектов: первый — попытка решить проблему техническими средствами — разработка новых способов освещения (косое освещение, люминесценция), контрастирования (метод фазового контраста, микроскопия в темном поле, в окрашенном темном поле и т. п.); второй — придать объекту окраску с помощью красителя. За последние 300 лет оба пути доказали свое право на существование.

Без окраски сегодня невозможно представить ни современную гистологию, ни цитологию, ни многие другие разделы биологии, где используется микроскоп. Первой классической работой по использованию красителей в микроскопии принято считать статью П. Эрлиха где описывалась избирательное окрашивание метиленовым синим нейронов в препаратах головного мозга.

Количество красителей, появившихся за последние 100 лет в арсенале микроскопистов, очень велико. Начинающему, да и уже опытному врачу и биологу нередко очень трудно ориентироваться в них. Только во 2-м издании *Color Index* перечислено более 3500 красителей. Правда, не все из них применяются в микроскопии. За рубежом основным путеводителем биолога-исследователя по красителям является справочник, издаваемый Комиссией по биологическим красителям. Комиссия создана несколькими Американскими научными обществами и постоянно работает при их участии — испытывает новые красители, распространяет информацию об их составе, свойствах и методах использования [например, см. *Cohn et al., eds., Biological stains, 7th ed. 1961*]. По рекомендации этой комиссии в повседневной работе можно использовать только красители, прошедшие испытания. К сожалению, ученые и работники практических служб бывшего СССР до сих пор лишены сколько-нибудь подробного справочника по красителям, которые нашли применение в современных и классических методиках. Нередко возникает путаница в названиях, синонимах, способах применения. Без соответствующей литературы разобраться в данном вопросе непросто. Наша работа призвана хоть немного обобщить сведения о красителях, применяемых в биологии и медицине.

Для каждого биологического объекта, в зависимости от целей исследования, выбирают свой краситель и свой метод окрашивания. Число таких методов намного превосходит число красителей. Им посвящено множество солидных научных трудов и публикации в журналах. В нашем издании мы только лишь вскользь коснемся отдельных методов, а в большинстве случаев отсылаем читателей к специальной литературе.

Отдельное место занимают компоненты для гистохимических реакций. Эти методы исследования были разработаны сравнительно недавно и основаны на реакциях, в ходе которых образуются окрашенные продукты, в то время как исходные компоненты бесцветны или слабо окрашены. Их нельзя считать красителями, но мы все же сочли необходимым вкратце коснуться этой недостаточно освещенной отечественной литературой темы.

ГЛАВА 1.

КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА КРАСИТЕЛЕЙ

Красители, используемые в биологии, можно классифицировать по следующим критериям:

1. По источникам получения.
2. По химическому составу.
3. По использованию или способности окрашивать определенные структуры.

Классификация по источникам получения очень проста, но практического значения не имеет. Например, такие красители, как индиго или орсеин в наше время могут быть получены как из природных источников, так и синтетически. В принципе, различают 3 источника получения красителей: химический синтез, вытяжки из растений и экстракты животного происхождения.

1.1. Химическая классификация

Первая химическая классификация красителей была основана на хромофорно-ауксохромной теории цветности, которая объясняла окраску органических соединений присутствием в их молекулах типичных хромофорных групп. По этому признаку в самостоятельные классы были выделены нитрокрасители, нитрозокрасители, азокрасители и др. Затем к ним добавились группы, объединяющие красители по сходству химического строения и методам получения — трифенилметановые, антрахиноновые, индигоидные, сернистые красители. Эта классификация сохранилась до нашего времени и будет использована в настоящем издании:

1. Нитро- и нитрозокрасители.
2. Полиметиновые красители.
3. Арилметановые красители.
4. Хинониминовые красители.
5. Азокрасители.
6. Азометиновые красители.
7. Антрахиноновые красители.
8. Кубовые красители:
 - 8.1. индигоидные и тиюиндигоидные;
 - 8.2. антрахиноновые;
 - 8.3. периноновые;
 - 8.4. полициклохиноновые.
9. Антрапиридиновые красители.
10. Сернистые красители.
11. Фталоциановые красители.
12. Флюоресцентные (оптические) отбеливатели.

1.2. Рабочая классификация красителей, используемых в биологической микроскопии

Существует немало рабочих классификаций красителей, использующихся в биологии. При изложении материала авторы редко придерживаются четкого разделения. Обычно различают четыре больших группы красителей:

- А. **Основные (или ядерные) красители.** Они избирательно окрашивают ядра клеток и базофильные структуры. Кстати, сам термин «базофильный» появился по названию этой группы красителей, т. к. в переводе с латинского *basis* — основной.
- Б. **Кислые (или цитоплазматические) красители.** Окрашивают преимущественно цитоплазму, реже клеточные стенки и т. п.
- В. **Нейтральные красители.** К этой группе, по нашему мнению, должны быть отнесены и такие красители, которые избирательно окрашивают компоненты цитоплазмы, например, судан III или нильский синий, окрашивающие капельки жира.
- Г. **Флюорохромы.** Группа красителей, способных флюоресцировать при той или иной длине волны возбуждающего света. Несмотря на то, что мы выделили эти красители в самостоятельную группу, большинство из них следовало бы отнести к цитоплазматическим или, реже, к ядерным красителям.

1.2.1. Ядерные красители

Ядерные красители представляют собой едва ли не самую многочисленную группу красителей вообще. Основная цель обработки данными веществами состоит в том, чтобы выявить материал, близкий к ДНК или РНК. По механизму окрашивания ядерные красители делят на две группы, принципиально отличающиеся друг от друга. Это основные красители и протравные красители.

1.2.1.1. Основные красители

Применение основных красителей (все они являются «катионными») основано на образовании соединений типа солей в присутствии ДНК или РНК.

- А. Азокрасители:
 - янус зеленый В;
 - бисмарк коричневый.
- Б. Сафранины:
 - сафранин Т;
 - сафранин А;
 - сафранин О;
 - феносафранин.
- В. Оксазиновые красители:
 - бриллиантовый крезильный синий;
 - крезильный прочный фиолетовый.

- Г. Тиазины:
- тионин;
 - азуры С, А, В;
 - метиленовый синий;
 - толуидиновый синий.
- Д. Трифенилметановые:
- пара-розанилин;
 - кристаллический фиолетовый;
 - метиловый фиолетовый;
 - метиловый зеленый;
 - альциановый синий;

1.2.1.2. Протравные красители

В основу методик применения протравных красителей легла способность ряда соединений образовывать ярко окрашенные лаки с ионами металлов — лития, железа, хрома. В эту группу входят:

- А. Наиболее известные и используемые красители:
- гематоксилин;
 - кармин (карминовая кислота);
 - ализарин-цианин;
 - ализарин;
 - бразиллин;
 - галлоцианин.
- Б. Малоизвестные и редко применяющиеся красители:
- пурпурин;
 - ализариновый синий;
 - ализариновый черный;
 - ализариновый зеленый;
 - антрапурпурин;
 - хинализарин;
 - чисто-синий В;
 - антраценовый синий.

В зависимости от того, ион какого металла входит в состав протравного реагента, конечный цвет окраски может меняться от красного до зеленовато-черного. Примеры такой зависимости приведены в таблице 1.

1.2.2. Цитоплазматические красители

Эта группа красителей представлена большей частью сульфоновыми и карбоновыми кислотами, которые в тканях прочно связываются с белками и в результате окрашивают большинство внеядерных структур:

- эозин;

Зависимость итоговой окраски от иона металла протравного реагента.

| Название | Цвет окраски ядра | | |
|--------------------------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| | Al | Cr | Fe |
| Ализарин | красный | — | — |
| Пурпурин | красный | — | — |
| Кармин (карминовая кислота) | красный | — | — |
| Бразилин | красный | серо-коричневый | зеленовато-черный |
| Гематоксилин | синий | серо-синий | серо-черный |
| Галлоцианин | — | синий | серо-черный |
| Антраценовый синий | — | синий | серо-черный |

- аурамин O;
- эритрозин;
- родамин B;
- родамин 3G;
- родамин 6G;
- пиронин G;
- акрифлавин;
- флюоресцеин;
- акридиновый оранжевый;
- конго красный;
- акридиновый желтый;
- криофосфин;
- нейтральный красный;
- толуидиновый синий.

Цитоплазматические красители в сочетании с фосфорно-вольфрамовой кислотой, фосфорно-молибденовой кислотой могут окрашивать специфические структуры клеток и тканей, например, коллаген. В большинстве методик цитоплазматические красители используются для контраста после окраски ядерными красителями. Несколько реже прибегают к такому свойству цитоплазматических красителей, как способность окрашивать живые клетки без нарушения функций последних (так называемые витальные красители); в таких методиках применяют очень большие разведения красителей — от 1:1000 до 1:20000.

1.2.3. Нейтральные красители

Группа нейтральных красителей невелика. Например, важное практическое

значение имеют красители, окрашивающие жиры:

- судан III;
- судан IV;
- судан черный;
- нильский синий.

1.2.4. Флюорохромы

Флюорохромы в данной классификации стоят особняком, потому что эта группа включает и кислые, и основные красители.

Главной отличительной чертой всех этих соединений является способность излучать свет определенной длины волны под воздействием лучей ультрафиолетового, фиолетового и синего спектра. Молекула красителя, поглотив квант падающего света, испускает световое излучение большей длины волны, чем длина волны падающего света. Так, например, флюоресцеин, поглощая свет с длиной волны 420-490 нм, излучает свет с длиной волны 520-540 нм. При этом объекты, окрашенные флюоресцеином в люминесцентном микроскопе, светятся зеленым светом.

Некоторые области применения флюорохромов приведены в таблице 2.

1.3. Номенклатура красителей

Названия красителей, поступающих в продажу на отечественном рынке, складываются следующим образом (исключения составляют красители с исторически сложившимся тривиальным названием – гематоксилин, судан, кармин и т. п.).

Первым словом дается групповое обозначение – Метиловый, Метиленовый, Ализариновый, Прямой, Кислотный, Сернистый, Кубовый, Дисперсный, Основной, Жирорастворимый, Лак и т. п.

Вторым словом в названии красителей обозначается его цвет – желтый, красный, синий и т. д., иногда с качественной характеристикой – ярко-зеленый, чисто-голубой. В некоторых случаях указывается и способ применения, например, приставка «диазо» для диазотирующихся на волокне красителей или «протравной» для красителей, требующих предварительной протравы.

После названия цвета ставятся буквенные обозначения, указывающие на оттенок красителя:

- Ж, 2Ж, 6Ж – желтоватый,
- З – зеленоватый,
- К, 2К – красноватый,
- С – синеватый.

