

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Рекомендовано Ученым советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет» в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020100.62 Химия и специальности 020201.65 Фундаментальная и прикладная химия

Оренбург
2012

УДК 615.9 : 54 (075.8)
ББК 52.841 я 73
Т 51

Рецензент – доцент, кандидат технических наук Т.Ф. Тарасова
Авторы: Е.В. Сальникова, Е.А. Кудрявцева, С.В. Лебедев, М.Г. Скальная

Т 51 Токсикологическая химия : учебное пособие / Е.В. Сальникова, Е.А. Кудрявцева, С.В. Лебедев, М.Г. Скальная ; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург : ОГУ, 2012. – 228 с.

В пособии кратко описываются основы токсикологической химии, приведены практические рекомендации к осуществлению химико-токсикологического анализа на яды различного происхождения.

Учебное пособие предназначено для преподавания дисциплин «Токсикологическая химия» и «Токсикологическая химия ксенобиотиков» студентам, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020100.62 Химия и специальности 020201.65 Фундаментальная и прикладная химия.

УДК 615.9 : 54 (075.8)
ББК 52.841 я 73

© Сальникова Е.В.,
Кудрявцева Е.А.,
Лебедев С.В.,
Скальная М.Г., 2012
© ОГУ, 2012

Содержание

Введение.....	6
1 Основные понятия токсикологической химии.....	8
1.1 Предмет и задачи токсикологической химии	8
1.2 Классификация ядовитых веществ	11
1.3 Особенности химико-токсикологического анализа.....	19
1.4 Предварительные испытания в химико-токсикологическом анализе	25
2 Летучие яды	33
2.1 Общая характеристика летучих ядов	33
2.2 Токсикодинамика и токсикокинетика летучих ядов	35
2.3 Изолирование летучих ядов из биоматериала методом дистилляции с водяным паром	37
2.4 Изолирование летучих ядов из биоматериала методом микродиффузии.....	44
2.5 Качественные реакции на летучие яды.....	47
2.6 Лабораторная работа. Химико-токсикологический анализ летучих ядов изолированием перегонкой с водяным паром.....	71
2.7 Лабораторная работа. Обнаружение отдельных летучих соединений с помощью метода микродиффузии.....	72
2.8 Лабораторная работа. Определение содержания токсичных микропримесей газохроматографическим методом в этиловом спирте из пищевого сырья	76
3 Металлические яды	79
3.1 Общая характеристика металлических ядов	79
3.2 Токсикодинамика и токсикокинетика металлических ядов	80
3.3 Методы минерализации.....	83
3.4 Дробный метод анализа «металлических ядов»	88
3.5 Лабораторная работа. Химико-токсикологический анализ биологического объекта на металлические яды	116

3.6 Количественное определение содержания ионов тяжелых металлов в минерализате.....	118
3.7 Лабораторная работа. Экстракционно–фотометрическое определение меди из минерализата диэтилдитиокарбаматом свинца	123
3.8 Лабораторная работа. Экстракционно-фотометрическое определение ионов кадмия.....	125
4 Вещества изолируемые экстракцией с водой.....	129
4.1 Общая характеристика.....	129
4.2 Химико-токсикологический анализ на минеральные кислоты, щелочи и их соли	131
4.3 Лабораторная работа. Химико-токсикологический анализ объектов на минеральные кислоты, щелочи и их соли	149
4.4 Лабораторная работа. Определение неорганических катионов методом капиллярного электрофореза	150
4.5 Лабораторная работа. Определение неорганических анионов методом капиллярного электрофореза	151
5 Группа веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией.....	154
5.1 Общая характеристика лекарственных и наркотических ядов	154
5.2 Методы изолирования	155
5.3 Качественный анализ веществ, экстрагируемых органическими растворителями из подщелоченных водных вытяжек	164
5.4 Алкалоиды мака снотворного и их синтетические аналоги	176
5.5 Каннабиноиды	187
5.6 Производные тропана	192
5.7 Производные индола – галлюциногены	199
5.8 Лабораторная работа. Обнаружение и разделение барбитуратов с помощью тонкослойной хроматографии.....	201
5.9 Лабораторная работа. Экспертное исследование плодовых тел грибов, содержащих псилоцин и псилоцибин	203

6 Пестициды.....	206
6.1 Общая характеристика.....	206
6.3 Лабораторная работа. Обнаружение фосфорорганических пестицидов.....	209
Список использованных источников	212
Приложение А Примеры неводных азеотропных смесей.....	217
Приложение Б Методика приготовления именных реактивов.....	218
Приложение В Пример оформления акта судебно-химического исследования.....	227

Введение

Современному человеку приходится жить в обстановке токсикологической напряженности, вызванной экологическими и техногенными катастрофами, профессиональными отравлениями, несчастными случаями в быту. Более 6 млн. наименований химических соединений, содержащихся в окружающей среде, представляют потенциальную опасность для здоровья населения. В последние годы отмечается резкий рост числа смертельных отравлений алкоголем и его суррогатами, а также лекарственными средствами психотропного и наркотического действия.

В период своего становления и развития токсикологическая химия была связана, главным образом, с судебной-медицинской токсикологией, и называлась судебной химией, в 1965 году переименована в токсикологическую химию. В других странах этот предмет называют судебной-химической токсикологией, аналитической токсикологической химией, химической токсикологией, аналитической токсикологией и т.п.

Токсикологическая химия – это наука о химических превращениях токсических веществ и их метаболитов в организме, методах их выделения из объектов биологического происхождения, обнаружения и количественного определения.

Поэтому основными задачами токсикологической химии являются:

- 1 Разработка новых и усовершенствование уже применяемых химических и физико-химических методов изолирования токсических веществ из соответствующих объектов.

- 2 Разработка эффективных методов очистки вытяжек, полученных из объектов химико-токсикологического анализа.

- 3 Внедрение в практику химико-токсикологического анализа новых чувствительных и специфических реакций, качественных и количественных

методов обнаружения токсических веществ, выделенных из соответствующих объектов.

4 Изучение метаболизма токсических веществ в организме и разработка способа анализа метаболитов.

Чрезвычайное многообразие и разнохарактерность объектов исследования, необходимость извлечения малых количеств искомым химических веществ из сравнительно большого количества объекта, очищение искомого вещества от сопутствующих примесей, делает трудоемким химико-токсикологический анализ. От методов изолирования нередко зависит дальнейший ход химического анализа и его результаты. В пособии приведены практические рекомендации к осуществлению химико-токсикологического анализа на яды различного происхождения.

1 Основные понятия токсикологической химии

1.1 Предмет и задачи токсикологической химии

Токсикологическая химия — наука, изучающая методы выделения токсических веществ из различных объектов, а также методы обнаружения и количественного определения этих веществ. Эта наука, которая разрабатывает новые и совершенствует уже существующие методы определения ядовитых веществ в различных объектах, дает теоретическое обоснование этих методов [1].

Токсикологическая химия возникла из потребностей судебно-медицинской токсикологии, изучающей умышленные, случайные и другие отравления. Судебно-медицинская токсикология является одним из разделов судебной медицины.

Для установления причин отравлений судебно-медицинским экспертам необходимы данные химического исследования внутренних органов трупов и биологических жидкостей (крови, мочи) на наличие ядовитых веществ. Обнаружение и определение количества ядов в указанных объектах является одним из важных доказательств отравлений.

Отравлением, или *интоксикацией*, в токсикологии называется нарушение функций организма под влиянием ядовитого вещества, что может привести к расстройству здоровья или к смерти.

Еще несколько столетий тому назад наука, изучающая методы исследования ядов во внутренних органах, в биологических жидкостях и других объектах, получила название судебной химии.

С развитием химии, химической промышленности и фармации увеличилось число фармацевтических препаратов и веществ, применяемых в медицине и в различных отраслях народного хозяйства. Многие из этих веществ

оказались токсичными. В определенных условиях эти вещества могут быть причиной отравлений.

Некоторые вещества, вырабатываемые химической промышленностью, могут загрязнять окружающую среду и вызывать отравления. Источником отравлений могут быть и сточные воды промышленных предприятий, загрязняющие водоемы, вода которых употребляется населением.

Число токсических веществ значительно увеличивается за счет широкого применения ядохимикатов (пестицидов) для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур. Некоторые ядохимикаты, которыми обрабатывают растения, накапливаются в овощах, фруктах и других продуктах растительного происхождения, употребляемых населением в пищу. Отдельные ядохимикаты накапливаются в молоке и тканях животных, поедающих растения, обработанные этими веществами. Употребление людьми молока и мяса таких животных может быть причиной отравлений. Ядохимикаты, смываемые с поверхности растений дождевыми водами, могут поступать в почву, а затем в водоемы и вызывать отравления.

В последнее время в технике широко используются различные жидкости для обеспечения нормальной работы двигателей и для других целей. Некоторые жидкости применяются в быту для борьбы с грызунами и насекомыми. Жидкости, применяемые в технике и в быту, при неумелом обращении с ними могут быть причиной отравлений.

Таким образом, в связи с химизацией народного хозяйства значительно увеличилось число ядовитых веществ и объектов судебно-химического анализа. Традиционные объекты судебно-химического анализа (органы трупов, биологические жидкости, остатки пищи, лекарственные вещества) пополнились новыми объектами, к числу которых относятся предметы домашнего обихода, ядохимикаты, технические жидкости, пищевые добавки, косметические средства и др.

В связи с увеличением числа объектов исследования и номенклатуры исследуемых соединений судебная химия получила название токсикологической химии.

Большое значение имеет токсикологическая химия в диагностике отравлений и в борьбе с преступностью. Заключение химиков-токсикологов о наличии и количестве ядов в исследуемых объектах оказывают большую помощь судебно-медицинским экспертам (для установления причин отравлений) и судебно-следственным органам в раскрытии преступлений.

Заключения химиков-токсикологов, гигиенистов, фармакологов и специалистов других отраслей науки о высокой токсичности отдельных фармацевтических препаратов и веществ, применяемых в народном хозяйстве, являются основанием для постановки вопроса об изъятии этих веществ из употребления или об изменении условий хранения и порядка отпуска их населению.

Результаты химико-токсикологических и санитарно-гигиенических исследований воздуха и сточных вод промышленных предприятий, содержащих токсические вещества, используются органами санитарной охраны для возбуждения ходатайства перед соответствующими органами о необходимости строительства или реконструкции очистных сооружений.

Пользуясь методами токсикологической химии, устанавливают и контролируют предельно допустимые концентрации (ПДК) ядовитых веществ в воде и воздухе. Указанные методы используются для нормирования остаточных количеств пестицидов и некоторых других токсических веществ в продуктах питания и т. д.

Данные о токсичности отдельных химических веществ используются для санитарно-просветительной работы среди населения, для разъяснения правил обращения с токсическими веществами и разработки мероприятий, направленных на предупреждение отравлений этими соединениями.

На современном этапе развития токсикологической химии перед ней ставятся следующие задачи [1, 2]:

1. Разработка новых и усовершенствование уже применяемых методов изолирования токсических веществ из соответствующих объектов.

2. Разработка эффективных методов очистки вытяжек, полученных из объектов химико-токсикологического анализа.

3. Внедрение в практику химико-токсикологического анализа новых чувствительных и специфических реакций и методов (хроматографии, спектроскопии и др.) обнаружения токсических веществ, выделенных из соответствующих объектов.

4. Разработка и внедрение в практику химико-токсикологического анализа чувствительных методов количественного определения токсических веществ.

5. Изучение метаболизма токсических веществ в организме и разработка способов анализа метаболитов.

Таким образом, токсикологическая химия — это наука, которая разрабатывает новые и совершенствует уже существующие методы определения ядовитых веществ в различных объектах, дает теоретическое обоснование этих методов.

Химико-токсикологический анализ представляет собой совокупность научно обоснованных методов, применяемых на практике для выделения, обнаружения и количественного определения токсических веществ.

1.2 Классификация ядовитых веществ

В токсикологической химии ядом, или ядовитым веществом, условно называют такое химическое соединение, которое, будучи введено в организм в малых количествах и действуя на него химически или физико-химически при определенных условиях, способно привести к болезни или смерти.

К ядам могут быть отнесены не только химические соединения, но и другие материалы различной природы, например, асбестовые волокна, шерсть животных, токсины, зоотоксины, различные микроорганизмы. Они способны

привести к патологическим изменениям в организме, вызывая те или иные повреждения в тканях, органах, системах [3].

Токсин — вещество бактериального, растительного или животного происхождения, способное при попадании в организм человека или животных вызывать заболевание или гибель. Таким образом, термин «токсин» чаще применяют к веществам, которые могут быть выделены из «живого вещества» — растений, животных, грибов или бактерий. Термин «*токсикант*» обычно используется, когда речь идет о ядах антропогенного происхождения, например промышленных выбросах и т.д.

Часто используют также понятие «*ксенобиотик*» (от греческого «ксенос» - чужой, «биос» - жизнь) – чужеродные вещества, поступающие в человеческий организм с пищевыми продуктами и имеющие высокую токсичность.

Токсичность — способность вещества вызывать нарушения физиологических функций организма, в результате чего возникают симптомы интоксикации (заболевания), а при тяжелых поражениях — гибель.

Проявление токсичности вещества зависит от [4]:

– концентрации (например, соляная кислота в разведенном виде применяется как лекарство, но то же количество концентрированной кислоты действует как яд);

– растворимости, например, вещества, которые не растворяются в жидких тканях организма, не вызывают отравления (например, нерастворимая соль HgCl (каломель) безвредна, а растворимая соль HgCl_2 (сулема) является сильнейшим ядом);

– агрегатного состояния яда (например, быстрее всего действует газообразное вещество, поскольку оно интенсивно всасывается в кровь, причем в больших количествах; при приеме через рот яд действует быстрее в растворе, а не в твердом виде);

– наличия сопутствующих веществ, с которыми принят яд (например, молоко и другая жиросодержащая пища способствуют отравлению

фосфорсодержащими ядами; нейтрализующее действие наблюдается при приеме сулемы с богатой белками пищей).

Степень токсичности вещества зависит также от возраста, состояния здоровья, пола и веса человека.

Степень токсичности (ядовитости) веществ может колебаться в значительных пределах. Считается, что к собственно ядам относятся вещества с особо высокой токсичностью, т. е. вещества, способные в минимальных количествах вызывать тяжелые нарушения жизнедеятельности организма или гибель. В четвертом издании списков ядовитых веществ Ассоциации промышленных химиков США к ядам отнесены только те вещества, которые вызывают смерть в течение 48 ч половины или более животных в группе 10 белых крыс при введении исследуемого вещества в желудок в дозе 60 мг или менее, а также в случае такого же эффекта в условиях воздействия на животных в течение одного часа или менее газов, паров, тумана или пыли вещества в концентрации 2 мг/л и ниже.

К сильнодействующим ядам в нашей стране относят вещества, которые могут вызывать смертельное отравление человека в дозе 0,1 г и ниже [5].

По мере развития науки вообще и химии и биологии в частности список ядовитых веществ стал стремительно расширяться. Это и не удивительно, если учесть, что общее число химических соединений, известных человеку, растет с исключительной быстротой. Так, например, недавно Американским химическим обществом было зарегистрировано двухмиллионное химическое соединение. Однако считается, что это примерно только треть существующих на сегодняшний день веществ. Кроме того, их число ежегодно увеличивается на 300 000 соединений.

Разумеется, не все эти химические соединения обладают высокой токсичностью для человека. Тем не менее для того, чтобы оценить потенциальную опасность того или иного вещества, нужно определить его токсичность.

Все ядовитые вещества можно разделить на две категории. В зависимости от того, поступают они в организм извне или образуются в самом организме выделяют: экзогенные и эндогенные яды.

Экзогенные яды поступают в организм из внешней среды и могут быть различными по своему происхождению или химической природе.

Эндогенные яды образуются в самом организме. К ним относятся вещества, которые могут вырабатываться в организме как при нормальной жизнедеятельности, так и при различных патологических состояниях. Типичными примерами эндогенных ядов могут служить такие биогенные амины как индол, скатол, путресцин и другие. Отравление эндогенными ядами называют *аутоинтоксикацией*. Количество химических соединений, используемых в настоящее время настолько велико, а характер биологического действия настолько разнообразен, что применяют несколько видов классификаций.

Классификация ядов по действию на организм:

- гематические яды (heamotoxic) – яды, затрагивающие кровь;
- нейротоксичный яд (neurotoxic) – яды, поражающие нервную систему и мозг;
- миоксичные яды (myotoxic) – яды, повреждающие мышцы;
- гемотоксины (haemorrhaginstoxins) - токсины, которые повреждают кровеносные сосуды и вызывают кровотечение;
- гемолитические токсины (haemolysinstoxins) - токсины, которые повреждают красные клетки крови;
- нефротоксины (nephrotoxins) - токсины, которые повреждают почки;
- кардиотоксины (cardiotoxins) - токсины, которые повреждают сердце;
- некротоксины (necrotoxins) - токсины, которые разрушают ткани;
- другие токсины.

Кроме того, яды можно классифицировать по их физиологическому действию.

1 Общетокического действия - большинство промышленных вредных веществ. К их числу можно отнести ароматические углеводороды, и их амидо- и нитропроизводные (бензол, толуол, ксилол, нитробензол, анилин и др.). Большой токсичностью обладают ртуть-органические соединения, фосфоорганические вещества, тетрахлорид углерода, дихлорэтан.

2 Раздражающим действием обладают кислоты, щелочи, а также хлор-фтор- серо- и азотосодержащие соединения (фосген, аммиак, оксиды серы и азота, сероводород). Все эти вещества объединяет то, что при контакте с биологическими тканями они вызывают воспалительную реакцию, причем в первую очередь страдают органы дыхания, кожа и слизистые оболочки глаз.

3 К сенсibiliзирующим относятся вещества, которые после относительно непродолжительного действия на организм вызывают в нем повышенную чувствительность к этому веществу, т.е. способны вызывать аллергию. При последующем даже кратковременном контакте с этим веществом у человека возникают бурные реакции, чаще всего приводящие к кожным изменениям, астматическим явлениям, заболеваниям крови. Такими веществами являются некоторые соединения ртути, платина, альдегиды (формальдегид).

4 Канцерогенные (бластомогенные) вещества, попадая в организм человека, вызывают развитие злокачественных опухолей. В настоящее время имеются данные о канцерогенной опасности для человека сравнительно небольшой группы химических соединений, встречающихся в производственных условиях. К их числу, прежде всего, относят полициклические ароматические углеводороды, которые могут входить в состав сырой нефти, но в основном образуются при термической (выше 350 °С) переработке горючих ископаемых (каменного угля, древесины, нефти, сланцев) или при неполном их сгорании.

Наиболее выраженной канцерогенной активностью обладают 3,4-бензапирен, 1,2-бензантрацен. Канцерогенные свойства присущи и продуктам нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности (мазутам, гудрону, крекинг-остатку, нефтяному коксу, битумам, маслам, саже).

Канцерогенными свойствами обладают ароматические амины, в основном являющиеся продуктами анилино-красочной промышленности, а также пыль асбеста.

5 Яды, обладающие мутагенной активностью, влияют на генетический аппарат зародышевых и соматических клеток организма. Мутации приводят к гибели клеток или к функциональным изменениям. Это может вызвать снижение общей сопротивляемости организма, раннее старение, а в некоторых случаях тяжелые заболевания. Воздействие мутагенных веществ может сказаться на потомстве (не всегда первого, а, возможно, второго и третьего поколений). Мутационной активностью обладают, например, этиленамин, уретан, органические перекиси, иприт, оксид этилена, формальдегид, гидроксиламин.

6 К веществам, влияющим на репродуктивную функцию (функцию воспроизведения потомства), относят бензол и его производные, сероуглерод, хлоропрен, свинец, сурьму, марганец, ядохимикаты, никотин, этиленамин, соединения ртути [6].

По пути проникновения в организм выделяют вещества, действующие через дыхательные пути, пищеварительную систему и кожу [7].

По происхождению токсического вещества:

Промышленные вещества — наиболее разнообразная группа. Среди выбросов в атмосферу, почву, воду имеется группа неорганических веществ, содержащих практически все элементы периодической системы, а также все классы органических соединений, начиная с простейших алифатических углеводов и кончая синтетическими высокомолекулярными соединениями, а также веществами, сравнимыми по степени токсичности с боевыми отравляющими веществами.

Агрехимикаты (пестициды и химические средства защиты растений), которые включают в себя гербициды, инсектицидов, фунгициды, репелленты, протравители семян. Без использования этих веществ сегодня представляется немислимым получение высоких урожаев сельскохозяйственных культур.

Лекарственные средства. Они имеют свою фармакологическую классификацию.

Косметические средства, которые также включают некоторые биологически активные соединения, чужеродные для организма и способные в определенных концентрациях вызывать токсический эффект, например, аллергические реакции.

Отравляющие вещества, которые применяются в качестве токсического оружия для массового уничтожения людей.

По степени воздействия на организм вредные вещества подразделяются на четыре класса опасности [8]:

- 1-й - вещества чрезвычайно опасные;
- 2-й - вещества высокоопасные;
- 3-й - вещества умеренно опасные;
- 4-й - вещества малоопасные.

Класс опасности вредных веществ устанавливают в зависимости от норм и показателей, указанных в таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Класс опасности вредных веществ [8]

Наименование показателя	Норма для класса опасности			
	1-го	2-го	3-го	4-го
Предельно допустимая концентрация вредных веществ в воздухе рабочей зоны, мг/м ³	менее 0,1	0,1-1,0	1,1-10,0	более 10,0
Средняя смертельная доза при введении в желудок, мг/кг	менее 15	15-150	151-5000	более 5000
Средняя смертельная доза при нанесении на кожу, мг/кг	менее 100	100-500	501-2500	более 2500
Средняя смертельная концентрация в воздухе, мг/ м ³	менее 500	500-5000	5001-50000	более 50000

По способу изолирования из биологического материала ядовитые вещества подразделяют на шесть групп [1, 2]:

– вещества, изолируемые из биологического материала путем перегонки с водяным паром (летучие яды). К этой группе относятся: синильная кислота и ее соли, некоторые спирты, формальдегид, ацетон, фенол, хлорпроизводные алифатических углеводов, уксусная кислота, этиленгликоль, тетраэтилсвинец и др.;

– вещества, изолируемые из биологического материала настаиванием его с подкисленной водой или с подкисленным этиловым спиртом (лекарственные яды). К ним относятся: алкалоиды, их синтетические аналоги, барбитураты и другие токсические синтетические органические соединения;

– вещества, изолируемые из биологического материала настаиванием его с водой (без подкисления или подщелачивания). Таким путем из биологического материала изолируют минеральные кислоты, едкие щелочи и соли некоторых минеральных кислот;

– вещества, изолируемые из биологического материала настаиванием его с органическими растворителями (без подкисления или подщелачивания), несмешивающимися с водой. Так в основном изолируют ядохимикаты;

– вещества, для изолирования которых применяют методы минерализации биологического материала. Эту группу токсических веществ составляют «металлические яды»;

– вещества, которые определяют непосредственно в биологическом материале без выделения из исследуемых объектов. К ним относится оксид углерода (II).

Приведенная выше классификация ядовитых и сильнодействующих веществ является условной. Известны токсические вещества, которые можно изолировать из биологического материала несколькими методами. Так, например, согласно приведенной выше классификации, салициловая кислота, анабазин, никотин, кониин и некоторые другие токсические соединения

относятся к группе веществ, изолируемых из биологического материала настаиванием с подкисленной водой или с подкисленным этиловым спиртом. Эти вещества можно отнести и к группе соединений, перегоняемых с водяным паром. Таких примеров можно привести много.

1.3 Особенности химико-токсикологического анализа

Химико-токсикологический анализ имеет ряд особенностей. Для обнаружения и количественного определения токсических веществ в химико-токсикологическом анализе используется ряд реакций и методов, применяемых в аналитической и фармацевтической химии. Однако многие эти реакции и методы, ввиду малой чувствительности или неспецифичности, непригодны для целей химико-токсикологического анализа.

Химико-токсикологический анализ характеризуется разнообразием объектов исследования, содержащих незначительные количества токсических веществ. Эти вещества являются микрокомпонентами в большом количестве биологического материала. Прежде чем приступить к обнаружению и количественному определению токсических веществ, необходимо выделить их из соответствующих объектов. Выбор методов выделения токсических веществ зависит от характера объекта исследования. При использовании неподходящего метода выделения токсического вещества из исследуемого объекта оно может быть частично или полностью потеряно в ходе химико-токсикологического анализа. Причем в ряде случаев для выделения одного и того же вещества из различных объектов необходимо применять разные методы.

Одной из особенностей химико-токсикологического анализа является и то, что наряду с исследованием веществ, вызвавших отравление, необходимо выделять из биологического материала и определять их метаболиты.

Учитывая, что в трупном материале содержится незначительное количество вещества, вызвавшего отравление, для обнаружения этого вещества необходимо применять чувствительные реакции. Однако, при использовании

высококочувствительных реакций в вытяжках из биологического материала можно обнаружить не только ядовитое вещество, вызвавшее отравление, но и некоторые вещества (соединения металлов), являющиеся составной частью клеток и тканей организма, а также лекарственные вещества, принятые перед смертью в терапевтических дозах с лечебной целью. Поэтому эксперт-химик должен уметь правильно оценить результаты применяемых им реакций обнаружения исследуемых веществ.

Судебно-химическую экспертизу проводят с целью выделения, идентификации и количественного определения (или исключения) ядовитых, наркотических, психотропных и сильнодействующих веществ, продуктов их превращения, главным образом, в органах и биологических жидкостях организма человека, а также в фармацевтических препаратах, пищевых продуктах, напитках, окружающей человека среде и предметах с интерпретацией полученных результатов [9, 37].

Решение этой задачи не всегда легко осуществимо. Трудности обнаружения и определения ядовитых веществ в объектах исследования, особенно объектах животного происхождения, в значительной степени обусловлены поведением химических веществ в организме и трупе.

Введенное в организм ядовитое вещество распределяется прежде всего часто неравномерно: одни из веществ попадают главным образом в кровь (этиловый алкоголь), другие распределяются по другим органам и тканям.

Организм тем или иным способом борется с введенным ядовитым веществом; последнее выводится из организма, например, с рвотными массами, мочой, экскрементами и т. п.

Многие химические вещества вступают во взаимодействие с различными жидкостями и тканями организма (соединения металлов с белками образуют альбуминаты, алкалоиды - комплексные соли); химические вещества органической природы подвергаются в организме многочисленным превращениям (метаболизм), протекающим по 4 основным типам: окисление, восстановление, гидролиз и синтез с отдельными биохимическими

компонентами организма (с глюкуроновой кислотой, с остатком серной кислоты). При этом количество превращений, протекающих по трем первым типам, очень велико, по четвертому типу - ограничено; большинство веществ подвергается превращениям в организме в две фазы. В первой фазе протекают реакции окисления, восстановления и гидролиза, а во второй - синтеза. Для некоторых веществ характерной является лишь одна фаза. Примером может служить метаболизм этилового алкоголя до ацетальдегида, уксусной кислоты и углекислоты. В процессе метаболизма в подавляющем большинстве случаев образуются менее токсичные вещества, а в отдельных случаях, наоборот, менее токсичные вещества переходят в более токсичные (например, тиопентал превращается в этаминал).

Из сказанного становится понятным, почему специалист, проводящий химико-токсикологический анализ биологического материала, в заключении своего исследования никогда не может утверждать об отсутствии того или иного ядовитого вещества в объекте исследования. У него есть возможность говорить лишь об обнаружении или необнаружении искомого вещества в доставленном ему материале, а в случае обнаружения и о количестве найденного соединения.

При этом химик обязательно должен учитывать методы (разрешающие возможности методов) изолирования, очистки, обнаружения и определения вещества и свойства исследуемых веществ. Заключение о том, является ли найденное вещество ядом или не является, делается не химиком, а врачом, в том числе и судебно-медицинским экспертом, судебно-следственными органами (при судебно-химическом исследовании), и даже комиссией различных специалистов с учетом не только результатов химико-токсикологического анализа, но и ряда других материалов; обстоятельства дела, клиническая картина, история болезни, акт судебно-медицинского исследования трупа и т. д.

Зная о судьбе химических веществ, в том числе и ядовитых, в организме и трупе, можно легко понять также, почему заключение эксперта-химика (судебного химика), как и любого другого эксперта, необязательно для следствия и суда. Судебно-химическое исследование для судебно-следственных органов

является лишь научным исследованием (методом), способствующим более правильному и более объективному решению вопросов, возникающих перед ними. Экспертные заключения (в том числе и заключения судебного химика) судебно-следственными органами оцениваются по «внутреннему убеждению», основанному на объективном рассмотрении всех материалов дела, включая и результаты, например, судебно-химического анализа.

И действительно, исходя из природы химических веществ и учитывая возможности химических методов, нетрудно представить, что отрицательный результат судебно-химического исследования биологических объектов не всегда будет свидетельствовать об отсутствии в объекте исследования ядовитых веществ. При помощи судебно-химического исследования в биологическом материале обнаруживаются лишь следы остатков ядовитого вещества, введенного в организм. Часть введенного вещества могла распределиться по всем органам, часть оказалась выведенной из организма, например, с мочой, рвотой, экскрементами. Какое-то количество вещества могло быть разрушено, подвергнуто превращениям или вступило во взаимодействие с различными компонентами организма. Наконец, часть вещества может оказаться необнаруженной в связи с недостаточно чувствительными реакциями, применяемыми при том или ином методе исследования. Многие вещества до настоящего времени еще и не обнаруживаются химическими методами, например, бактериальные токсины и ряд других органических химических соединений.

Даже если анализ показал присутствие какого-либо ядовитого вещества, это не всегда может служить доказательством введения его в организм с целью отравления, так как вещество могло попасть в организм и не в качестве яда, а в виде лекарства (мышьяк, морфин, стрихнин и др.), могло быть внесено в объект исследования (например, мышьяк из земли кладбища при исследовании органов эксгумированного трупа). Наконец, при использовании особенно чувствительных методов судебно-химическим исследованием могут быть обнаружены вещества, являющиеся продуктами белкового распада и

находящиеся в объекте исследования в качестве естественно содержащихся элементов (цинк, марганец и др.). В силу всего этого производство химико-токсикологических и особенно судебно-химических исследований, главным образом биологического материала, требует серьезной теоретической и практической подготовки специалиста в области токсикологической (судебной) химии, с одной стороны, и знания границ этого вида исследований врачами, органами дознания, следствия и суда - с другой.

Порядок производства судебно-химической и химико-токсикологической экспертизы регламентируется в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации приказом № 346н от 12.05.2010 г. Минздравсоцразвития РФ [9]. Согласно этому приказу:

- судебно-химическое исследование объектов должно быть начато в день их поступления, учитывая возможность летучести и разложения некоторых веществ (органические растворители, кислоты, щелочи, синильная кислота, кокаин и др.);

- для проведения судебно-химического исследования (обнаружение, применение подтверждающих методов, количественное определение) расходуют две трети присланных объектов и одну треть хранят в отделении (архив) для проведения повторного анализа (если возникает такая необходимость). При получении ограниченного количества объектов они могут быть израсходованы полностью по согласованию с органом или лицом, назначившим экспертное исследование;

- проведение экспертного исследования осуществляют при наличии судебно-медицинской документации, вещественных доказательств и иных объектов, образцов (контрольных) для сравнительного исследования;

- для обнаружения и идентификации химических и лекарственных веществ применяются предварительные методы (цветные реакции, тонкослойная хроматография, иммуноферментные методы) и подтверждающие инструментальные (спектрофотометрия в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях, атомно-абсорбционная спектрофотометрия,

газожидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, хроматомасс-спектрометрия);

– исследование может быть произведено на определенное соединение, группу веществ или на неизвестное вещество по схеме общего судебно-химического анализа в зависимости от вопросов, поставленных в сопроводительном документе;

– в зависимости от поставленных задач разрабатывают соответствующую схему анализа. По возможности должно быть применено не менее двух независимых методов, причем каждый из них должен быть основан на различных физических или химических принципах;

– объекты (ткани) для всех исследований берут по массе, количеству биожидкостей, дистиллятов, диализатов, объему фильтратов. Количественное определение производят во всех случаях, когда имеются соответствующие методики определения и результаты возможно интерпретировать. Количество найденных веществ относится к 1 кг взятого для анализа объекта и выражается в весовых единицах;

– все методы количественного определения должны быть апробированы на той биологической матрице, которая будет использоваться для анализа (кровь, моча, ткани органов), к которой добавляют заведомо известное количество вещества и подвергают исследованию по данной схеме анализа. При этом определяют пределы обнаружения и определения, абсолютный выход при различных концентрациях, диапазон определяемых содержаний по калибровочному графику (подчинение закону Ламберта-Бера), селективность и воспроизводимость анализа. Для повышения точности определения обнаруживаемого вещества проводят не менее двух определений для каждого объекта;

– следует убедиться в химической чистоте используемых для анализа реактивов. На чистоту реактивы проверяют в тех максимальных количествах, в

которых они будут употреблены для анализа, и теми же методами и реакциями, которые будут применены в ходе судебно-химического исследования;

– для обеспечения высокого качества проведения экспертного исследования рекомендуется производить внутрилабораторный и внешний контроль качества, ориентированный как на метод, так и на определяемое вещество;

– в целях единого подхода к учету экспертной работы в структурных подразделениях бюро судебно-медицинской экспертизы применяют коэффициенты пересчета судебно-химических исследований на полные анализы (условные единицы учета);

– по окончании экспертизы заключение эксперта, объекты исследований и материалы дела вместе с сопроводительным письмом, подписанным руководителем государственного судебно-экспертного учреждения или уполномоченным им лицом, выдают под роспись органу или лицу, назначившему экспертизу, или их представителю (по выданной ему доверенности), либо (по согласованию) направляют средствами почтовой (курьерской) связи.