Буква О обозначает основной оттенок данного цвета, по отношению к которому определяются все другие оттенки данного цвета. Например, Кубовый синий К имеет красный оттенок по сравнению с Кубовым синим О. Цифры перед буквами указывают на усиление оттенка. Поэтому, встретив в продаже, напри-

Таблица 2

*Области применения некоторых флюорохромов.
(выделены наиболее часто используемые флюорохромы)*

| Цель окраски | Используемый флюорохром | Диапазон возбуждения | Диапазон свечения |
|-------------------------|--|---------------------------|-------------------|
| Ядро (ДНК/РНК) | Акридиновый оранжевый | Голубой свет (420-490 нм) | 520 нм |
| | Пропидиум иодид | Зеленый (530-560 нм) | 580 нм |
| | Этидиум бромид | Зеленый (530-560 нм) | 580 нм |
| | Хромомицин А | Голубой свет (420-436 нм) | 490 нм |
| | Акрифлавин | Голубой свет (420-436 нм) | 490 нм |
| | Хёхст 33258 | Ультрафиолет (340-380 нм) | 430 нм |
| | Пиронин G | Зеленый (530-560 нм) | 580 нм |
| | Берберин сульфат Кориофосфин О Фосфин 3R | | |
| Внутриклеточные жиры | Нильский красный | Голубой свет (450-490 нм) | 520 нм |
| Белки/гистоны | Эозин Б | Зеленый (530-560 нм) | 580 нм |
| | Тиазиновый красный Р | Зеленый (530-560 нм) | 580 нм |
| | Сульфофлавин | Ультрафиолет (340-380 нм) | 430 нм |
| Внутриклеточный кальций | Индо 4 | | |
| Митохондрии | Родамин 123 | | |
| Тромбоциты | Мепакрин | 355 нм | 425 нм |
| Бактерии | Акридиновый оранжевый | Голубой свет (420-490 нм) | 520 нм |

мер, Нильский синий А и Нильский синий 2Б имеют в виду, что это один и тот же краситель, но имеющий разные оттенки, что в большинстве случаев не имеет решающего значения.

ГЛАВА 2.

СПРАВОЧНИК ПО ОТДЕЛЬНЫМ КРАСИТЕЛЯМ

Для красителей, выделенных жирным шрифтом, в главе 3 приведены наиболее популярные рецепты и способы окраски.

АЗОКАРМИН [синоним: *Розиндулин*]. Различают два сорта азокармина: В и G. Азокармин В легче растворяется в воде, поэтому употребляется в водных растворах. Азокармин G (Ж) малорастворим в воде, поэтому его применяют в виде насыщенного раствора в уксусной кислоте (аналогично ацетокармину). Применяется в гистологии для окраски соединительной ткани по Гейденгайну или в сочетании с окраской по Пачини. Последний метод имеет то преимущество, что при окраске целлоидиновых срезов целлоидин остается бесцветным. Неплохие результаты дает окраска ядер и хромосом ацето-азокармином G.

АЗОФЛОКСИН [синонимы: *Кислотный ярко-красный; Амидо-нафтол красный*]. Применяется в гистохимии в виде 0,1% водного раствора в смеси с нафтазаринном и хлоридом алюминия для окраски ядер и в виде 0,5% водного раствора для дополнительной (после гематоксилина) трехцветной окраски соединительной ткани по методу Массона, модифицированного Гольднером.

АЗУР I [синонимы: *диметилтионина хлорид; азур метиленовый*]. Применяется в гематологии в качестве составной части сложных красителей для окраски препаратов крови. В настоящее время его применение ограничено.

АЗУР II Окраска ядра(ДНК/РНК)представляет собой смесь равных частей метиленового синего и азура I. Ранее называли Азуром В или триметилтионином. Как правило, его получали из растворов метиленовой сини при длительном стоянии в щелочной среде. Начало применению в микроскопии положил Романовский в 1891 г., собственно и открывший эту реакцию. Позднейшие изменения методик и прописей подготовки краски были связаны с улучшением растворителей и удлинению срока годности красок. Так появилась модификация краски по Гимза и Паппенгейму, Май-Грюнвальду, Райту. Оказалось, что при стоянии смеси метиленовой синьки и эозина образовалось новое вещество – азур II. В настоящее время широко применяется в микроскопии для приготовления сложных красок, находящих применение в гематологических, бактериологических и гистологических исследованиях. Наибольшее практическое значение имеет готовая смесь по Романовскому-Гимза и Май-Грюнвальду. Обязательной составной частью краски при этом является раствор эозина – розового цитоплазматического красителя. Для получения качественной окраски используют забуференную воду.

Из отечественных производителей наиболее качественные смеси выпускает компания «Абрис+» (Санкт-Петербург).

АКРИДИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ. Применяются для окрашивания натурального шелка и некоторых нетекстильных материалов в желтый (хромофор – водород или алкил) или оранжевый (хромофор – арил) цвет. Важнейшие акридиловые красители – основной желтый К, основной желтый З, акридиловый оранжевый. Получается конденсацией ароматических м-диаминов с альдегидами с последующей циклизацией (нагреванием с концентрированной серной кислотой) и окислением (обычно кислородом воздуха в присутствии соляной кислоты). Некоторые А. к. биологически активны. Особая группа А. к. – хинакридоны линейные.

АЛИЗАРИН [синоним: *1,2-диоксиантрахинон*]. Красные кристаллы, температура плавления 289°C, температура кипения 430°C; растворим в спирте, эфире, бензоле, плохо – в воде. Содержится в виде гликозида в корнях марены красильной (*Rubia tinctorium*), откуда и добывался с древних времен и использовался как протравной краситель. В 1863 г. получен синтетически, например нагреванием (щелочным плавлением) 2-хлорантрахинона или Na-соли 2-антрахинонсульфо кислоты с NaOH в присутствии нитрита калия (окислитель). В ограниченных масштабах применяется как ярко-красный протравной краситель (по алюминиево-кальциевой протраве), окрашивают хлопчатобумажные материалы, образуется внутриклеточные соединения ярко-красного цвета с синеватым оттенком, а также как исходный продукт в производстве краплака и некоторых др. красителей. Производные ализарина – ализаринкомплексон, используется как металлохромный индикатор в определении Ba, Ca, Cd, Cu, In, Sr, Zn, Pb. Наиболее популярна методика определения кальция в сыворотке и моче человека с ализарин-комплексон. В микроскопии применяется АЛИЗАРИН ЦИАНИН (марки BBS, R, G), реже сам ализарин в сочетании с хлоридом алюминия в качестве протравного красителя для получения очень чистой и четкой окраски ядер. Кроме того, используется как гистохимический реактив для выявления кальция.

АЛИЗАРИНОВЫЙ КРАСНЫЙ С [синонимы: *ализарин-3-сульфо кислоты натриевая соль; хромовый красный ализариновый; ализарин С*]. Оранжево-желтые кристаллы; температура плавления 300°C; растворим в воде, спирте, не растворим в хлороформе. Реагент для фотометрического определения Al при pH 3,9-4,6, а также Sc, F (предел обнаружения Al=0,04 мкг/мл). Нашел применение как кислотно-основной индикатор (при pH 10,0-12,1 переход окраски от фиолетовой к желтой), и металлохромный индикатор для титриметрического определения Zn, Th, Sc, (переход окраски от красной к желтой). С солями двухвалентных металлов дает прочные ярко окрашенные лаки, что

используется в гистологии и гистохимии. Так, кальций, образуя лак, хорошо определяется в замороженных и парафиновых срезах, в окрашенных препаратах кости. Лак, образованный с солями железа получил название «железный ализарин» (железо-аммонийные квасцы с ализариновым красным С) и, будучи использован в одной прописи с кристаллвиолетом, интенсивно окрашивает в красновато-фиолетовый цвет митохондрии.

АЛИЗАРИНОВЫЙ ЖЕЛТЫЙ [синонимы: *протравной желтый, салициловый желтый, натриевая соль 5-[(3-нитрофенол)-12-азо]салициловой кислоты*]. Желтые кристаллы, растворяются в воде и в этиловом спирте. Кислотно-основной индикатор (переход окраски от желтой к коричневой при pH 10,0-12,1).

АЛИЗАРИНОВЫЙ СИНИЙ, АЛИЗАРИНОВЫЙ ЗЕЛЕНый, АЛИЗАРИНОВЫЙ ЧЕРНЫЙ (S и P). Группа протравных красителей, в редких случаях могут быть использованы для окраски ядер (с хромовой, реже алюминиевой протравой).

АМИДО-ЧЕРНЫЙ 10Б [синоним: *кислотный сине-черный*]. Применяется в микроскопии для окрасок гистологических препаратов; в виде насыщенного раствора в смеси 90 г метилового спирта и 10 г ледяной уксусной кислоты — для окраски продуктов электрофореза в полиакриламидном геле; в клинической диагностике — при электрофоретическом исследовании сыворотки крови; для колориметрического определения содержания белка в молоке; в биохимии и гистохимии для выявления белков.

АНИЛИНОВЫЙ ГОЛУБОЙ [синонимы: *анилиновый синий, фенилрозанилин*]. Нерастворимая в воде и растворимая в спирте анилиновая краска синего цвета. В микроскопической технике применяются, главным образом, препараты анилинового синего, растворимые не в спирте, а в воде, получающиеся путем сульфурирования его и поступающие в лаборатории в виде солей натрия, аммония или кальция под различными наименованиями (Alkaliblauf, Wasserblauf, Methylblauf, Chinablauf, Bleu de Lyon). Растворимые в воде препараты анилинового синего в комбинации с кислым фуксином и оранжем используются в различных модификациях окраски по Маллори (см. раздел 3.2.). Селективно связывается с коллагеновыми волокнами.

АНИЛИНОВЫЙ ЖЕЛТЫЙ. Кислотно-основной индикатор (при pH 1,3-3,3 переход окраски от красной к желтой), в т. ч. для титрования слабых оснований в уксусной кислоте.

АНТРАЦЕНОВЫЙ ГОЛУБОЙ [синонимы: *1,2,4,5,6,8-гексагидроксиантрахинон*]. Применяется в микроскопии в смеси с сульфатом алюминия в качестве протравного красителя для окраски ядер.

АУРАМИН [синоним: *Канарский желтый*]. Диарилметановый краситель. Желтые кристаллы, растворимые в воде, спирте, эфире. Аурамин легко гидролизируется, поэтому крашение им тканей в текстильной промышленности возможно лишь при 50-60°C. Окраски неустойчивы к действию света. Применяется в микробиологии и вирусологии для быстрого выявления кислотоустойчивых бактерий. В бактериологии для обнаружения туберкулезных бактерий методом флюоресцентной микроскопии по Хагеманну или Дегомье используется Аурамин О.

АУРИН [синонимы: *Розоловая кислота; желтый кораллин; 4,4-дигидрокси-5-метилфуксон; иногда розоловой кислотой называют смесь 4,4-дигидроксифуксона и 4,4-дигидрокси-5-метилфуксона*]. Красновато-коричневые кристаллы, растворимые в спирте. Кислотно-основной индикатор (при pH 6,9-8,0 переход окраски от коричневой к красной). Применяется в микроскопии для бактериологических и ботанических целей.

АУРОФОСФИН Ж. Применяется в гистохимии, ботанике, микробиологии в качестве флюоресцентного красителя для прижизненного флюорохромирования и обработки фиксированных препаратов.

БИСМАРК КОРИЧНЕВЫЙ [синоним: *везувин*]. Ценная ядерная краска, относящаяся к азокрасителям. Дает метахромазию желтоватого тона и хорошо окрашивает слизь и хрящ. В ботанической микротехнике применяется в виде 2% спиртового раствора. Окрашивает клетчатку. В микробиологии используется для окрашивания дифтерийных палочек по Нейссеру.

БРИЛЛИАНТОВЫЙ ЖЕЛТЫЙ. Желтые кристаллы, получаемые азосочетанием диазотированной 4,4-диаминотильбен-2,2-дисульфокислоты с фенолом. В щелочной среде меняет окраску на красную. Кислотно-основной индикатор (в щелочной среде цвет углубляется до красного). Применяется для получения хризофенина.

БРИЛЛИАНТОВЫЙ КРЕЗИЛОВЫЙ СИНИЙ. Суправитальный краситель для окраски ретикулоцитов.

БРИЛЛИАНТОВЫЙ ЗЕЛЕНЫЙ [синонимы: *основной ярко-зеленый, этиловый зеленый*]. Триарилметановый краситель. Получается конденсацией C_6H_5CHO с $C_6H_5N(C_2H_5)_2$ в присутствии кислотных катионов с последующим окислением продукта конденсации до карбинольного основания и обработкой соответствующими кислотами или $ZnCl_2$. Окраски малоустойчивы к действию света и мокрым обработкам, вследствие чего краситель применяется главным образом для окрашивания нетекстильных материалов (бумаги, древе-

сины), а также для изготовления фаналевых лаков. Применяется в бактериологических, ботанических, гистологических исследованиях в качестве красителя для микроскопии. В медицине используются бактерицидные и фунгицидные свойства этого красителя.

БРОМКРЕЗОЛОВЫЙ ЗЕЛЕНЫЙ [синоним: *3,3",5,5"-тетрабром-м-крезолсульфофталеин*]. Розовые кристаллы, температура плавления 218-219°C; растворим в воде, ледяной уксусной кислоте, бензоле, легко – в спирте, эфире, этилацетате. Кислотно-основной индикатор (переход окраски от желтой к синей при pH 3,8-5,4). Имея высокое сродство к альбумину сыворотки крови, используется для количественного определения альбумина крови.

БРОМТИМОЛОВЫЙ СИНИЙ [синоним: *3,3"-дибромтимолсульфофталеин*]. Темно-красные кристаллы; температура плавления 200-202°C; растворим в метаноле, этаноле, эфире, плохо – в воде и бензоле. Кислотно-основной индикатор (переход окраски от желтой к синей при pH 6,0-7,6), в т. ч. для титрования карбоновых кислот в акрилонитриле. Неплохо прокрашивает белковые отложения. Чаще используется для определения концентрации белка.

БРОМФЕНОЛОВЫЙ КРАСНЫЙ [синоним: *3,3-дибромфенолсульфофталеин*]. Красновато-коричневые кристаллы; растворим в спирте, умеренно в воде. Кислотно-основной индикатор (переход окраски от желтой к красной при pH 5,2-6,8).

БРОМФЕНОЛОВЫЙ СИНИЙ. Для определения органических кислот и оснований в смеси воды и несмешивающегося с ней растворителя применяются т. н. амфииндикаторы, которые представляют собой соли кислот, служащих кислотно-основными индикаторами (например бромфеноловый синий).

ВИКТОРИЯ ГОЛУБОЙ С. Применяется в микроскопии для бактериологических и гистологических исследований; для окраски вирусов по Герцбергу.

ГАЛЛОЦИАНИН [синонимы: *7-диметиламино-3Н-4-окси-3-оксофеноксазин-1-карбоновая кислота; ализариновый флотский синий АТ; бриллиантовый хромовый синий Р; ультрабриллиантовый синий Р*]. Реагент на Ga и Th. Протравной краситель, широко используется для окраски ядер (0,5% р-р в 5% железоаммиачных квасцах по Премеру), в смеси с хромовыми квасцами рекомендован Эйнарсоном для окраски телец Ниссля. Рабочий раствор: 1% в ледяной уксусной кислоте. Применяется в микроскопии для бактериологии и гистологии.

ГЕМАТОКСИЛИН [синонимы: *кампешевый краситель, синий сандал*]. Рабочий раствор: 0,8% в уксусной сиклоте; 1% спиртовой. Реагент на Al, Bi, Cu, Th, Zr. Брутто-формула — $C_{16}H_{14}O_6$. Является экстрактом из кампешевого дерева, имеет вид бурого кристаллического порошка, хорошо растворимого в спирте и плохо — в воде. Красящим веществом является не сам гематоксилин, а продукт его окисления — гематеин ($C_6H_{12}O_6$). В связи с этим часть гематоксилиновых красок пригодна для работы не сразу после приготовления, а только через некоторое время, в течение которого происходит окисление гематоксилина в гематеин (созревание краски). По мере созревания краски возрастает и ее красящая способность. Созревания требуют только те гематоксилиновые красители, которые готовятся без окислителей. В продаже есть и готовый гематеин; приготовляемые из него красящие растворы не требуют созревания. Гематоксилин дает окрашивание только при применении протрав, с которыми он образует солеобразные соединения — лаки. Протравами являются соли хрома, железа, меди, алюминия и др. металлов. Наиболее употребительны следующие гематоксилиновые краски: Эрлиха, Бемера, Делафильда. Все квасцовые гематоксилины употребляют для окрашивания только в свежефильтрованном виде, т. к. иначе они дают осадки в срезах и тем более обильные, чем старше гематоксилин. Эти краски вследствие продолжающихся процессов окисления постепенно портятся, а потому их готовят на определенный срок (от 1 до 2 лет). Менее всего устойчив гематоксилин Бемера, он сохраняется примерно 1 год. Гораздо более стойки (до 2 лет) гематоксилины Эрлиха и Делафильда. Перезревшие гематоксилины при окрашивании дают красноватый оттенок.

ГЕНЦИАНОВЫЙ ФИОЛЕТОВЫЙ [синоним: *генцианвиолет*] Представляет собой смесь метилвиолета и кристаллвиолета. Один из наиболее распространенных красителей. Применяется в водных и спиртовых растворах. Быстро вымывается спиртами. Окрашивает ахроматиновые элементы в митотических фигурах, окрашивает мицелий грибов, причем часто дифференцирует мицелий и конидиеносцы. Применяется в гистологии для окраски ядер и мазков, фиксированных осмиевой кислотой, а также для последовательной окраски фиксированных препаратов сафранином, генциановым фиолетовым, оранжевым Ж при выявлении центросомы, нитей веретена, лигниновых нитей, полярной лучистости и других ахроматиновых структур клетки.

ДАЛИЯ ФИОЛЕТОВЫЙ. Краситель для микроскопии. Применяется в гистологии для метахроматического выявления амилоида и для окраски аксона нервных клеток.

ДИАЗОЛИ. Принятое название диазосоединений ароматических аминов, устойчивых к длительному хранению. В азосочетание с азосоставляющими всту-

пают при растворении без предварительной обработки. Производные 4-аминодифениламина стабильны в виде хлорида диазолия. Диазоли – порошки от светло-серого до коричневого цвета, хорошо растворимы в воде; при нагревании могут взрываться. В названиях диазолей рядом со словом «диазоль» стоят слово и индекс (буква), указывающие цвет и оттенок наиболее важного красителя, получаемого с участием данного диазоля (например, диазоль оранжевый О, диазоль красный 4С). Получаются диазоли обработкой диазотированного амина при 0-5°С раствором хлорного цинка или натриевой соли кислоты, после чего диазоли выделяют, смешивают с наполнителем, например, сульфатом алюминия, и сушат при 50°С. Борфтористоводородные соли получают обработкой диазотированного амина раствором буры и фтороводорода при 3-5°С. Диазоли – диазосоставляющие (азосоставляющие – азотолы) применяют для холодного крашения целлюлозных волокон. Применение диазолей исключает на текстильных предприятиях стадию диазотирования. Диазоли алый 2Ж, К применяются в гистохимии ферментов в качестве диазосоставляющей для выявления кислой фосфатазы методом одновременного азосочетания. Диазоль бордо применяется в гистохимии ферментов в качестве диазосоставляющей для выявления щелочной фосфатазы. Диазоль гранат Ж применяется для гистологических целей, диазоли красный А, К, ТР, диазоли синий О, С – как диазосоставляющие. Диазоль красный Ж применяется в гистохимии для выявления ароматических аминов и фенолов по Пирсу. Диазоль розовый О применяется в качестве диазосоставляющей для проведения фенилгидразин-формазановой реакции на альдегиды и для выявления гранул аргентаффинных клеток. Диазоль синий 2К применяется в гистологии ферментов в качестве диазосоставляющей для выявления неспецифических эстераз, щелочной фосфатазы, β-глюкуронидазы и фосфатазы лейкоцитов в мазках крови. Диазоль синий 2С применяется в качестве диазосоставляющей в гематологических и гистологических исследованиях. Диазоль фиолетовый используется как диазосоставляющее в гистологии. Диазоль черный К применяется в гистохимии для выявления кислой фосфатазы. Диазоль черный С применяется в качестве диазосоставляющей для выявления щелочной фосфомонэстеразы.

КАРМИН [синонимы: *кошениловый карминовый, карминовая кислота, кармин 40NF*]. Красные кристаллы, температура плавления 136°С, растворим в воде, спирте, концентрированной серной кислоте, растворах щелочей, нерастворим в бензоле, хлороформе. Добывается из насекомых *Coccus cacti* – тли кошенили. Поэтому продаваемые сорта различны по своему качеству и составу. Кармин, который раньше был основным красителем гистологов, в настоящее время используется все реже. Относится к протравным ядерным красителям. Используются для окраски биологических объектов лаки кар-

мина с литием, алюминием, бором. Наиболее известен литиевый кармин Орта, квасцовый кармин Мейера, борный кармин. В цитологии для окраски хромосом часто используют насыщенный раствор кармина в 45% уксусной кислоте. Комплексонометрический индикатор для определения лантаноидов при pH 3,7 (переход окраски от фиолетовой к желтой), реагент для люминесцентного определения бора, фотометрического определения бора и таллия. Реагент на другие редкоземельные элементы.

КИСЛОТНЫЕ КРАСИТЕЛИ. Содержат сульфогруппы, реже карбоксильные группы, иногда — гидроксильные группы вместе с нитрогруппами. Обычно выпускаются в виде натриевых солей, которые лучше растворяются в воде. В водных растворах они диссоциируют с образованием цветных анионов. Красители обладают сродством к волокнам, имеющим амфотерный характер. Номенклатура кислотных красителей несколько отличается от общепринятой для других групп. Так, первым словом в названии красителя указывается его принадлежность к кислотным красителям, например, Кислотный рубиновый H2CM. Буква H перед буквенным обозначением указывает на способ крашения шерсти из нейтральной ванны. Буква M означает, что краситель является металлсодержащим. В биологической микроскопии применение кислотных красителей довольно ограничено. Чаще всего они применяются в комплексном окрашивании для докраски или в отдельных специфических методиках. Кислотный алый применяется в микроскопии для гистологических и гистохимических исследований, в частности для дифференцирования основных белков, типа гистонов по Хидену. Кислотный бордо применяется в микроскопии в качестве красителя для дополнительной окраски после гематоксилина и других ядерных красителей. Кислотный прочный фуксиновый Б (азофуксин) применяется в микроскопии, в частности, в виде 1% водного раствора для дополнительной окраски после гемалауна и дифференцировки в алюмокалиевых квасцах с целью выявления элидина по Мартинолли. Кислотный ярко-голубой применяется в гистохимии ферментов в виде лейкоформы для выявления пероксидазы, окрашивающейся под действием красителя в зеленовато-синий цвет.