1.4 Предварительные испытания в химико-токсикологическом анализе

Приходится всегда иметь в виду, что предварительные испытания не решают вопроса, а только направляют его решение, поэтому необходимо с особенно большой осторожностью относиться к трате на них объектов, беря на все испытания, например, не более 1/20 части каждого объекта.

1 Прежде всего, устанавливают характер объекта, его консистенцию, морфологический состав, например, при внутренних органах трупа отмечается, части каких органов в нем заключаются.

2 Устанавливают, консервированы ли объекты. Консервирование внутренних органов трупов при пересылках на достаточно большие расстояния

часто производится винным спиртом. Это важно установить потому, что некоторые дальнейшие манипуляции, например, разрушение органических веществ хлором, потребуют удаления спирта.

В протоколах вскрытия и других препроводительных документах консервирование обыкновенно отмечается, но иногда это и упускается. В случаях консервирования объектов винным спиртом при объекте должен быть доставлен образец этого спирта для производства судебно-химического исследования.

Были недопустимые по существу дела попытки консервировать формалином, уничтожающим многие яды, как, например, аммиак, синильную кислоту и пр., затрудняющим открытие метилового спирта и, наконец, могущим быть ядом.

3 Определяют *запах* объекта. Часто он дает руководящие указания, например, горькоминдальный запах при синильной кислоте и простой цианистой соли вследствие гидролиза, нитробензоле, бензойном альдегиде. Понятно, что пахучие продукты гниения часто маскируют первоначальный запах. Иногда прибавление нескольких капель раствора перманганата калия уничтожает запах продуктов гниения.

4 При исследовании необходимо обратить внимание на *цвет* объектов. Важно установить, равномерно ли окрашен весь объект или окрашены только некоторые места, не исходит ли окрашивание от отдельных частиц, кристаллов. Желтое окрашивание характерно для пикриновой кислоты, акрихина (окраска белковых тел), для азотной кислоты (ксантопротеиновая реакция на белок), хроматов и различных других красок. Зеленое, синее или фиолетовое окрашивание наблюдается при солях меди, бурое или розово-фиолетовое наблюдается при солях марганца и т.д. Черное окрашивание (обугливание) характерно для содержимого желудка при отравлениях концентрированной серной кислотой и для тканей облитых ею. Характерны изменения в цвете от кислот на окрашенных тканях одежды и других предметах, которые часто бывают объектом исследования при преступных попытках к вредительству.

5 рН среды исследуемых жидкостей, желудочного содержимого и прочих объектов дает иногда ясные указания.

При неводной жидкости несколько капель ее тщательно взбалтывают с небольшим количеством дистиллированной воды (с рН = 7) и водный раствор испытывают индикаторами. При этом необходимо иметь в виду, что обыкновенные пробирки и другая химическая посуда при взбалтывании с водой часто отдают ей следы щелочей, сообщая щелочную реакцию. Поэтому должно быть предварительно испытано стекло химической посуды.

Кислая реакция среды объекта может обуславливаться наличием свободных кислот, кислых солей сильных кислот и солей тяжелых металлов.

Кислая реакция желудочного содержимого уже исключает возможность открытия введенных в организм едких щелочей.

Ткани внутренних органов трупа, как и содержимое желудка, после смерти обыкновенно имеют кислую реакцию на лакмус, не вследствие первоначальной кислотности их (соляная кислота желудочного сока уже не открывается после смерти организма), а как результат кислотного брожения, вызываемого бактериями. Затем с переменой бактериальной флоры начинается щелочное брожение, развиваются аммиак и сероводород, содержимое желудка приобретает щелочную реакцию на лакмус. При этом часто успевают нейтрализоваться до исследования даже введенные внутрь кислоты, что делает невозможным их открытие.

Кислая реакция среды не является окончательным доказательством присутствия минеральных кислот, а лишь служит руководящим указанием.

Щелочная реакция среды может обуславливаться наличием щелочей, карбонатов, а также растворимых силикатов. Для отличия щелочей от карбонатов (и растворимых силикатов) несколько капель испытуемой жидкости смешивают в пробирке с 2 каплями спиртового раствора фенолфталеина, затем взбалтывают с избытком хлорида бария. При наличии щелочи розовая окраска фенолфталеина сохраняется, при наличии карбонатов щелочных металлов раствор обесцвечивается.

6 Твердые тела, порошки, осадки в жидкостях тщательно осматривают при помощи лупы и микроскопа (обыкновенно с малыми увеличениями в 60 или 100 раз).

Неоднократно наблюдались случаи, когда на твердых телах: лепешках, печенье и др., находились призматические кристаллы нитрата стрихнина, фарфоровидные крупинки белого мышьяка или мышьяковистого ангидрида, зеленые частицы надкрылий шпанских мух и т.д., могущие служить для дальнейших испытаний в качестве вещественного доказательства.

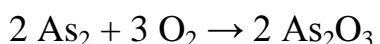
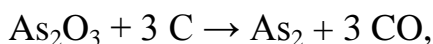
При исследовании желудка последний вместе с содержимым растягивают по большой свежeweымытой фарфоровой чашке и при помощи лупы производят подробный осмотр всей внутренней поверхности желудка и его содержимого. При помощи чистого пинцета отбирают кристаллы и другие подозрительные частицы, например, частицы, напоминающие крупинки мышьяковистого ангидрида, остатки растений, листьев, семян, грибов и другие объекты, которые затем подвергают химическому или ботанико-фармакогностическому исследованию.

Иногда содержимое желудка смывают в коническую колбу, отстаивают или центрифугируют, затем пипеткой берут осадок и исследуют его макро- и микроскопически.

При анализе порошков после обыкновенного микроскопического исследования иногда часть их смешивают с хлороформом, отстаивают в конической колбе и исследуют отдельно макро- и микроскопически тяжелую фракцию (соли ядовитых металлов) и легкую, плавающую на поверхности часть, большей частью растительные остатки.

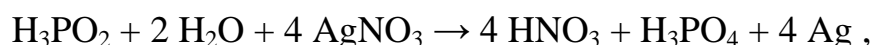
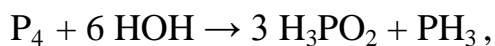
7 Найденные на твердых телах, на стенках желудка и прочих объектах фарфоровидные крупинки, напоминающие белый мышьяк, подвергают предварительному испытанию: крупинку помещают в тугоплавкую тоненькую, оттянутую с одного конца и запаянную трубочку. Над крупинкой плотно помещают кусочек угля и осторожно накаливают сначала уголь, а затем и исследуемую крупинку, вращая трубочку. При белом мышьяке в холодной части

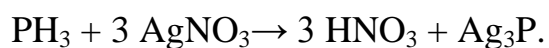
трубочки образуется серо-черное блестящее кольцо металлического мышьяка. Запаянный конец отрезают, уголь удаляют и трубочку осторожно нагревают, начиная с отрезанного конца. При этом кольцо перегоняется к свободному концу трубочки, давая белый налет мышьяковистого ангидрида, образующегося вследствие окисления. Налет рассматривают под микроскопом с малым увеличением: видны блестящие микроскопические октаэдры, характерные для As_2O_3 :



8 При предварительных испытаниях на желтый фосфор часть желудка с его содержимым помещают в эрленмейеровскую колбочку, закрытую пробкой с узким прорезом. К нижней поверхности пробки прикрепляют две полоски фильтровальной бумаги, из которых одна смочена раствором нитрата серебра, а другая раствором ацетата свинца. Колбу помещают на слабо нагретую водяную баню (около 40 °С) и оставляют на 24 часа (проба Шерера). Побурение одной «серебряной» бумажки указывает на присутствие желтого фосфора. При заметном присутствии его может ощущаться запах озона, образующегося вследствие окисления желтого фосфора кислородом воздуха.

Побурение обеих бумажек может быть при наличии фосфора и сероводорода, а также при одном последнем, находящемся часто в объектах вследствие гниения. Далее почернение одной «серебряной» бумажки может обуславливаться и другими летучими веществами, обладающими восстановительной способностью, например, формальдегидом или сульфидом фосфора (V), который менее ядовит, чем фосфор. Следовательно, эта предварительная проба может доказать только отсутствие фосфора (когда обе бумажки остаются неокрашенными), или, как говорят судебные химики, имеет отрицательное значение. Почернение «серебряной» бумажки вызывается образованием Ag и Ag_2P_3 (коричневого цвета фосфид серебра).





9 Хорошей предварительной пробой при свежем трупном материале является микрокристаллическая реакция на синильную кислоту (HCN), основанная на образовании цианида серебра AgCN. Кусочки исследуемых органов, мочу или кровь помещают в маленькую (25 или 30 мл) колбочку. Объект подкисляют щавелевой кислотой, а колбу быстро закрывают предметным стеклом, на нижнюю поверхность которого нанесена капля 1 % раствора AgNO₃, подкрашенного метиленовой синькой (можно и не подкрашивать). Через 2 или 3 часа при микроскопическом исследовании наблюдаются спутанные, разной величины, тончайшие иглы, цианида серебра синие при подкрашивании метиленовой синькой и бесцветные без нее.

10 Свободный йод при отравлениях обычно быстро поглощается белками и щелочами и уже не открывается как таковой. Более надежным бывает открытие свободного йода в свежих рвотных извержениях, которые иногда окрашены в синий цвет вследствие присутствия в желудке крахмалистых веществ. Для испытания в случае надобности на свободный йод рвотные массы или желудочное содержимое размазываются по фарфоровой чашке и смачиваются крахмальным клейстером, дающим с йодом синее окрашивание.

11 Для испытания на аммиак часть желудочного содержимого или рвотных масс (при щелочной реакции их, наличии едкой щелочи) помещают в коническую колбочку. Отверстие колбочки закрывают пробкой, к нижней поверхности которой прикреплены две бумаги. Первая - влажная универсальная индикаторная бумага, смоченная дистиллированной водой, вторая - фильтровальная бумага, смоченная раствором ацетата свинца. Посинение универсальной индикаторной бумаги указывает на присутствие аммиака. Почернение второй бумаги указывает на сероводород. Реакции имеют значение только при свежих внутренних органах трупов, где нет щелочного брожения, дающего аммиак и сероводород. Поэтому при наличии только аммиака, поступившего в организм извне, а не образовавшегося вследствие гниения

(брожения) белков, вторая «свинцовая» бумажка будет оставаться бесцветной (отсутствие сероводорода).

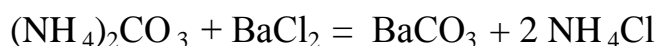
Эта предварительная проба является в то же время единственным основным испытанием на введенный в организм аммиак.

Необходимо иметь в виду, что и в свежих внутренних органах трупов аммиак может образоваться при наличии едких щелочей, а также цианида калия (натрия), реагирующего как щелочь вследствие гидролиза.

Испытание на аммиак без пробы на сероводород также может быть осуществлено. Такая проба основана на предварительном осаждении карбоната аммония хлоридом бария. Карбонат аммония – продукт гниения, легко подвергающийся гидролизу с выделением аммиака:

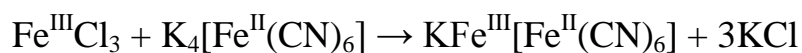


Под влиянием растворимой соли бария возможность гидролиза карбоната аммония исчезает.

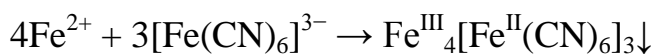


Для испытания содержимое желудка или части органов смешиваются в колбочке с дистиллированной водой и равным объемом насыщенного раствора BaCl_2 . Через 10 или 15 минут отверстие пробирки или колбы тщательно обтирают и закрывают влажной индикаторной бумагой. Через 15 или 20 минут в присутствии свободного аммиака наблюдается посинение индикаторной бумаги. Чувствительность реакции – 1 мг аммиака в пробе.

12 Калиевые и натриевые соли железистосинеродистой кислот (жёлтая и красная кровяные соли), не разлагаются в организме, но при перегонке с разведенными кислотами (даже с винной) дают синильную кислоту и тем могут ввести в заблуждение судебного химика. Для испытания на желтую $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и красную кровяные соли $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ несколько капель желудочного содержимого размазывают по фарфоровой чашке, подкисляют и испытывают хлоридом железа (III), а затем сульфатом железа (II). Посинение от хлорида железа (III) укажет на присутствие желтой кровяной соли.



Посинение от сульфата железа (II) укажет на присутствие красной кровяной соли.



Контрольные вопросы

- 1 Предмет изучения токсикологической химии, её задачи?
- 2 Дайте определения следующим основным понятиям токсикологической химии: ядовитое вещество, токсичное вещество, токсин, токсикант, ксенобиотик, отравление, токсичность вещества, химико-токсикологический анализ, аутоинтоксикация.
- 3 Факторы, влияющие на степень токсичности вещества?
- 4 Пути поступления яда в организм?
- 5 Классификация ядовитых веществ по происхождению?
- 6 Классификация ядов по физиологическому воздействию?
- 7 Классификация ядовитых веществ по способу изолирования?
- 8 В чем особенности химико-токсикологического анализа?
- 9 Что называется аутоинтоксикацией?
- 10 Какие предварительные испытания необходимо провести перед химико-токсикологическим анализом?

2 Летучие яды

2.1 Общая характеристика летучих ядов

Токсиканты этой группы в обычных условиях находятся в газовой фазе или легко в нее переходят из жидкого состояния. Во-вторых, летучие яды можно изолировать из биологических материалов методом перегонки (дистилляции) или микродиффузии. В-третьих, токсиканты этой группы идентифицируют и количественно определяют методом газовой хроматографии (ГХ) и газожидкостной хроматографии (ГЖХ) (парофазный метод).

К летучим ядам относятся продукты перегонки нефти и большинство органических растворителей, применяемых в промышленности и быту, которые используют для растворения, разбавления или диспергирования материалов, нерастворимых в воде.

Многие летучие растворители, например, керосины и бензины, являются сложными смесями сотен химических компонентов. В число летучих ядов включают алифатические углеводороды и их хлорпроизводные, спирты, эфиры, альдегиды, кетоны, разнообразные ароматические соединения и многочисленные токсичные газы.

Летучие яды классифицируют в основном согласно их химической природе с учетом молекулярного строения и присутствующих в молекуле функциональных групп [11]:

- алифатические углеводороды и их галогенопроизводные (хлороформ, хлоралгидрат, четыреххлористый углерод, дихлорэтан, 1,1,1-трихлорэтан, трихлорэтилен, тетрахлорэтилен, метиленхлорид и др.);
- циклические алканы и их галогенопроизводные (гексан, гексахлороциклогексан и др.);
- кетоны (ацетон и др.);
- карбоновые кислоты (муравьиная, уксусная кислоты и др.);

- ароматические соединения (бензол, хлорзамещенные производные бензола, нитробензол, толуол, этилбензол и др.);
- фенолы (фенол, крезолы, пентахлорфенол, хлорофенолы и др.);
- простые газообразные вещества (хлор, фтор и др.);
- летучие оксиды и гидриды (угарный газ, диоксид азота, фтороводород, сероводород, селеноводород, арсин, фосфин и др.);
- цианид водорода;
- акрилонитрил $\text{CH}_2=\text{CHCN}$;
- ацетонитрил CH_3CN ;
- диметилформаид $\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$.

Незначительные различия химической структуры летучего яда могут привести к ощутимым различиям токсичности.

Летучие яды легко абсорбируются через легкие, кожу и желудочно-кишечный тракт. Липофильность растворителей возрастает с увеличением молярной массы, а летучесть при этом уменьшается.

Дети и пожилые люди потенциально чувствительны к действию летучих ядов. Токсические дозы для детей и взрослых различаются в 2 или 3 раза. Чем меньше возраст ребенка, тем больше проявляется токсический эффект растворителя. Доля жировой ткани в организме ребенка в возрасте от 0,5 до 3 лет больше, чем у взрослого, и уменьшается к 16 годам. Липофильные растворители концентрируются преимущественно в жировой ткани и медленно выводятся. У пожилых людей доля жировой ткани в организме увеличивается в результате снижения содержания воды и общей массы тела. Кроме того, в пожилом возрасте сердечный выброс, почечный и печеночный кровотоки снижены, выведение токсикантов и их метаболитов затруднено. Содержание в крови полярных растворителей относительно выше, чем неполярных.

2.2 Токсикодинамика и токсикокинетика летучих ядов

Токсикодинамика – раздел токсикологии, в рамках которого изучается и рассматривается механизм токсического действия, закономерности развития и проявления различных форм токсического процесса.

Токсикокинетика – раздел токсикологии, в рамках которого изучаются закономерности резорбции ксенобиотиков в организме, их распределение, биотрансформация и элиминация.

Токсикодинамика и токсикокинетика летучих ядов устанавливают связь между дозой, скоростью и механизмами при абсорбции, распределении и выведении летучего яда.

Летучесть и липофильность органических растворителей влияют на степень абсорбции, механизмы и пути распределения и выведения. Поскольку многие летучие яды липофильны и имеют относительно низкую молекулярную массу, они свободно проникают через биологические мембраны путем пассивной диффузии.

Абсорбция. Всасывание паров летучего соединения происходит преимущественно в альвеолах, хотя отчасти абсорбция начинается в верхних отделах дыхательных путей. Практически сразу устанавливается равновесие между молекулами газообразного соединения в альвеолярном воздухе и крови капилляров легких. Коэффициент распределения может быть определен как отношение концентраций летучего вещества между указанными средами в состоянии равновесия:

$$K = \frac{C_{\text{крови}}}{C_{\text{альвеолы}}},$$

где $C_{\text{крови}}$ и $C_{\text{альвеолы}}$ – концентрации летучего вещества в крови и альвеолах легких.

Гидрофильные растворители, например, спирты и гликоли, имеют относительно высокие коэффициенты распределения в системе кровь –

альвеолярный воздух, что связано с их высокой растворимостью в водной фазе (кровь). При абсорбции в кровь для восстановления концентрации токсиканта в альвеолярном воздухе дыхание учащается, соответственно возрастает кровоток к легким. Таким образом, восстанавливается соотношение концентраций $C_{\text{кровь}}/C_{\text{альвеолы}}$, что вновь приводит к увеличению легочной абсорбции.

Органические растворители хорошо абсорбируются также из желудочно-кишечного тракта. Большинство растворителей полностью всасывается при приеме внутрь. Их всасывание начинается уже в ротовой полости, как через слизистую оболочку, так и в результате заглатывания слюны, которая содержит растворенный яд. Максимальное содержание токсиканта в крови достигается в течение нескольких минут после приема внутрь. Содержимое желудочно-кишечного тракта препятствует абсорбции растворителей.

Поступление растворителей в организм через кожу путем пассивной диффузии может сопровождаться локальными или системными эффектами. Скорость абсорбции через кожу зависит от концентрации растворителя, площади абсорбирующей поверхности, продолжительности воздействия, повреждений на коже и толщины ороговевшего слоя, липофильности и молярной массы летучего вещества.

Распределение. Растворители, всасывающиеся из желудочно-кишечного тракта в систему портальной вены, попадают в печень и выделяются с желчью. Они могут также элиминироваться органами дыхания. Растворители, которые легко метаболизируются, подвержены элиминации еще до проникновения в артериальную кровь. Константа скорости печеночной элиминации зависит от количества токсиканта. Элиминация через легкие, напротив, представляет собой процесс первого порядка и константа скорости легочной элиминации не зависит от концентрации растворителя в крови.

Содержание органических растворителей в крови быстро падает на начальной стадии элиминации. Это связано с интенсивной диффузией растворителя из крови в различные ткани. Жировые ткани увеличивают объем распределения липофильных растворителей, но равновесие с жировой тканью

устанавливается медленно из-за незначительной (около 3 %) доли кровотока к ней.

В процессе биотрансформации токсичность летучих ядов может изменяться. Многие растворители плохо растворимы в воде и превращаются в относительно растворимые гидрофильные метаболиты, которые легко выводятся с мочой и/или желчью. Некоторые растворители в процессе метаболизма превращаются в активные метаболиты с цитотоксическими и/или мутагенными свойствами.

Механизм токсичности летучих ядов. Поражение летучими ядами в первую очередь происходит в легких. Основным органом-мишенью для паров летучих органических растворителей является центральная нервная система (ЦНС). Однако все представители данной группы имеют некоторые особенности [11].

2.3 Изолирование летучих ядов из биоматериала методом дистилляции с водяным паром

Дистилляция с водяным паром широко применяется как в лабораторной практике, так и в химической промышленности для получения веществ в чистом виде. В ХТА данным методом достигается изолирование ядовитых и сильнодействующих веществ из объектов исследования биологической природы [2]. К этой группе веществ относятся представители различных классов химических соединений: синильная кислота, некоторые спирты алифатического ряда, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, галогенопроизводные углеводородов алифатического ряда, бензол, фенолы amino- и нитропроизводные ароматического ряда и некоторые другие вещества.

Способность химических соединений перегоняться с водяным паром зависит от их физических свойств. С водяным паром перегоняются некоторые жидкости, практически не смешивающиеся или ограниченно смешивающиеся с водой, а также вещества, образующие с водой азеотропные смеси. Известны

ядовитые соединения (метиловый спирт, ацетон, уксусная кислота, этиленгликоль и др.), которые смешиваются с водой и перегоняются с водяным паром, но не образуют азеотропных смесей.

При нагревании двухкомпонентной смеси, состоящей из практически нерастворимых друг в друге веществ, образуются два слоя, при этом давление пара каждой жидкости будет таким же, как и давление пара ее в чистом виде, независимо от наличия другой жидкости. Каждая жидкость в смеси будет вести себя так, как будто отсутствует другая жидкость. Общее давление пара смеси P таких жидкостей будет равно сумме парциальных давлений паров обоих компонентов P_1 и P_2 при данной температуре (закон Дальтона):

$$P = P_1 + P_2,$$

где P_1 – давление паров воды,

P_2 – давление паров вещества.

Смесь начнет кипеть тогда, когда при данной температуре сумма давлений насыщенных паров обоих ее компонентов станет равной внешнему (атмосферному) давлению (рисунок 2.1). Точка кипения смеси не смешивающихся друг с другом жидкостей всегда будет ниже точек кипения обоих ее компонентов. Это объясняется тем, что общее давление паров смеси P всегда больше, чем парциальное давление P_1 и P_2 каждой отдельно взятой жидкости. Температура кипения чистой жидкостей и их смеси соответствует точкам пересечения изобары с кривыми давления пара [1].

Дистилляция с водяным паром особенно выгодна, когда изолируемое вещество кипит при очень высокой температуре или разлагается при температуре кипения.

После перегонки с водяным паром жидкостей, не смешивающихся с водой, получают дистилляты, которые разделяются на два слоя (водный слой и слой перегнанной жидкости). Однако в ряде случаев после перегонки с водяным

паром дистилляты не разделяются на указанные выше два слоя. Это имеет место тогда, когда при перегонке образуются азеотропные смеси.

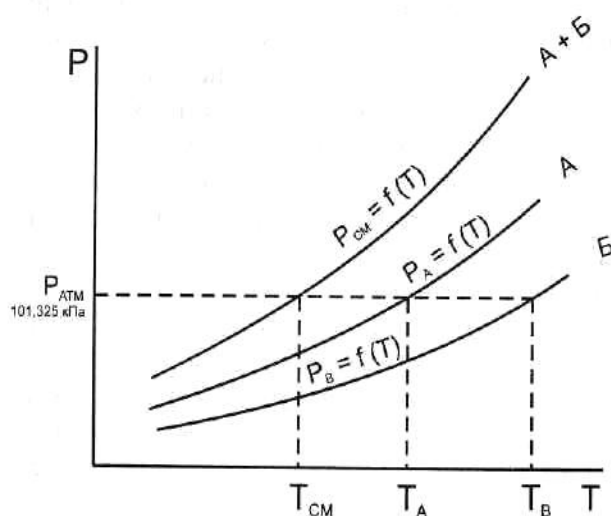


Рисунок 2.1 - Диаграмма состояния для двух несмешивающихся жидкостей (А и Б) и их смеси

Азеотропными (постоянно кипящими или нераздельно кипящими смесями) называются такие смеси, у которых пар, находящийся в равновесии с жидкостью, в данных условиях обладает тем же составом, что и сама жидкая смесь. Состав азеотропной смеси (раствора) совпадает с составом пара, находящегося с ней в равновесии. Поэтому азеотропные смеси перегоняются при постоянной температуре, следовательно, они не могут быть разделены перегонкой в данных условиях.

Состав азеотропных растворов (смесей), которые образуются при перегонке некоторых токсикологически важных соединений с водяным паром, приведен в таблице 2.1.

В состав азеотропных смесей вместо воды могут входить другие жидкости. Состав, температура кипения некоторых таких жидкостей и их азеотропов приводятся в приложении А.

Таблица 2.1 – Азеотропные смеси некоторых летучих ядов с водяным паром [13]

Вещество	Температура кипения, °с		Содержание воды в смеси, вес. %
	индивидуальных веществ	азеотропной смеси	
Хлороформ	61,2	56,1	2,5
Четыреххлористый углерод	76,75	66	4,1
Ацетон	56,4	Азеотропной смеси не дает	
Метанол	64,7	Азеотропной смеси не дает	
Этанол	78,3	78,15	4,43
<i>n</i> -пропанол	97,2	87,72	28,31
<i>изо</i> -пропанол	82,44	80,37	12,10
<i>n</i> -бутанол	117,75	92,4	38
<i>изо</i> -бутанол	108,00	89,92	33,2
<i>изо</i> -амиловый	132,06	95,15	49,6
Этиленгликоль	197,4	Азеотропной смеси не дает	
Этилацетат	77,05	70,4	8,1
Амилацетат	148,0	95,2	41,0
Уксусная кислота	118,5	Азеотропной смеси не дает	
Сероуглерод	46,25	42,6	3,0
Бензол	80,2	69,25	8,83
Толуол	110,7	84,1	19,60
<i>m</i> -ксилол	139	92	35,8
Фенол	182	99,6	90,8
Нитробензол	210-285	98,6	88 об. %
Анилин	184,25	75,0	81,8
Нафталин	218	98,8	84
Никотин	246	99,99	97,5

Связь между летучестью и молекулярным весом для веществ, нерастворимых друг в друге, выражается уравнением:

$$\begin{cases} W_0 \\ W_W \end{cases} = \frac{M_0 P_0}{M_W P_W},$$

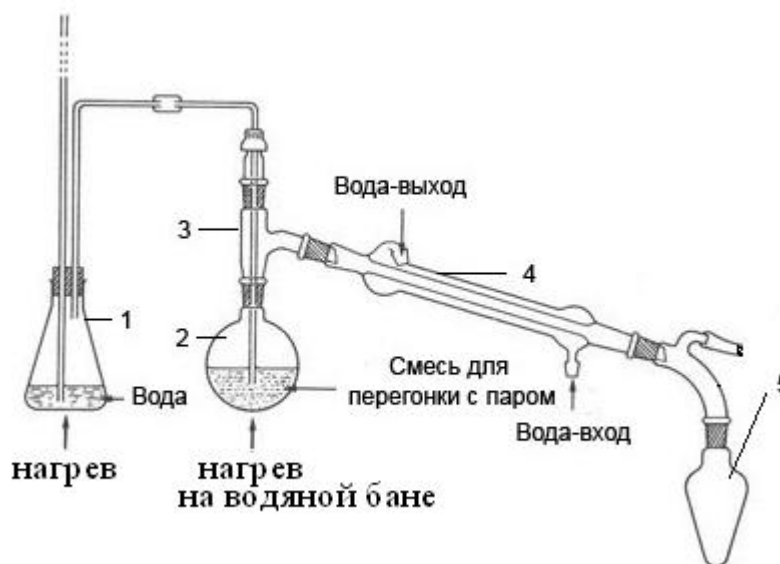
где W_0 и W_W – вес органического вещества и воды в дистилляте;

M_0 и M_W – молекулярные массы вещества и воды;

P_0 и P_W - давления паров органического вещества и воды [2].

Более летучими с водяным паром являются вещества с большим молекулярным весом и более высокой температурой кипения, чем низшие члены гомологического ряда. Для многих органических веществ способность их перегоняться с водяным паром может быть объяснена образованием нераздельно кипящих (азеотропных) смесей их с водой.

Дистилляция с водяным паром производится в специальном приборе (рисунок 2.2).

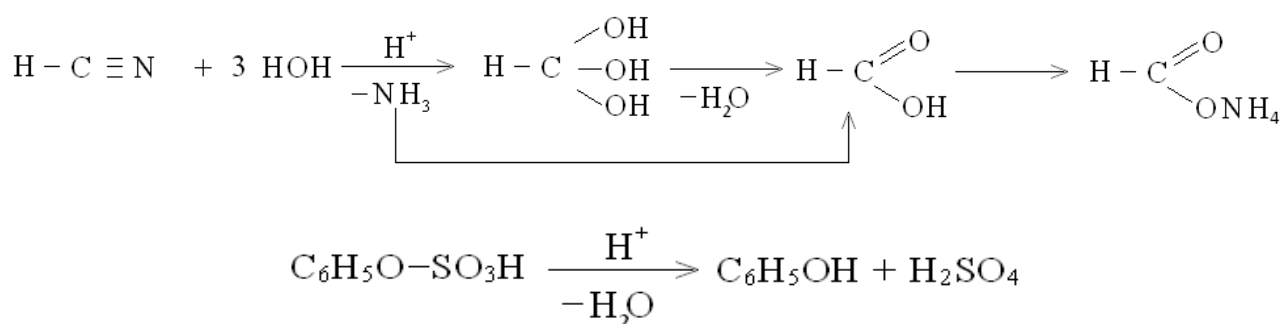


- 1 – парообразователь; 2 – колба с пробой; 3 – насадка Вюрца;
4 – холодильник; 5 – приемник дистиллята.

Рисунок 2.2 – Прибор для перегонки с водяным паром

Исследуемый объект предварительно тщательно измельчают, смешивают с дистиллированной водой до густоты кашицы и помещают в круглодонную колбу, заполняя последнюю не более чем на 1/3 ее объема. Колбу 2 с объектом исследования закрепляют в штативе и погружают в холодную водяную баню 3. Затем все части прибора соединяют. Объект исследования быстро подкисляют до рН от 2 до 2,5, немедленно соединяют с заранее нагретым парообразователем 1 и нагревают до кипения водяную баню и парообразователь.

Для подкисления используют щавелевую или винную кислоту, а не минеральные кислоты, так как первые не гидролизуют такие вещества, как синильная кислота или сернокислый эфир фенолов, образующийся, например, в кишечнике под влиянием гниения. В результате гидролиза при неправильном ведении анализа возможно уничтожение одних (синильная кислота) и появление других (фенолы) ядовитых веществ.



Пропускание пара вместо образования его в самой колбе с объектом исследования важно потому, что при пропускании пара колбу с объектом можно нагревать (чтобы не конденсировались пары) на водяной бане. Для образования пара в колбе необходимо было бы иметь температуру выше 100 °С, что могло бы привести к разложению веществ на стенках колбы выше уровня воды и даже к образованию следов синильной кислоты за счет подгорания белковых веществ.

Дистилляция должна проводиться по возможности медленно, что достигается регулированием температуры. Первый дистиллят, сконденсированный в холодильнике 4, собирают в объеме 3 мл в заранее приготовленную коническую колбу 5, содержащую 2 мл 2 % раствора

гидроксида натрия, остальные дистилляты от 25 до 50 мл собирают в последующие 1 или 2 колбы, также подготовленные заранее. Для качественного исследования продукта перегонки с водяным паром в большинстве случаев бывает достаточно собрать 25 мл второго дистиллята.

При специальном исследовании на метанол приемник охлаждают льдом для уменьшения потерь искомого токсического вещества. При целенаправленном исследовании на этанол приемник охлаждают водой, чтобы предотвратить испарение спирта. Ввиду высокой летучести уксусной кислоты при перегонке ее собирают в сосуд, содержащий 0,1 М раствора гидроксида натрия. При изолировании с водяным паром веществ основного характера из подщелоченного объекта, дистиллят собирают в раствор соляной кислоты.

После окончания дистилляции сначала отсоединяют от парообразователя колбу с биоматериалом, потом прекращают нагревать парообразователь и водяную баню. В процессе исследования дистилляты хранят в закрытых пробками колбах.