КОНГО КРАСНЫЙ [синоним: *конгорот*]. Красно-коричневые кристаллы, растворимы в воде, спирте, нерастворимы в эфире. Получается азосочетанием бис-диазотированного бензидина с нафтионовой кислотой. Прямой краситель. Окраска несветопрочна и изменяется под действием сильных кислот до синей, вследствие чего для крашения тканей не применяется и используется в качестве индикатора на минеральные кислоты. При действии слабых кислот, например, карбоновых типа уксусной, протонируется только одна азогруппа (образующийся краситель имеет серо-фиолетовый цвет). Применяется в обычной микроскопии для бактериологических, ботанических,

и гистологических исследований, в частности для выявления поливинилпирролидона, амилоида по Бенихольду, для биологических окрасок, эластичных нитей и каротина, для прижизненной обработки объектов и в качестве добавки к питательным средам (лактоза конго красный). В цитологии применяется в виде 0,5% растворов. Хорошо окрашивает мицелий грибов. В флюоресцентной микроскопии в качестве дополнительного красителя для контрастирования микроскопической картины. При растворении в воде дает коллоидные растворы, которые очень удобны для изучения внутриклеточного пищеварения. Дополнительным плюсом служит его способность в зависимости от кислотности среды менять окраску.

КРИСТАЛЛИЧЕСКИЙ ФИОЛЕТОВЫЙ [синоним: *кристаллвиолет*]. Темно-фиолетовые с бронзовым блеском кристаллы; растворим в воде, спирте, и многих других полярных органических растворителях. Получается из деметиламина: действием $n\text{-(CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ с последующим окислением, конденсацией с кетоном Михлера в присутствии POCl_3 или взаимодействием с CH_2O . Кислотно-основной индикатор в водной (при pH 0,8-2,6 переход окраски от зеленой к синей) и неводной (для титрования карбоновых кислот в ледяной уксусной кислоте) средах. В остальных областях применения вытеснен более дешевым красителем основной фиолетовый. Применяется в микроскопии в сочетании с йодом для определения грам-положительных микроорганизмов, окраски хромосом на срезах, как составная часть раствора Ниссера для окраски дифтерийных палочек и как добавка к питательным средам; в гистологии в качестве компонента красителя Вейгерта для окрашивания эластичной ткани и срезов железным ализарином-кристаллвиолетом по Бенда для выявления митохондрий.

МАЛАХИТОВЫЙ ЗЕЛЕНЫЙ Часто применяется в комбинации с конго. Применяют крепкие 3-7% водные растворы. Окрашивают клетчатку. Широко применяется для окраски в бактериологии. Применяется в микроскопии для ботанических и гистологических исследований: для окраски гистологических срезов и спор микроорганизмов, в качестве добавки к питательным средам (агар-малахитовый зеленый по Лефлеру).

МЕТИЛЕНОВЫЙ ГОЛУБОЙ [синонимы: *метиленовый синий, метиленовая синь*]. Кристаллы с бронзовым блеском; растворимы в воде с окрашиванием раствора в темно-синий цвет, спирте, хлороформе. Получен совместным окислением вначале $n\text{-(CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ с $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, а затем и с $\text{C}_6\text{H}_5\text{N(CH}_3)_2$ (окислитель – бихромат натрия в разбавленной серной кислоте) с последующей циклизацией и обработкой ZnCl_2 и HCl . Основной тиазиновый краситель. Окрашивает хлопок (по таниновой протраве) и шелк в ярко-голубой цвет, однако окраски малоустойчивы к действию света, вследствие чего Метиле-

новый голубой для крашения текстильных материалов не используется. Применяется для получения фаналевых лаков, металлохромный индикатор для определения Mg, Ca, Cd, Co^{2+} , Ni, Zn при pH 10; окислительно-восстановительный индикатор (приобретает синюю окраску); реагент для обнаружения некоторых анионов, например, ClO_4^- ; наружный и внутренний антисептик; антидот при отравлениях цианидами, угарным газом и сероводородом; для окрашивания бумаги, для изготовления цветных карандашей и полиграфических красок (в последнем случае обычно применяется гидрат двойной соли с хлористым цинком). Применяется в лазерной технике. Из-за низкой светостойкости в крашении тканей не применяется. Данный краситель широко применяется в микроскопии в виде водных и спиртовых растворов. Входит как важная составная часть во многие красящие растворы, например, метиленовый синий по Леффлеру, в бактериологии раствор метиленового синего в разведении 1:40, для прижизненных (витальных) окрасок разведение 1:5000.

МЕТИЛОВЫЙ ЗЕЛЕНЫЙ [синоним: *двойная цинковая соль*]. Трифенилметановый краситель, производное кристаллвиолета. Применяется для выявления ДНК (при окрашивании смесью метиловый зеленый – пиронин), уксуснокислый раствор метилового зеленого используется в биологии для быстрой окраски ядер простейших. В виде 1% водного раствора – краситель для одревесневших оболочек. В иммунологии нашел широкое применение для подкраски препаратов в НСТ-тесте для контрастирования образовавшегося формазана в нейтрофилах и моноцитах.

МЕТИЛОВЫЙ ЖЕЛТЫЙ [синонимы: *деметиловый желтый, п-диметиламиноазобензол, масляно-желтый*]. Оранжево-желтые кристаллы; температура плавления 114-117°C; растворим в спирте. Кислотно-основной индикатор (переход окраски от красной к оранжево-желтой при pH 2,9-4,0). применяется в микроскопии очень ограничено – только в некоторых случаях для окраски жиров и в комбинации с другими красителями. Основная область применения – в виде индикатора при титровании.

МЕТИЛОВЫЙ КРАСНЫЙ [синонимы: *п-диметиламинобензол-2-карбоновая кислота*]. Фиолетовые кристаллы, температура плавления 175°C (с разложением), плохо растворим в воде, хорошо – в спирте и ледяной уксусной кислоте. Выпускается также в водорастворимой форме в виде Na-соли. Кислотно-основной индикатор (при pH 4,4-6,2 переход окраски от красной к желтой), в т. ч. для титрования аминов в 1,4-диоксане и хлороформе, адсорбционный индикатор для аргентометрии (переход окраски от желтой к оранжево-красной).

МЕТИЛОВЫЙ ОРАНЖЕВЫЙ [синонимы: *p*-(*p*-диметиламинофенилазо) бензо-сульфонат натрия, *гелиантин*]. Оранжево-желтые кристаллы, растворим в воде, нерастворим в спирте. Получается азосочетанием диазотированной сульфаниловой кислоты с диметиланилином. Кислотный желтый краситель, непригодный из-за чувствительности к кислотам для окрашивания каких-либо материалов, но являющийся благодаря этому одним из важнейших кислотно-основных индикаторов. При подкислении до pH 3,1 окраска из желтой переходит в оранжевую в результате образования соли, строение которой отвечает гидразоновой формуле. Применяется в микроскопии для гистологических целей.

МЕТИЛОВЫЙ ФИОЛЕТОВЫЙ [синонимы: *основной фиолетовый К*, *метилвиолет*]. Фиолетовые кристаллы, растворим в воде, ограничено – в полярных органических растворителях. Смесь триарилметановых красителей схожего строения, получаемая окислением диметиланилина кислородом воздуха в присутствии CuSO_4 с последующей обработкой соляной кислотой. Окраска отличается яркостью, но малоустойчива к действию света. Краситель используют для изготовления полиграфических красок, фиолетовых чернил, копировальной бумаги, штемпельных красок, карандашей, лент для пишущих машинок, а также для получения фаналевых лаков. Применяется также как кислотно-основной индикатор (при pH 0,2-3,2 переход окраски от желтой к фиолетовой). Применяется в гистохимии для метахроматического выявления амилоида, в бактериологии – для окраски по Граму.

МУРЕКСИД [синоним: *аммоний пурпуровокислый*]. Темно-красные кристаллы, растворим в воде (0,17% при 20°C), хуже – в спирте, нерастворим в эфире. Комплексометрический индикатор для определения кальция при pH > 10, Zn при pH 8-9, Ag при pH 10-11,5 (переход окраски от розовой или красной к фиолетовой), Co при pH 8-10, Cu при pH 7-8, Sb при pH 2,6 (от оранжевой к красной), Ni при pH 8,5-11,5 (от желтой к пурпурной), Th при pH 2,5 (от желтой к розовой); реагент для фотометрического определения Ca, Sr и некоторых других элементов. Применяется в гистохимии в качестве насыщенного раствора в 0,1 н растворе KCN в качестве лакообразующего соединения для выявления отложения кальция. В гематологии в качестве металлоиндикатора для определения кальция в сыворотке крови.

НЕЙТРАЛЬНЫЙ КРАСНЫЙ [синонимы: *толуиленовый красный*, *нейтральрот*]. Применяется в основном в водных растворах. Чаще всего нейтральный красный используют как прижизненный (витальный) краситель при микроскопии простейших, водорослей, грибов при разведении 1:10000. Более концентрированные растворы используют при бактериологических, ботанических и гистологических окрасках. Иногда используется для окраски ядер.

НИЛЬСКИЙ СИНИЙ [синонимы: *сульфат нильский голубой, нильблаусульфат, нильский синий А, сульфат основной оксациновой краски нильблау*]. В водных растворах эта краска диссоциирует на синюю соль (окрашивающую в синий цвет ядра и протоплазму клеток) и красное основание (растворимое в жирах). Эта краска неодинаково окрашивает жиры и различные жироподобные вещества: нейтральные жиры — в розовый цвет, эфиры холестерина — в розово-фиолетовый, фосфатиды и цереброзиды — в голубой, жирные кислоты и мыла — в темно-синий. Окрашенные препараты требуют немедленного исследования, т. к. при длительном хранении все закрашивается в один синий цвет. Окраска имеет ориентировочное значение — позволяет разбираться в природе жировых веществ и служит дополнением к другим способам окраски. Она заслуживает внимания в тех случаях, когда нет возможности использовать для дифференцировки жиров и жироподобных веществ более совершенные способы, например, исследование в поляризованном свете. Применяется в микроскопии в качестве жирорастворимого красителя для выявления липидов. Реже применяется в качестве витального (прижизненного красителя) в разведении 1:1000. Хорошо окрашивает в живом виде мицелий мучнисторосяных грибов. Применяется для окраски ситовидных трубок (48 часов в 0,001% водном растворе нильского синего, затем 70° спирт, докраска 1% эозином). Иногда нильский синий готовят на насыщенном растворе пикриновой кислоты в 50° спирте.

НИТРАЗИНОВЫЙ ЖЕЛТЫЙ [синоним: *динатриевая соль 2,4-динитробензолазо-1-нафтол-3,6-дисульфокислоты*]. Красные кристаллы, растворим в воде и 80° спирте. Кислотно-основной индикатор (при pH 6,4-6,8 переход окраски от ярко-желтой к синей). Применяется в микроскопии для гистологических целей.

ОРАНЖЕВЫЙ G [синоним: *оранж G*]. Один из важнейших цитоплазматических красителей. В микроскопии используется для второй окраски, т. е. для подкраски цитоплазмы после окраски ядерными красителями.

ОРСЕИН [синоним: *орцеин*]. Принадлежит к группе ядерных красителей. Иногда его применяют для окраски эластической ткани. Основным «местом» применения орсеина является окраска хромосом (делящихся клеток) и выявления ядерного хроматина при скрининговых цитогенетических исследованиях. Используют в виде насыщенного раствора на уксусной кислоте (ацетоорсеин).

ОСНОВНОЙ КОРИЧНЕВЫЙ 4К. Применяется в микроскопии для окраски бактериологического и гистологического материала.

ПАРАФУКСИН КИСЛЫЙ. Принадлежит к группе цитоплазматических красите-

лей. Используется нечасто. Является вторым окрашивающим компонентом.

ПАРАФУКСИН ОСНОВНОЙ [синонимы: парарозанилина гидрохлорид, тетрагидрат]. Один из основных красителей. Применяется для окраски ядер или другого базофильного материала в ботаническом, гистологическом и бактериологическом исследованиях. Иногда используют вместо основного фуксина для приготовления реактива Шиффа.