При положительных результатах реакций на то или иное вещество, имеющее токсикологическое значение, дистилляцию продолжают до тех пор, пока дистиллят не перестанет давать соответствующих качественных реакций. Этот прием имеет большое значение для последующего количественного определения, для которого обычно дистилляцию производят из другой навески объекта исследования. Особенно важно это иметь в виду для изолирования таких веществ, которые сравнительно трудно отгоняются с водяным паром (формальдегид, этиленгликоль и др.). Дистилляты подвергают качественному исследованию, а при положительных результатах анализа в них определяют количества найденных веществ [2].

Достоинства метода перегонки с водяным паром в том, что происходит изолирование и одновременная очистка анализируемых веществ, изолируются вещества, которые разлагаются при температуре кипения, имеющие очень высокую температуру кипения и вещества нерастворимые в воде, а также извлекаются вещества разных классов химических соединений.

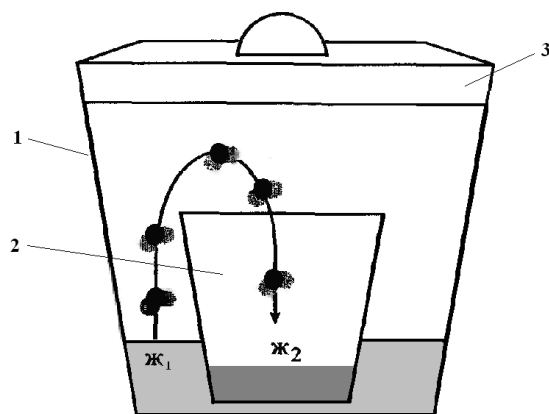
Недостатками метода являются длительность, трудоемкость проведения эксперимента, необходимы знания физико-химических параметров изолируемых веществ.

2.4 Изолирование летучих ядов из биоматериала методом микродиффузии

Метод микродиффузии широко используется в биохимических и некоторых токсикологических лабораториях для обнаружения летучих ядов, фосфорорганических пестицидов. Внедрение метода микродиффузии в практику судебно-химических лабораторий может облегчить выполнение ряда экспертиз, связанных с отравлениями некоторыми веществами.

Для обнаружения исследуемых веществ методом микродиффузии применяют чашки Конвея или подобные им сосуды, в которых летучие вещества из исследуемых объектов сначала переходят в пространство прибора, а затем в соответствующий растворитель или в раствор реактивов, реагирующих с определяемыми веществами.

Скорость диффузии зависит от давления пара исследуемого вещества, объема пробы, температуры, состава поглощающих жидкостей и т.д. На скорость перехода отдельных летучих веществ из исследуемых объектов в пространство прибора для микродиффузии влияют некоторые электролиты. Так, например, прибавление насыщенного раствора карбоната калия к крови, моче и гомогенатам тканей, содержащих этиловый спирт, ускоряет переход этого спирта в пространство прибора. Для ускорения перехода других соединений из исследуемых объектов в пространство прибора прибавляют кислоты, щелочи и др. Прибор для микродиффузии (рисунок 2.3) представляет собой небольшой сосуд, внутри которого расположен второй сосуд 2 меньшего размера. Верхний край наружной камеры должен хорошо закрываться крышкой 3.



- 1 – внешняя камера, содержащая пробу с вытесняющим агентом ($ж_1$);
 2 — внутренняя камера, содержащая абсорбирующий агент ($ж_2$); 3 – крышка.

Рисунок 2.3 – Прибор для проведения микродиффузии

Для создания герметичности в приборе края наружной камеры слегка смазывают вазелином или силиконовой смазкой и плотно прижимают крышку.

Исследуемые объекты вносят в наружную камеру, а поглощающую жидкость (абсорбирующий агент) — во внутреннюю камеру. К исследуемым объектам, находящимся в наружной камере прибора, на расстоянии 2 или 3 см помещают раствор вытесняющего вещества, способствующего переходу исследуемого соединения из объекта в пространство прибора. Затем прибор плотно закрывают крышкой и слегка наклоняют его для смешивания исследуемого объекта и раствора, способствующего переходу исследуемого вещества в пространство прибора. После этого прибор оставляют на определенное время, необходимое для диффузии. После окончания диффузии определяют исследуемое вещество в жидкости, находящейся во внутренней камере.

Методом микродиффузии можно изолировать ацетальдегид, ацетон, этанол, метанол, изопропанол, фенол, толуол и другие летучие яды [2, 3]. Примеры реагентов, используемых при изолировании летучих ядов, приведены в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Примеры реагентов при изолировании летучих ядов

Яд	Вытесняющий агент	Абсорбирующий агент	Наблюдаемые изменения
СО	10 % H_2SO_4	$PdCl_2$	Серебристый налет металлического палладия на поверхности раствора во внутренней камере
C_2H_5OH	Na_2CO_3 насыщенный раствор	$K_2Cr_2O_7$ сернокислый раствор	Окраска от зеленой до фиолетовой (реакция протекает с другими восстановителями)
$HCOOH$	10 % H_2SO_4	Раствор Na_2SO_3 и $NaHSO_3$	Хромотроповая кислота в концентрированной H_2SO_4 при нагревании и последующем охлаждении - фиолетовая окраска

Метод микродиффузии имеет ряд достоинств. Он позволяет обнаружить летучие вещества, содержащиеся в небольших количествах исследуемых объектов. При использовании этого метода не образуется пена (что возможно при перегонке летучих ядовитых веществ с водяным паром), определяемые вещества не подвергаются сильному разбавлению и т. д.

Таким образом, химико-токсикологический анализ биологического объекта на летучие яды включает в себя несколько стадий:

- 1) предварительные испытания;
- 2) измельчение объекта, смешивание его с водой до густой кашицы;
- 3) подкисление до pH от 2 до 3 щавелевой или винной кислотами;
- 4) перегонка с водяным паром или микродиффузия;

5) идентификация летучих ядов с помощью качественных реакций и инструментальных методов анализа, например, методом газо-жидкостной хроматографии;

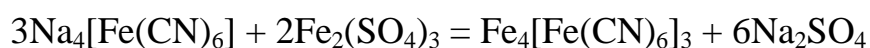
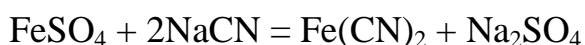
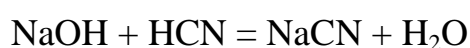
6) количественное определение методами газо-жидкостной хроматографии, фотометрии, титрования.

2.5 Качественные реакции на летучие яды

Качественные реакции на синильную кислоту

Для качественного определения синильной кислоты в химико-токсикологическом анализе имеет значение только реакция образования берлинской лазури.

К 1 мл щелочного раствора добавляют несколько капель 40 % раствора сульфата железа (II), содержащего следы сульфата железа (III). Смесь взбалтывают, нагревают почти до кипения, а затем охлаждают до комнатной температуры и по каплям добавляют 10 % раствор соляной кислоты до слабокислой реакции (рН от 3 до 4). Появление синего осадка или синей окраски указывают на наличие синильной кислоты.



Чувствительность реакции 20 мкг HCN в 1 мл раствора. Открываемый минимум 20 мкг при предельном разбавлении 1:100000. При содержании от 20 до 30 мкг HCN в пробе образуется соответственно зеленое или голубое окрашивание раствора, а при количествах, больших 30 мкг, выделяется характерный синий осадок берлинской лазури, который может быть предъявлен в качестве доказательства обоснованности заключения об обнаружении синильной кислоты.

Заключение о качественном обнаружении (если синий осадок не выпадает тотчас) или необнаружении синильной кислоты дается лишь по истечении от 24 до 48 часов, так как при следах синильной кислоты в присутствии органических веществ осадок берлинской лазури может выпадать медленно.

При длительном неоявлении осадка рекомендуется вводить в реакционную смесь раствор хлорида бария. Выпавший в осадок сульфат бария соосаждаёт берлинскую лазурь и малые ее количества выделяются быстрее.

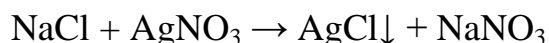
Реакция специфична и имеет *положительное судебно-химическое значение*.

Качественные реакции на хлороформ

Качественное определение хлороформа осуществляется с помощью ряда реакций.

1 Реакция отщепления галогена [1- 2, 11]

Эта реакция является общей реакцией на галогенпроизводные.



Отщепление галогена достигается нагреванием части дистиллята со спиртовым раствором щелочи. Хлорид-ион обнаруживается реакцией с раствором нитрата серебра в азотнокислой среде. Образование мути или осадка говорит о наличии галогенпроизводных и необходимости проведения других реакций их обнаружения. Реакция не специфична.

2 Реакция образования изонитрила [14]

В случае отсутствия осадка или мути в реакции №1, учитывая ее сравнительно невысокую чувствительность, нужно проделать реакцию получения изонитрила.

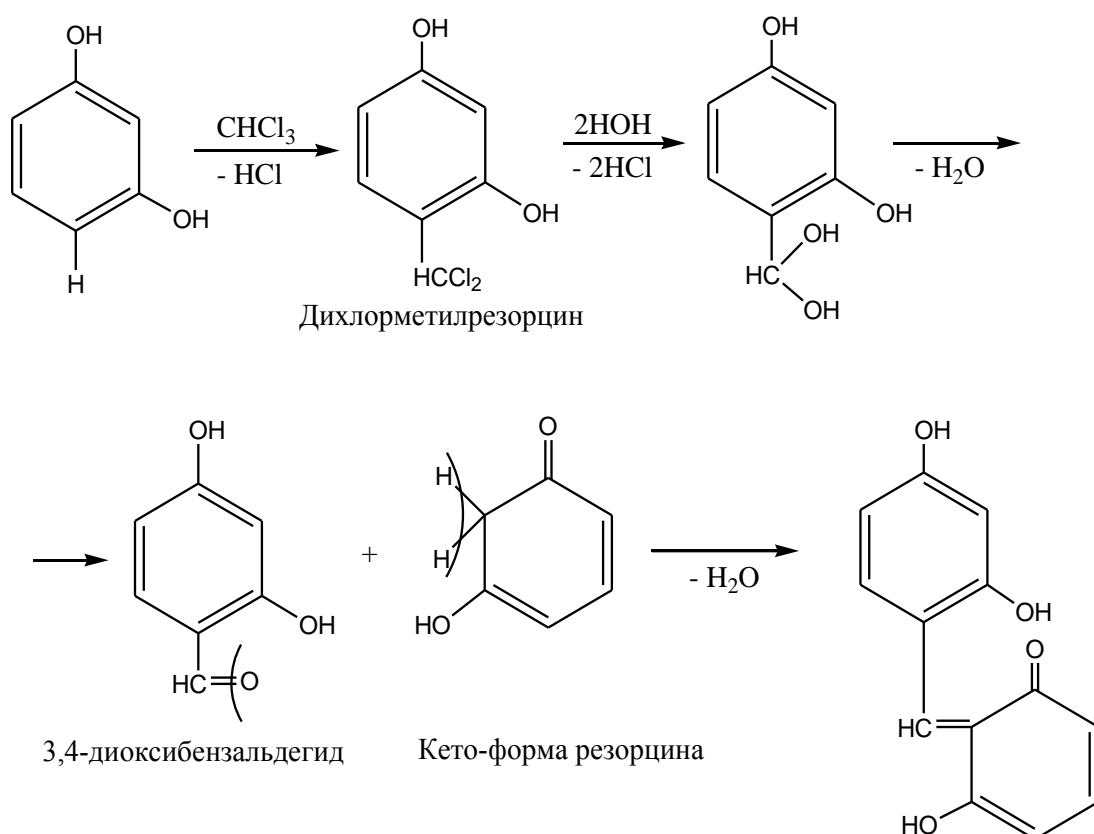
При нагревании хлороформа с первичными аминами и щелочью образуется изонитрил (карбиламин), имеющий неприятный запах:



Отрицательный результат этой сравнительно чувствительной реакции (0,01 мг) позволяет судить о ненахождении в исследуемом объекте этих веществ. При положительном результате проводят другие реакции.

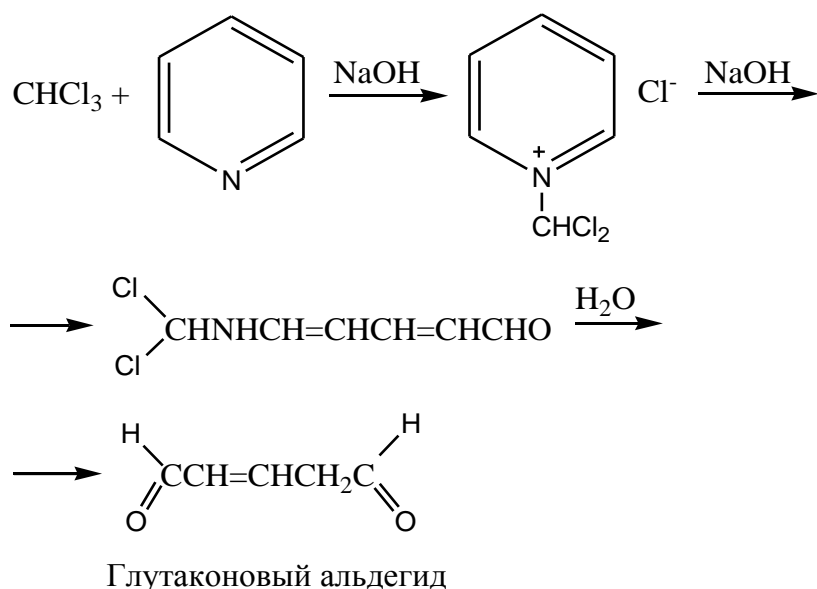
Реакция не специфична, ее дают все хлорпроизводные, за исключением дихлорэтана.

3 Реакция с резорцином в щелочной среде [11]



К 1 мл исследуемого раствора добавляют 1 мл 1 % свежеприготовленного раствора резорцина в 10 % водном растворе гидроксида натрия. Нагревают пробирки на водяной бане. Появление розового или красного окрашивания в исследуемой пробе может указывать на наличие хлороформа. Параллельно делают холостой опыт, цель которого исключить ошибки за счет продуктов окисления резорцина, окрашенных в зеленый цвет и маскирующих розовое окрашивание.

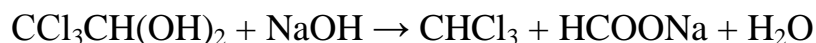
Реакция не специфична, ее дают все хлорпроизводные, кроме дихлорэтана, а также формальдегид.



На этой реакции основано предварительное обнаружение галогенпроизводных в моче. О наличии хлороформа судят по появлению красной окраски. Реакция не специфична, ее дают все хлорпроизводные.

Качественные реакции на хлоралгидрат [1, 11]

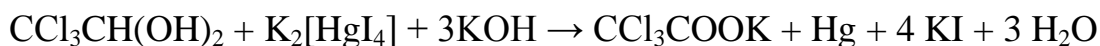
Хлоралгидрат дает все реакции, которые используют для обнаружения хлороформа (см. реакции 1-5), т.к. они проводятся в присутствии щелочи, под влиянием которой хлоралгидрат разлагается с выделением хлороформа:



Для отличия хлоралгидрата от хлороформа используются специальные пробы.

1 Реакция с реактивом Несслера

В реакции используются восстановительные свойства хлоралгидрата. В результате образуется сначала кирпично-красный осадок, который постепенно меняет окраску до грязно-зеленого цвета.



К нескольким каплям исследуемого раствора прибавляют 2 капли реактива Несслера и взбалтывают жидкость. При наличии хлоралгидрата в исследуемом растворе образуется кирпично-красный осадок, который затем становится грязно-зеленым. Эту реакцию не дают хлороформ, четыреххлористый углерод,

дихлорэтан и хлористый этилен. С реактивом Несслера дают реакцию альдегиды и некоторые другие восстанавливающие вещества.

2 Экстракция из дистиллята

Дистиллят повторно извлекают небольшими порциями эфира и фильтруют через сухой фильтр. Следы остатка после удаления эфира при комнатной температуре обрабатывают несколькими каплями воды и с раствором проводят качественные реакции с 1 по 5 как на хлороформ, который при такой обработке улетучится, и положительные результаты реакций укажут на наличие хлоралгидрата.

Качественные реакции на четыреххлористый углерод [1, 11]

Качественное обнаружение четыреххлористого углерода основано на тех же реакциях, что и обнаружение хлороформа и хлоралгидрата: реакции отщепления хлора, реакции образования изонитрила, получение розового окрашивания с резорцином в щелочной среде. Однако в отличие от хлороформа и хлоралгидрата четыреххлористый углерод не дает реакции с реактивом Феллинга, т.к. в процессе нагревания с раствором щелочи не образуется веществ, обладающих восстановительными свойствами.

Реакция с 2,7-диоксинафталином

Для обнаружения четыреххлористого углерода в дистиллятах, а также в различных технических жидкостях, содержащих указанный препарат, применяют реакцию с 2,7-диоксинафталином, при которой появляется светло-бурая окраска, переходящая в зелено-желтую.

Каплю исследуемой жидкости вносят в пробирку, прибавляют 2 мл циклогексанола, крупинку гидроксида натрия и несколько кристалликов 2,7-диоксинафталина. Смесь нагревают до кипения и продолжают нагревание в течение минуты. Затем раствор сливают с нерастворившегося гидроксида натрия, охлаждают, прибавляют к нему 2 мл ледяной уксусной кислоты и 4 мл этилового спирта, а затем взбалтывают. При наличии четыреххлористого

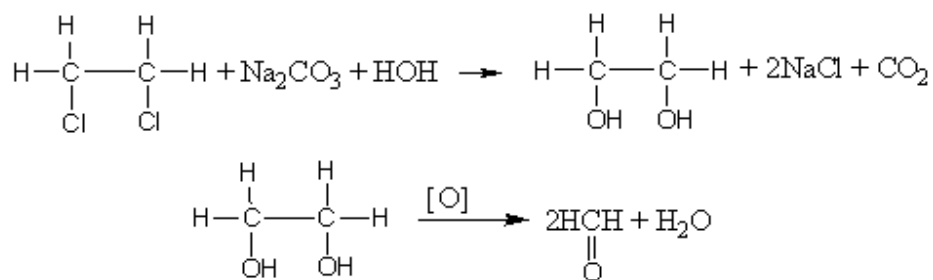
углерода в исследуемой жидкости появляется светло-бурая окраска, переходящая в зелено-желтую. При этой реакции хлороформ дает темно-красную окраску.

Заключение о наличии четыреххлористого углерода в дистилляте делают при положительном результате с 2,7-диоксинафталином, при положительных реакциях с 1 по 3 аналогичных качественным реакциям на хлороформ и отсутствии результата реакции с реактивом Фелинга.

Качественные реакции на 1,2 – дихлорэтан [2]

Реакция образования этиленгликоля

В случае 1,2-дихлорэтана реакция отщепления атомов хлора идет в более жестких условиях: либо при длительном нагревании со спиртовым раствором щелочи, либо при нагревании и повышенном давлении. Так при четырехчасовом нагревании дистиллята в запаянной ампуле с 10 % раствором карбоната натрия от дихлорэтана отщепляются два атома хлора, образуется этиленгликоль, который при дальнейшем окислении дает формальдегид:

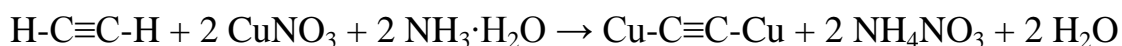
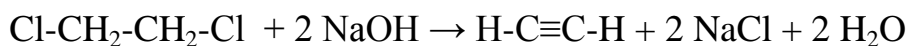


Формальдегид обнаруживают по реакции с фуксиносернистой кислотой, хлорид ион обнаруживают подкисленным раствором нитратом серебра.

Реакция образования ацетиленида меди

При нагревании в запаянной ампуле дистиллята, содержащего дихлорэтан, с 40 % раствором гидроксида натрия от молекулы дихлорэтана отщепляются 2 молекулы хлороводорода и получается ацетилен. Последний обнаруживается реакцией с раствором одновалентной соли меди в присутствии

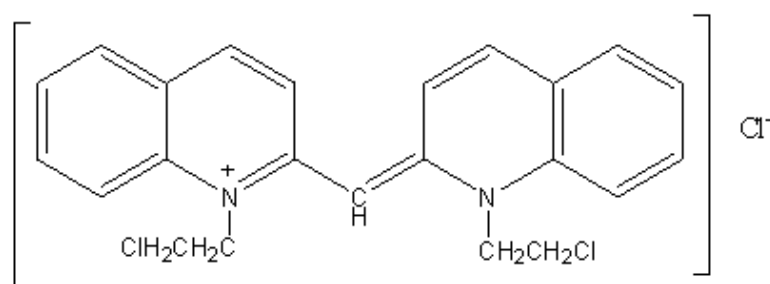
аммиака по образованию розового или красного окрашивания или выделению осадка.



Реакция специфична, другие хлорпроизводные ее не дают. Однако с дистиллятом, полученным из внутренних органов трупов, положительный результат этой реакции получается не всегда.

Реакция с хинолином

При нагревании дихлорэтана с хинолином образуется цианиновый краситель синевато-красного цвета:



Реакция специфична, другие хлорпроизводные ее не дают. Реакция используется для обнаружения дихлорэтана в технических жидкостях.

Дистиллят, содержащий дихлорэтан, не дает реакции образования изонитрила, не окрашивается при нагревании со щелочным раствором резорцина, не обладает способностью восстанавливать $\text{Cu}(\text{OH})_2$.

Общие реакции обнаружения хлорпроизводных, имеющие токсикологическое значение, приведены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 - Реакции обнаружения хлорпроизводных, имеющих токсикологическое значение

Реакции	Исследуемые вещества			
	CHCl_3	хлоралгидрат	CCl_4	дихлорэтан
1	2	3	4	5
Отщепление хлора	+	+	+	+
Фудживара	+	+	+	+

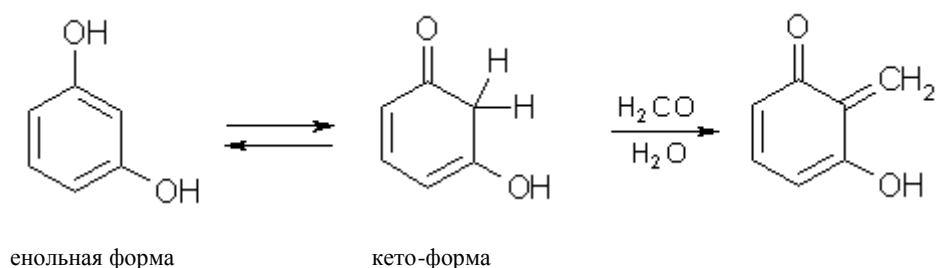
Продолжение таблицы 2.3

1	2	3	4	5
Образование изонитрила	+	+	+	-
С резорцином	+	+	+	-
С реактивом Фелинга	+	+	-	-
С реактивом Несслера	-	+	-	-
Образование этиленгликоля	-	-	-	+
Образование ацетиленида меди	-	-	-	+
С хинолином	-	-	-	+

Качественные реакции на формальдегид

Реакция с резорцином в щелочной среде

Альдегиды реагируют с резорцином в его таутомерной форме (кето-форме) с образованием окрашенного соединения.



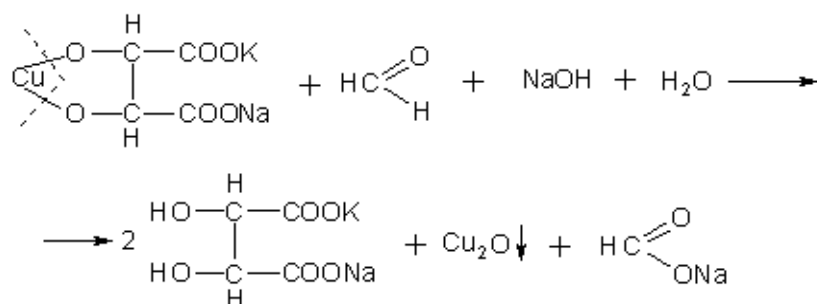
В пробирку вносят 1 мл исследуемого раствора и 1 мл 1 % раствора резорцина в 10 % растворе гидроксида натрия. Смесь нагревают в течение 5 минут на водяной бане. Появление розовой или малиновой окраски указывает на наличие формальдегида. Эту реакцию дают уксусный альдегид, акролеин, фурфурол и др. Дистиллят исследуют реакцией с резорцином в щелочной среде. Чувствительность реакции 0,03 мкг формальдегида в пробе.

Реакция не является специфичной для формальдегида.

Реакция с реактивом Фелинга

При нагревании реактива Фелинга с формальдегидом выпадает осадок оксида или гидроксида меди. Оксид меди (I) имеет черную окраску. Окраска

гидроксида меди (I) зависит от размера частиц. Очень мелкие частицы имеют голубовато-зеленую окраску, а крупные - красную. Поэтому при взаимодействии реактива Фелинга с восстановителями в большинстве случаев выпадает желтый или красный осадок.

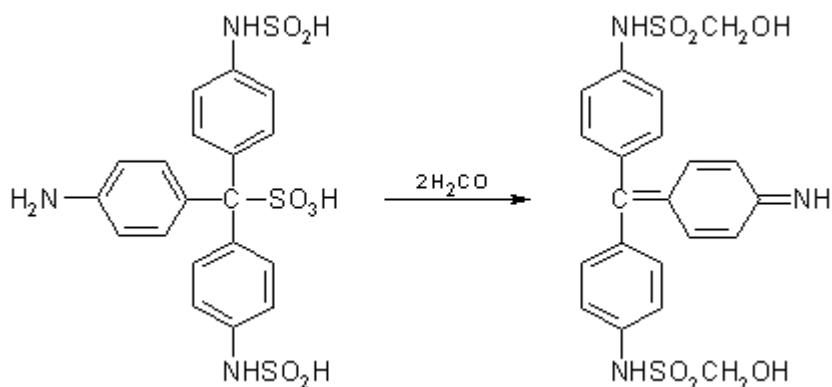


К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 2 капли 10 % раствора гидроксида натрия до щелочной реакции, а затем прибавляют 2 или 3 капли реактива Фелинга. Жидкость интенсивно взбалтывают и нагревают на пламени газовой горелки. Образование желтого или красного осадка указывает на наличие формальдегида в исследуемом растворе.

Эта реакция не специфична. Кроме формальдегида ее дают и другие альдегиды алифатического ряда, восстанавливающие сахара и др.

Реакция с фуксинсернистой кислотой (реактив Шиффа)

Фуксинсернистая кислота с формальдегидом дает синюю или сине-фиолетовую окраску. В пробирку вносят 1 мл исследуемого раствора и 3 капли концентрированной серной кислоты. Содержимое пробирки взбалтывают и охлаждают проточной водой, затем прибавляют 1 мл раствора фуксинсернистой кислоты. Появление сине-фиолетовой или красно-фиолетовой окраски указывает на наличие формальдегида.

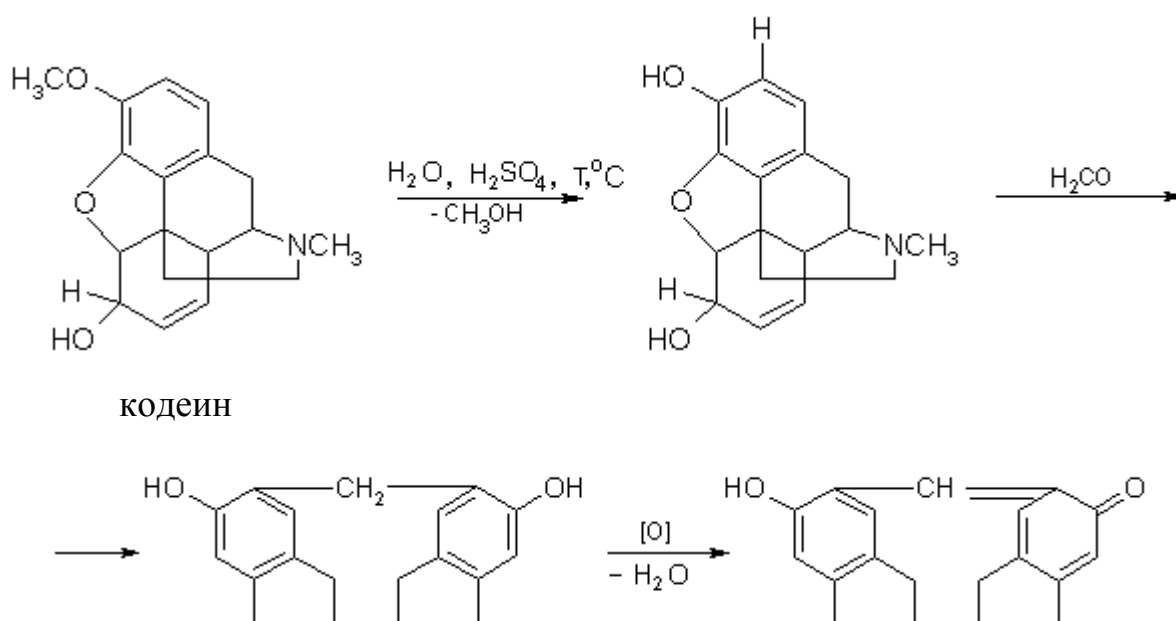


Раствор иногда окрашивается не сразу, а через 10-15 мин. Окраска может появляться не только под влиянием формальдегида, но и под влиянием окислителей (хлор, оксиды азота, кислород воздуха и др.). Поэтому появление окраски через 30 мин после прибавления реактивов не должно рассматриваться как положительный результат реакции на формальдегид.

Эта реакция не специфична для обнаружения формальдегида.

Реакция с кодеином и концентрированной серной кислотой

При нагревании формальдегида с кодеином в присутствии концентрированной серной кислоты появляется синяя окраска. Эта реакция основана на том, что под влиянием концентрированной серной кислоты от кодеина отщепляется метоксильная группа, в результате чего образуется морфин, содержащий фенольную группу. При взаимодействии морфина с формальдегидом появляется синяя окраска.



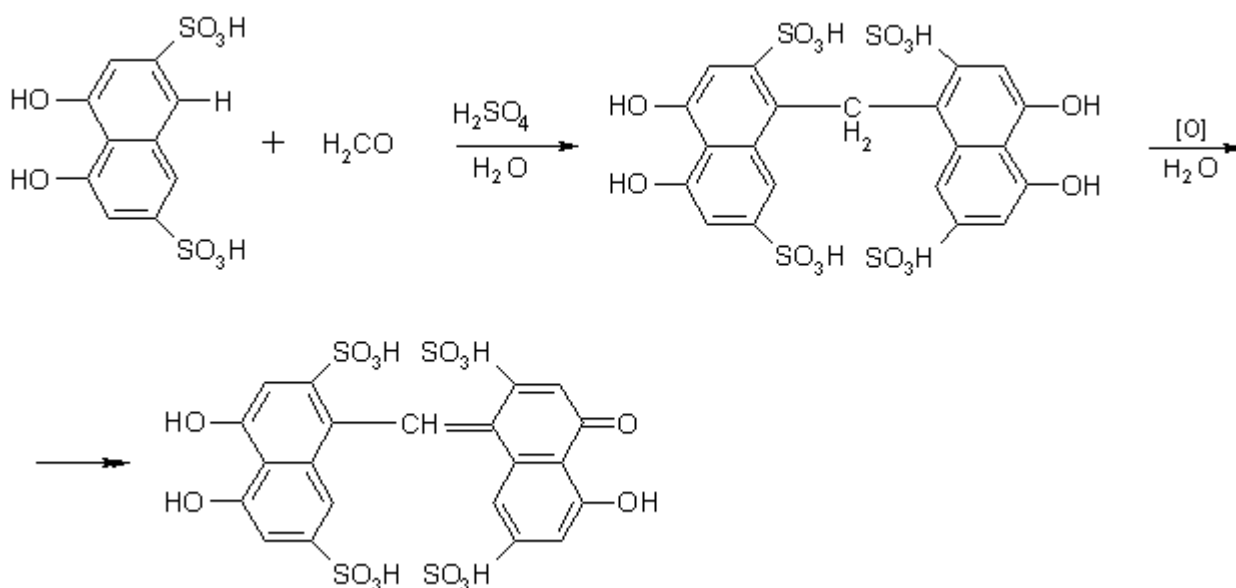
В фарфоровую чашку вносят 1 мл исследуемого раствора и прибавляют 5 мл концентрированной серной кислоты. После охлаждения жидкости прибавляют 0,02 - 0,03 г кодеина. При наличии формальдегида сразу или через 5 или 10 мин появляется сине-фиолетовая или красно-фиолетовая окраска.

Предел обнаружения: 0,02 мкг формальдегида.