ПИРАЗОЛОНОВЫЙ ЖЕЛТЫЙ [синоним: *тартразин*]. Применяется в гистохимии для окрашивания муцинов.

ПИРОНИН Б. Применяется в гематологии для окраски форменных элементов крови.

ПИРОНИН Ж. Принадлежит к группе флюоресцентных красителей и нашел широкое применение в люминесцентной микроскопии ботанических, зоологических, гистологических, микробиологических объектов.

ПРЯМЫЕ КРАСИТЕЛИ. Разнородная группа красителей, сведения о которых представлены в табл. 3.

Таблица 3

Наиболее часто применяемые прямые красители.

| Название | Применение |
|----------------------|---|
| Прямой бирюзовый | В гистохимии для выявления отложений кальция |
| Прямой красный | В гистохимии для выявления муцинов путем дополнительного окрашивания |
| Прямой розовый | В гистохимии для выявления поливинилового спирта и поливинилпирролидона |
| Прямой чисто-голубой | В гистохимии для выявления декстрана. |

РОДАМИН G [синонимы: *моногидрохлорид этилового эфира 2-[6-(этиламино)-3-(этиламино)-2,7-диметил-3,4-ксантен-9-ил]-бензойной кислоты*]. Фиолетовые кристаллы, растворимые в воде и спирте. Реагент для экстракционно-люминесцентного определения In; люминесцентный кислотно-основной индикатор (при pH 1,0-1,3 цвет люминесценции меняется от оранжевого к розовому). В микроскопии нашел применение Родамин 6G как краситель для люминесцентной микроскопии.

РОДАМИН С [синоним: *родамин В*]. Красно-фиолетовые кристаллы, температура плавления 210°C (с разложением), растворим в воде, спирте, ацетоне. Ре-

агент для люминесцентного определения Gl. Наиболее часто родамин С используют в ботанической цитологии, гистологии, энтомологии, микробиологии в качестве красителя люминесцентной микроскопии для прижизненного окрашивания нейтральных растительных жиров, митохондрий, цитоплазмы.

СУДАНЫ. Среди этих азокрасителей, объединенных нами под одним общим названием, различают несколько красителей, хорошо знакомых гистологам: Судан I, Судан II, Судан III, Судан черный. Практически все они обладают одними и теми же свойствами — окрашивают нейтральные жиры.

СУДАН II [синоним: *жирорастворимый оранжевый 2K*]. Относится к классу азокрасителей. Применяется в микроскопии в качестве красителя.

СУДАН III [синоним: *жирорастворимый красный Ж*]. Нейтральный азокраситель; нерастворим в воде, растворим в спирте, ацетоне, жирах. Продажный судан III представляет собой смесь нескольких красителей: суданов красного, оранжевого и желтого; количественные соотношения их в разных сортах неодинаковы. Судан желтый является примесью, бесполезной для окраски жира. Основное применение судан III нашел в гистологии и цитологии для обнаружения жиров и липоидов. Окраска основана на экстракции красителя из спирта более хорошим растворителем — жиром. Судан III позволяет обнаружить все жиры. По их окраске можно с некоторой вероятностью говорить о типе жира. Так наиболее интенсивно окрашиваются нейтральные жиры — в ярко красный цвет, холестерин и его эфиры — в желтовато-красный цвет, а фосфатиды и цереброзиды — в бледно-желтый. Интенсивность окраски чаще всего зависит от свежести материала, имеет значение и продолжительность окрашивания. Еще больше снижает ценность такой окраски и тот факт, что в гистологическом материале жиры и жироподобные вещества встречаются в смешанном виде.

САФРАНИНЫ. Группа азиновых красителей, производные 9-фенилфеназина сходного строения. Простейший сафранин — феносафранин, получается окислением смеси п-фенилендиамина и анилина бихроматом калия, применяется как десенсибилизатор в фотографии. Наиболее известен сафранин Ж, который получают окислением эквимолярной смеси п-толуиленадиамина, о-толуидина и анилина бихроматом калия в кислой среде, при этом образуется смесь изомеров и гомологов (содержат 1-3 метильные группы), которые близки по цвету и свойствам. Сафранины — вишнево-красные красители, обладают низкой светостойкостью. Применяются для крашения бумаги и кожи, десенсибилизаторы в фотографии. В микроскопии применяют в качестве основных красителей сафранины Ж, А или

О. Сафранин О выявляет большее количество субклеточных структур, чем азуран А или тионин. Его часто используют для получения свежих солей диазония, окрашивающих энтерохромафинные гранулы в сине-черный цвет. Применяется в микроскопии для бактериологических, ботанических и гистологических исследований.

ТИОНИН 2-водный [синонимы: *7-амино-3-имино-3Н-фенотиазин, фиолетовый Лаута*]. Реагент для определения Al, Fe²⁺, Hg²⁺, Pb. Применяется в обычной микроскопии для выявления мукополисахаридов, базофилии клеток и тигроидных телец в нервных клетках. По Уиндлу и Ласки в микологии — для дифференциальной окраски мицелия патогенных грибов в тканях растений. Окрашивает флору в фиолетовый цвет. Применяют чаще в виде 0,1% раствора в карболовой кислоте.

ТИАЗИНОВЫЙ КРАСНЫЙ. Применяется в микроскопии в качестве красителя для гистологии и для флюоресцентной микроскопии.

ТОЛУИДИНОВЫЙ ГОЛУБОЙ. Применяется в микроскопии для гистологических исследований и в качестве красителя для флюоромикроскопии.

ТРИПАНОВЫЙ ГОЛУБОЙ. Применяется в микроскопии для гистологических целей и как краситель для прижизненного окрашивания по Гольдману.

ТРИПАНОВЫЙ КРАСНЫЙ. Применяется в микроскопии для окрашивания гистологических препаратов и как витальный краситель.

ТРОПЕОЛИН 00 [синонимы: *оранжевый IV, натриевая соль 4-фениламиноазобензол-4-сульфо кислоты, дифениламиноранжевый, оранжевый GS, оранжевый N, прочный желтый, кислотный желтый D, анилиновый желтый*]. Оранжево-желтые кристаллы, растворим в воде и спирте. Кислотно-основной индикатор (при pH 1,3-3,3 переход окраски от красной к желтой), в том числе для титрования слабых оснований в среде уксусной кислоты. Применяется в микроскопии.

ТРОПЕОЛИН 000 [синонимы: *кислотный оранжевый, оранж II*]. Применяется в микроскопии.

ФЕНОЛОВЫЙ КРАСНЫЙ [синонимы: *фенолсульфопфталеин, сульфенфтал*]. Красные или коричневые кристаллы, растворим в спирте, плохо растворим в воде. Выпускается также в водорастворимой форме в виде натриевой или аммонийной соли. Кислотно-основной индикатор (при pH 6,4-8,2 переход окраски от желтой к красной). Применяется в микробиологии в качестве ин-

дикатора для тканевых культур и как добавка к питательным средам.

ФЕНОЛФТАЛЕИН. Кристаллы, температура плавления 259-263°C, плохо растворим в воде, растворим в спирте и эфире. Кислотно-основной индикатор (при pH 8,2-10 приобретает малиново-красный цвет), слабительное средство (пурген). Применение: как исходный продукт для получения фенолфта-леинфосфата и других производных.

ФЕНОСАФРАНИН. Применяется в бактериологии в качестве красителя, в гистохимии для выявления сурamina, в качестве восстановительно-окислительного индикатора.

ФЛОКСИН. Применяется в микроскопии для ботанических и гистологических исследований.

ФЛЮОРЕСЦЕИН. Применение: краситель для люминесцентной микроскопии, проточно-цитометрического анализа. Широкое применение нашла соль — флюоресцеина изотиацианат. Его используют как метку различных антител. При возбуждении ультрафиолетом или крайним фиолетом светится ярко-зеленым светом.

ФОСФИН. Применяется в флюоресцентной микроскопии в качестве красителя при определении жировых включений в гистопрепаратах.

ФУКСИНЫ. Ярко-красные триарилметановые красители. Кристаллы, растворимы в воде. Наиболее известны: собственно фуксин (смесь нескольких красителей), получаемый совместным окислением анилина, о- и п-толуидинов нитробензолом в присутствии FeCl_3 при 100-175°C; парарозанилин, синтезируемый конденсацией формальдегида с анилином и о-толуидином. Окраски обличаются яркостью, но невысокой устойчивостью, особенно к действию света. Используются фуксины главным образом для окрашивания не текстильных материалов (бумаги, кожи и др.), а также для приготовления красных чернил, карандашей. Для окрашивания нетекстильных материалов используются и трисульфокислоты фуксинов, имеющие по одной сульфогруппе в каждом бензольном кольце. Продукт присоединения 3 молекул H_2SO_3 к собственно фуксину (т. н. фуксинсернистая к-та) — аналитический реагент на альдегидную группу. В практических целях применяются Фуксин кислый и Фуксин основной.

ФУКСИН ОСНОВНОЙ [синоним: *мажента*]. Ядерный краситель. Применяется в обычной микроскопии для бактериологических, ботанических, гистологических целей (см. раздел 3.1.).

ФУКСИН КИСЛЫЙ. Цитоплазматический краситель, окрашивает соединительную ткань (эластические волокна). Используется для приготовления пикрофуксина, окраске по Маллори (см. раздел 3.2.).

ХИНОЛОВЫЙ СИНИЙ. [синоним: *цианин*]. Применяется в микроскопии для окрашивания жиров, костного слоя, одревесневших мембран.

ХРИЗОИДИН. Индикатор, применяется в микроскопии для цитологических, энтомологических и гистологических исследований и в качестве витального красителя, в бактериологии — для окраски дифтерийных палочек.

ЦИАНАЛ ГОЛУБОЙ 43 [синоним: *альциановый синий*]. Применяется в качестве специфического красителя на муцины.

ЭВАНСА ГОЛУБОЙ [синоним: *синий Эванса*]. Применяется в гистохимии для прижизненного окрашивания мукополисахаридно-протеиновых комплексов. Широко используется в иммунофлюоресцентном анализе для подкрашивания фона препарата. При этом структуры, окрашенные специфическими антителами, светятся ярко-зеленым светом (за счет флюоресцеина) а все остальные структуры — темно красные за счет флюоресценции синего Эванса.

ЭОЗИН [синоним: *1,3,6,8-тетрабромфлюоресцеин*]. Синтетический краситель, тетрабромпроизводное флюоресцеина. Получается действием брома на флюоресцеин в присутствии NaClO_3 . Красные кристаллы. Натриевая соль — кислотный краситель (окрашивает натуральный шелк в ярко-розовый цвет с желтой флюоресценцией). Из-за низкой устойчивости к действию света применяется главным образом для приготовления красных чернил и карандашей, губной помады, румян, для окрашивания бумаги, моторных топлив, биологических препаратов, парфюмерных изделий, как компонент полиграфических красок; динатриевая соль эозина (эозин желтоватый, эозин Н) — кислотно-основной люминесцентный индикатор (при pH 1-3 появляется зеленая люминесценция); адсорбционный индикатор для аргенометрического определения Вг и I (цвет люминесценции меняется от красного к фиолетовому). Выделяют в виде натриевой, калиевой и аммониевой соли. Различают много сортов эозина, из них наибольшее распространение имеют эозин желтый (растворимый в воде), голубоватый (растворимый в спирте), эритрозин (растворимый только в спирте). Среди отечественных марок различают эозины: К (калий) и Н (натрий), оба водорастворимые, применяются в микроскопии; эозин БА применяется в медицине в качестве диагностического реактива при анализе крови. Употребляются эозины в 0,25-0,5% водных и спиртовых растворах. Для приготовления спиртовых растворов можно

пользоваться любым сортом эозина и брать спирт различной крепости (от 40 до 70°); они окрашивают сильнее водных. Иногда пользуются растворами эозина, подкисленными уксусной кислотой, примерно из расчета 1 капля крепкой уксусной кислоты на 100 мл раствора эозина (подкислять лучше спиртовые растворы эозина, ибо водные с течением времени могут мутнеть и давать осадки). Такие подкисленные растворы показаны в том случае, когда ткани плохо воспринимают обычный (не подкисленный) краситель. Растворы эозина розового цвета, в такой же цвет они окрашивают и ткани. Сроки окрашивания весьма различны (от 5-10 секунд до 3-5 мин) и зависят от сорта, способа приготовления и концентрации красителя.

ЭРИОГЛАУЦИН А [синонимы: *азур синий АЕГ, альфазурин FG, патентный карминово-синий*]. Окислительно-восстановительный индикатор (переход окраски от зеленой к синева-красной).

ЭРИОХРОМ СИНЕ-ЧЕРНЫЙ С. Применяется в микроскопии для окрашивания.

ЭРИОХРОМ ЧЕРНЫЙ Т. Применяется в гистохимии для выявления кальция в тканях беспозвоночных.

ЭРИТРОЗИН [синоним: *1,3,6,8-тетраидофлюоресцеин*]. Красные кристаллы. Растворяется во многих органических растворителях, плохо в воде. Получается действием иода на флюоресцеин в присутствии KIO_3 . Применение: кислотный красный краситель для натурального шелка (устойчивость окрасок к свету невысокая); пищевой краситель (разрешен в большинстве стран); для окрашивания бумаги, косметических средств; для приготовления чернил, карандашей, лаков, полиграфических красок. Применяется в микроскопии для микробиологических, гистологических исследований.

ЭРИТРОЗИН ЖЕЛТОВАТЫЙ. Применяется в микроскопии для бактериологических и гистологических исследований.

ЭТИДИУМ БРОМИД. Широко распространенный краситель для окрашивания ДНК, ядер и хромосом в люминесцентной микроскопии, проточной цитометрии. Также флюоресцентный краситель для окраски ДНК при ПЦР- или ЛЦР-анализе (внесенный в гели и буферы для электрофореза, окрашивает ДНК в ярко-красный цвет. Результат наблюдают в лучах ультрафиолетовой лампы.

ЯДЕРНЫЙ ПРОЧНЫЙ КРАСНЫЙ [синоним: *кальциевый красный*]. Применяется в микроскопии для гистологических целей.

ЯНУС ЗЕЛЕНый. Применяется в микроскопии в качестве красителя для прижизненного окрашивания митохондрий и лейкоцитов; для прижизненного окрашивания хондриосом, грибов, простейших животных и крови. Наиболее популярен для прижизненного выявления митохондрий. С этой целью используют 0,01-0,05% водные растворы. Препараты не рекомендуется накрывать покровным стеклом, т. к. для полноценной окраски требуется наличие кислорода.

ГЛАВА 3.

НАИБОЛЕЕ ИЗВЕСТНЫЕ РЕЦЕПТЫ КРАСИТЕЛЕЙ И СПОСОБОВ ОКРАСКИ

3.1. Рецепты красителей

3.1.1. Анилиновый черный

| | |
|---------------------------------|-------|
| Анилиновый черный | 1,5 г |
| Спирт 96 град. | 50 мл |
| 80% уксусная кислота | 10 мл |
| Вода дистиллированная | 40 мл |

Все компоненты смешивают и добиваются растворения красителя. Отстаивают при комнатной температуре 3 дня. После фильтрации краситель готов.

3.1.2. Бриллиантовый крезиловый синий

1 г сухого красителя растворяют в 100 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Используются для суправитальной окраски ретикулоцитов в медицинских клинических исследованиях. Для этого смешивают раствор краски и крови 1:1 и через 20 минут делают мазок на предметном стекле.

3.1.3. Галлоцианин

| | |
|---------------------------|--------|
| Галлоцианин | 0,15 г |
| Хромовые квасцы | 5,0 г |
| Вода | 100 мл |

5 г хромовых квасцов растворяют в 100 мл воды и добавляют 0,15 г галлоцианина. Смесь встряхивают, а затем нагревают до кипения. Кипятят 5 мин. После этого раствор охлаждают, фильтруют и доводят объем водой через фильтр до 100 мл. Краситель должен иметь рН 1,6. Галлоцианин с хромовыми квасцами дает соединение краплак-катион, который с фосфатными группами нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) образует соли темно-синего цвета. Чтобы исключить влияние белков, окрашивание нуклеиновых кислот нужно вести при рН 1,5-1,6. Окрашивание продолжается до 2 суток.

3.1.4. Гематоксилины

3.1.4.1. Гематоксилин Эрлиха

| | |
|------------------------------------|--------|
| Гематоксилин | 2 г |
| Спирт 96° | 100 мл |
| Глицерин | 100 мл |
| Вода дистиллированная | 100 мл |
| Ледяная уксусная кислота | 10 мл |
| Квасцы алюмокалиевые | 3 г |

2 г гематоксилина растворяют в 100 мл спирта прибавляют последовательно воду, глицерин, квасцы и уксусную кислоту. Полученный раствор наливают

в широкогорлую банку, завязывают марлей и в таком виде оставляют стоять на свету для созревания. Краска созревает долго (самое раннее использование через 14 дней), в течение нескольких недель и месяцев. Вначале красящий раствор имеет светло-коричневый цвет, а по мере созревания становится темно-вишневым и приобретает приятный запах; при этом краска значительно усыхает. Созревший раствор фильтруют и хранят в плотно закрытой посуде. Достаточно созревшая краска окрашивает срезы в течение 3-5 минут.

Гематоксилин Эрлиха является одним из лучших красящих растворов гематоксилина. В отличие от других, он может быть использован и для окраски по способу Ван-Гизон (вместо железного гематоксилина Вейгерта).

3.1.4.2. Гематоксилин Генденгайна (железный гематоксилин Генденгайна)

Данный гематоксилин относится к протравным вариантам красителя, т. е. для правильной окраски препараты необходимо протравить раствором квасцов. В способе Генденгайна используется протрава 3% раствором железо-аммонийных квасцов (квасцы должны быть обязательно прозрачно-фиолетовыми).

0,5 г (по другим рецептам 1 г) гематоксилина растворяют в 10 мл спирта и прибавляют 90 мл воды. После этого раствор должен «созревать» в открытом сосуде не менее 3-4 недель. Перед использованием разбавляют в 2 раза водой.

Препараты на сутки помещают в протраву, промывают и на сутки кладут в гематоксилин.

3.1.4.3. Гематоксилин Бемера

40 г простых алюмокалиевых квасцов растворяют при нагревании в 400 мл дистиллированной воды; после охлаждения фильтруют в широкий стакан, вливают 20 мл 10% спиртового раствора гематоксилина (на 96° спирте) и завязывают стакан марлей. Оставляют стоять на свету, лучше на солнце, на 2-3 недели для созревания. Только что приготовленная краска представляет прозрачную бледно-фиолетовую жидкость, не пачкающую стекла. По мере созревания она все больше темнеет и превращается в темно-фиолетовую непрозрачную жидкость, оставляющую след на стекле. Созревшую краску фильтруют в чистую склянку и прибавляют для предупреждения плесени несколько кристалликов тимола или камфары. Такая краска вначале окрашивает срезы за 5-10 минут и лишь спустя некоторое время (1-2 месяца) — в течение 1-2-3 минут.

3.1.4.4. Гематоксилин Делафильда

60 г алюмоаммонийных квасцов растворяют при нагревании в 400 мл дистиллированной воды, по охлаждении фильтруют в широкогорлую банку (или стакан), прибавляют 40 мл 10% спиртового раствора гематоксилина, завязывают марлей и держат на свету (на солнце); через 4 дня фильтруют и прибавляют 100 мл глицерина и 100 мл чистого метилового (либо этилового) спирта. Остав-

ляют стоять на свету в широкогорлой банке еще 3-4 дня, пока краска не станет совершенно темной, после этого снова фильтруют, но уже в чистую склянку с пробкой. Краска приобретает хорошие красящие свойства через 1-2 месяца после приготовления. Гематоксилин Делафильда окрашивает сильнее, чем гематоксилин Бёмера.

3.1.4.5. Гематоксилин Ганзена

Смысл приготовления этого раствора состоит в том, что не требуется ждать когда гематоксилин созреет. Роль окислителя вместо воздуха здесь играет перманганат калия.

К 200 мл свежего гематоксилина Бёмера прибавляют 3 мл 5%-ного водного раствора марганцовокислого калия; полученную смесь нагревают до кипения и затем быстро охлаждают в холодной воде. Краску готовят на срок не более полугода; перед употреблением фильтруют. Срезы окрашиваются в течение нескольких минут.

3.1.4.6. Гематоксилин Карацци

Как и гематоксилин Ганзена, этот рецепт призван сократить сроки созревания гематоксилина. На этот раз окислителем выступает йодноватокислый калий – KJO_3 .

В 400 мл воды вливают 100 мл глицерина. Добавляют 0,5 г гематоксилина, 25 г алюмокалиевых квасцов и 0,03 г йодноватокислого калия. Через неделю краска приобретает красящую силу. Продолжительность окраски препаратов 1-2 часа.

3.1.5. Генцианвиолет

Для окрашивания хромосом используют 1% водный раствор (1 г красителя в 100 л воды). Окраска длится 3-5-7 минут в зависимости от объекта. Фиксация окраски – раствором Люголя.

Для окрашивания микроорганизмов используют следующую пропись:

Генцианвиолет 1 г
Спирт 96° 10 мл
5% раствор фенола 100 мл

После растворения краски в спирте, полученный раствор вливают в раствор фенола. Данный раствор используют для окраски по Граму.

3.1.6. Кармины

3.1.6.1. Ацетокармин (уксуснокислый кармин).

В колбу с обратным холодильником (можно заменить воронкой) наливают 45 г ледяной уксусной кислоты, прибавляют 55 мл дистиллированной воды и 1 г кармина (карминовой кислоты). Растворение ведут на водяной бане в течение часа. После отстаивания, раствор фильтруют. Оставшийся на фильтре кармин

можно использовать повторно.

Ацетокармин чаще всего используют для окраски ядра, хромосом, в цитологических препаратах.

3.1.6.2. Квасцовый кармин

5 г алюмокалиевых или алюмоаммонийных квасцов растворяют в 100 мл воды. В полученный раствор вносят 2 г кармина и кипятят на медленном огне в течение часа. Остужают и фильтруют. Добавляют 1 мл формалина для предотвращения прорастания бактерий и грибов.

Квасцовый кармин используют чаще всего для окраски тотальных мелких препаратов в зоологии. При использовании кармина для окраски срезов — необходимо брать не 2 г краски, а всего 1 г, тогда кармин не перекрашивает срезы.

3.1.6.3. Борный кармин

В 100 мл воды растворяют 4 г тетрабората натрия (буры), добавляют 2 г кармина и нагревают до кипения. После остывания добавляют 100 мл этилового спирта. Настаивают 5-7 недель. Перед использованием фильтруют.