Реакция с хромотроповой кислотой (1,8-диоксиафталин-3,6-

дисульфокислота) в присутствии концентрированной серной кислоты

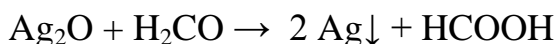
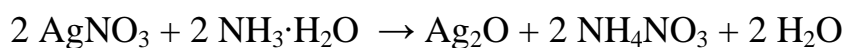
С хромотроповой кислотой формальдегид в присутствии концентрированной серной кислоты дает красно-фиолетовое окрашивание. Концентрированная серная кислота одновременно является водоотнимающим средством и окислителем. Вначале серная кислота вызывает конденсацию формальдегида с хромотроповой кислотой, а затем окисляет образовавшийся продукт конденсации:



В пробирку вносят 5 капель исследуемого раствора или дистиллята, 4 мл 12 н. раствора серной кислоты и несколько кристалликов хромотроповой кислоты, затем пробирку нагревают в течение 10 мин на водяной бане до 60 °С. При наличии формальдегида в пробе появляется фиолетовая окраска. Чувствительность реакции 1 мкг в пробе. Эту реакцию дают вещества, которые при гидролизе, дегидратации или окислении образуют формальдегид.

Реакция восстановления ионов серебра

В пробирку вносят 5 капель раствора нитрата серебра и по каплям 10 % раствор аммиака, с таким расчетом, чтобы образовавшийся вначале черный или бурый осадок оксида серебра едва растворился в избытке аммиака. К полученной жидкости добавляют анализируемый раствор, смесь осторожно нагревают на водяной бане. При наличии формальдегида образуется «серебряное зеркало».



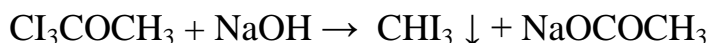
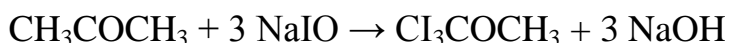
Реакция очень чувствительна, но не специфична, её могут давать и другие восстановители. Серебряное зеркало может образоваться, так же, и за счет термического разложения оксида серебра. Поэтому положительный результат реакции может учитываться только в совокупности с другими реакциями.

Заключение о нахождении формальдегида в исследуемом материале дается, как правило, при условии получения положительных результатов с фуксинсернистой кислотой и с кодеином.

Качественные реакции на ацетон

Реакция образования йодоформа

С раствором йода в йодиде калия в присутствии 10 % водного раствора едкой щелочи (аммиак) почти тотчас даже при комнатной температуре образуется йодоформ, который обнаруживается по характерному запаху и выпадению желтого (под микроскопом - кристаллического) осадка.

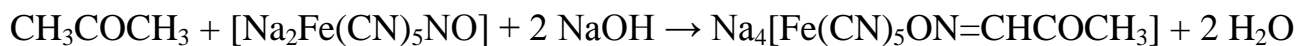


Чувствительность реакции 0,1 мг.

Реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение, ее дает этиловый спирт.

Реакция с нитропруссидом натрия

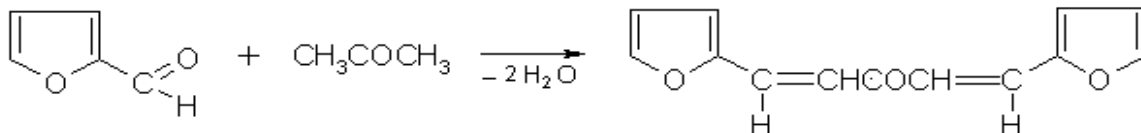
К 1 мл дистиллята или исследуемой жидкости с несколькими каплями 1 % свежеприготовленного нитропруссиды натрия $[\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ дает оранжево-красное окрашивание, переходящее при добавлении CH_3COOH до кислой реакции в красно-фиолетовое и вишнево-красное окрашивание.



Реакция не специфична для ацетона, ее дают другие альдегиды и кетоны.

Реакция с фурфуролом

Эта реакция основывается на способности ацетона конденсироваться с фурфуролом и некоторыми другими альдегидами (ванилин, салициловый альдегид) с образованием окрашенных соединений:



К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 5 капель 1 %-го раствора фурфурола в этиловом спирте (96 %) и 3 капли 10 %-го раствора гидроксида натрия. Через 5 мин к этой жидкости прибавляют 10 капель концентрированной соляной кислоты. При наличии ацетона появляется красная окраска.

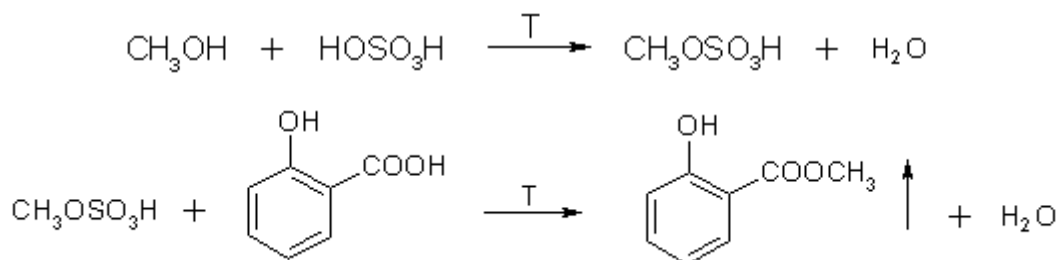
Эта реакция не специфична для обнаружения ацетона. Ее дают некоторые альдегиды и кетоны.

Качественные реакции на метиловый спирт

Для обнаружения метилового спирта применяют ограниченное число реакций на этот спирт. Большинство из них проводят после перевода его в формальдегид. Наличие метилового спирта можно доказать реакцией с салициловой кислотой.

Реакция этерификации (образование метилсалицилата)

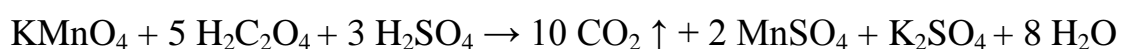
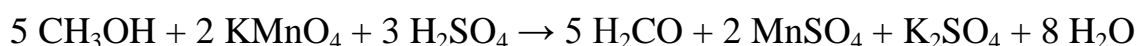
В пробирку вносят 1 мл дистиллята или другого исследуемого раствора, прибавляют от 0,03 до 0,05 г салициловой кислоты и 2 мл концентрированной серной кислоты, а затем смесь осторожно нагревают на пламени горелки. При наличии метилового спирта в исследуемом растворе ощущается характерный запах метилового эфира салициловой кислоты:



Эта реакция не специфична, так как при указанных выше условиях этиловый спирт с салициловой кислотой образует этиловый эфир, запах которого напоминает запах метилового эфира салициловой кислоты.

Реакция окисления до формальдегида и обнаружение последнего реакциями окрашивания

Для окисления метилового спирта в формальдегид применяют перманганат калия или другие окислители:



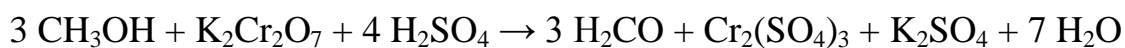
Прежде, чем приступить к окислению метанола при анализе дистиллята, необходимо проверить наличие формальдегида в дистилляте!

К 2 мл исследуемого раствора или дистиллята прибавляют 1 мл раствора перманганата калия, содержащего фосфорную кислоту (смесь 100 мл 3 %-го раствора перманганата калия и 15 мл 87 % раствора фосфорной кислоты). Жидкость нагревают при 50 °С на водяной бане в течение 10 мин, затем для удаления избытка окислителя прибавляют 1 мл 5 % раствора щавелевой кислоты в разбавленной (1:1) серной кислоте.

Обнаружение метилового спирта после его окисления до формальдегида проводят при помощи реакций с хромотроповой кислотой, фуксин-сернистой кислотой и с резорцином. Из этих реакций специфической на метиловый спирт (после его окисления) является реакция с хромотроповой кислотой. Не дают этой реакции этиловый, пропиловый, бутиловый, амиловый и изоамиловый спирты. Некоторые вещества, содержащие спиртовые группы, при выполнении указанной реакции могут давать желтую или коричневую окраску.

Предварительная проба на метанол в биологической жидкости (моча, кровь)

К 1 мл мочи прибавляют 1 мл 10 % раствора дихромата калия в 50 % растворе серной кислоты. Появление зеленой окраски указывает на наличие метилового и этилового спиртов в моче.

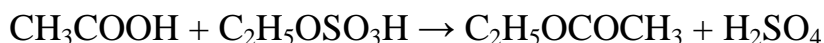
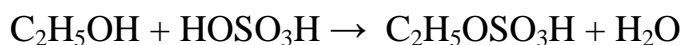
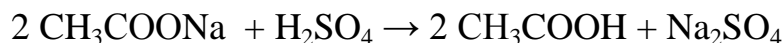


Поскольку такую реакцию дают некоторые другие спирты и соединения, способные окисляться дихроматом калия, то положительные результаты этой реакции необходимо подтвердить другими предварительными пробами.

Качественные реакции на этиловый спирт

Реакция этерификации (образование этилацетата)

Реакция образования уксусно-этилового эфира. Этиловый спирт с ацетатом натрия в присутствии серной кислоты образует уксусно-этиловый эфир, имеющий характерный запах:



В пробирку вносят 1 мл исследуемого раствора и 0,1 г высушенного ацетата натрия, затем осторожно по каплям прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты. Смесь нагревают на пламени горелки (лучше нагревать пробирку на парафиновой или глицериновой бане) до выделения пузырьков газа. Появление специфического запаха уксусно-этилового эфира указывает на наличие этилового спирта в исследуемом растворе.

Чувствительность реакции до 20 мг.

Реакция окисления (образование ацетальдегида)

Этиловый спирт окисляется дихроматом калия, перманганатом калия и некоторыми другими окислителями до ацетальдегида:



К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 10 % раствор серной кислоты до получения кислой среды. К этой смеси по каплям прибавляют 10 % раствор дихромата калия до тех пор, пока жидкость не станет оранжево-красной. Смесь оставляют на несколько минут при комнатной температуре. При наличии

этилового спирта в исследуемом растворе появляется запах ацетальдегида.

При этой реакции может образовываться и некоторое количество уксусной кислоты. Побочная реакция образования уксусной кислоты понижает чувствительность реакции обнаружения ацетальдегида.

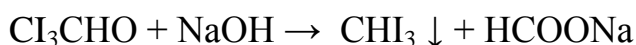
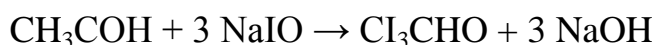
Образующийся ацетальдегид при окислении этилового спирта можно обнаружить при помощи реакции с нитропруссидом натрия и морфолином. С этой целью 2 капли раствора, содержащего ацетальдегид, наносят на капельную пластинку или на фильтровальную бумагу и прибавляют каплю реактива (свежеприготовленная смесь равных объемов 20 % водного раствора морфолина и 5 % водного раствора нитропрussa натрия). При наличии ацетальдегида в растворе появляется синяя окраска.

Предел обнаружения: 1 мкг ацетальдегида в пробе.

Эту реакцию дают акролеин и некоторые другие альдегиды. Реакцию с морфолином и нитропруссидом натрия дает пропионовый альдегид только при высокой его концентрации. Формальдегид не дает этой реакции. Поэтому реакцию окисления этилового спирта до ацетальдегида и обнаружение его с морфолином и нитропруссидом натрия можно использовать для различия метилового и этилового спиртов.

Реакция образования йодоформа

В пробирку вносят 1 мл исследуемого раствора и 2 мл 5 % раствора гидроксида натрия или карбоната натрия. К этой смеси по каплям прибавляют 1 % раствор йода в 2 % растворе иодида калия до слабо-желтой окраски. Затем смесь несколько минут нагревают на водяной бане (50 °С). При наличии этилового спирта ощущается запах йодоформа. При относительно больших количествах этилового спирта в пробе образуются кристаллы йодоформа, имеющие форму шестиугольников и звездочек.



Предел обнаружения: 0,04 мг этилового спирта в 1 мл раствора. Эта реакция не специфична на этиловый спирт. Ее дают ацетон, молочная кислота и др.

Предварительная проба на этанол в биологической жидкости (моча, кровь)

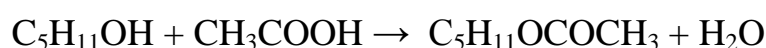
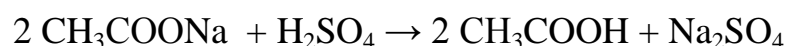
Проводится аналогично описанной выше пробе для метанола. Реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение.

Качественные реакции на изоамиловый спирт

Исследование на наличие изоамилового спирта проводится при наличии специфического запаха сивушных масел и маслянистых капель на поверхности дистиллята. Все реакции на изоамиловый спирт дают положительный эффект только при отсутствии воды, поэтому перед выполнением реакций изоамиловый спирт экстрагируют из дистиллята эфиром (5 мл), эфирную вытяжку делят на 4 части и эфир испаряют при комнатной температуре. С полученным остатком проделывают реакции:

Реакция этерификации (образование изоамилацетата)

Эта реакция основана на том, что при взаимодействии ацетата натрия с изоамиловым спиртом в присутствии концентрированной серной кислоты образуется изоамилацетат, имеющий запах грушевой эссенции:



К остатку, находящемуся в фарфоровой чашке после испарения эфира, прибавляют 2 капли концентрированной серной кислоты и около 0,03 г высушенного ацетата натрия. При слабом нагревании фарфоровой чашки ощущается запах изоамилацетата (запах грушевой эссенции). Этот запах становится более выраженным, если под конец реакции к смеси реагирующих веществ прибавить 20-кратный объем воды. Реакция имеет отрицательное

судебно-химическое значение.

Реакция окисления (образование изовалерианового альдегида)

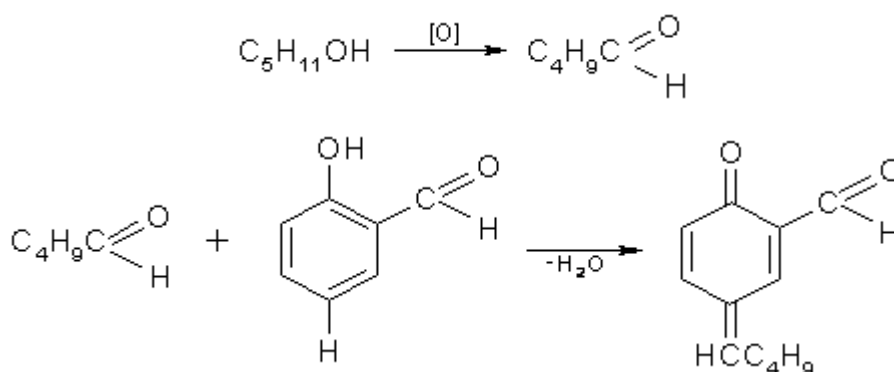
Изоамиловый спирт под влиянием перманганата калия в присутствии концентрированной серной кислоты окисляется до альдегида изовалериановой кислоты, а затем до изовалериановой кислоты.



Остаток, находящийся в фарфоровой чашке, смывают в пробирку с помощью диэтилового эфира, который затем выпаривают досуха. К остатку в пробирке прибавляют 5 капель 10% раствора перманганата калия и такой же объем концентрированной серной кислоты. Пробирку нагревают на кипящей водяной бане в течение 2 мин. После этого появляется слабый приятный запах альдегида изовалериановой кислоты, а затем – запах гнилого сыра изовалериановой кислоты. Чувствительность реакции 0,11 мг.

Реакция с салициловым альдегидом [14]

В результате реакции происходит окисление изоамилового спирта концентрированной серной кислотой до изовалерианового альдегида, который вступает в реакцию конденсации с ароматическим альдегидом.



К остатку в фарфоровой чашке добавляют 25 капель 1 % раствора салицилового альдегида и 3 мл концентрированной серной кислоты. После охлаждения содержимого чашки её помещают на 3 минуты на кипящую водяную баню. Появляется розово-красное окрашивание. При больших количествах изоамилового спирта окрашивание появляется без нагревания.

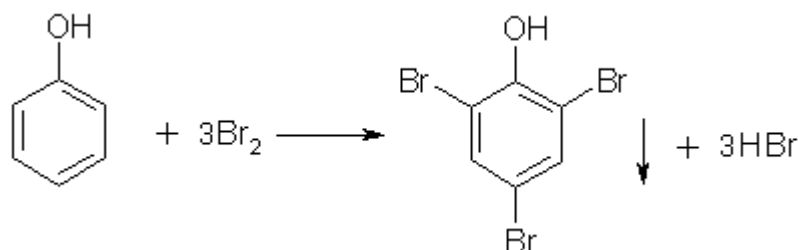
Чувствительность реакции 1,5 мг. Реакция неспецифична.

Качественные реакции на фенол

Для обнаружения фенола используется часть второго дистиллята, который подщелачивают раствором гидрокарбоната натрия до щелочной реакции, вносят в делительную воронку и извлекают двумя порциями эфира по 5 мл. Эфирные вытяжки объединяют и упаривают при комнатной температуре досуха. Сухой остаток растворяют в 3 мл воды и с раствором проводят реакции:

Реакция с бромной водой (образование трибромфенола)

К раствору прибавляют бромной воды - появляется белый осадок или образуется муть трибромфенола:

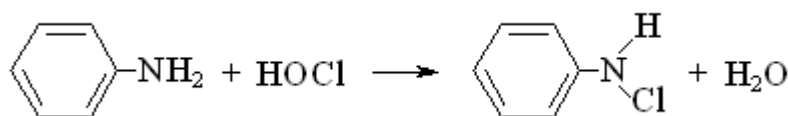


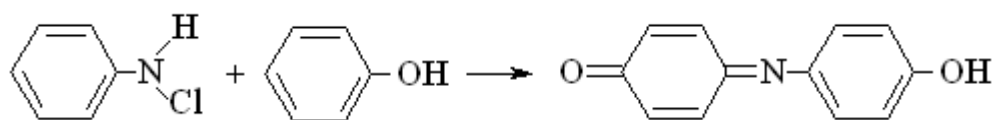
При микроскопическом исследовании сравнивают с препаратом, полученным из разведенного раствора фенола. Кристаллы имеют форму игл. Чувствительность реакции 1:50 000.

Реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение, ее дают анилин и другие ароматические амины. Реакции образования трибромфенола в токсикологической химии придается значение только для доказательства отсутствия фенолов при ее отрицательном результате.

Реакция образования индофенола

При окислении смеси фенолов и аминов (в том числе и аммиака) образуются индофенолы, имеющие соответствующую окраску:





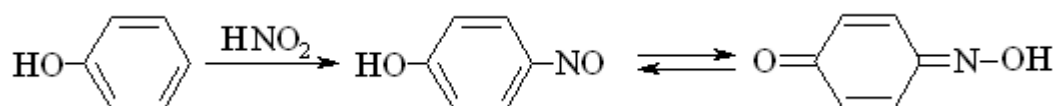
К 1,0 мл исследуемого раствора прибавляют 1 каплю анилина и 2 мл раствора гипохлорита натрия. Появление грязно-фиолетовой окраски указывает на наличие фенола в пробе. После прибавления аммиака появляется устойчивая синяя окраска.

Индофеноловую реакцию дают фенолы, имеющие свободное параположение, крезолы и другие соединения, содержащие фенольную группу.

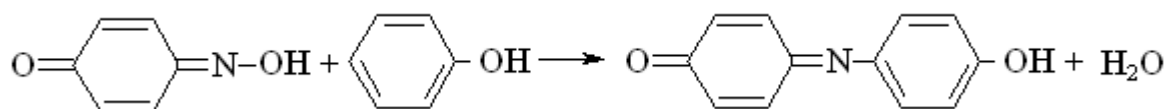
Реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение, ее дают соединения, содержащие фенольную группу.

Реакция Либермана

Эта реакция также основана на образовании индофенола. В качестве реактивов на фенолы применяют нитрит натрия и серную кислоту. При взаимодействии нитрита натрия и серной кислоты образуется азотистая кислота, которая с фенолом образует п-нитрозофенол, при изомеризации которого образуется п-хиноидоксим:



При взаимодействии хиноидоксима с избытком фенола образуется индофенол, имеющий синюю окраску:

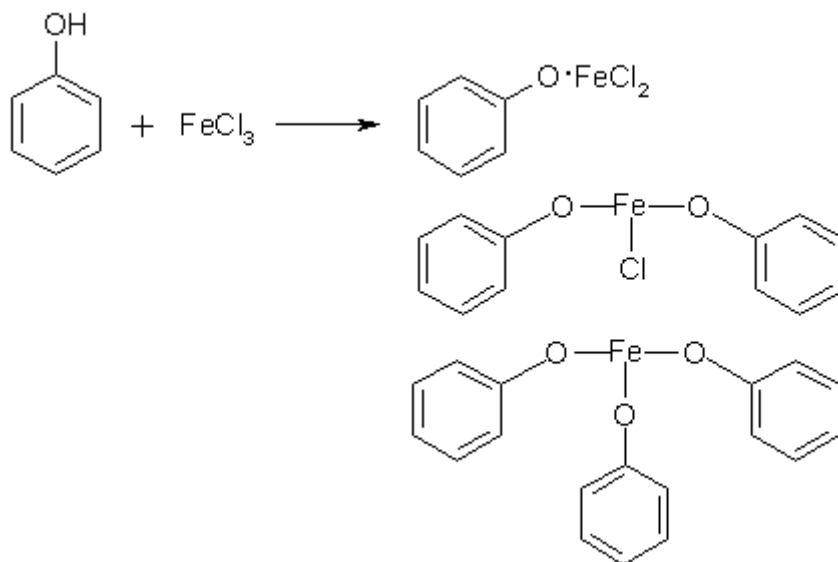


Пару капель исследуемого раствора выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют каплю 1 % свежеприготовленного раствора нитрита натрия в концентрированной серной кислоте и смесь оставляют на несколько минут. После охлаждения смеси по каплям прибавляют 4 М раствор гидроксида натрия до щелочной реакции. Появление синей окраски, которая может переходить в красную, а затем в зеленую, указывает на наличие фенола в пробе. Реакцию Либермана дают некоторые фенолы, эфиры фенолов, тиофен и др. Не дают этой

реакции нитрофенолы, паразамещенные фенолы и др.

Реакция с хлоридом железа (III)

К 2 каплям исследуемого раствора прибавляют 1-2 капли свежеприготовленного 5 % раствора хлорида железа (III).



При наличии фенола появляется фиолетовая или сине-фиолетовая окраска, исчезающая от прибавления воды, спирта и кислот.

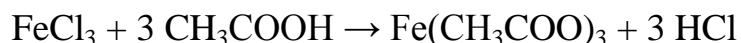
Чувствительность реакции 1:1000.

Реакция имеет положительное судебно-химическое значение.

Качественные реакции на уксусную кислоту

Реакция с хлоридом железа (III)

От прибавления хлорида железа (III) к ацетат-ионам появляется красная окраска, обусловленная образованием основного ацетата железа:



К 3 мл дистиллята прибавляют 1 каплю 5 % свежеприготовленного раствора хлорида железа (III). Появление красной окраски указывает на наличие ацетат-ионов в дистилляте. При нагревании окрашенного раствора происходит

гидролиз, в результате которого выпадает бурый осадок.

Чувствительность реакции 1,25 мг.

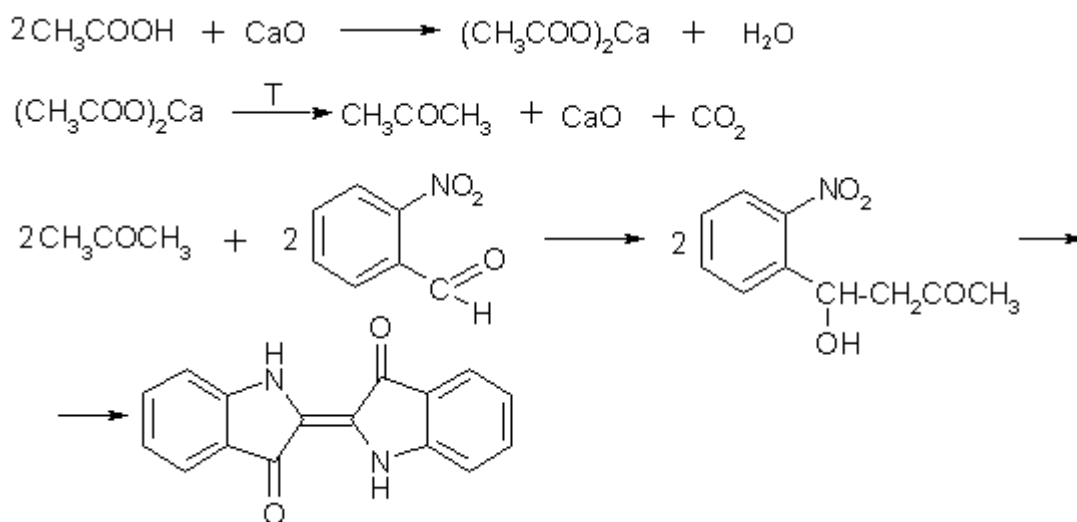
Реакция этерификации (образование этилацетата)

При нагревании ацетатов с этиловым спиртом в присутствии серной кислоты образуется уксусно-этиловый эфир (этилацетат).

В пробирку вносят 3-5 мл дистиллята и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1 мл этилового спирта и 2 мл концентрированной серной кислоты, а затем смесь осторожно нагревают на пламени горелки. При наличии ацетатов в дистилляте появляется специфический запах этилацетата.

Реакция образования индиго

При нагревании уксусной кислоты с солями кальция образуется ацетон, который подвергается конденсации с о-нитробензальдегидом.



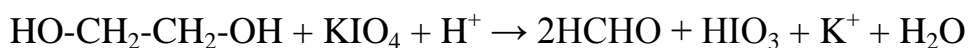
Около половины дистиллята вносят в пробирку и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют смесь равных количеств оксида кальция и карбоната кальция. Отверстие пробирки накрывают фильтровальной бумагой, смоченной свежеприготовленным раствором о-нитробензальдегида в 5 % растворе гидроксида натрия. Затем пробирку нагревают на пламени газовой горелки до прокалывания ее содержимого. При наличии ацетат-ионов в исследуемом растворе на бумаге, пропитанной раствором о-нитробензальдегида, появляется синее пятно (окраска индиго).

Чувствительность реакции 10 мг.

Качественные реакции на этиленгликоль

Реакция окисления периодатом калия

Реакция основана на окислении этиленгликоля периодатом натрия или калия. В результате указанной реакции образуется формальдегид, который можно обнаружить при помощи фуксинсернистой кислоты:

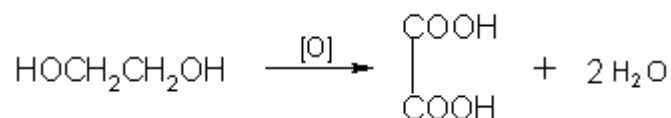


К 5 мл дистиллята прибавляют 5 капель 12 % раствора серной кислоты, 5 капель 5 % раствора периодата калия в 5 % растворе серной кислоты и взбалтывают. Через 5 мин прибавляют 5 капель раствора сернистой кислоты, а затем 4 капли раствора фуксинсернистой кислоты.

При наличии этиленгликоля через 20 мин появляется красно-фиолетовая или розовая окраска.

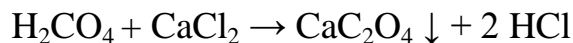
Реакция окисления до щавелевой кислоты

Этиленгликоль окисляется концентрированной азотной кислотой до щавелевой кислоты с последующим ее обнаружением.



Часть жидкости окисляют при выпаривании в фарфоровой чашке на водяной бане досуха. Образовавшуюся щавелевую кислоту доказывают:

а) по характерным кристаллам оксалата кальция.

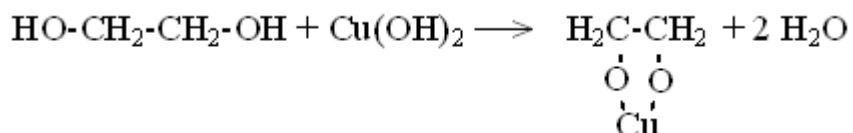
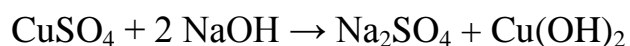


б) по обесцвечиванию раствора перманганата калия.



Реакция с сульфатом меди

Гидроксид меди (II) растворяется в присутствии этиленгликоля (как и других многоатомных спиртов) с образованием раствора, окрашенного в синий цвет.



Отличием от глицерина может служить отсутствие образования акролеина при нагревании исследуемой жидкости с бисульфатом натрия (калия). Эта реакция неприменима для исследования дистиллятов из биологического материала, но применяется для обнаружения этиленгликоля в технических жидкостях.

2.6 Лабораторная работа. Химико-токсикологический анализ летучих ядов изолированием перегонкой с водяным паром

Объект, после проведения наружного осмотра, смешивают с дистиллированной водой до густоты кашицы и помещают в круглодонную колбу с таким расчетом, чтобы колба была заполнена не более чем на 1/3 ее объема. Колбу с объектом закрепляют в штативе, глубоко погружают в холодную водяную баню и закрывают пробкой так, чтобы конец стеклянной трубки, вводящей пар, доходил почти до дна колбы. Когда прибор подготовлен, парообразователь нагревают, доводя воду почти до кипения (рисунок 2.2). Затем объект подкисляют винной или щавелевой кислотой по лакмусу и быстро закрывают пробкой. После этого парообразователь присоединяют к колбе с объектом и продолжают нагревать сначала парообразователь, а затем и водяную баню, в которой находится колба с объектом исследования. Дистилляция производится по возможности медленно, так, чтобы можно было считать капли в приемнике. Это достигается регулированием температуры.

Первую порцию собирают в количестве 3 мл в 2 мл 5 % раствора гидроксида натрия, для чего конец форштосса вводят в приемник таким образом, чтобы он был погружен в щелочь, находящуюся в нем. Второй и третий дистилляты собирают в приемники без щелочи в количестве 25 мл каждый.

Собранные дистилляты тщательно осматривают, отмечают в тетради их цвет, запах, вид (наличие несмешивающихся жидкостей), после чего полученные фракции исследуют на летучие яды с помощью качественных реакций. При специальном задании проводится количественное определение летучих ядов во 2 и 3 дистиллятах (п. 2.8). Записывают все результаты исследований и наблюдений.

По окончании исследования составляют «Акт химико-токсикологического исследования», пример оформления, которого находится в приложении В.

2.7 Лабораторная работа. Обнаружение отдельных летучих соединений с помощью метода микродиффузии

С помощью метода микродиффузии провести химико-токсикологический анализ биологического объекта на следующие летучие яды.

Обнаружение формальдегида

В наружную камеру прибора для микродиффузии (рисунок 2.3) вносят 3 мл крови или мочи, или 1 г гомогената тканей. Затем в ту же камеру вносят 3 или 4 капли 10 % раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру прибора вносят 3,3 мл 0,15 М раствора гидросульфита или сульфита натрия. Прибор плотно закрывают крышкой и оставляют на 4 ч при комнатной температуре. После этого жидкость, находящуюся во внутренней камере прибора, исследуют на наличие формальдегида.

Для этого из внутренней камеры прибора берут 1 мл жидкости, которую вносят в пробирку, и прибавляют 9 мл воды. Пробирку охлаждают ледяной водой, а затем прибавляют 0,2 мл свежеприготовленного 0,5 % раствора хромотроповой кислоты и 4 мл концентрированной серной кислоты. Жидкость хорошо взбалтывают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин, а затем охлаждают. О наличии формальдегида в исследуемой пробе свидетельствует появление розовой или фиолетовой окраски.

Обнаружение альдегида уксусной кислоты

Наружную и внутреннюю камеры прибора заполняют так, как и при обнаружении формальдегида методом микродиффузии. Время микродиффузии 4 часа.

Через 4 часа в пробирку вносят 1 мл жидкости, взятой из внутренней камеры прибора, прибавляют 9 мл воды, 1 каплю 4 % раствора сульфата меди, 6 мл концентрированной серной кислоты и 0,2 мл 1 % раствора *n*-гидроксидифенила в 0,5 М растворе гидроксида натрия. После прибавления каждого реактива жидкость в пробирке хорошо взбалтывают, затем пробирку нагревают в течение 1,5 мин на кипящей водяной бане и охлаждают. При наличии альдегида уксусной кислоты в исследуемых объектах жидкость приобретает фиолетовую окраску. Такую же окраску дает и формальдегид.

Обнаружение ацетона

Заполнение наружной и внутренней камеры производят так, как при исследовании формальдегида. Время микродиффузии 4 часа.

После окончания микродиффузии из внутренней камеры прибора берут 1 мл жидкости и переносят ее в пробирку, в которую прибавляют 9 мл воды, 4 мл 40 % раствора гидроксида натрия, 1 мл 20 % свежеприготовленного раствора салицилового альдегида в этиловом спирте. Пробирку в течение трех минут нагревают на водяной бане (при 60 °С), а затем охлаждают до комнатной температуры. При наличии ацетона в пробе появляется красная окраска.

Обнаружение метилового спирта

Этот метод основан на окислении метилового спирта до формальдегида. При взаимодействии формальдегида с хромотроповой кислотой появляется фиолетовая окраска.

В наружную камеру прибора для микродиффузии вносят 1 мл крови или мочи либо 1 г гомогената ткани. Затем в наружную камеру вносят 1 мл насыщенного раствора карбоната калия. Во внутреннюю камеру прибора вносят 3 мл 10 % раствора серной кислоты. Прибор закрывают крышкой и оставляют

на 3 часа. При исследовании гомогената ткани время диффузии увеличивается до пяти часов.

К 1 мл раствора, взятого из внутренней камеры, прибавляют каплю 5 % раствора перманганата калия и оставляют на 10 мин, а затем прибавляют 2 капли насыщенного раствора гидросульфита или сульфита натрия. После исчезновения окраски перманганата калия к жидкости прибавляют 0,2 мл 0,5 % раствора хромотроповой кислоты в концентрированной серной кислоте. Жидкость в пробирке охлаждают в ледяной воде, а затем прибавляют 4 мл концентрированной серной кислоты и нагревают пробирку на кипящей водяной бане в течение 15 мин. Появление красной или фиолетовой окраски жидкости указывает на наличие метилового спирта в исследуемой пробе. Эту пробу выполняют тогда, когда в исследуемом объекте отсутствует формальдегид.

Определение этилового спирта

Во внешнюю камеру прибора для микродиффузии вносят 0,8 мл крови или мочи либо 4 мл гомогената ткани и 1 мл насыщенного раствора карбоната калия. Во внутреннюю камеру вносят 2 мл раствора дихромата калия в серной кислоте. Сосуд плотно закрывают крышкой и оставляют на 3 часов при комнатной температуре. При исследовании гомогената ткани сосуд оставляют на 4 часа при 37 °С или же на 12 часов при комнатной температуре.

Появление зеленой или зеленовато-оранжевой окраски жидкости во внутренней камере указывает на наличие этилового спирта в исследуемом объекте. Эта проба не специфична на этиловый спирт. Подобную окраску дают и другие вещества, окисляющиеся дихроматом калия.

Обнаружение сульфидов

В наружную камеру прибора для микродиффузии вносят 4 мл крови или мочи, или же 1 г гомогената ткани. Затем в ту же камеру вносят 3 капли 10 % раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру прибора вносят 3,3 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия. Прибор плотно закрывают крышкой и оставляют на 3 или 4 часа при комнатной температуре.

Затем из внутренней камеры берут 1 мл жидкости, к которой прибавляют 1 мл раствора нитрата висмута в уксусной кислоте и 3 мл воды. При наличии сульфидов в исследуемых объектах появляется коричнево-черная окраска или такого же цвета осадок сульфида висмута.

Обнаружение фенолов

Наружнюю и внутреннюю камеры прибора для микродиффузии заполняют так, как и при исследовании сульфидов. Через 3 или 4 ч определяют наличие фенолов.

К 1 мл жидкости, взятой из внутренней камеры прибора, прибавляют 3 мл 10 % раствора гидроксида натрия и 0,5 мл фенолового реактива Фолина-Чиокальто (приготовление реактива приведено в приложении Б), разбавленного водой (1:3). При наличии фенолов появляется синяя окраска.

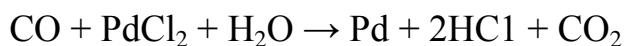
Обнаружение цианидов.

В наружную камеру прибора для микродиффузии вносят 2 мл крови или мочи, или же 1 г гомогената ткани. Затем в ту же камеру вносят 4 капли 10 % раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру прибора вносят 3,3 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия. Прибор плотно закрывают крышкой и оставляют на 3 часа при комнатной температуре. Затем из внутренней камеры прибора берут 1 мл жидкости, к которой прибавляют 1 мл 0,1 н. раствора гидроксида натрия, 2 мл 1 н. раствора двузамещенного фосфата натрия и 1 мл 0,25 % раствора хлорамина Т. Жидкость взбалтывают и через 3 минуты прибавляют 3 мл реактива, содержащего барбитуровую кислоту и пиридин. Смесь взбалтывают и оставляют на 10 минут. Появление красной окраски указывает на наличие цианидов в исследуемой жидкости.

Определение оксида углерода (II)

Во внешнюю камеру прибора вносят 1 мл крови и 1 мл 10 % раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру помещают 2 мл 0,1 % раствора хлорида палладия в 0,1 М растворе соляной кислоты. Прибор плотно закрывают крышкой и оставляют на 1 час при комнатной температуре. При наличии оксида

углерода (II) в крови во внутренней камере появляется серебристая пленка металлического палладия:



По окончании исследования составляют «Акт химико-токсикологического исследования», пример оформления, которого находится в приложении В.

2.8 Лабораторная работа. Определение содержания токсичных микропримесей газохроматографическим методом в этиловом спирте из пищевого сырья

Методика лабораторной работы предусматривает одновременное определение содержания токсичных микропримесей, характерных для водки и спирта: метилового спирта, сивушного масла (пропанола-2, пропанола-1, изобутилового спирта, бутанола-1, изоамилового спирта), уксусного альдегида, сложных эфиров (метилацетата, этилацетата) [15].

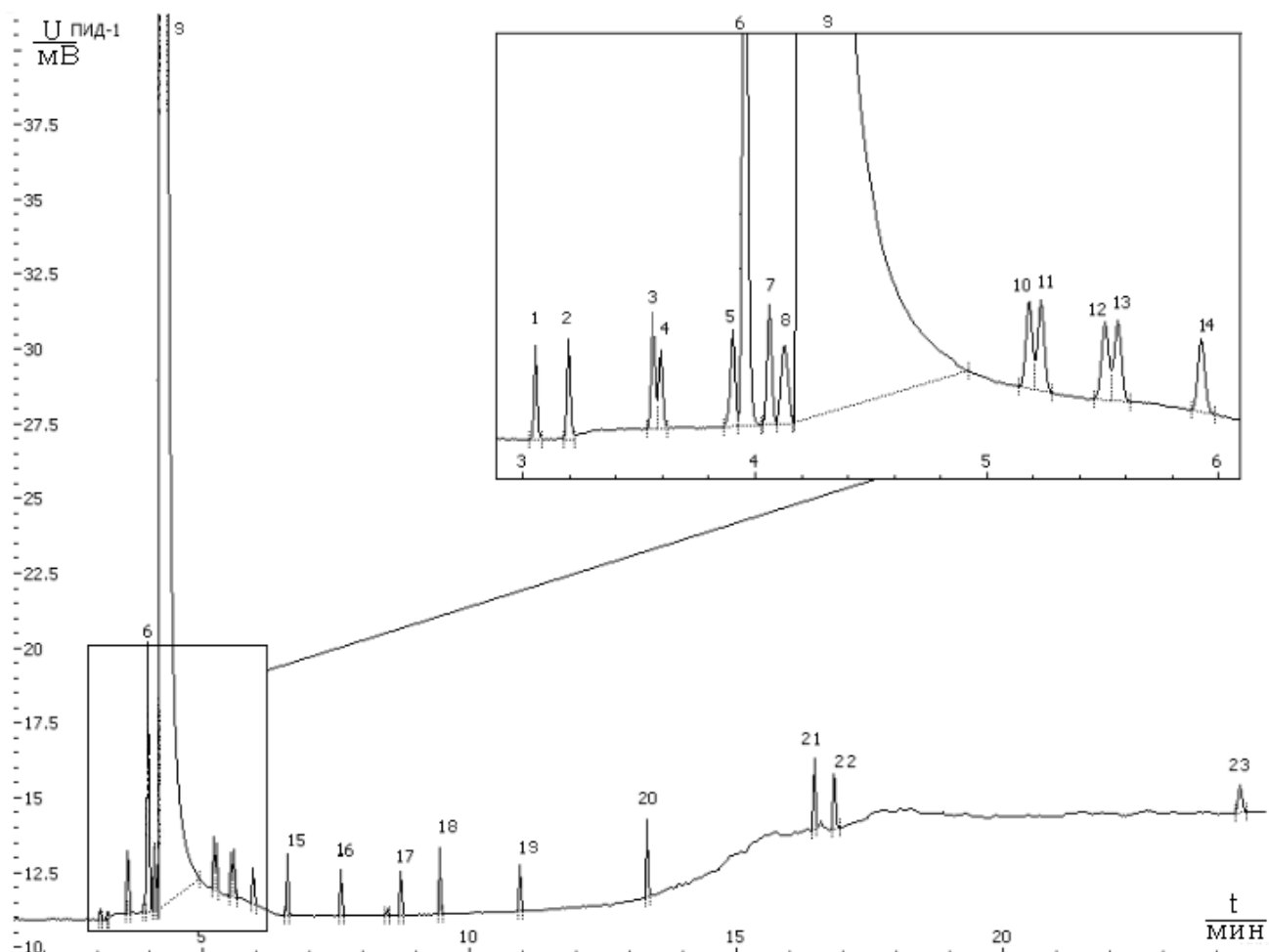
Метод основан на хроматографическом разделении в капиллярной колонке HP-FFAP (США) 50 м × 0,32 мм × 0,52 мкм микропримесей дистиллята или спиртосодержащей жидкости с последующим их детектированием пламенно-ионизационным детектором на газовом хроматографе «КристаллЛюкс4000М».

Условия хроматографирования:

- температура детектора от 220 °С до 250 °С;
- температура испарителя (инжектора) от 120 °С до 200 °С; начальная температура термостата 70 °С; выдержка 8,5 минут; скорость нагрева до температуры 220 °С 15 градусов в минуту; выдержка 15 минут;
- коэффициент деления потока 40 : 1; газ-носитель азот; скорость потока газа-носителя от 0,048 до 0,072 дм³/ч;
- скорость потока воздуха 18 дм³/ч; скорость потока водорода 1,8 дм³/ч;
- объем пробы от 0,5 до 1 мм³.

Перед проведением анализа по определению содержания микропримесей проводят кондиционирование колонки при температуре термостата колонок 320 °С до стабилизации нулевой линии.

Градуировку хроматографа выполняют, используя не менее трех градуировочных смесей, соответствующих началу, середине и концу диапазона измеряемых концентраций (рисунок 2.4).



1 – этиловый эфир, 2 – уксусный альдегид, 3 – ацетон, 4 – метилацетат, 5 – этилацетат, 6 – метанол, 7 – бутанон-2, 8 – пропанол-2, 9 – этанол, 10 – изобутилацетат, 11 – бутанол-2, 12 – пропанол-1, 13 – этилбутират, 14 – кротональдегид, 15 – изобутиловый спирт, 16 – бутанол-1, 17 – *изо*-амиловый спирт, 18 – пентанол-1, 19 – гексанол-1, 20 – бензальдегид, 21 – бензиловый спирт, 22 – фенилэтанол-2, 23 – диэтилфталат.

Рисунок 2.4 - Хроматограмма анализа градуировочной смеси

В градуировочную смесь входит: этиловый эфир, уксусный альдегид, ацетон, метилацетат, этилацетат, метанол, бутанон-2, пропанол-2, этанол, изобутилацетат, бутанол-2, пропанол-1, этилбутират, кротоноальдегид, изобутиловый спирт, бутанол-1, изоамиловый спирт, пентанол-1, гексанол-1, бензальдегид, бензиловый спирт, фенилэтанол-2, диэтилфталат

Записывают хроматограммы анализа каждой градуировочной смеси. Регистрируют время удерживания и площади пиков и определяемых веществ. Измерение выполняют не менее двух раз.

Перед проведением анализа образца проводят «холостой» анализ (без ввода пробы) в условиях хроматографирования. При наличии пиков проводят кондиционирование колонки при температуре 320 °С до стабилизации нулевой линии.

В испаритель (инжектор) микрошприцем вместимостью вводят 1 мм³ образца водки или спирта и выполняют хроматографирование смеси в условиях, указанных выше.

Регистрируют пики в области времени удерживания, соответствующего каждому веществу градуированной смеси. Проводят два параллельных анализа образца. Делают вывод о содержании микропримесей в образце.

Контрольные вопросы

- 1 Какие вещества могут быть отнесены к группе «летучих» ядов?
- 2 Почему при дистилляции паром биоматериал подкисляют слабой органической кислотой? Почему первый дистиллят собирают в раствор щелочи?
- 3 Химико-токсикологический анализ на летучие яды. Методы качественного и количественного определения.
- 4 Стадии ХТА при определении спиртов в биоматериалах и вещественных доказательствах.
- 5 Что является движущей силой микродиффузии?

3 Металлические яды

3.1 Общая характеристика металлических ядов

В группу «металлических» ядов объединены соединения неорганических веществ, имеющих токсикологическое значение. К ним относят соли и оксиды металлов, а также соединения сурьмы и мышьяка. Характерной их особенностью является то, что в микродозах они необходимы для организма и в качестве микроэлементов принимают участие в важнейших физиологических процессах. Так, например, кобальт входит в состав витамина В₁₂ и некоторых ферментов, медь участвует в синтезе гемоглобина.

Несмотря на важную положительную роль, которую играют микроэлементы в жизнедеятельности человека, например медь или цинк, при избыточном поступлении их с пищей или какими-либо другими путями может наступить тяжелая интоксикация, признаками которой является тошнота, рвота, диарея, боли в животе. Кроме того, токсичность металлов проявляется в их взаимодействии друг с другом [1, 3, 35]. Например, физиологическое воздействие кадмия на организм, в том числе его токсичность, зависят от количества присутствующего цинка, селена, а функции железа в клетках определяются присутствием меди, кобальта и в некоторой степени молибдена и цинка [2, 34].

Комиссия «Кодекс Алиментариус» — совместный межправительственный орган ВОЗ, включила в число обязательных контролируемых примесей в пищевых продуктах восемь наиболее опасных токсичных элементов: ртуть, кадмий, свинец, мышьяк, медь, олово, цинк и железо, содержание которых контролируется при международной торговле продуктами питания. В России и СНГ подлежат контролю еще 6 элементов (сурьма, никель, хром, алюминий, фтор, йод), а при наличии показаний могут контролироваться и некоторые другие металлы.

Негативное действие «металлических ядов» на организм человека проявляется в их выраженном нейротоксическом действии. Токсичность

объясняется тем, что в организме они связываются с функциональными группами белков, аминокислот, пептидов и других жизненно важных веществ, в результате чего нарушаются нормальные функции клеток тканей. Образующиеся в организме комплексы металлов очень прочные, поэтому изолировать металлы и обнаружить их невозможно без предварительного разрушения органического вещества, с которым они связаны. Для этого применяются методы минерализации.

3.2 Токсикодинамика и токсикокинетика металлических ядов

Механизм токсического действия соединений тяжёлых металлов, а также мышьяка и сурьмы, складывается из местного и резорбтивного эффектов. Местное действие проявляется в деструкции ткани и зависит от способности этих соединений к диссоциации. В результате уплотнения и денатурации белка образуется некроз тканей. Кислотный остаток (анион) сильной кислоты (хлороводородной, азотной) в составе молекулы металлического яда приводит к более выраженному деструктивному действию, чем действие соединений с кислотным остатком слабой кислоты (уксусной, угольной и др.).

В основе резорбтивного действия лежит блокирование функционально активных групп белков–ферментов, структурных белков и вытеснение специфического металла в металлсодержащих ферментах [4, 36].

Соединения тяжёлых металлов, а также мышьяка и сурьмы избирательно токсичны в основном для специфического эпителия почек, печени, кишечника, эритроцитов и нервных клеток, где наблюдается повышенная концентрация этих веществ. Соединения этих металлов могут поступать в организм пероральным, ингаляционным путём, через кожу и слизистые оболочки, при парентеральном введении.

Основной путь поступления - пероральный. При попадании в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) эти вещества всасываются в ионизированном виде, чему

способствует присутствие хлоридов в желудочном соке и щелочная реакция кишечного сока.

Всасывание металлов и неметаллов в ЖКТ происходит в разных его отделах и в различной степени, но преимущественно в верхнем отделе тонкой кишки.

В то же время, много металлов, которые мало или почти не сорбируются в пищеварительном тракте. Это обычно связано с образованием в последнем плохо растворимых соединений. Всасывание кадмия в пищеварительном тракте составляет менее 30 %.

Известную роль играет также форма, в которой минеральные соединения поступают в организм. Хорошо усваиваются соединения металлов из пищи, где они находятся обычно в виде комплексов с органическими соединениями.

Проникновение металлов и их соединений через кожу, как правило, не имеет практического значения, хотя известно, что многие из них могут резорбтироваться этим путём. Однако определённую опасность интоксикации при всасывании через кожу могут оказывать металлы, такие как ртуть, таллий, хром и некоторые другие.

Ещё реже металлы попадают в организм ингаляционным путём. Такой путь поступления возможен в обычных условиях для паров ртути, либо для паров других металлов при плавлении. Таким же образом могут проникать в организм соединения металлов и других веществ, находящихся в аэрозолях и некоторых других формах.

Металлы, преимущественно с переменной валентностью, подвергаются в организме восстановлению и окислению. Так, например, пяти валентный мышьяк восстанавливается в организме до более токсичного трех валентного.

Большую часть пребывания в организме металлы существуют в виде комплексов с белками, пептидами и аминокислотами.

Металлы и их соединения переносятся кровью и тканевой жидкостью в различном состоянии. Для большинства металлов характерна циркуляция, как в свободном, так и в связанном состоянии с разнообразными биокомплексами.

Особенно велика транспортная роль плазменных белков, обратимо связывающих многие металлы.

В транспорте многих металлов и неметаллов большую роль играет их способность накопления в клетках крови, главным образом, в эритроцитах. В эритроцитах находится почти весь мышьяк крови, значительная часть селена, основная часть свинца.

Распределение металлов по органам и тканям в известной мере определяется физико – химическими свойствами, образующихся в крови соединений. Крупные коллоидные частицы захватываются ретикулоэндотелиальной системой печени, селезёнки, почек, костного мозга, где они временно задерживаются. Несравненно более прочным депо является скелетная система, где, как правило, откладываются металлы, поступающие преимущественно в виде хорошо растворимых соединений [36].

Избирательное накопление металлов в некоторых органах объясняется большим содержанием в них лигандов, с которыми металлы образуют комплексы. Таким критическим органом для ртути, кадмия и таллия являются почки, белки которых богаты тиоловыми группами. Относительно высокое содержание многих металлов в железах внутренней секреции связано с интенсивным кровоснабжением и специфическими функциями.

Выделение. При вдыхании аэрозолей металлов выделение последних происходит при помощи мерцательного эпителия верхних дыхательных путей и фагоцитов, в основном до резорбции в кровь.

Выделение из организма металлов и их соединений происходит, в основном, через почки и ЖКТ. Наиболее быстро выделяются металлы, находящиеся в ионной форме, затем лабильно связанные и, в последнюю очередь, – фракция металлов, образующих прочные комплексы [37]. Путь преимущественной элиминации резорбированного металла через почки или ЖКТ в определённой степени зависит от формы его циркуляции и депонирования. Металлы, находящиеся в крови в молекулярно – дисперсном состоянии, в виде ионов или в виде слабых комплексов, выделяются

преимущественно с мочой. Это, в первую очередь, щелочные металлы. Выше упоминалось, что многие тяжёлые металлы, в том числе свинец, марганец, ртуть и др. частично циркулируют в крови и тканевой жидкости в виде ионов и слабых комплексов и образуют в тканях лабильные соединения. Таким образом, даже тяжёлые металлы, выделение которых происходит в основном через пищеварительный тракт, частично элиминируют и через почки.

Выделение из мягких тканей, как правило, происходит значительно быстрее, чем из скелета.

Объектами исследования на «металлические яды» являются органы и ткани организма человека, чаще всего это печень, почки, желудок и др. Количество исследуемого материала зависит от общей массы объекта, от обстоятельств дела и других факторов. В среднем навеска биоматериала составляет 100 г. Минерализацию разнохарактерных объектов проводят отдельно, не смешивая. Это необходимо для получения объективных результатов анализа.

3.3 Методы минерализации

Минерализация - это окисление (сжигание) органического вещества (объекта) для освобождения металлов из комплексов с белками и другими соединениями. Наиболее широко распространенные методы минерализации можно разделить на 2 большие группы:

1 Частные методы (методы сухого озоления) - минерализация путем простого сжигания или сплавления со смесью нитратов и карбонатов щелочных металлов. К числу частных методов относится и метод частичной минерализации (деструкция), служащий для изолирования ртути из биологических объектов.

Метод простого сжигания основан на нагревании органического вещества (объекта) при высокой температуре при доступе воздуха. Сухое озоление проводят в фарфоровых, платиновых или кварцевых тиглях. На исследование берут небольшие навески (от 1 до 3 г), температура нагревания достигает от 300 °С до 400 °С. Метод применяется при специальных заданиях по

обнаружению катионов марганца, меди, цинка, висмута, особенно в тех случаях, когда объект либо очень эластичен, трудноразрушаем, либо его количество ограничено. Метод имеет определенные недостатки:

– при нагревании возможно улетучивание металлов в виде солей или в индивидуальном виде, т.к. при нагревании в условиях проведения сухого озоления не всегда удается контролировать температуру. Даже при относительно невысокой температуре улетучиваются соединения ртути и таллия, а при температуре свыше 400 °С - хлориды кадмия, свинца, серебра, цинка, марганца, мышьяка;

– возможно взаимодействие некоторых металлов с материалом тигля, например, цинк, свинец, серебро могут реагировать с кварцем и фарфором, а кобальт может сплавляться с платиной.

Метод сплавления с нитратами щелочных металлов в химико-токсикологическом анализе применяется чаще, чем сухое озоление. Биологический материал нагревают с расплавленными нитратами щелочных металлов. Но с чистыми нитратами окисление идет очень быстро, особенно при повышенных температурах, при этом может наблюдаться выбрасывание пробы из тигля. Поэтому, для предотвращения бурного протекания реакции при сплавлении применяют смесь нитратов с карбонатами щелочных металлов.

2 Общие методы (методы мокрой минерализации) применяются при общем (ненаправленном) исследовании на группу металлических ядов, пригодны для изолирования всех катионов металлов, кроме ртути. Для минерализации используют смеси кислот - окислителей (серной и азотной, серной, азотной и хлорной), а также калия хлорат и пергидроль. Под действием окислителей происходит разрушение биологического материала с образованием более простых химических соединений. При этом связи между металлами и биологическими субстратами организма (белками, аминокислотами и др.) разрушаются, образуются соли этих металлов, которые можно обнаружить в минерализате при помощи соответствующих реакций и методов.

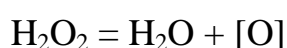
Чаще всего применяется *метод мокрой минерализации смесью концентрированных серной, азотной кислот и воды (1:1:1)*, при котором процесс разрушения биологического объекта протекает в 2 стадии [16]:

1 Стадия деструкции, на которой происходит разрушение биологических субстратов организма (белков, жиров, углеводов) на составные части: белки разрушаются до аминокислот, углеводы (полисахариды) до ди- и моносахаридов жиры до глицерина и жирных кислот. Менее всего подвержены разрушению на первой стадии жиры. На первой стадии нагревание не должно быть сильным, чтобы избежать подгорания объекта или сильного пенообразования и выброса частиц объекта из колбы. Поэтому, в начале процесса колбу Къельдаля закрепляют над плиткой на расстоянии 1 или 2 см. Температура не должна превышать 110 °С. Эта стадия непродолжительна по времени, длится от 15 до 40 минут. По окончании деструкции получается прозрачная желтовато-бурая жидкость, иногда с пленкой жира, т.к. на этой стадии все элементы объекта разрушены, кроме жиров.

На стадии деструкции концентрированная серная кислота выполняет роль водоотнимающего средства, что приводит к нарушению структуры клеток и тканей, деформирует их. При этом она способствует повышению температуры кипения смеси и тем самым повышает окислительное действие концентрированной азотной кислоты.

Роль окислителя на первой стадии выполняет концентрированная азотная кислота.

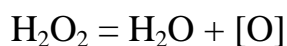
Под влиянием индуцирующих веществ биоматериала в начале минерализации часть азотной кислоты разлагается до азотистой кислоты и оксидов азота, которые являются катализаторами окисления. Под их влиянием и с повышением температуры азотная кислота проявляет себя как сильный окислитель. Идет интенсивный автокаталитический процесс окисления органических веществ:



2 Стадия глубокого жидкофазного окисления. Колбу Къельдаля опускают на плитку и усиливают нагревание. На этой стадии происходит окончательное разрушение органических веществ. Полностью разрушаются и жиры, которые на первой стадии почти не пострадали под действием кислоты азотной. В процессе окисления необходимо по каплям постоянно добавлять в колбу разведенную кислоту азотную из капельной воронки, но при этом скорость добавления реактива должна быть такова, чтобы бурые пары окислов азота, образующиеся при минерализации, не выходили из колбы. Эта стадия длится 3-4 часа и считается законченной тогда, когда:

- начинает выделяться белый туман (пары SO_2);
- жидкость остается бесцветной;
- минерализат не темнеет в течение 30 минут без добавления кислоты азотной.

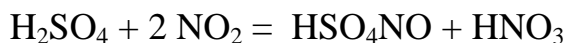
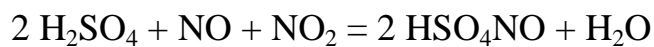
Роль окислителя на этой стадии играет концентрированная серная кислота (её концентрация повышается в смеси до 70 %, температура превышает 110°C). Она разлагается с выделением оксида серы (IV) и активного кислорода.



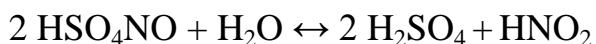
В процессе минерализации происходит не только разрушение органических веществ, но и ряд побочных реакций, имеющих негативное значение:

1) кислота серная в высоких концентрациях сульфировует органические вещества, а кислота азотная, особенно в присутствии кислоты серной, - нитрует их. Сульфо- и нитросоединения очень прочные, трудно поддаются воздействию окислителей, что влечет за собой неполное разрушение биообъекта. Эти негативные процессы можно значительно уменьшить. Это достигается использованием не концентрированных кислот, а частично разбавленных добавлением в окислительную смесь воды. При разбавлении кислот водой степень нитрования - сульфирования значительно снижается;

2 Ещё одна побочная реакция связана с образованием нитрозилсерной кислоты при взаимодействии оксидов азота с концентрированной серной кислотой.

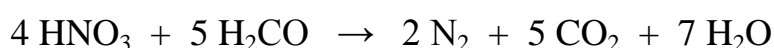
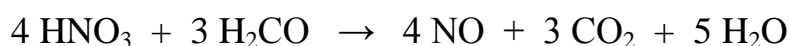


Нитрозилсерная кислота очень устойчива к температуре, однако легко гидролизуется. Реакция гидролиза обратима.



Нитрозилсерная кислота является источником окислителей в минерализате, что мешает в дальнейшем обнаружению некоторых катионов металлов. Чтобы избавиться от негативного воздействия нитрозилсерной кислоты, её удаляют путем проведения денитрации. В качестве химических веществ, способствующих денитрации, применяются формальдегид, мочевины и сульфит натрия.

Денитрация основана на восстановлении, например, формальдегидом азотистой кислоты, продукта гидролиза нитрозилсерной кислоты до легко удаляемых веществ: оксида азота (II) и азота:



Достоинства метода мокрой минерализации:

- 1) сравнительно быстрое достижение полноты разрушения органических веществ;
- 2) полнота разрушения объекта обуславливает большую чувствительность методов анализа на катионы металлов;
- 3) малый объем получаемого минерализата, также повышает чувствительность методов анализа.

Основным недостатком метода являются большие потери ртути (до 98 %) за счет её летучести. Поэтому изолирование ртути в виде ионов проводят в

отдельной навеске биообъекта частным методом изолирования, который исключает использование высоких температур.

Для обнаружения «металлических» ядов исследуют минерализат атомно-абсорбционным, атомно-эмиссионным, атомно-флуоресцентным, рентгено-флуоресцентным, фотометрическим или другими методами анализа.

3.4 Дробный метод анализа «металлических ядов»

Дробный метод предусматривает определение одних ионов металлов в отдельных небольших порциях исследуемого раствора в присутствии других без их предварительного разделения на группы, что достигается использованием соответствующих аналитических приемов и проведением анализа по определенной схеме, в которой обозначена последовательность обнаружения ионов [17].

Обнаружение искомых ионов дробным методом проводится в 2 этапа: вначале устраняется влияние мешающих ионов с помощью соответствующих приемов и реактивов, а затем, на втором этапе - прибавляют реактив, дающий какой-либо аналитический сигнал (окраску, осадок и др.) с открываемым ионом.

Дробный метод разработан на 13 наиболее важных в токсикологическом отношении элементов. Он обязательно сочетается с параллельно проводимым частным методом обнаружения и количественного определения иона ртути после деструкции отдельной навески биоматериала.

При составлении схемы проведения дробного анализа необходимо учитывать ограниченную специфичность отдельных реакций:

1 Чувствительность реакций на хром и марганец снижается при большом количестве в минерализате хлорид-ионов, поэтому исследование на хром и марганец рекомендуется проводить до осаждения ионов серебра в виде хлорида серебра.

2 Обнаружению мышьяка мешает присутствие в минерализате катионов сурьмы, в связи, с чем исследование на сурьму предшествует анализу на мышьяк.

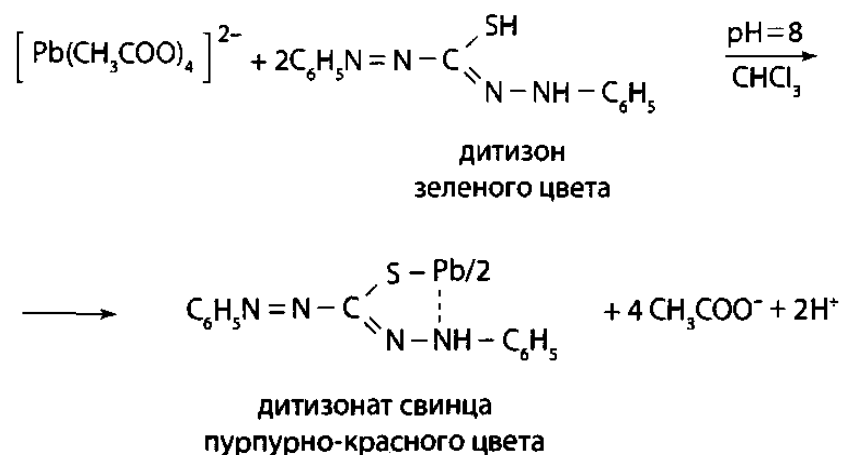
3 Большие количества меди мешают обнаружению сурьмы по реакции образования её сульфида сурьмы (III) (черный осадок сульфида меди (II) маскирует оранжевую окраску сульфида сурьмы (III)). Следовательно, в ряду катионов по схеме дробного анализа медь должна стоять раньше сурьмы.

Таким образом, для повышения надежности обнаружения «металлических ядов», необходимо проводить открытие ионов в следующем порядке: свинец, барий, марганец, хром, серебро, медь, сурьма, таллий, мышьяк, висмут, кадмий. Параллельно проводится анализ на ртуть после деструкции отдельной навески органов (печень, почки).

Качественное обнаружение ионов свинца

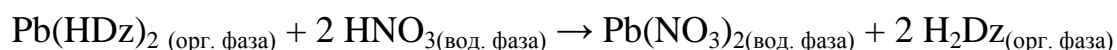
Предварительная реакция с дитизоном

К 1 мл раствора осадка в ацетате аммония прибавляют 1 мл 10 % раствора хлорида гидросиламина и доводят до pH = 8 с помощью раствора аммиака концентрацией 3 моль/л. Затем прибавляют 3 мл хлороформа, содержащего 0,1 % раствор дитизона (зеленого цвета) и взбалтывают. Хлороформный слой окрашивается в пурпурно-красный цвет [18].



Предел обнаружения равен 0,05 мкг свинца в 1 мл раствора. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

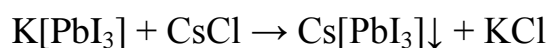
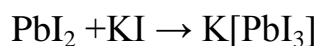
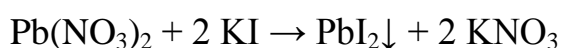
Для проведения *подтверждающих реакций на свинец* окрашенный в пурпурно-красный цвет слой хлороформа, содержащий дитизонат свинца - $Pb(HDz)_2$, встряхивают в течение минуты с 0,5 до 2 мл 1 М раствора азотной кислоты (в зависимости от объема и интенсивности окраски экстракта). Слой хлороформа восстанавливается в зеленый цвет.



Обнаруженный катион свинца, находящийся в водной фазе подтверждают другими качественными реакциями.

Образование двойной соли йодида цезия и свинца

На предметном стекле над пламенем горелки испаряют 1/2 часть анализируемой водной фазы. К сухому остатку прибавляют 2 капли 30 % раствора уксусной кислоты. С одного края капли вносят 2 кристаллика хлорида цезия, а с другого - несколько кристаллов йодида калия. Образуются желто-зеленые игольчатые кристаллы, собранные в пучки и сфероиды.



Предел обнаружения составляет 0,01 мкг свинца в пробе.