Борный кармин — один из самых старинных рецептов красителей. Продолжительность окраски — 1-3 дня, затем дифференцировка в солянокислом спирте — 1-3 дня. Окрашенные борным кармином препараты прекрасно заливаются в парафин. Хорош борный кармин и для окраски тотальных препаратов.

3.1.6.4. Кармин по Блажину

Кармин по Блажину — это не столько рецепт, сколько способ окраски. При этом способе используются 2 раствора:

1. 0,3 г кармина растворяют в 100 мл 30% раствора молочной кислоты.
2. К 100 мл воды добавляют 0,5 мл полуторахлорного железа и две капли 1% раствора фенола.

После окраски в течение 4-6 часов в растворе молочнокислого кармина препараты переносят на 16-24 часа в раствор № 2. Способ используется для окраски тотальных препаратов цестод и трематод.

3.1.6.5. Литиевый кармин Орта

В 100 мл воды помещают 2 г карбоната лития и 2,5 г кармина, нагревают до кипения и кипятят 10-15 минут. После охлаждения фильтруют. Срезы окрашивают 5-10-20 минут, после чего переносят в 1% солянокислый спирт. Нельзя помещать срезы после окраски сразу в воду, поскольку они обесцветятся и кармин не зафиксируется на ядрах.

3.1.7. Кристаллвиолет

Кристаллвиолет используют в виде водных 0,02% растворов (бактериология) или 1% раствора (окраска хромосом).

Для окрашивания микроорганизмов используют следующую пропись:

| | |
|-----------------------------|--------|
| Кристаллвиолет | 1 г |
| Спирт 96° | 10 мл |
| 5% раствор фенола | 100 мл |

После растворения краски в спирте, полученный раствор вливают в раствор фенола. Данный раствор используют для окраски по Граму.

3.1.8. Лакмоид

2 г лакмоида растворяют в 100 мл 45% уксусной кислоты и кипятят 2 часа в колбе с обратным холодильником (можно заменить воронкой). Доводят водой до первоначального объема. Фильтруют. Используют ацетолакмоид исключительно для окраски хромосом.

3.1.9. Метиленовый синий

Большинство рабочих растворов метиленовой сини готовится из насыщенного спиртового раствора (3 г метиленового синего в 100 мл спирта).

1. Стандартный раствор метиленовой сини для окрашивания: насыщенный раствор метиленового синего – 1 мл, вода 40 мл. Раствор используют в течение месяца.
2. Метиленовый синий по Леффлеру: в 100 мл воды добавляют 30 мл насыщенного раствора метиленового синего и 1 мл 1% раствора КОН. В старых руководствах рекомендуется выдерживать этот раствор для «созревания» в течение не менее 1 месяца.

3.1.10. Метиловый зеленый

В зоологии метиловый зеленый используется без предварительной фиксации объекта. При этом краситель является и фиксатором тоже. При этой методике в 100 мл воды растворяют 2 г метилового зеленого и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Чаще всего используется для окраски простейших прямо под покровным стеклом. В лабораторной медицине 1% раствор метиленового зеленого используют для подкраски препаратов в НСТ-тесте (тест на активность ферментов «дыхательного взрыва» в нейтрофилах).

Надо иметь в виду, что очень часто краситель (особенно российских производителей) представляет собой смесь метилового зеленого и метиленового синего. Использовать надо либо очищенный с помощью хлороформа краситель, либо покупать чистые импортные реагенты.

3.1.11. Нильский синий

Нильский синий используют в виде 1% водного раствора красителя.

3.1.12. Оранжевый Ж

Типичный цитоплазматический краситель. Используется для докраски цито-

плазмы после ядерных красок. Применяется в виде 0,5% водного раствора.

3.1.13. Орсеин

1 г орсеина растворяют в 100 мл 45% уксусной кислоты. Тщательно размешивают и фильтруют. Чаще всего применяют для окраски хромосом. Незаменимый реагент в «буккальном тесте» — выявление ДНК в соскобе с слизистой щеки. Широко используется в медицинской генетике.

3.1.14. Судан III

Важнейший краситель для окраски жиров.

3.1.14.1. Насыщенный раствор Судана III

0,3 г Судана растворяют в 100 мл 70° спирта. Нагревают осторожно на водяной бане на закрытом огне 5 мин. После охлаждения и фильтрации краситель готов. Время окрашивания 10-20 минут.

3.1.14.2. Щелочной Судан по Геркстеймеру

В колбу помещают 0,3 г Судана, 70 мл 96° спирта, 2 г NaOH и 30 мл воды. Нагревают осторожно на водяной бане на закрытом огне 5 мин. После охлаждения и фильтрации краситель готов. Этот состав обладает более высокими красящими свойствами. Время окрашивания 3-5 минут. После него препараты отлично прокрашиваются гематоксилином.

3.1.14.3. Ацетоновый Судан

0,5 г Судана растворяют в смеси равных частей спирта и ацетона. Смесь настаивают в течение недели. После фильтрации раствор готов. Хранить в плотно закрывающейся емкости. Время окрашивания 3-5 минут.

3.1.14.4. Молочнокислый Судан

0,5 г красителя настаивают в течение недели в концентрированной молочной кислоте. Данный состав используют для выявления липидов у бактерий.

3.1.15. Тионин

10 мл насыщенного раствора тионина смешивают с 100 мл 1% раствора фенола. Окраска 5-10 мин.

3.1.16. Эозин

Цитоплазматический краситель для докраски препаратов. Используют 0,1%, 0,25%, 0,5% водные и спиртовые растворы. Срок окраски 1-5 мин. Является обязательным компонентом комбинированных красок: Гематоксилин-эозин, Азур-эозин.

3.1.17. Фуксин

Большинство рабочих растворов фуксина готовится из насыщенного спиртового раствора (10 г основного фуксина в 100 мл спирта).

3.1.17.1. Фуксин основной карболовый (Циля)

10 мл насыщенного раствора растворяют в 100 мл 5% раствора карболовой кислоты (фенола).

3.1.17.2. Водный раствор основного фуксина.

1 мл раствора фуксина Циля смешивают с 9 мл воды. Готовить *ex tempore*, т. к. раствор нестойк.

3.1.18. Эозин-азуровые смеси.

Смеси готовят *ex tempore* из двух стабильных растворов:

1. 0,1% водный раствор эозина;
2. 0,1% раствор Азура II.

В 100 мл дистиллированной воды (лучше забуференной фосфатным буфером pH 6,8) вливают 10 мл р-ра эозина и 10 мл р-ра Азура II. Смесь стабильна 4-6 часов, затем выпадает осадок.

3.2. Методы окраски

3.2.1. Окраска по Маллори

Окраска по Маллори очень популярна в различных лабораториях и руководствах. Так, в зоологии окраска срезов по Маллори дает очень эффектные гистологические картины: ядра красные, мышцы фиолетовые, соединительная ткань голубая. Именно последнее обстоятельство определило применение этой окраски в патоморфологической лаборатории. Здесь окраска по Маллори используется для выявления коллагена.

В основе метода лежит уникальное свойство анилинового синего окрашивать коллагеновые волокна, а кислого фуксина — эластические волокна в красный цвет. В результате окраски коллагеновые волокна — темно-синие, ядра, эритроциты, эластические волокна — красные, амилоид, гиалин и слизь — голубые, мышечная ткань — оранжевая, нейроглия — красно-фиолетовая.

Готовят три раствора, используемых для окраски:

1. 0,5% раствор кислого фуксина;
2. 1% раствор фосфорно-молибденовой кислоты;
3. Комбинированный красящий раствор состава:
Анилиновый синий (водорастворимый) 0,5 г
Оранжевый Ж. 2,0 г
Щавелевая кислота (крист.) 2,0 г
Вода 100 мл

Смесь нагревают, охлаждают, фильтруют.

Методика окраски:

1. 2-3 мин окрашивают срезы в фуксине;
2. быстро споласкивают в воде;
3. помещают на 2-5 мин в фосфорно-молибденовую кислоту;
4. быстро споласкивают в воде;
5. 1-2 мин окрашивают в комбинированном красящем растворе;
6. дифференцируют в 96° спирте.

3.2.2. Окраска по Романовскому-Гимза

Применяется преимущественно для окраски мазков крови и т. п. Иногда используют в зоологической и ботанической практике для мелких объектов

Готовый концентрированный раствор красителя (например, Диахим Гемистейн-Р фирмы «Абрис+», г. Санкт-Петербург) перед применением разводят нейтрализованной (забуференной) водой в соотношении 1:10-1:12. Окрашивают этим раствором фиксированные мазки 10 минут. Промывают забуференной водой.

При окраске срезов краситель разводят в соотношении 1:50, срок окраски удлинится до 4-6 часов.

3.2.3. Окраска по Паппенгейму

Более удобна для мазков крови, чем предыдущая, не требует фиксации. Дает более четкие результаты.

Не фиксированные мазки заливают неразведенной готовой краской Май-Грюнвальда (это смесь эозина и метиленовой сини, которая не содержит следов азура, но готовится на метиловом спирте; вследствие этого приобретает свойства фиксатора) на 3 минуты. Наливают небольшое количество воды. Через 1 минуту, не споласкивая, заливают рабочим раствором красителя Романовского-Гимза на 10-12 минут. По окончании окраски споласкивают в забуференной воде.

3.2.4. Окраска по Граму

Окраска по Граму является важнейшим дифференциально-диагностическим признаком бактерий. Очень важно все операции проделать правильно и точно по времени. Необходимы 3 раствора:

1. Карболовый раствор генцианвиолета или кристаллвиолета (см раздел 3.1.).
2. Раствор Люголя (1 г кристаллического йода, 2 г иодида калия растворяют в 300 мл воды, дают отстояться 1 сутки).
3. Карболовый фуксин Циля, водный раствор (см. раздел 3.1.17.2.).
4. 96° спирт.

Методика окраски:

1. Мазок фиксируют в пламени спиртовки.
2. На мазок кладут фильтровальную бумагу и наносят карболовый раствор генцианвиолета или кристаллвиолета ровно на 1 минуту.
3. Удаляют фильтровальную бумагу и, не смывая, наносят на 1 минуту раствор Люголя.
4. Сливают раствор Люголя и прополаскивают 35-40 с в 96° спирте.
5. Дополнительно окрашивают препарат раствором фуксина в течение 2 минут.
6. Промывают водой. Сушат.