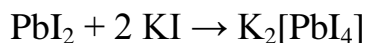
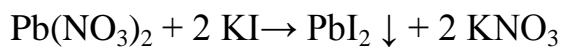
Образование гексанитрита свинца (II), меди (II) и калия

На предметном стекле по каплям выпаривают 1/2 часть водной фазы. К сухому остатку прибавляют каплю 1 % раствора ацетата меди и вновь выпаривают досуха. Остаток растворяют в 2 каплях 30 % раствора уксусной кислоты. На край капли помещают несколько кристаллов нитрита калия, Под микроскопом наблюдают черные или коричневые кристаллы в виде кубов, состава $[K_2CuPb(NO_2)_6]$.

Предел обнаружения по реакции составляет 0,03 мкг свинца в пробе.

Реакция с йодидом калия

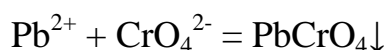
В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого раствора и несколько капель йодида калия



Если осадок растворить в горячей воде с несколькими каплями уксусной кислоты, а затем раствор охладить, то выпадают кристаллы золотисто-желтого цвета, реакция позволяет открыть ионы свинца в присутствии катионов всех аналитических групп.

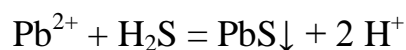
Реакция с дихроматом калия

0,5 мл исследуемого раствора смешивают с 5 каплями 5 % раствора дихромата калия. Образуется осадок оранжевого цвета.



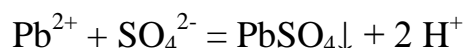
Реакция с сероводородом

К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 5 капель водного раствора сероводорода. Образуется осадок черного цвета.



Реакция с серной кислотой

К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 5 капель 10 % раствора серной кислоты. Образуется осадок белого цвета.



Макрохимическими реакциями можно обнаружить в 100 г биологического объекта 0,2 мг свинца [18].

Качественное обнаружение ионов бария

Реакция перекристаллизации из концентрированной серной кислоты

Часть осадка с фильтра переносят на предметное стекло, добавляют 2 капли концентрированной серной кислоты и нагревают на пламени горелки до появления белых паров диоксида серы. По охлаждении под микроскопом

наблюдают бесцветные кристаллы сульфата бария, имеющие форму прямоугольных пластинок, переходящих в кресты с перистыми разноплечными концами рисунок 3.1 [16].

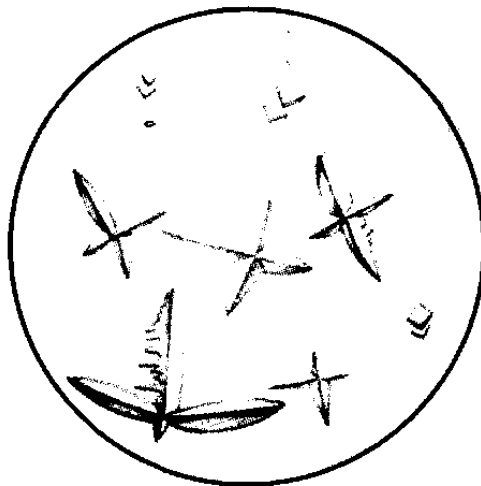


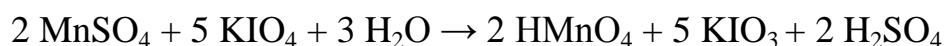
Рисунок 3.1 - Кристаллы сульфата бария после перекристаллизации с серной кислотой

Предел обнаружения составляет 0,05 мкг бария в исследуемой пробе.

Качественное обнаружение ионов марганца

Реакция с периодатом калия

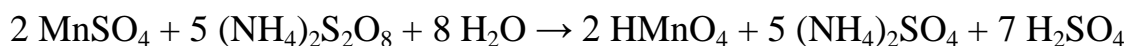
В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды очищенной, 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия и 0,2 г периодата калия. Пробирку нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 минут, наблюдают изменение окраски раствора в розовый или красно-фиолетовый цвет за счет образования марганцовой кислоты.



Реакция с персульфатом аммония

В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды очищенной, 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия. Смесь нагревают в течение

6 минут. К горячему раствору прибавляют 1 каплю 10 % раствора нитрата серебра (катализатор) и 0,5 г персульфата аммония. Смесь нагревают в течение нескольких минут с целью разложения избытка добавленного персульфата аммония. Наблюдают появление в растворе розового или красно-фиолетового окрашивания.



Предел обнаружения марганцовой кислоты составляет $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл.

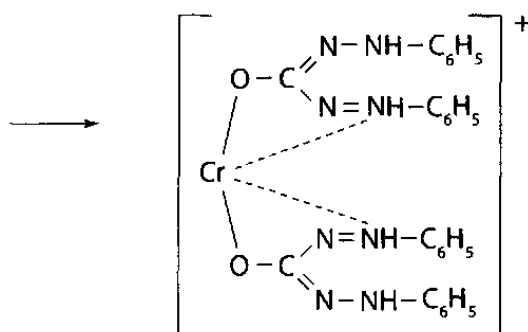
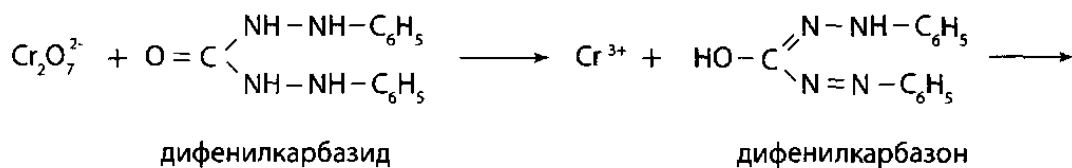
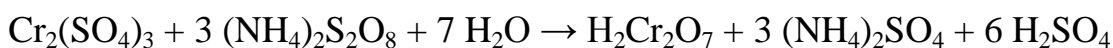
Реакции специфичны, так как другие ионы в указанных условиях не дают подобного окрашивания. Однако при реакции с периодатом калия окраска получается более стабильной, при реакции с персульфатом аммония менее стабильна и устойчива при больших концентрациях марганцовой кислоты. Поэтому по первой реакции границей обнаружения марганца является его содержание 0,02 мг в 100 г объекта, а по второй реакции - 0,1 мг. Появление окрашивания только по первой реакции может указывать на обнаружение естественно содержащегося марганца.

Появление окрашивания по двум реакциям является доказательством содержания в объекте марганца в количестве выше естественной нормы и требует проведения количественного определения.

Качественное обнаружение ионов хрома

Реакция с дифенилкарбазидом (предварительная)

К 1 мл минерализата прибавляют 4 мл воды очищенной, 1 каплю 10 % раствора нитрата серебра и 0,5 г персульфата аммония. Содержимое пробирки нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 минут. После охлаждения рН раствора доводят до 1,5 или 1,7 путем добавления 10 % раствора натрия гидроксида. Затем добавляют 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия и вновь проверяют значение рН. При добавлении 1 мл 0,25 % раствора дифенилкарбазида наблюдают образование розового или красно-фиолетового окрашивания [16].



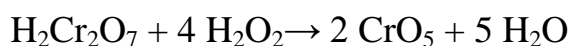
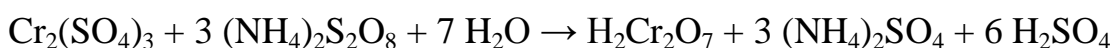
внутрикомплексная соль розового
или красно-фиолетового цвета

Дифенилкарбазон, образовавшийся в процессе реакции, неокрашен. Затем происходит образование внутрикомплексной соли, имеющей розовую или красно-фиолетовую окраску.

Реакция специфична, предел обнаружения составляет 0,2 мкг хрома в 1 мл минерализата.

Реакция образования пероксида хрома (подтверждающая)

К 5 мл минерализата прибавляют 30 % раствор гидроксида натрия до pH = 7 (по универсальному индикатору), 1 каплю 10 % раствора нитрата серебра, 0,5 г персульфата аммония и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 минут. После охлаждения до 10 °С в бане со льдом к жидкости добавляют 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия и вновь проверяют pH, затем прибавляют 2 мл этилового эфира и 2 капли 25 % раствора пероксида водорода. Содержимое пробирки энергично взбалтывают. Наблюдают окрашивание эфирного слоя в голубой или синий цвет.

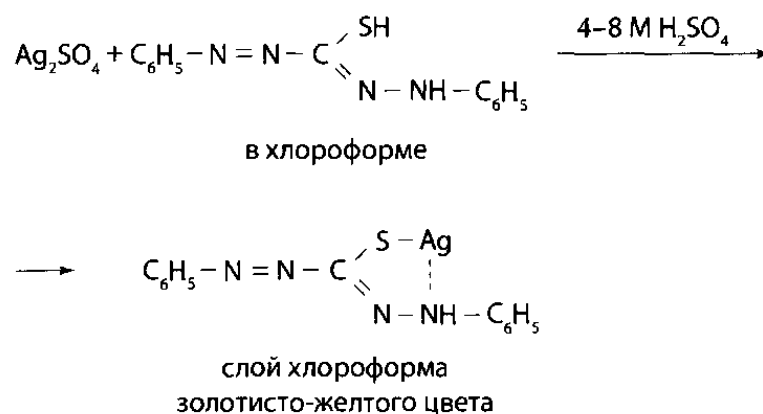


Реакция специфична и наглядна для хрома, предел обнаружения составляет 2 мкг хрома в 1 мл минерализата.

Качественное обнаружение ионов серебра

Реакция с дитизоном (предварительная)

К 1 мл минерализата прибавляют 1 мл 8 М раствора серной кислоты и 3 мл 0,01 % раствора дитизона в хлороформе. При встряхивании хлороформный слой приобретает золотисто-желтое окрашивание.



Ртуть с дитизоном также образует дитизонат оранжево-желтого цвета. Для отличия дитизоната серебра от дитизоната ртути окрашенный хлороформный слой отделяют и взбалтывают с 5 мл 0,5 М раствора хлороводородной кислоты. Дитизонат серебра разрушается, выделяется хлорид серебра, и золотистая окраска переходит в зеленую. Дитизонат ртути при взбалтывании с 0,5 М раствором хлороводородной кислоты не разрушается, и золотистая окраска слоя хлороформа не исчезает.

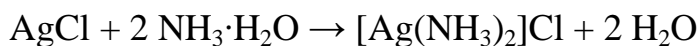
Предел обнаружения по данной реакции 0,04 мкг серебра в 1 мл минерализата. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Выделение серебра из минерализата

Проводится при получении положительного результата реакции образования дитизоната серебра. К 90 мл минерализата прибавляют 0,5 г

хлорида натрия, нагревают и образовавшийся белый осадок хлорида серебра отфильтровывают. Осадок исследуют на соединения серебра проверочными реакциями, а фильтрат - на все остальные катионы.

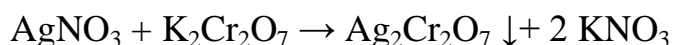
Осадок растворяют в определенном объеме 25 % раствора аммиака.



Полученный аммиачный раствор анализируют следующими реакциями.

Реакция с дихроматом калия

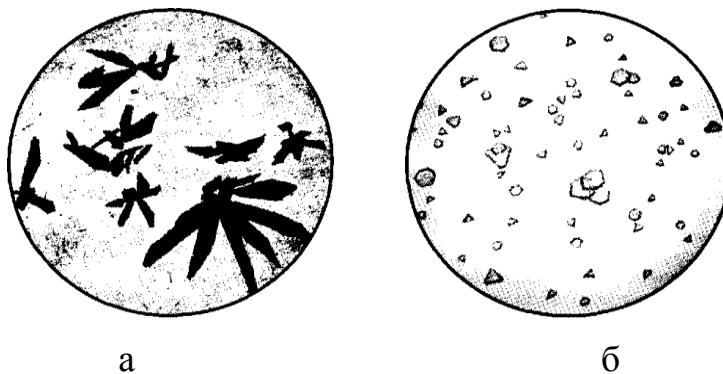
К нескольким каплям исследуемого раствора добавляют 10% раствор уксусной кислоты до кислой реакции и вносят небольшой кристалл дихромата или хромата калия. Наблюдают появление красного или красно-бурого окрашивания и кристаллического осадка



Дихромат серебра образует кристаллы в виде прямоугольных и ромбических пластинок оранжево-красного цвета. Предел обнаружения 0,15 мкг серебра в исследуемой пробе (рисунок 3.2).

Получение кристаллов аммиачного комплекса хлорида серебра

Полученный аммиачный раствор оставляют на предметном стекле. После удаления избытка аммиака под микроскопом наблюдают образование характерных мелких бесцветных кристаллов и сростки из тетраэдров и треугольников (рисунок 3.2) [16].



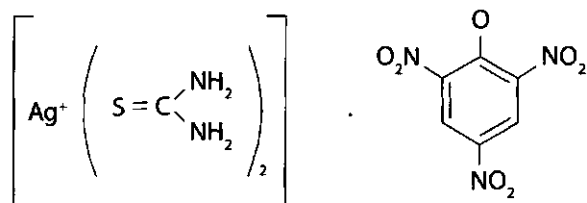
а – бихромата серебра; б – аммиачного комплекса хлорида серебра.

Рисунок 3.2 – Кристаллы

Предел обнаружения составляет 0,05 мг серебра в исследуемой пробе.

Реакция с тиомочевинной и пикратом калия

Смешивают 2-3 капли полученного аммиачного раствора с насыщенными растворами тиомочевинной и пикриновой кислоты. При наличии ионов серебра образуются кристаллы в виде желтых игл и розеток.



Предел обнаружения составляет 0,03 мкг серебра в исследуемой пробе.

Реакция с хлоридом золота и хлоридом рубидия.

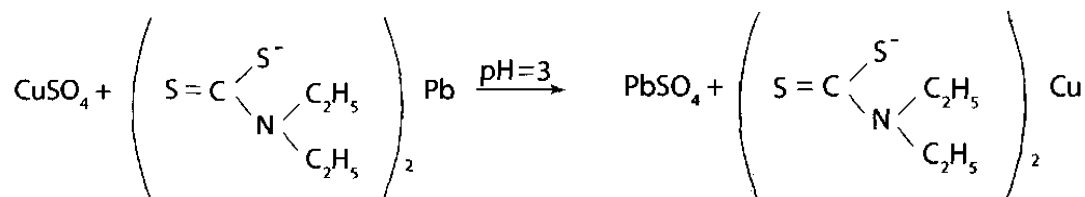
1-2 капли аммиачного раствора осадка выпаривают досуха. На остаток наносят каплю раствора, содержащего хлориды рубидия и золота. Через 10 мин наблюдают образование гранатово-красных призматических кристаллов и сростков из них $2\text{AgCl} \cdot 3\text{AuCl}_3 \cdot 6\text{RbCl}$.

Предел обнаружения составляет 0,1 мкг серебра в анализируемой пробе.

Качественное обнаружение ионов меди

Выделение меди из минерализата (предварительная реакция).

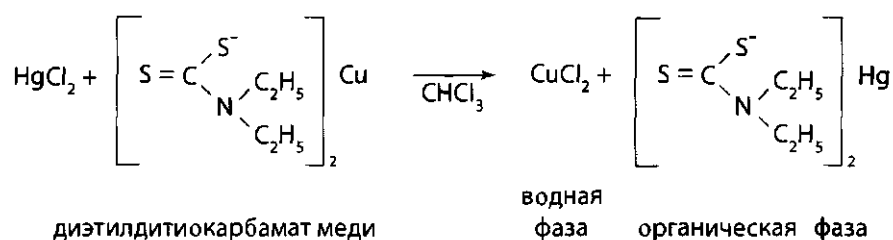
К 10 мл минерализата прибавляют 25 % раствор аммиака до pH = 3 (по универсальному индикатору) и взбалтывают с 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца. В присутствии соединений меди слой хлороформа окрашивается в желтый или коричневый цвет.



Предел обнаружения составляет 0,5 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Основное исследование на соли меди (подтверждающие реакции).

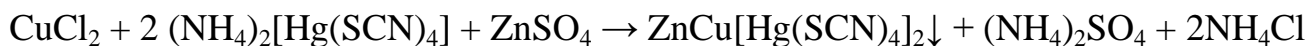
Хлороформный слой, содержащий диэтилдитиокарбамат меди, взбалтывают с 6 М раствором хлороводородной кислоты с целью разрушения избытка реактива - диэтилдитиокарбамата свинца, взбалтывают. К хлороформному слою по каплям прибавляют 1% раствор хлорида ртути (II) до тех пор, пока не наступит обесцвечивание слоя хлороформа. Затем, не отделяя слой хлороформа, в делительную воронку вносят 2 мл воды очищенной и интенсивно взбалтывают. Через 2 мин слой хлороформа отделяют от водной фазы.



Полученную водную фазу исследуют следующими реакциями.

Реакция с тетрароданомеркуратом (II) аммония и сульфатом цинка.

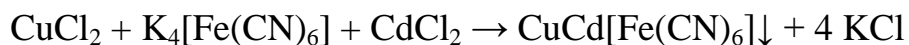
К 0,5 мл водной фазы добавляют несколько капель 5 % раствора сульфата цинка и несколько капель тетрароданомеркуроата аммония. При наличии ионов меди образуется осадок розово-лилового цвета.



Реакция специфична, предел обнаружения - 0,1 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора.

Реакция с гексацианоферратом (II) калия и хлоридом кадмия.

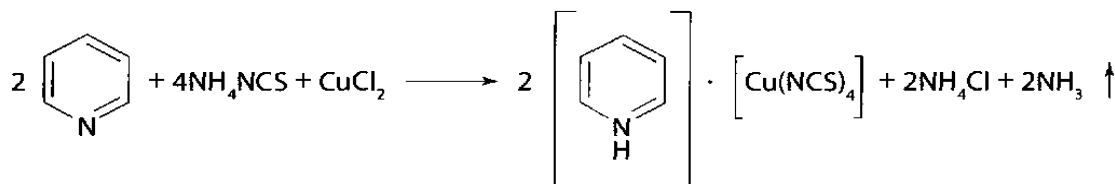
К 0,5 мл водной фазы прибавляют 2 капли 5 % раствора гексацианоферрата (II) калия и 10 капель 2 % раствора хлорида кадмия. При наличии в растворе ионов меди образуется осадок, окрашенный в лиловый цвет.



Предел обнаружения 0,1 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора.

Реакция с пиридин-родановым реактивом.

К 0,5 мл водной фазы прибавляют по каплям 1 мл пиридин-роданового реактива. Образуется осадок. При добавлении 2 мл хлороформа и взбалтывании слой хлороформа окрашивается в изумрудно-зеленый цвет.



пиридин-родановый комплекс меди

Предел обнаружения по этой реакции составляет 1 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора.

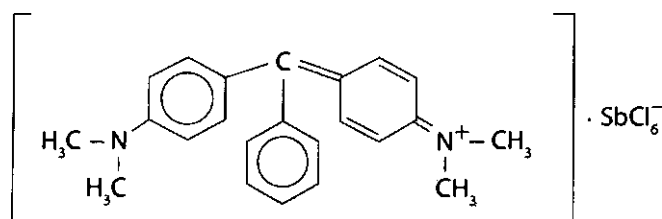
Качественное обнаружение ионов сурьмы

Реакция с малахитовым (бриллиантовым) зеленым (предварительная)

5 мл минерализата помещают в делительную воронку, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 М раствора хлороводородной кислоты. Затем прибавляют 3 капли 5 % раствора нитрита натрия (для окисления сурьмы в пятивалентную), 7 капель 0,5 % раствора малахитового зеленого, 2 г безводного сульфата натрия (с целью высаливания образующегося комплекса) и 5 мл толуола.



Смесь энергично встряхивают в течение 15 секунд. При наличии сурьмы в минерализате слой толуола окрашивается в синий или голубой цвет, водный слой сохраняет оранжевую окраску. Слой толуола отделяют от водной фазы и встряхивают с 3 мл 25 % серной кислоты - окраска должна сохраниться, т.к. образуется комплекс состава:

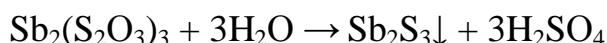
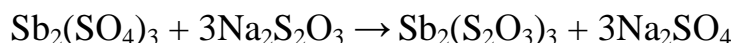


Предел обнаружения по этой реакции - 0,05 мкг сурьмы в 1 мл исследуемого раствора, граница обнаружения 0,1 мг в 100 г объекта.

Комплекс голубого цвета с малахитовым зеленым образуют ионы таллия, золота и железа. При взбалтывании окрашенного слоя толуола с 25 % раствором серной кислоты комплекс HFeCl_4 с малахитовым зеленым разрушается и окраска исчезает. Золото редко встречается в практике химико-токсикологического анализа как причина отравления или токсического действия на организм. Цвет комплекса с ионами таллия сохраняется.

Реакция с тиосульфатом натрия (подтверждающая)

5 мл минерализата помещают в пробирку, добавляют 5 капель насыщенного раствора тиосульфата натрия и кипятят 2 минуты. В присутствии сурьмы сразу или через несколько минут образуется осадок сульфида сурьмы оранжевого цвета.



Таллий эту реакцию не дает, золото образует сульфид черного цвета.

Предел обнаружения - 0,01 мг сурьмы в исследуемом объеме минерализата [16].

Качественное обнаружение ионов таллия

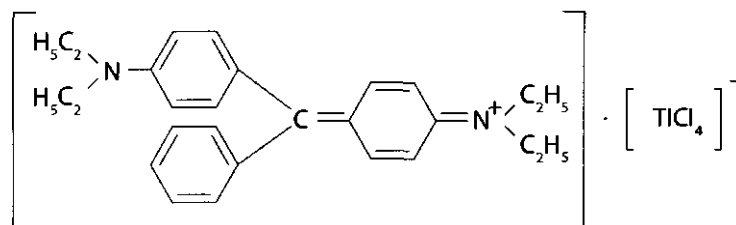
Реакция с бриллиантовым (малахитовым) зеленым

5 мл минерализата помещают в делительную воронку, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 М хлороводородной кислоты,

2 капли 5 % раствора нитрита натрия с целью окисления таллия до трехвалентного.



Через 5 мин добавляют 1 мл насыщенного раствора тиомочевины, 7 капель 0,5 % раствора бриллиантового зеленого, 2 г безводного сульфата натрия и 5 мл толуола. Смесь энергично взбалтывают. Слой толуола окрашивается в голубой или синий цвет при сохраняющейся оранжевой окраске водной фазы. Слой толуола отделяют от водной фазы и взбалтывают с 3 мл 25 % раствора серной кислоты. Окраска слоя толуола в синий или голубой цвет должна сохраниться. Образуется комплекс состава:

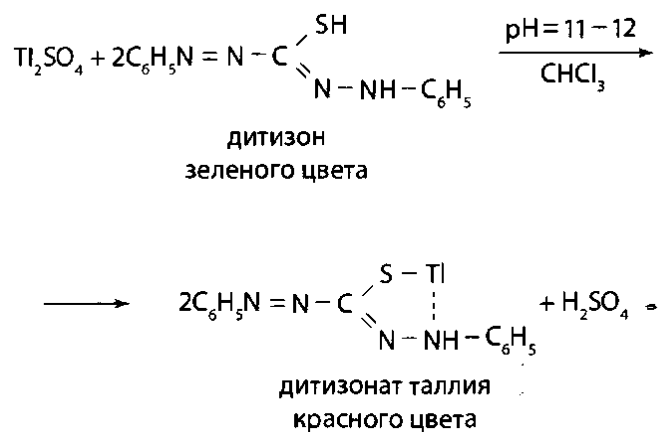


ионный ассоциат голубого цвета

Предел обнаружения - 0,03 мкг таллия в 1 мл минерализата. Реакция неспецифична, так как сурьма также дает положительную реакцию.

Реакция с дитизоном (для отличия от сурьмы, подтверждающая)

В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, 2 мл 20 % раствора лимонной кислоты, 2 мл насыщенного раствора тиомочевины, 2 мл 10 % раствора гидроксиламина и 2 мл 5 % раствора цианида натрия (*осторожно, яд!*). С помощью 3 М раствора аммиака в смеси доводят рН до 12 (по универсальному индикатору). Содержимое воронки взбалтывают, прибавляют еще 1 мл 3 М раствора аммиака и 3 мл 0,01 % раствора дитизона в хлороформе. В присутствии ионов таллия образуется красное окрашивание:



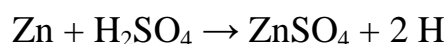
Предел обнаружения - 0,1 мкг таллия в 1 мл исследуемого раствора.
Сурьма этой реакции не дает.

Качественное обнаружение ионов мышьяка

Реакция Зангер-Блека (предварительная) [1, 2]

Реакция Зангер - Блека основана на восстановлении соединений мышьяка до мышьяковистого водорода, который затем на фильтровальной бумаге реагирует с хлоридом или бромидом ртути (II). Реакция выполняется в специальном приборе (рисунок 3.3).

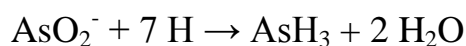
Восстановление соединений мышьяка производится водородом в момент его выделения, который получают при взаимодействии металлического цинка с серной кислотой:

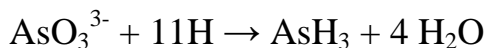
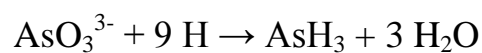


Металлический цинк и серная кислота, применяемые для получения водорода, не должны содержать мышьяка. Реакция между металлическим цинком и серной кислотой протекает медленно.

Для ее ускорения применяют так называемый «купрированный» цинк (цинк, поверхность которого покрыта сульфатом меди).

Водород, образовавшийся при взаимодействии серной кислоты и цинка, восстанавливает соединения мышьяка до арсина:

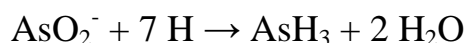
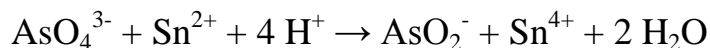




1 – колба, 2 – насадка, заполненная ватой, пропитанной раствором ацетата свинца, 3 – бумага, смоченная раствором хлорида или бромида ртути (II).

Рисунок 3.3 – Аппарат Зангер-Блека

Скорость восстановления соединений трех и пятивалентного мышьяка (арсенитов и арсенатов) водородом неодинаковая. Арсениты восстанавливаются водородом легче, чем арсенаты. Поэтому вначале производят восстановление арсенатов в арсениты водородом в присутствии солей железа (II) или олова (II), затем арсениты восстанавливаются водородом с образованием мышьяковистого водорода:

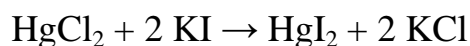


Образовавшийся мышьяковистый водород реагирует с хлоридом или бромидом ртути (II), которыми пропитана фильтровальная бумага. При реакции образуется ряд окрашенных соединений, которые располагаются на бумаге в виде желтых или коричневых пятен.



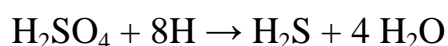


После обработки бумаги слабым раствором иодида калия вся бумага (кроме пятна, содержащего указанные соединения мышьяка) приобретает красноватую окраску, обусловленную переходом хлорида или бромида ртути в иодид этого металла:



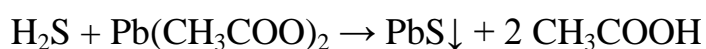
При дальнейшей обработке бумаги концентрированным раствором иодида калия бумага обесцвечивается (образуется $\text{K}_2[\text{HgI}_4]$), а пятно, содержащее соединения мышьяка $\text{AsH}_2(\text{HgCl})$, $\text{AsH}(\text{HgCl})_2$, $\text{As}(\text{HgCl})_3$, остается желтым или коричневым.

Реакции Зангер - Блека мешает сероводород, который может образоваться при взаимодействии водорода с серной кислотой:



Реакции Зангер - Блека также мешают соединения, ионы которых восстанавливаются водородом.

Сероводород, выделившийся при взаимодействии водорода с серной кислотой, на фильтровальной бумаге реагирует с хлоридом или бромидом ртути (II). В результате этой реакции образуется черного цвета сульфид ртути, который маскирует окраску пятен, содержащих соединения мышьяка. Для связывания сероводорода применяют вату, пропитанную раствором ацетата свинца:

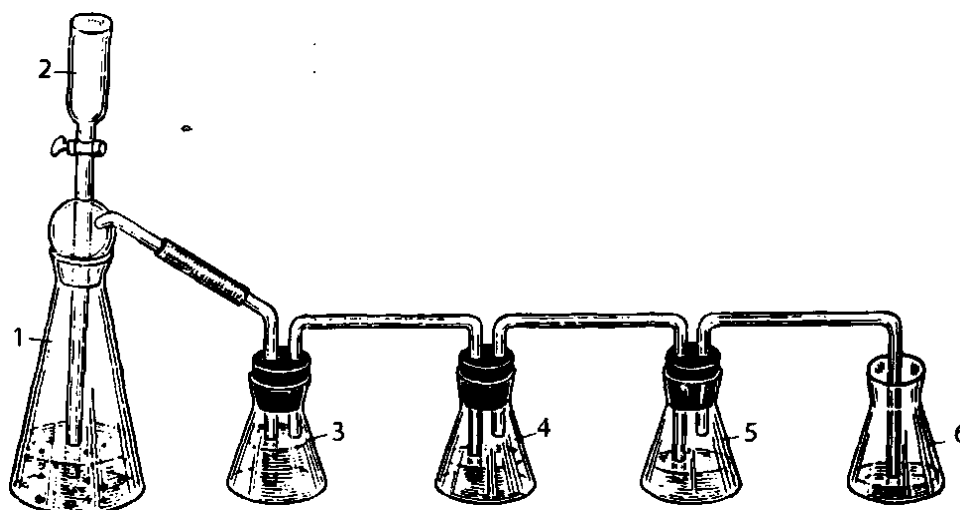


В колбу аппарата Зангер - Блека вносят 2 мл минерализата, 10 мл 4 н. раствора серной кислоты, 5 мл воды и 1 мл 10 %-го раствора хлорида олова (II) в 50 %-й серной или соляной кислоте. Затем в колбу аппарата вносят 2 г мелких гранул «купрированного» цинка. Колбу аппарата закрывают насадкой, в которую вложена бумага, пропитанная хлоридом или бромидом ртути (II), а ниже вставлен тампон ваты, пропитанный ацетатом свинца. Аппарат оставляют на время, необходимое для образования на бумаге буровато-коричневого пятна. При наличии больших количеств мышьяка в пробе это пятно

может появиться через несколько минут. При малых количествах мышьяка в минерализате пятно появляется через 45 минут. Если и через 45 минут не появится пятно, то бумагу опускают в 3 %-й водный раствор иодида калия. При этом бумага приобретает красноватую окраску. Затем бумагу опускают в насыщенный раствор иодида калия. При наличии мышьяка в минерализате на бумаге остается желтое или коричневое пятно, а вокруг него исчезает красноватая окраска. Предел обнаружения: 0,1 мкг мышьяка в пробе. Граница обнаружения: 0,01 мг мышьяка в 100 г биологического материала.

Титриметрический метод количественного определения мышьяка

Метод основан на восстановлении мышьяковой кислоты в минерализате до летучего мышьяковистого водорода с последующим поглощением его титрованным раствором нитрата серебра (рисунок 3.4).



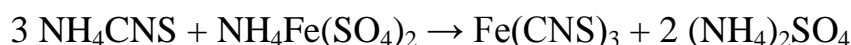
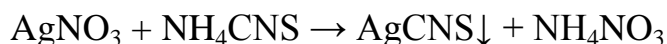
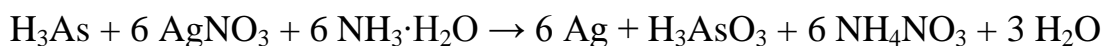
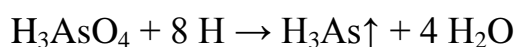
1 - колба для восстановления мышьяковой кислоты до мышьяковистого водорода (арсина); 2 - делительная воронка; 3-6 - уловители арсина, содержащие титрованный раствор нитрата серебра.

Рисунок 3.4 - Прибор для количественного определения мышьяка титриметрическим методом

В коническую колбу (1) вносят 15 г купрированного цинка и закрывают пробкой с делительной воронкой (2) и отводной трубкой, которую опускают в приемник (3), содержащий от 50 до 100 мл 0,01 М раствора нитрата серебра,

подщелоченного 1 мл 8 М раствора аммиака. Приемник соединяют с 2 или 3 уловителями, в которых также находится подщелоченный раствором аммиака титрованный раствор нитрата серебра. В воронку помещают от 20 до 100 мл минерализата и добавляют в него 2 мл 10 % раствора хлорида олова.

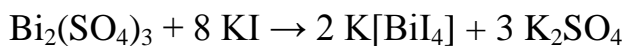
Содержимое воронки постепенно спускают в реакционную колбу (1) в течение 2 или 3 часов. Затем содержимое всех уловителей (3-6) объединяют, подкисляют концентрированной азотной кислотой и титруют избыток нитрата серебра 0,01 М раствором роданида аммония (индикатор - железоаммониевые квасцы) до появления розового окрашивания роданида железа (III).



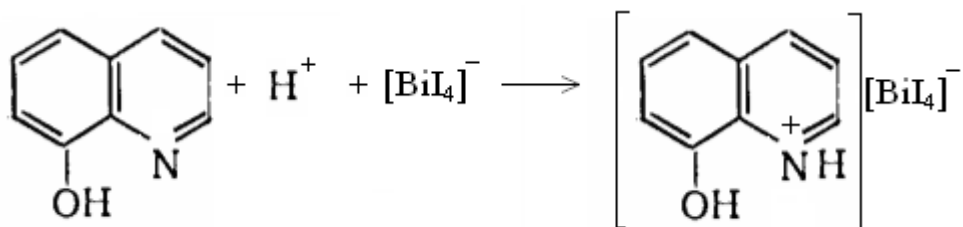
Качественное обнаружение ионов висмута

Реакция с оксином (8-оксихинолином)

К 10 мл минерализата добавляют 2 мл 30 % раствора гидроксида натрия, 0,5 г аскорбиновой кислоты (для исключения влияния окислителей), 0,5 мл 10 % раствора калия-натрия тартрата (для маскирования меди) и 0,5 г йодида калия в присутствии висмута наблюдается желтое окрашивание.



При осторожном добавлении 1-2 мл 2 % раствора оксихинолина в 5 % растворе соляной кислоты на границе соприкосновения слоев наблюдается образование (через 1 -10 минут в зависимости от количества висмута) оранжевого осадка или оранжевого окрашивания.

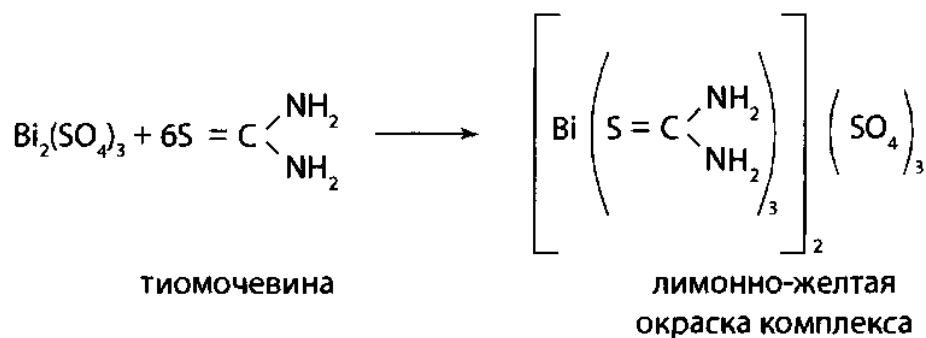


При извлечении его 2 мл смеси ацетона и амилацетата (1:1) слой органического растворителя окрашивается в розово-оранжевый цвет.

Реакция позволяет обнаруживать 0,005 мкг в исследуемом объеме.

Реакция с тиомочевинной

К 5 мл минерализата прибавляют 3-5 мл насыщенного водного раствора тиомочевинной. При наличии ионов висмута наблюдают появление лимонно-желтого окрашивания.



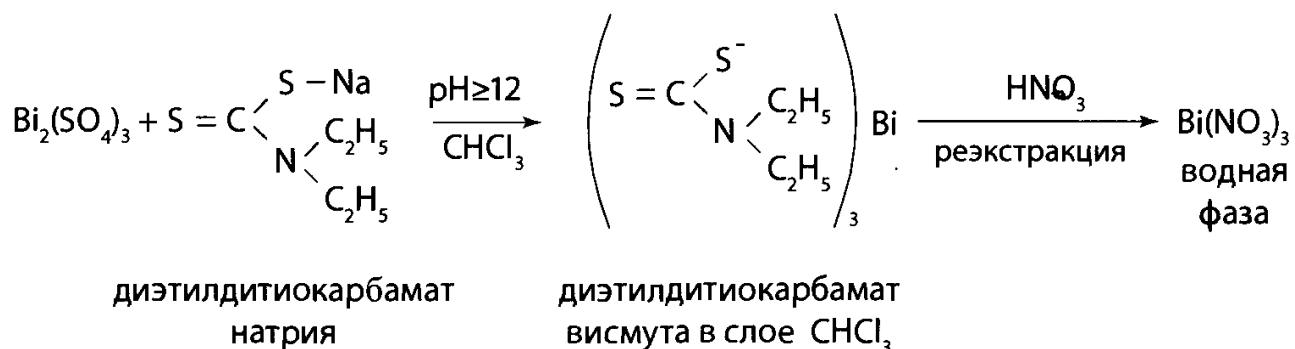
Реакция неспецифична, предел обнаружения - 0,005 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора. Реакции придается судебно-химическое значение при отрицательном результате.

При положительном результате указанных выше реакций производят дальнейшее исследование минерализата на наличие ионов висмута. С этой целью ионы висмута выделяют из минерализата в виде комплекса с диэтилдитиокарбаминатом натрия.

Этот комплекс экстрагируют хлороформом, а затем разлагают кислотой.

Выделение ионов висмута из минерализата. В делительную воронку помещают 10 мл минерализата, добавляют 0,1 г комплексона III, 3 М раствор гидроксида натрия или калия до рН = 12 (по универсальному индикатору), 3 мл 1 % раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 5 мл хлороформа. Смесь энергично встряхивают. Слой хлороформа отделяют и проводят рекстракцию

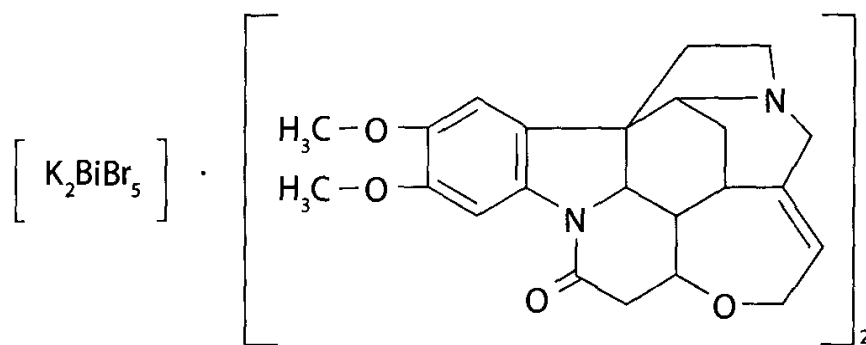
висмута в водную фазу путем встряхивания в течение минуты с 3 мл 4 М раствора азотной кислоты. Водную фазу отделяют, промывают 1 мл хлороформа и используют для исследования.



Водную фазу подвергают исследованию на наличие ионов висмута при помощи реакций с бруцином, хлоридом цезия и тиомочевинной.

Реакция с бруцином и бромидом калия

На предметное стекло наносят несколько капель водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю 2 н. раствора азотной кислоты, а затем прибавляют каплю насыщенного раствора бруцина в 1 н. серной кислоте и каплю 5%-го раствора бромида калия, при этом образуется комплекс:

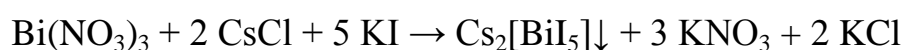


При наличии ионов висмута сразу же или через несколько минут образуются желто-зеленые кристаллы, собранные в виде сфероидов. При добавлении йодида калия цвет кристаллов изменяется на красный (в отличие от кадмия, который также образует характерные кристаллы с бруцином и бромидом калия, но не меняет цвета при добавлении йодида калия).

Реакция неспецифична, предел обнаружения - 0,4 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора.

Реакция с хлоридом цезия и иодидом калия

Третью часть резкстракта упаривают на предметном стекле досуха. На сухой остаток наносят 2 капли 3 М раствора хлороводородной кислоты и вводят с одной стороны капли кристаллик хлорида цезия, а с другой - кристаллик йодида калия. Сразу или через несколько минут образуются оранжево-красные кристаллы в виде шестиугольников и правильных шестилучевых звезд.



Реакция неспецифична, предел обнаружения - 0,1 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора [16, 20].

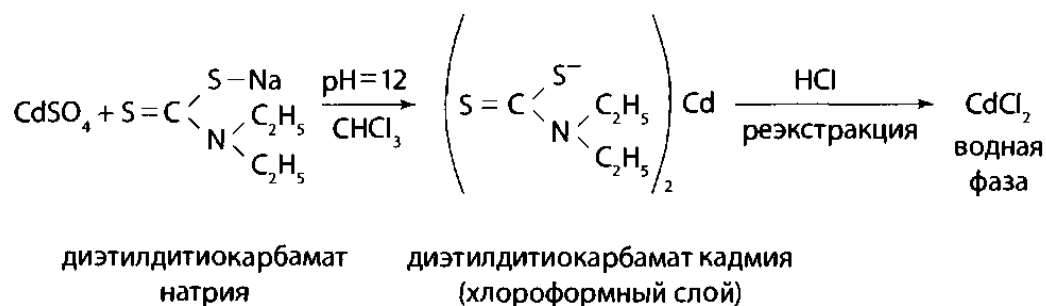
Качественное обнаружение ионов кадмия

После разрушения объекта концентрированными серной и азотной кислотами кадмий находится в минерализате в виде сульфата - CdSO_4 . Обнаружение кадмия дробным методом основано на экстракции его из минерализата в виде диэтилдитиокарбамата при $\text{pH} = 12$ с последующей резкстракцией в водную фазу с помощью хлороводородной кислоты и проведении характерных реакций на ион кадмия.

Выделение ионов кадмия из минерализата

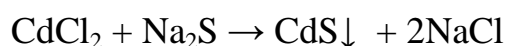
В колбу вносят 10 мл минерализата, прибавляют 2 мл 10 % водного раствора глицерина, 4 мл 10 % раствора калия-натрия тартрата. Смесь нейтрализуют в присутствии нильского голубого 10% раствором гидроксида натрия до появления розовой окраски. Раствор переносят в делительную воронку, добавляют 2 мл 1 % раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 10 мл хлороформа. Смесь встряхивают в течение 1 минуты. Слой хлороформа отделяют, промывают водой очищенной, добавляют 3 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты и повторно встряхивают 30 секунд.

Полученный реэкстракт (водная фаза) отделяют и исследуют характерными для кадмия реакциями.



Реакция с сульфидом натрия

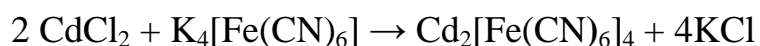
К 1 мл реэкстракта добавляют по каплям 10 % раствор гидроксида натрия до pH = 5 (по универсальному индикатору) и 3 или 4 капли свежеприготовленного сульфида натрия - образуется осадок сульфида кадмия желтого цвета.



Предел обнаружения - 50 мкг кадмия в исследуемой пробе. Имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция с гексацианоферратом (II) калия

К 1 мл реэкстракта добавляют по каплям раствор гидроксида натрия до pH = 5 (по универсальному индикатору) и 2 капли 5 % раствора гексацианоферрата (II) калия - образуется осадок или муть белого цвета.



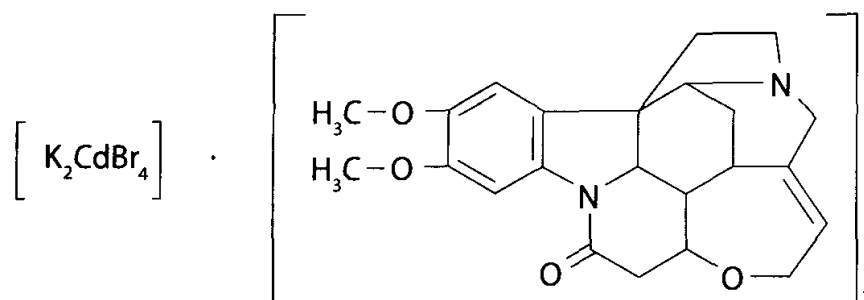
Реакция позволяет обнаружить в 100 г объекта 4 мг кадмия. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция с бруцином и бромидом калия

Пару капель реэкстракта выпаривают на предметном стекле досуха. На сухой остаток наносят каплю насыщенного раствора бруцина в 1 М растворе серной кислоты и каплю 5 % раствора бромида калия. В присутствии кадмия образуются бесцветные призматические кристаллы в виде сфероидов (рисунок 3.5). При добавлении к осадку йодида калия цвет кристаллов не

меняется (в отличие от висмута, кристаллы которого при проведении этой реакции изменяют цвет на красный).

Образующийся комплекс можно представить следующей формулой:



Реакция чувствительна, с ее помощью можно обнаружить 0,12 мкг кадмия в исследуемой пробе.

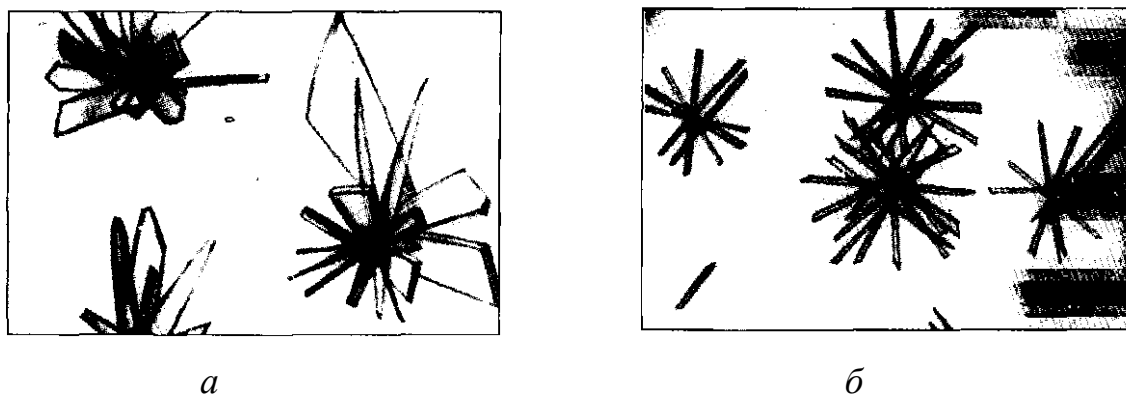


Рисунок 3.5 – Кристаллы кадмия при взаимодействии: а - с бруцином и бромидом калия; б - с пиридином и бромидом калия

Реакция с пиридином и бромидом калия (подтверждающая)

3 капли реэкстракта выпаривают на предметном стекле. На остаток наносят каплю 5% раствора бромида калия и каплю пиридина - образуются бесцветные кристаллы в виде сфероидов (рисунок 3.5). Реакция хлорида кадмия с пиридином и бромидом калия идет по схеме.



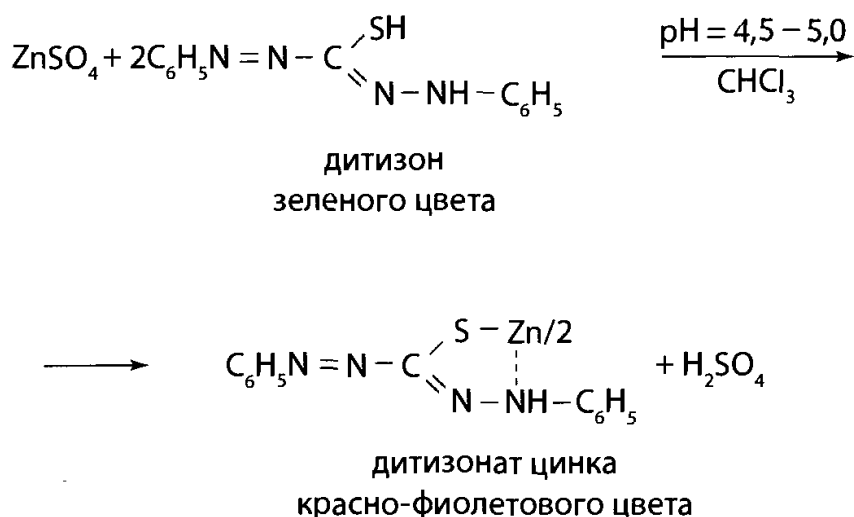
Предел обнаружения по данной реакции - 0,05 мкг кадмия в исследуемой пробе

Качественное обнаружение ионов цинка

Химический метод анализа основан на использовании реакций комплексообразования и осаждения.

Реакция с дитизоном (предварительная)

К 0,5 мл минерализата прибавляют 0,25 мл насыщенного раствора тиосульфата натрия, устанавливают рН=4,5-5,0 (по универсальному индикатору) с помощью ацетатного буферного раствора, добавляют 2 капли 0,01 % раствора дитизона в хлороформе и 1 мл хлороформа. Полученный раствор энергично



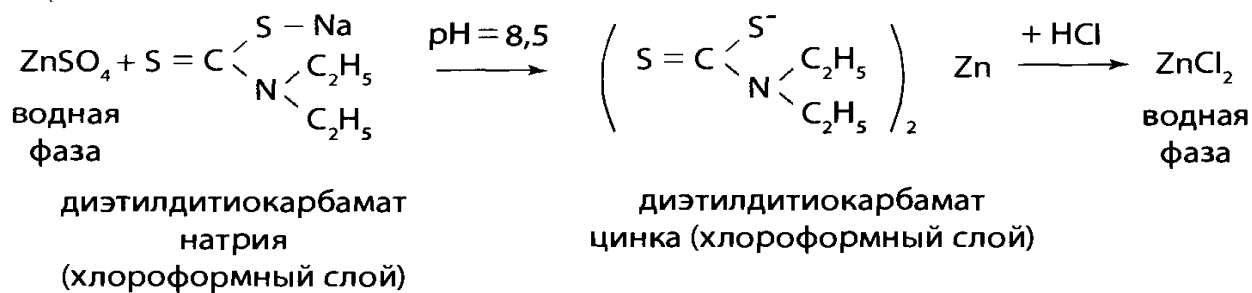
встряхивают. При наличии ионов цинка слой хлороформа окрашивается в розовый или красно-фиолетовый цвет.

Реакцией можно обнаружить в 100 г исследуемого объекта 5 мг цинка. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Выделение цинка из минерализата

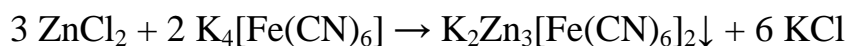
К 10 мл минерализата добавляют 4 мл раствора калия-натрия тартрата или 20 % раствор лимонной кислоты (для маскирования железа), 1 мл насыщенного раствора тиомочевины (или тиосульфата натрия) для маскирования ионов кадмия и меди и доводят рН до 8,5 (по универсальному индикатору) с помощью

10 % раствора гидроксида натрия. Смесь взбалтывают с 3 мл 1% раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 5 мл хлороформа. Слой хлороформа отделяют, промывают 10 мл воды и встряхивают с 3 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты. Водную фазу (реэкстракт), содержащую хлорид цинка, отделяют и исследуют.



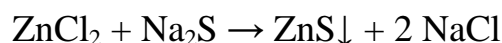
Реакция с гексацианоферратом(II) калия

К 1 мл реэкстракта добавляют 10 % раствор гидроксида натрия до pH=5 (по универсальному индикатору) и 2 капли 5 % раствора гексацианоферрата (II) калия. Образуется осадок или муть белого цвета.



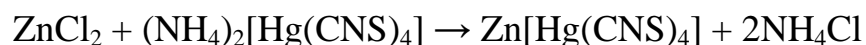
Реакция с сульфидом натрия

К 1 мл реэкстракта прибавляют 10 % раствор гидроксида натрия до pH=5 (по универсальному индикатору) и 3 капли свежеприготовленного 5 % раствора сульфида натрия. Образуется осадок или муть белого цвета.



Реакция с тетраданомеркуратом (II) аммония

3 капли реэкстракта выпаривают досуха на предметном стекле. Сухой остаток растворяют в капле 10 % раствора уксусной кислоты и прибавляют каплю раствора тетраданомеркурата (II) аммония.



В присутствии ионов цинка образуются бесцветные одиночные клиновидные кристаллы или дендриты (рисунок 3.6).

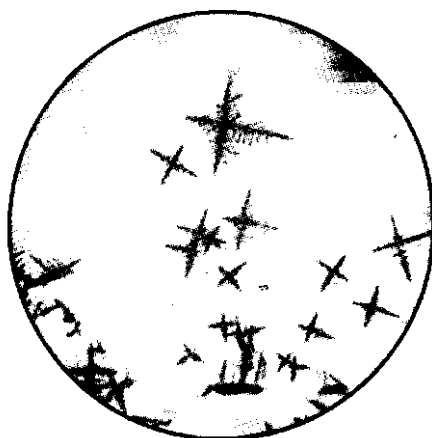


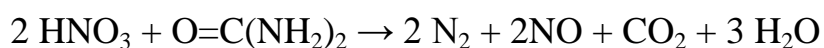
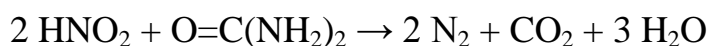
Рисунок 3.6 – Кристаллы тетрароданомеркурата (II) цинка

Граница обнаружения цинка в 100 г объекта после экстракции в виде диэтилдитиокарбамата, реэкстракции хлороводородной кислотой и использования перечисленных реакций составляет 0,5 мг [16, 18].

Качественное обнаружение ионов ртути

Исследование биологического материала на наличие соединений ртути после полной минерализации нецелесообразно, так как потери в условиях жесткого температурного режима, создаваемого при минерализации, могут достигать 98 %. Поэтому ртуть определяют в отдельной навеске без полной минерализации пробы, ограничиваясь лишь стадией деструкции.

Для ускорения деструкции к биологическому материалу прибавляют этиловый спирт, который является катализатором этого процесса. Для удаления из деструктата азотной, азотистой кислот и оксидов азота, образующихся в процессе деструкции, прибавляют мочевины:



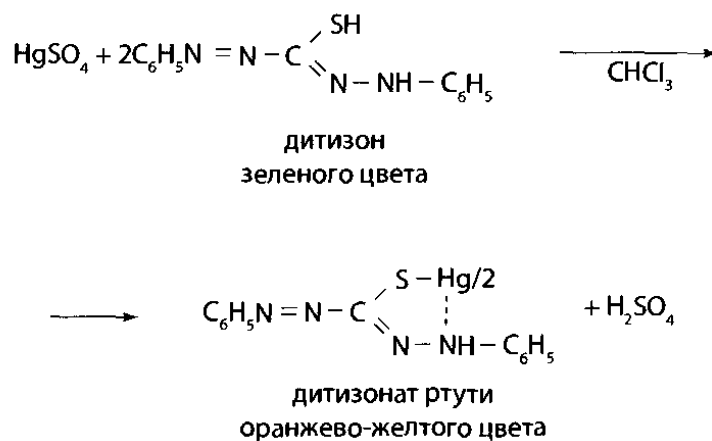
Оксиды азота окисляются кислородом воздуха до оксидов азота (IV), при взаимодействии которого с водой образуются азотная и азотистая кислоты, разлагающиеся мочевиной, как указано выше.

Для деструкции берут 20 г измельченных органов трупов вносят в коническую колбу вместимостью 200 мл, в которую прибавляют 5 мл воды, 1 мл этилового спирта и 10 мл концентрированной азотной кислоты. Затем в колбу малыми порциями прибавляют 20 мл концентрированной серной кислоты с такой скоростью, чтобы оксиды азота не выделялись из колбы. После окончания прибавления концентрированной серной кислоты колбу оставляют на 10 минут при комнатной температуре (до прекращения выделения оксидов азота). Затем колбу устанавливают на кипящую водяную баню и нагревают в течение 20 минут. Если после нагревания колбы на кипящей водяной бане останутся неразрушенными кусочки биологического материала, то их осторожно растирают стеклянной палочкой о стенки колбы. При бурном протекании реакции с выделением оксидов азота в колбу прибавляют 30-50 мл горячей воды. Полученный горячий деструктат смешивают с двойным объемом кипящей воды и, не охлаждая жидкость, фильтруют ее через двойной увлажненный фильтр. Фильтр, через который фильтровали деструктат, и остатки жира на нем 3 раза промывают горячей водой. Промывные воды присоединяют к профильтрованному деструктату. Полученную при этом жидкость собирают в колбу, содержащую 20 мл насыщенного раствора мочевины, предназначенной для денитрации деструктата. Затем деструктат охлаждают, доводят водой до определенного объема и исследуют его на наличие ртути.

Реакция с дитизоном (предварительная)

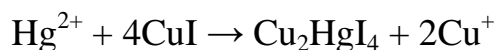
Половину минерализата помещают в делительную воронку, прибавляют 10 мл 10 % раствора сернокислого гидроксиламина или аскорбиновой кислоты, 5 мл хлороформа и 3 мл 0,01 % раствора дитизона. Смесь взбалтывают. При наличии ртути в минерализате наблюдают желто-оранжевую окраску слоя хлороформа.

Предел обнаружения ртути по данной реакции составляет 0,05 мкг в 1 мл исследуемого раствора. Реакции придается судебно-химическое значение при отрицательном результате.



Реакция с йодидом меди (I)

К части минерализата прибавляют 10 мл взвеси йодида меди (I). Наблюдают образование розового, красного или оранжево-красного осадка.



Предел обнаружения - 1 мкг ртути в исследуемом объеме [20].

3.5 Лабораторная работа. Химико-токсикологический анализ биологического объекта на металлические яды

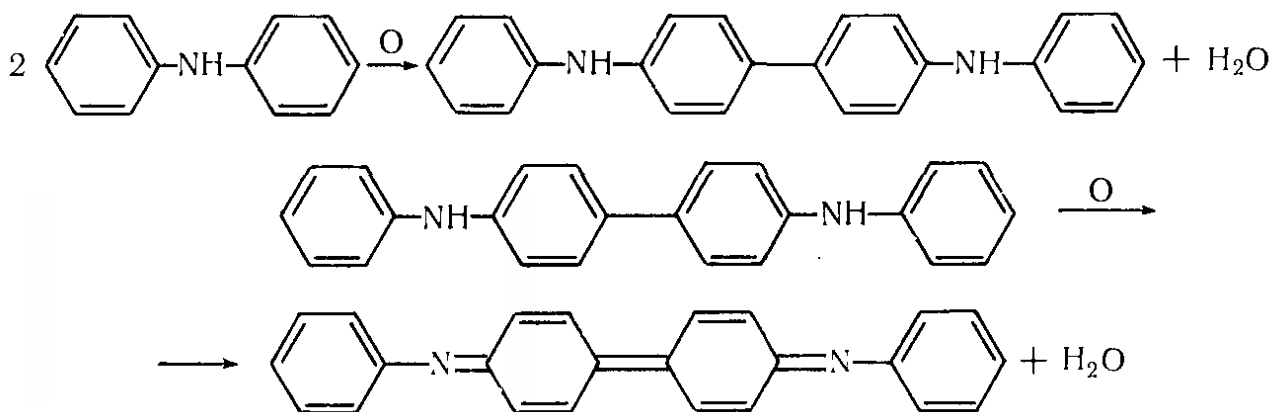
Изолирования металлических ядов из биологического материала проводят общим методом минерализации.

Для этого 100 г биологического объекта в колбе Кьельдаля заливают 75 мл окислительной смеси (кислоты серной концентрированной, кислоты азотной концентрированной, воды дистиллированной в соотношении 1:1:1). Колбу закрепляют в штативе вертикально на расстоянии 1 или 2 см от асбестовой сетки. Над колбой помещают капельную воронку с разбавленной азотной кислотой (1:1). Колбу осторожно нагревают на плитке, добавляя при необходимости (потемнение жидкости) разбавленную азотную кислоту (1:1) по каплям до просветления жидкости. Концом минерализации считается момент, когда в колбе остается 15 или 20 мл бесцветной или окрашенной жидкости, которая не темнеет в течение 30 минут при постоянном нагревании, без добавления кислоты азотной.

Охлажденный минерализат осторожно выливают в химический стакан, содержащий 30 мл дистиллированной воды, колбу Кьельдаля ополаскивают два раза дистиллированной водой по 10 мл и присоединяют промывные воды к разбавленному минерализату. Разбавление минерализата способствует затем более легкому протеканию процесса денитрации.

В маленькой фарфоровой чашке в 2-3 каплях концентрированной кислоты серной растворяют 2-3 кристалла дифениламина и к полученному бесцветному раствору прибавляет одну каплю разбавленного минерализата.

Дифениламин окисляется азотной, азотистой кислотами или оксидами азота до бесцветного дифенилбензидина, который потом окисляется до соединения имеющего синюю окраску.



Денитрация считается оконченной тогда, когда реакция минерализата с раствором дифениламина будет отрицательной. В случае появления синего-голубого окрашивания проводят повторно денитрацию раствора.

Стакан с содержимым ставят на плитку, нагревают до кипения и вносят одну каплю формалина, кипятят 10 минут и вновь проделывают реакцию дифениламином.

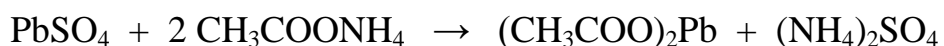
В случае отсутствия голубого окрашивания в результате реакции с дифениламином жидкость кипятят до исчезновения запаха формалина, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу на 200 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Жидкость из мерной колбы переносят в чистую сухую склянку и используют для обнаружения катионов (100 мл) и количественного определения (100 мл). Если при разбавлении минерализата

водой выпадает осадок, то независимо от того, проводилась денитрация или нет, жидкость в стакане нагревают до кипения, кипятят 10 минут и оставляют стоять на сутки для получения более плотного осадка. На второй день белый кристаллический осадок отфильтровывают через плотный фильтр

В осадке после проведения минерализации могут находиться нерастворимые в воде сульфаты бария, свинца и кальция. Химико-токсикологический интерес представляют только барий и свинец, которые необходимо до обнаружения разделить.

Для этого осадок отфильтровывают через плотный фильтр, промывают 3 раза дистиллированной водой и присоединяют промывные воды к фильтрату, доводя его до метки в мерной колбе.

Осадок на фильтре 2 раза промывают водой, подкисленной 1 % раствором кислоты серной. Промывные воды отбрасывают. Затем осадок на фильтре многократно обрабатывают 5 мл горячего насыщенного раствора аммония ацетата, подкисленного кислотой уксусной (каждый раз нагревая фильтрат).



Этот, второй фильтрат, исследуют на ионы свинца, а осадок на фильтре – на ионы бария.

Минерализат исследуют на ионы тяжелых металлов с помощью качественных реакций (подраздел 3.4) и количественных методов анализа (подраздел 3.6).

3.6 Количественное определение содержания ионов тяжелых металлов в минерализате

Экстракционно-фотоколориметрический метод определения содержания ионов свинца [16]

Метод основан на получении окрашенного соединения свинца с дитизоном и экстракции образовавшегося комплексного соединения (подраздел 3.4).

Окрашенный в красный цвет хлороформный слой отделяют, доводят до определенного объема и оптическую плотность измеряют с помощью фотоэлектроколориметра при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику, построенному в пределах концентраций свинца от $1 \cdot 10^{-2}$ до $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл. По этой методике содержание свинца определяется в пределах от 0,02 до 2 мг и более в 100 г исследуемого объекта.

Комплексометрическое титрование ионов бария

Осадок сульфата бария количественно переносят в стакан, добавляют определенный объем 0,01 М раствора комплексона III и 10 мл 8 М раствора аммиака. Смесь нагревают до кипения, охлаждают, добавляют 10 мл аммиачного буферного раствора, 0,2 г эриохрома черного ET-00 и воды 100 или 150 мл. Избыток комплексона III оттитровывают 0,01 М раствором хлорида цинка до перехода синей окраски в красно-фиолетовую. Затем добавляют 3-5 мл избытка раствора хлорида цинка, 20 мл этилового спирта и оттитровывают избыток хлорида цинка 0,01 М раствором комплексона III до перехода красно-фиолетовой окраски в синюю. При расчетах учитывают сумму объемов комплексона III и хлорида цинка. 1 мл комплексона III соответствует 0,69 мг бария. Этим методом в 100 г объекта можно определить от 0,5 до 10 мг бария.

Фотоколориметрический метод определения содержания ионов марганца

Метод основан на окислении марганца (II) до марганца (VII) (подраздел 3.4). Оптическую плотность раствора измеряют при 525 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации марганца в минерализате ведут по калибровочному графику. Марганец может быть определен этим методом в количестве от 0,02 до 20 мг и более в 100 г объекта.

Экстракционно-фотометрическое определение содержания ионов сурьмы

Метод основан на получении ионного ассоциата с малахитовым зеленым гексахлоростибата (V) водорода, экстрагируемого толуолом. Реакцию проводят по методике, описанной в подразделе 3.4 о качественных реакциях на ионы сурьмы.

Слой толуола, окрашенный в голубой (синий) цвет, отделяют и оптическую плотность определяют при длине волны 610 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику. Сурьма этим методом достоверно определяется при содержании в 100 г объекта в количестве от 0,1 до 10 мг и более.

Экстракционно-фотометрическое определение содержания ионов таллия

Метод основан на получении ионного ассоциата таллийхлороводородной кислоты с малахитовым зеленым, экстрагируемого толуолом. Реакцию проводят по методике, описанной в подразделе 3.4 о качественных реакциях на ионы таллия.

Слой толуола, окрашенный в голубой (синий) цвет, отделяют и оптическую плотность определяют при длине волны 610 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику. Таллий этим методом достоверно определяется при содержании в 100 г объекта в количестве от 0,1 до 10 мг и более.