Грам-положительные бактерии окрашены в сине-фиолетовый цвет, грам-отрицательные – в розово-красный цвет.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- 1,2,4,5,6,8-гексагидроксиантрахинон 13
1,2-диоксиантрахинон 12
1,3,6,8-тетрабромфлюоресцеин 27
1,3,6,8-тетраиодфлюоресцеин 28
2,4-динитробензолазо-1-нафтол-3,6-ди-
сульфо кислоты динатриевая соль 22
3,3",5,5"-тетрабром-м-крезолсульфота-
леин 15
3,3"-дибромтимолсульфоталеин 15
3,3-дибромфенолсульфоталеин 15
4,4-дигидрокси-5- метилфуксон 14
4,4-дигидроксифуксон 14
4-фениламиноазобензол-4-сульфо кисло-
ты натриевая соль 25
5-[(3-нитрофенол)-12-азо]салициловой
кислоты натриевая соль 13
7-амино-3-имино-3Н-фенотиазин 25
7-диметиламино-3Н-4-окси-3-оксофенок-
сазин-1-карбоновая кислота 15
alkaliblau 13
bleu de Lyon 13
chinablau 13
сафранины 6
methylblau 13
wasserblau 13
азокармин 11
азокармин G 11
азокармин B 11
азокрасители 5, 6
азометиновые красители 5
азофлосин 11
азофуксин 18
азур I 11
азур II 11
азур B 11
азур метиленовый 11
азур синий AEG 28
азуры 7
акридиловый оранжевый 12
акридиновые красители 12
акридиновый желтый 8
акридиновый оранжевый 8
акрифлавин 8
ализарин 3, 7, 12
ализарин C 12
ализарин цианин 12
ализарин-3-сульфо кислоты натриевая
соль 12
ализаринкомплексон 12
ализариновый желтый 13
ализариновый зеленый 7, 13
ализариновый красный C 12
ализариновый синий 7, 13
ализариновый флотский синий AT 15
ализариновый черный 7, 13
ализарин-цианин 7
альфазурин FG 28
альциановый синий 7, 27
амидо-нафтол красный 11
амидо-черный 10B 13
аммоний пурпуровокислый 21
анилиновый голубой 13
анилиновый желтый 13, 25
анилиновый синий 13, 36
анилиновый черный 30
антрапиридиновые красители 5
антрапурпурин 7
антрахиноновые красители 5
антраценовый голубой 13
антраценовый синий 7
арилметановые красители 5
аурамин 14
аурамин O 8, 14
аурин 14
аурофосфин Ж 14
ацето-азокармин G 11
ацетокармин 11, 32
ацетоновый судан 35
ацетоорсеин 22
бисмарк коричневый 6, 14
борный кармин 18, 33
бразиллин 7
бриллиантовый желтый 14
бриллиантовый зеленый 14
бриллиантовый крезиловый синий 6, 14,
30
бриллиантовый хромовый синий P 15
бромкрезоловый зеленый 15
бромтимоловый синий 15
бромфеноловый красный 15
бромфеноловый синий 15
везуvin 14
виктория голубой C 15
галлоцианин 7, 15, 30
гелиантин 21
гематеин 16

гемадоксиллин 7, 11, 16
гемадоксиллин Бемера 31
гемадоксиллин Генденгайна 31
гемадоксиллин Делафилда 31
гемадоксиллин Караци 32
гемадоксиллин Эрлиха 30
гемадоксиллины 30
генцианвиолет 16, 32, 37
генциановый фиолетовый 16
далия фиолетовый 16
двойная цинковая соль 20
деметиловый желтый 20
диазоли 16
диазоль алый 2Ж 17
диазоль алый К 17
диазоль бордо 17
диазоль гранат Ж 17
диазоль красный 4С 17
диазоль красный К 17
диазоль красный А 17
диазоль красный Ж 17
диазоль красный ТР 17
диазоль оранжевый О 17
диазоль розовый О 17
диазоль синий 2К 17
диазоль синий 2С 17
диазоль синий О 17
диазоль синий С 17
диазоль фиолетовый 17
диазоль черный К 17
диазоль черный С 17
диметилтионина хлорид 11
дифениламиноновый оранжевый 25
железный ализарин 13
железный гемадоксиллин Генденгайна 31
желтый кораллин 14
жирорастворимый красный Ж 24
жирорастворимый оранжевый 2К 24
индиго 3
индигоидные красители 5
кальциевый красный 28
кампешевый краситель 16
канарский желтый 14
кармин 7, 17
кармин 40NF 17
кармин по Блажину 33
карминовая кислота 7, 17
кармины 32
квасцовый кармин 33
квасцовый кармин Мейера 18
кислотные красители 18
кислотный алый 18
кислотный бордо 18
кислотный желтый Д 25
кислотный оранжевый 25
кислотный прочный фуксиновый Б 18
кислотный рубиновый Н2СМ 18
кислотный сине-черный 13
кислотный ярко-голубой 18
кислотный ярко-красный 11
кислые красители 6
кислый фуксин 13
конго красный 8, 18
конгорот 18
кошениловый карминовый 17
краситель Вейгерта 19
краска по Гимза и Паппенгейму 11
краска по Май-Грюнвальду 11
краска по Райту 11
краска по Романовскому-Гимза 11
крезиловый прочный фиолетовый 6
криофосфин 8
кристаллвиолет 13, 16, 19, 33, 37
кристаллический фиолетовый 7, 19
кубовые красители 5
лакмоид 34
литиевый кармин Орта 18, 33
мажента 26
малахитовый зеленый 19
масляно-желтый 20
метилвиолет 16, 21
метиленовая синь 19
метиленовый голубой 19
метиленовый синий 7, 11, 19, 34
метилловый желтый 20
метилловый зеленый 7, 20, 34
метилловый красный 20
метилловый оранжевый 21
метилловый фиолетовый 7, 21
молочнокислый Судан 35
мурексид 21
нафтазарин 11
нейтральные красители 6, 8
нейтральный красный 8, 21
нейтральрот 21
нильблаусульфат 22
нильский синий 6, 9, 22, 34
нильский синий А 22
нитразиновый желтый 22

нитрозокрасители 5
нитроокрасители 5
окраска по Гейденгайну 11
окраска по Герцбергу 15
окраска по Гольдману 25
окраска по Граму 21, 37
окраска по Маллори 13, 27, 36
окраска по Массону 11
окраска по Нейссеру 14
окраска по Паппенгейму 37
окраска по Пачини 11
окраска по Романовскому-Гимза 37
оксазиновые красители 6
оранж G 22
оранж II 25
оранжевый G 22
оранжевый GS 25
оранжевый IV 25
оранжевый N 25
оранжевый Ж 16, 34, 36
орсеин 22, 35
орцеин 22
основной желтый 3 12
основной желтый K 12
основной коричневый 4K 22
основной фиолетовый 19
основной фиолетовый K 21
основной ярко-зеленый 14
основные красители 6
п-(п-диметиламинофенилазо) бензосуль-
фонат натрия 21
парарозанилин 23, 26
пара-розанилин 7
парафуксин кислый 22
парафуксин основной 23
патентный карминово-синий 28
п-диметиламиноазобензол 20
п-диметиламинобензол-2-карбоновая ки-
20
периновые красители 5
пикрофуксин 27
пиразолоновый желтый 23
пиронин 20
пиронин G 8
пиронин Б 23
пиронин Ж 23
полиметиновые красители 5
полициклохиноновые красители 5
протравной желтый 13
протравные красители 7
прочный желтый 25
прямые красители 23
пурпур 3
пурпурин 7
родамин 3G 8
родамин 6G 8, 23
родамин G 23
родамин В 8, 23
родамин С 23
розиндулин 11
розовая кислота 14
салициловый желтый 13
сафранин 16
сафранин А 6
сафранин О 6, 25
сафранин Т 6
сафранинЖ 24
сафранины 24
сернистые красители 5
синий сандал 16
синий Эванса 27
судан I 24
судан II 24
судан III 6, 9, 24, 35
судан IV 9
судан по Герксгеймеру 35
судан черный 9, 24
суданы 24
сульфат нильский голубой 22
сульфат основной оксазиновой краски
нильблау 22
сульфенфталъ 25
тартазин 23
тиазиновый красный 25
тиазины 7
тиоиндигоидные красители 5
тионин 7, 25, 35
толуидиновый голубой 25
толуидиновый синий 7, 8
толуиленовый красный 21
триметилтионин 11
трипановый голубой 25
трипановый красный 25
трифенилметановые красители 7
тропеолин 00 25
тропеолин Ж 00 25
уксуснокислый кармин 32
ультрабриллиантовый синий Р 15
фенилрозанилин 13
феноловый красный 25

фенолсульфоталеин 25
фенолфталеин 26
феносафранин 6, 24, 26
фиолетовый Лаута 25
флоксин 26
флюоресцеин 8, 9, 26, 27
флюоресцеина изотиацианат 26
флюоресцентные отбеливатели 5
флюорохромы 6, 9
фосфин 26
фталоциановые красители 5
фуксин 3, 26, 36
фуксин кислый 27
фуксин основной 26
фуксин основной карболовый 36
фуксины 26
хинакридоны линейные 12
хинализарин 7
хиноловый синий 27
хинониминовые красители 5
хризоидин 27
хризофенин 14
хромовый красный ализариновый 12
цианал голубой 43 27
цианин 27
цитоплазматические красители 7
чисто-синий В 7
Эванса голубой 27
озин 11, 22, 27, 35, 36
озин БА 27
озин голубоватый 27
озин желтоватый 27
озин желтый 27
эриоглауцин А 28
эриохром сине-черный С 28
эриохром черный Т 28
эритрозин 8, 27, 28
эритрозин желтоватый 28
этидиум бромид 28
этилового эфира 2-[6-(этиламино)-3-(этиламино)-2,7-диметил-3,4-ксантен-9-ил]-бензойной кислоты моногидрохлорид 23
этиловый зеленый 14
ядерный прочный красный 28
янус зеленый 29
янус зеленый В 6

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| Введение | 3 |
| Глава 1. Классификация и номенклатура красителей | 5 |
| 1.1. Химическая классификация | 5 |
| 1.2. Рабочая классификация красителей, используемых в биологической микроскопии | 6 |
| 1.2.1. Ядерные красители | 6 |
| 1.2.2. Цитоплазматические красители | 7 |
| 1.2.3. Нейтральные красители | 8 |
| 1.2.4. Флюорохромы | 9 |
| 1.3. Номенклатура красителей | 9 |
| Глава 2. Справочник по отдельным красителям | 11 |
| Глава 3. Наиболее известные рецепты красителей и способов окраски | 30 |
| 3.1. Рецепты красителей | 30 |
| 3.1.1. Анилиновый черный | 30 |
| 3.1.2. Бриллиантовый крезильовый синий | 30 |
| 3.1.3. Галлоцианин | 30 |
| 3.1.4. Гематоксилины | 30 |
| 3.1.5. Генцианвиолет | 32 |
| 3.1.6. Кармины | 32 |
| 3.1.7. Кристаллвиолет | 33 |
| 3.1.8. Лакмоид | 34 |
| 3.1.9. Метиленовый синий | 34 |
| 3.1.10. Метилловый зеленый | 34 |
| 3.1.11. Нильский синий | 34 |
| 3.1.12. Оранж Ж | 34 |
| 3.1.13. Орсеин | 35 |
| 3.1.14. Судан III | 35 |
| 3.1.15. Тионин | 35 |
| 3.1.16. Эозин | 35 |
| 3.1.17. Фуксин | 36 |
| 3.1.18. Эозин-азуровые смеси | 36 |
| 3.2. Методы окраски | 36 |
| 3.2.1. Окраска по Маллори | 36 |
| 3.2.2. По Романовскому-Гимза | 37 |
| 3.2.3. Окраска по Паппенгейму | 37 |
| 3.2.4. По Граму | 37 |
| Предметный указатель | 39 |

Селиванов Е.В.

КРАСИТЕЛИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

СПРАВОЧНИК

Сдано в набор 10.07.2003 г. Подписано в печать 01.09.2003 г. Формат 60x84¹/₈.
Бумага офсетная. Печать Riso. Гарнитура Фрисет. Усл. печ. л. 2,3.
Тираж 200 экз. Заказ

Отпечатано в типографии НП «Азбука».

Издательская лицензия ИД 01059 от 23.02.2000 г.

Лицензия на полиграфическую деятельность ПЛД № 28-51 от 22.07.1999 г.

г. Барнаул, пр. Красноармейский, 98а.

Тел. (3852) 62-91-03, 62-77-25. E-mail: azbuka@rol.ru.