Комплексометрическое титрование ионов кадмия

Метод основан на выделении кадмия из минерализата в виде диэтилдитиокарбамата с последующей реэкстракцией в водную фазу с помощью 10 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты по методике, описанной в п. 3.4 «обнаружение кадмия». К полученному реэкстракту добавляют 150-200 мл воды очищенной, 1 мл 20 % раствора лимонной кислоты, создают рН=8 и титруют 0,01 М раствором комплексона III в присутствии эриохрома черного ЕТ-00 до перехода красно-фиолетовой окраски в голубую. Этим методом кадмий определяется при содержании его в 100 г объекта в количестве от 1 до 100 мг и более.

Комплексометрический метод определения содержания ионов висмута

Из минерализата висмут выделяют в виде диэтилдитиокарбамата экстракцией хлороформом с последующей реэкстракцией в водную фазу встряхиванием с 5 мл 4 М раствора азотной кислоты по методике, описанной в подразделе 3.4 «обнаружение висмута».

В полученном реэкстракте устанавливают рН от 3 до 4 по универсальному индикатору и титруют 0,01 М раствором комплексона III до перехода синей окраски в желтую (индикатор - пирокатехиновый фиолетовый). Метод позволяет достоверно определять висмут при его содержании в 100 г объекта в количестве от 1 до 100 мг и более.

Фотоэлектроколориметрический метод определения содержания ионов висмута

Висмут из минерализата выделяют в виде диэтилдитиокарбамата в слой хлороформа, проводят реэкстракцию с помощью азотной кислоты в водную фазу. К реэкстракту добавляют избыток тиомочевины. Получают желтую окраску раствора. Оптическую плотность измеряют при 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет содержания висмута проводят по калибровочному графику. Висмут этим методом определяется в пределах от 0,1 до 1 мг в 100 г объекта.

Фотоколориметрический метод определения содержания ионов хрома

Метод основан на получении окрашенного соединения с дифенилкарбазидом. Отмеряют 1 мл минерализата и проводят окисление хрома (III) в хром (VI) по методике, описанной в разделе п. 3.4. Затем к полученному раствору добавляют 1 мл насыщенного однозамещенного фосфата натрия и устанавливают рН = 1,7 путем прибавления 10 % раствора гидроксида натрия и добавляют 1 мл 0,25 % раствора дифенилкарбазида в смеси спирта и ацетона (1:1).

Оптическую плотность определяют при 546 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм. Для расчета количества хрома в минерализате используют калибровочный график. Данным методом хром определяется в количестве от 0,1 до 20 мг в 100 г объекта.

Комплексонометрическое титрование ионов цинка

Цинк из минерализата выделяют в виде диэтилдитиокарбамата по методике, описанной в разделе качественное обнаружение цинка подраздел 3.4. Реэкстракцию в водную фазу проводят путем встряхивания хлороформного слоя,

содержащего диэтилдитиокарбамат цинка, с 10 мл 0,2 М раствора хлороводородной кислоты.

К полученному реэкстракту добавляют 1 мл 20 % раствора лимонной кислоты, 10 мл аммиачного буферного раствора и титруют 0,01 М раствором комплексона III в присутствии эриохрома черного ET-00 до перехода красно-фиолетовой окраски в голубую.

Средняя относительная погрешность комплексометрического определения катионов, выделенных из трупного материала, находится в пределах от 3,6 % до 13,1 % в зависимости от количества «металлического» яда в 100 г органа (печени или почек).

Комплексометрическим титрованием определяется от 1 до 100 мг цинка в 100 г объекта.

Фотоколориметрический метод определения содержания ионов ртути

Метод основан на получении окрашенного комплекса с дитизоном. Половину минерализата помещают в делительную воронку, добавляют 10 мл 10 % раствора сульфата гидроксиламина, 5 мл четыреххлористого углерода и 0,3 мл 0,01 % раствора очищенного дитизона до получения устойчивого изумрудно-зеленого окрашивания органической фазы. Затем производят в течение минуты энергичное встряхивание делительной воронки.

Слой органической фазы окрашивается в желтый или оранжевый цвет. Экстракцию повторяют несколько раз. Определяют величину светопоглощения экстракта при длине волны 485 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм по отношению к четыреххлористому углероду. Расчет содержания ртути в деструктате проводят по калибровочному графику.

По этой методике возможно определение 5 и более мг ртути в 100 г объекта [16, 46].

3.7 Лабораторная работа. Экстракционно–фотометрическое определение меди из минерализата диэтилдитиокарбаматом свинца

Реагенты и растворы:

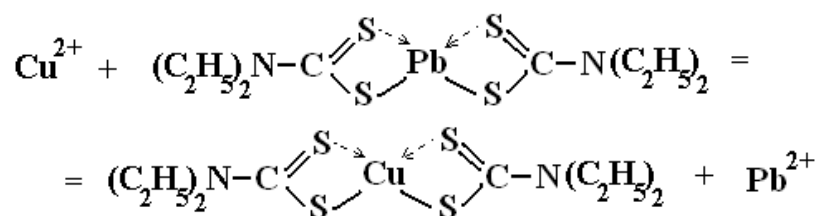
– стандартный раствор, содержащий 3 мкг/мл меди, готовят разбавлением стандартного раствора медного купороса с титром 0,15 мг/мл. Для этого отбирают аликвоту 1 мл стандартного раствора соли меди в мерную колбу объемом 0,05 л и доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают;

– раствор диэтилдитиокарбамата свинца в тетрахлориде углерода. Для приготовления раствора диэтилдитиокарбамата свинца в тетрахлориде углерода в делительную воронку вместимостью 500 мл помещают 50-100 мл дважды перегнанной воды, прибавляют 0,1 г ацетата свинца (х.ч.), перемешивают до растворения соли и вводят в раствор 0,1 г диэтилдитиокарбамата натрия. Образуется белый осадок диэтилдитиокарбамата свинца. В делительную воронку приливают 250 мл тетрахлорида углерода и взбалтывают. Осадок растворяется в тетрахлориде углерода. Водный слой отбрасывают, органический слой фильтруют, собирая его в мерную колбу вместимостью 500 мл. Разбавив полученный раствор тетрахлоридом углерода до метки, переносят его в склянку из темного стекла. В такой склянке реактив может сохраняться 3 месяца;

– растворы соляной кислоты концентрацией 5 - 6 моль/л, а также разбавленный (1:1).

Сущность метода

При взбалтывании раствора, содержащего ионы меди, с бесцветным раствором диэтилдитиокарбамата свинца $(C_2H_5)_2NCS_2)_2Pb$ в тетрахлориде углерода (или хлороформе) происходит замещение свинца медью и образовавшийся диэтилдитиокарбамат меди в слое органического растворителя окрашивает этот слой в желто-коричневый цвет.



Реакцию можно проводить в довольно кислой среде (рН от 1 до 1,5). В этих условиях в слой органического растворителя переходит только висмут, ртуть и серебро, но последние два элемента образуют с применяемым реагентом бесцветные соединения. Окраска соединения висмута становится заметной только при концентрации висмута, превышающей 3 мкг/л, что встречается редко. Если содержание висмута выше указанного, то следует взболтать полученный раствор диэтилдитиокарбаматов в органическом растворителе в течение 0,5 минут с 25 мл раствора соляной кислоты концентрацией 5 или 6 моль/л. Соединение висмута разрушится, и он перейдет в водный раствор, а соединение меди останется в органическом слое.

Построение градуировочного графика

Для приготовления серии стандартных растворов в делительные воронки объемом 100 мл наливают отмеренный объем стандартного раствора соли меди с концентрацией 3 мкг/мл (соответственно в первую воронку 0 мл (контрольный раствор), во вторую – 2 мл, в каждую следующую 4 мл; 6 мл; 8 мл), после чего прибавляют 50 мл дистиллированной воды. Затем добавляют 5 капель соляной кислоты (1:1) и 2 мл раствора диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде. Всё содержимое воронки энергично взбалтывают точно в течение двух минут, оставляют до разделения слоёв и сливают органический нижний слой в сухую кювету с толщиной слоя 3 мм, накрывают сверху крышкой и сразу фотометрируют (т.к. четыреххлористый углерод испаряется) при длине волны $\lambda = 440$ нм (синий светофильтр). В качестве раствора сравнения используют контрольный раствор.

Ход анализа

Помещают в делительную воронку определенный объем минерализата, содержащего ионы меди. Затем добавляют 5 капель соляной кислоты (1:1) и 2 мл

раствора диэтилдитиокарбамата свинца в четырёххлористом углероде. Всё содержимое воронки энергично взбалтывают точно в течение двух минут, оставляют до разделения слоёв и, после сливают органический нижний слой в кювету с толщиной слоя 3 мм, накрывают сверху крышкой и сразу фотометрируют относительно контрольного раствора при длине волны $\lambda = 440$ нм.

Содержание меди в минерализате рассчитывают, вычитая из результата анализа исследуемой пробы результат контрольного опыта, проведённого параллельно через все аналитические операции, т.е. концентрирования и последующего определения [19, 47].

3.8 Лабораторная работа. Экстракционно-фотометрическое определение ионов кадмия

Реагенты и растворы:

– 0,01 %-ный раствор дитизона в четырёххлористом углероде. Для его приготовления растворяют 50 мг реагента в 100 мл растворителя - четырёххлористого углерода. Отфильтровывают раствор через бумажный фильтр в делительную воронку ёмкостью 500 мл. Реэкстрагируют 100 мл разбавленного раствора аммиака (1:50). Коричневый слой четырёххлористого углерода, содержащий дифенилтиокарбодиазон (продукт окисления дитизона), отбрасывают, а оранжевый аммиачный раствор дитизона подкисляют 1 н. соляной кислотой и встряхивают с 200 мл четырёххлористого углерода до обесцвечивания водного раствора. Полученный зелёный раствор дитизона в четырёххлористом углероде разбавляют растворителем до 500 мл и хранят в склянке из темного стекла под слоем 2 н. серной кислоты. Рабочие растворы (например, 0,002 %) получают по мере необходимости путём разбавления основного 0,01 %-ного раствора (порции отбирают пипеткой);

– стандартный раствор кадмия, 1 мг/мл Cd. В мерную колбу ёмкостью 1 л добавляют около 50 мл дистиллированной воды, 2 мл конц. HCl и вносят

1,6310 г хлорида кадмия, высушенного при 110 °С. Раствор перемешивают и доливают водой до метки. Рабочие растворы получают разбавлением основного раствора водой;

– тартрат калия-натрия (сегнетова соль), 20 %-ный раствор. Соль очищают раствором аммиака при pH = 8,5, встряхивая смесь в делительной воронке с небольшими порциями дитизона в четыреххлористом углероде до тех пор, пока слой четыреххлористого углерода не перестанет окрашиваться в розовый цвет. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде;

- диметилглиоксим, 1 %-ный раствор в этиловом спирте;
- NaOH, 40 %-ный раствор. Хранят в полиэтиленовой посуде;
- четыреххлористый углерод.

Сущность метода

Из известных в настоящее время методов наиболее чувствительным и селективным является экстракционно-фотометрический метод определения кадмия с использованием дитизона.

При реакции ионов кадмия с дитизоном в растворе, начиная от нейтрального до сильно щелочного, образуется розовый первичный дитизонат кадмия $Cd(HDz)_2$, который довольно плохо растворим в четыреххлористом углероде и хорошо растворим в хлороформе. Устойчивость первичного дитизоната кадмия в сильно щелочной среде (20 % NaOH) позволяет экстракционным методом отделять кадмий от свинца, висмута, олова (II) и цинка, дитизонаты которых не могут существовать в таких условиях. Для маскирования ионов никеля и кобальта добавляют немного диметилглиоксима. Присутствие тартратов препятствует выделению металлов в виде гидроксидов. Благородные металлы (Au, Pt, Pd, Ag, Hg) и медь образуют с дитизоном в щелочной среде вторичные дитизонаты. Перед экстракцией кадмия их удаляют экстракцией дитизоном из кислой среды. Фотометрический метод определения кадмия с дитизоном относится к высокочувствительным методам. Молярный коэффициент поглощения при $\lambda_{\text{макс.}} = 520$ нм равен $8,8 \cdot 10^4$.

При определении кадмия с помощью дитизона используют исключительно одноцветный метод, так как при экстракции кадмия из сильно кислых водных растворов избыток дитизона полностью переходит в водный слой. Если кадмий извлечён количественно, последняя порция органического экстракта после проведения экстракции остаётся бесцветной.

При слишком высокой концентрации цианидов кадмий не извлекается. Если концентрация цианидов невелика, то при соответствующем избытке дитизона присутствие их не мешает экстракции кадмия, но препятствует экстракции большинства других металлов, которые в щелочной среде могут полностью или частично экстрагироваться вместе с кадмием. Это особенно касается цинка и свинца, если они содержатся в образце в значительном избытке по отношению к кадмию.

Дитизонат кадмия, а также цинка легко разлагается разбавленной соляной кислотой ($\text{pH} = 2$), тогда как дитизонаты никеля и кобальта остаются неизменными. Это применяется для отделения кадмия и цинка от никеля и кобальта. Кадмий и цинк можно разделить, используя различную устойчивость их дитизонатов к действию щелочей.

Чтобы избежать окисления дитизона кислородом при экстракции из щелочных растворов (особенно в присутствии марганца), в водный раствор рекомендуют добавлять немного гидроксиламина.

С применением дитизона кадмий определяют в цинковых концентратах, сульфиде цинка, свинце, олове, серебре, боре, алюминии, хrome и его сплавах, бериллии, ванадии, висмуте, природных и сточных водах, биологических материалах и пищевых продуктах.

Ход анализа

Анализируемый раствор, содержащий не более 40 мкг кадмия, подкисляют соляной кислотой до $\text{pH} = 2$ и встряхивают с несколькими порциями раствора дитизона в четыреххлористом углероде до тех пор, пока окраска слоя растворителя перестанет изменяться. После этого органический слой сливают, а к водному раствору добавляют раствор тартрата (1 мл 20 %-ного раствора

тартрата соответствует 7 мг никеля и кобальта в растворе), 0,5 мл раствора диметилглиоксима и аммиак до нейтральной реакции. Через 1 мин приливают 1 мл раствора гидроксиламина и раствор щелочи в таком количестве, чтобы его концентрация в анализируемом растворе была не ниже 5 %. Кадмий экстрагируют несколькими порциями раствора дитизона в четыреххлористом углероде (1 мл 0,002 %-ного раствора дитизона соответствует 4,4 мкг кадмия).

Экстракцию ведут до тех пор, пока в слое четыреххлористого углерода еще появляется розовое окрашивание $[Cd(HDz)_2]$. Объединенные экстракты промывают 0,5 %-ным раствором щелочи и водой. Розовый раствор переносят в мерную колбу емкостью 50 мл или меньше в зависимости от количества кадмия, доливают до метки растворителем и фотометрируют при 520 нм (зелёный светофильтр), используя четыреххлористый углерод в качестве раствора сравнения [19].

Контрольные вопросы

- 1 Сущность процесса минерализации. Общие и частные методы минерализации, их достоинства и недостатки.
- 2 Подготовка минерализата к исследованию. Необходимость проведения денитрации. Способы денитрации.
- 3 Исследование минерализата на ионы бария, свинца, марганца, хрома, серебра, меди, цинка, висмута, кадмия, таллия, мышьяка, сурьмы.
- 4 Токсикологическое значение веществ, изолируемых минерализацией.
- 5 Всасывание, превращение в организме, распределение и выделение металлов и их соединений.
- 6 Методы количественного определения «металлических ядов».
- 7 Органические реагенты, применяемые в количественном анализе «металлических ядов».

4 Вещества изолируемые экстракцией с водой

4.1 Общая характеристика

К группе веществ, которые изолируются из различных объектов настаиванием их с водой, относятся минеральные кислоты, щелочи и соли некоторых минеральных кислот.

Минеральные кислоты и щелочи широко применяются в народном хозяйстве и легко доступны. Известны случаи умышленных отравлений и самоотравлений кислотами, преступного вредительства, обливания серной кислотой. Кислоты также могут вызвать профессиональные отравления. Пары кислоты серной содержатся в воздухе помещений, где её производят, а газообразный серный ангидрид с влагой воздуха образует серную кислоту. Кислота азотная имеет значение профессионального яда вследствие образования окислов азота при её изготовлении, а также вследствие широкого применения для растворения и травления металлов. Пары хлористого водорода в воздухе рабочих помещений могут вызвать отравление.

Смертельная доза при приёме внутрь концентрированной серной кислоты составляет 5 г, концентрированной азотной кислоты 8 г, соляной кислоты 15 г.

При острых отравлениях кислотами, принятыми внутрь, наблюдается жжение и сильная боль во рту, глотке, пищеводе, желудке, рвота, иногда с примесью крови. Рвотные массы могут иметь цвет кофе вследствие превращения гемоглобина в гематин и могут содержать пленки слизистой оболочки пищевода или желудка. Возможен ожог кожи лица. Слизистая оболочка рта, зева, глотки обычно ярко-красная, отечная, с сероватыми или желтоватыми пленками омертвевшей ткани, местами кровоточит. Может развиваться болевой шок. Смерть при отравлении кислотами может наступить в первые дни от шока или перфорации желудка, а позднее - от различных осложнений (сужение пищевода или желудка и последствия этого сужения).

Патологоанатомическая картина при отравлении минеральными кислотами сходна. Наиболее глубокие изменения вызывает серная кислота. На месте действия кислоты наблюдается воспаление, ожог или омертвление. Струп окрашен в бурый (при серной кислоте) или желтый (при азотной кислоте) цвет. Возникают рубцы, а также наблюдаются изменения в почках, печени, поджелудочной железе.

Токсикологический интерес представляют азотная кислота, и ее соли - нитраты натрия, аммония и калия. В организме нитраты восстанавливаются в более ядовитые нитриты. Отравления "нитратами" могут иметь место в результате смешения их с другими солями.

При широком распространении нитратов нахождение их может иметь значение лишь при больших количествах.

На первом месте по частоте отравлений среди щелочей стоит гидроксид натрия (каустическая сода). Довольно часто наблюдаются случаи отравлений и самоотравлений водным раствором аммиака (нашатырный спирт) и при вдыхании, газообразного аммиака в воздухе рабочих помещений.

Химико-токсикологическое исследование соответствующих объектов на наличие минеральных кислот, щелочей и некоторых их солей проводится тогда, когда материалы дела указывают на возможность отравления этими веществами, а также в случае положительных результатов предварительных проб на кислоты, щелочи и другие соединения в исследуемых объектах.

В случае перехода кислот в соли, а щелочей в углекислые соли их обнаружение невозможно, так как эти соединения являются составными частями организма.

Для исследования на наличие минеральных кислот и щелочей берут желудок с содержимым, остатки пищи, рвотные массы, кусочки одежды и другие объекты. При исследовании биологического материала на наличие солей берут те же объекты и печень.

4.2 Химико-токсикологический анализ на минеральные кислоты, щелочи и их соли

4.2.1 Предварительные исследования

Внешний вид объектов исследования может указывать на отравление той или иной кислотой.

При отравлении концентрированной серной кислотой происходит сильное повреждение тканей губ, языка, пищевода, желудка, одежды. Характерным признаком концентрированной кислоты серной является обугливание углеводов.

Концентрированная кислота азотная поражает ткани языка, пищевода, слизистой желудка. Кожа лица становится желтушной. Если концентрация кислоты азотной менее 20 % жёлтой окраски может не быть. Свободная азотная кислота при достаточной концентрации фиксируется на белковых объектах, окрашивая их в жёлтый цвет, переходящий от аммиака в оранжевый (ксантопротеиновая реакция).

Открытие иона хлора осуществляют по положительной реакции с нитратом серебра (обильное выпадение белого осадка). Для доказательства наличия свободной соляной кислоты необходимо провести дополнительное испытание на свободную соляную кислоту.

Реакция среды исследуемых жидкостей может дать ясные указания на отравление тем или иным веществом.

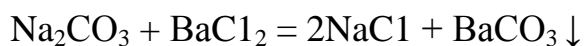
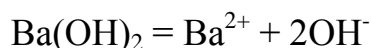
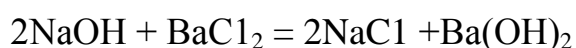
Для доказательства минеральных кислот используют кислотно-основные индикаторы. Кислая реакция среды может обуславливаться наличием свободных кислот, кислых солей сильных кислот и солей тяжёлых металлов.

Кислая реакция содержимого желудка уже исключает возможность открытия введённых в организм щелочей. Содержимое желудка и ткани внутренностей имеют кислую реакцию среды не вследствие их первоначальной кислотности (соляная кислота желудочного сока уже не открывается в трупе), а как результат кислотного брожения, вызываемого бактериями. С переменой бактериальной флоры начинается щелочное брожение, образуются аммиак и

сероводород, содержащее в желудке приобретает щелочную реакцию среды. При этом часто успевают нейтрализоваться до исследования даже введенные внутрь кислоты, что делает невозможным их открытие.

Ярко выраженная кислая реакция среды не является окончательным доказательством присутствия минеральных кислот.

Щелочная реакция на лакмус может обуславливаться наличием едких щелочей и их углекислых солей. Для их отличия используют фенолфталеин. Несколько капель испытуемой жидкости смешивают с одной - двумя каплями спиртового раствора фенолфталеина и взбалтывают с избытком хлорида бария. Если присутствует щёлочь, розовая окраска фенолфталеина не исчезает, а присутствие углекислых солей приводит к обесцвечиванию раствора.



4.2.2 Изолирование минеральных кислот, щелочей и солей

Изолирование минеральных кислот, щелочей и солей из биологического материала. Подлежащие исследованию объекты измельчают и прибавляют к ним дистиллированную воду до получения кашицеобразной массы, которую оставляют на 2 часа, а затем фильтруют. Вместо фильтрования можно применять центрифугирование.

Для более полного освобождения вытяжек из биологического материала от белковых веществ и некоторых других примесей применяют метод диализа.

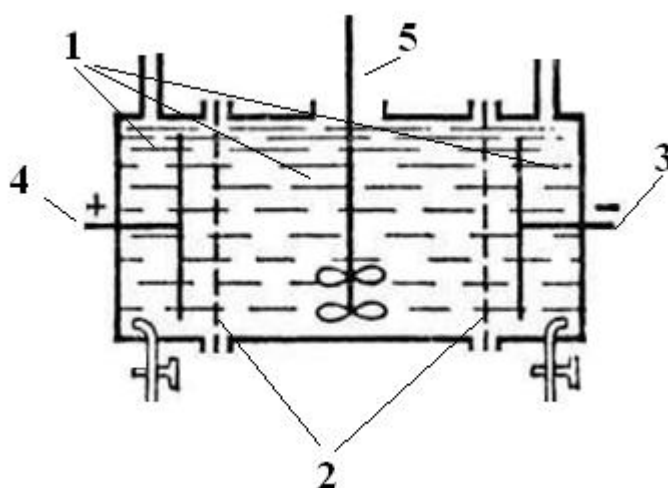
Диализ (от греч. *diálysis* — разложение, отделение), удаление из коллоидных систем и растворов высокомолекулярных соединений примесей низкомолекулярных веществ с помощью полупроницаемых мембран, т. е.

перегородок, которые пропускают малые молекулы и ионы, но задерживают коллоидные частицы и макромолекулы [21].

Простейшее устройство для диализа – диализатор, мешочек или гильза из полупроницаемого материала, который заполняют очищаемой (диализуемой) жидкостью и погружают в растворитель (дисперсионную среду). Вместо мешочка часто используют цилиндрический сосуд с полупроницаемой мембраной вместо дна. Мембраны делают из коллодия, целлофана, животных и растительных перепонки, синтетических материалов и др.

В основе диализа лежат процессы диффузии, и поэтому он идёт очень медленно. Диализ ускоряется с увеличением отношения площади мембран к объёму диализуемой жидкости, с повышением температуры, перемешиванием, созданием разницы в давлениях по разные стороны мембраны, частой или непрерывной сменой растворителя, в который переходят (диффундируют) через мембрану ионы или молекулы низкомолекулярного вещества.

Часто применяют диализ в электрическом поле — электродиализ, который в десятки раз ускоряет очистку диализуемых систем от электролитов. Простой электродиализатор (рисунок 4.1) состоит из трёх камер, отделённых одна от другой мембранами.



1 – камеры; 2 – полупроницаемые мембраны; 3 – катод; 4 – анод; 5 – мешалка.

Рисунок 4.1 – Электродиализатор

В среднюю камеру заливают очищаемую жидкость, в боковых проточных камерах расположены электроды, погруженные в растворитель. Ионы в постоянном электрическом поле направлены перемещаются к соответствующим электродам, проникая при этом сквозь мембраны из средней камеры в боковые [22].

Для осуществления диализа, полученные водные вытяжки 2 или 3 раза подвергают диализу (по 4 или 6 часов). Диализаты соединяют и упаривают на водяной бане до небольшого объема (по 5 или 10 мл). Упаренные диализаты исследуют на наличие кислот, щелочей и солей.

При исследовании одежды и некоторых других объектов на наличие кислот, щелочей и солей могут быть использованы водные вытяжки, которые не подвергались диализу.

4.2.3 Обнаружение минеральных кислот

Обнаружение сульфат-ионов, хлорид-ионов и ионов других кислот в вытяжках (диализатах) еще не является доказательством отравлений серной, соляной или другой кислотой. Это объясняется тем, что анионы указанных кислот могут быть в организме как составная часть органов и тканей.

Для доказательства отравлений минеральными кислотами необходимо отогнать их из диализатов. При этом отгоняются только свободные кислоты. Соли этих кислот, поступившие в вытяжки из исследуемых, объектов, не перегоняются. Учитывая то, что серная и азотная кислоты перегоняются при относительно высокой температуре, вначале эти кислоты переводят в более летучие соединения, которые в процессе перегонки легко переходят в дистилляты.

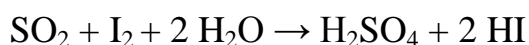
Свободная соляная кислота в небольших количествах содержится в желудочном соке, а ее соли - в тканях организма. Соляная кислота может перегоняться из диализатов в тех случаях, когда отравление произошло не

соляной, а серной кислотой, которая при взаимодействии с хлоридами, содержащимися в биологическом материале, дает соляную кислоту.

Поэтому перед выполнением реакций на соляную кислоту определяют наличие серной кислоты в диализатах.

Отгонка серной кислоты

К диализатам прибавляют медные опилки и нагревают. При этом образуется оксид серы (IV), который отгоняют и собирают в приемник, содержащий раствор йода. При взаимодействии ангидрида сернистой кислоты с водой и йодом образуется серная кислота:

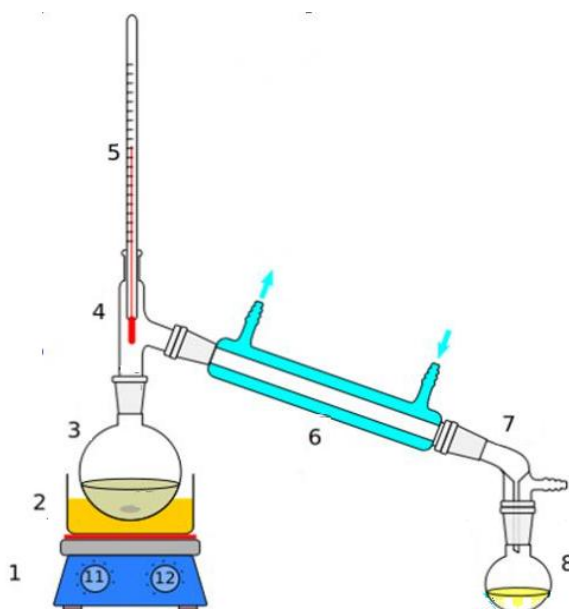


В круглодонную колбу (рисунок 4.2) помещают диализат, медные опилки и кусочки битого фарфора для равномерного кипения жидкости, в колбу-приемник наливают раствор йода. Колбу с пробой устанавливают на масляную или песочную баню и нагревают.

Если во время перегонки происходит быстрое обесцвечивание йода, то его раствор небольшими порциями дополнительно вносят в приемник.

После окончания отгонки серной кислоты в приемник прибавляют 2 или 3 мл разбавленной соляной кислоты и нагревают жидкость до полного исчезновения йода, не вступившего в реакцию с ангидридом сернистой кислоты. Освобожденный от йода дистиллят используют для обнаружения в нем серной кислоты.

Для обнаружения серной кислоты в дистилляте применяют реакции с хлоридом бария, ацетатом свинца и родизонатом натрия.

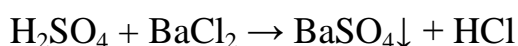


1 – плитка; 2 – песочная баня; 3 – круглодонная колба; 4 – насадка Вюрца; 5 – термометр; 6 – прямой холодильник Либиха; 7 – аллонж; 8- колба-приемник.

Рисунок 4.2 – Прибор для отгонки серной кислоты

Реакция с хлоридом бария

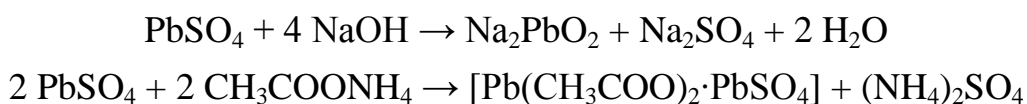
К 5 каплям дистиллята прибавляют 2 капли 5 %-го раствора хлорида бария.



Появление белого осадка сульфата бария указывает на наличие серной кислоты в дистилляте. Образовавшийся осадок не растворяется в азотной и соляной кислотах, а также в щелочах.

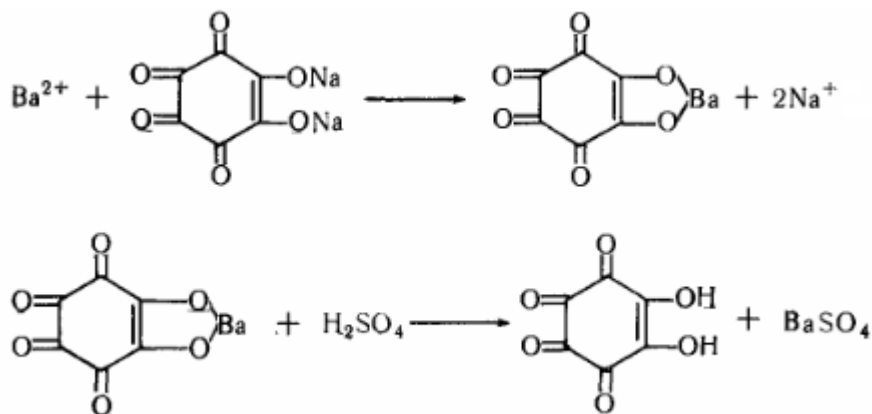
Реакция с ацетатом свинца

К нескольким каплям дистиллята прибавляют 2 капли 3 %-го раствора ацетата свинца. При наличии серной кислоты выпадает белый осадок сульфата свинца, который не растворяется в азотной кислоте, но растворяется в едких щелочах и в растворе ацетата аммония при нагревании:



Реакция с родизонатом натрия

Родизонат натрия с солями бария образует родизонат бария, имеющий красную окраску. От прибавления серной кислоты или сульфатов к родизонату бария он разлагается. При этом образуется осадок сульфата бария и исчезает красная окраска родизоната:



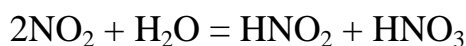
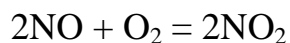
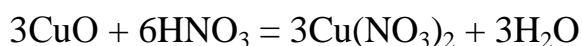
На фильтровальную бумагу наносят каплю 1 %-го раствора хлорида бария и каплю свежеприготовленного 0,2 %-го раствора родизоната натрия. При этом на бумаге пятно приобретает красную окраску. На это пятно наносят 1-2 капли дистиллята. В присутствии серной кислоты окраска пятна исчезает.

Эта реакция является специфичной на сульфаты и серную кислоту.

Отгонка азотной кислоты

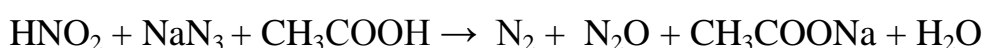
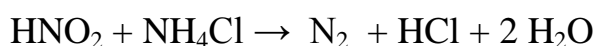
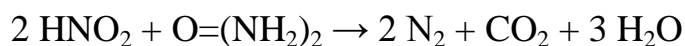
Для отгонки азотной кислоты из диализата используют простую перегонку (рисунок 4.2). Азотная кислота сразу не перегоняется из разбавленных растворов. Вначале отгоняется вода, а под конец отгоняется и азотная кислота. Поэтому диализаты, содержащие азотную кислоту, отгоняют почти досуха. Прибавление медных опилок к диализатам способствует перегонке азотной кислоты. При взаимодействии азотной кислоты с медными опилками образуется оксид азота (II), который кислородом воздуха окисляется до оксида азота (IV).

Оксид азота (IV) в приемнике реагирует с водой. В результате этого образуется смесь азотной и азотистой кислот:



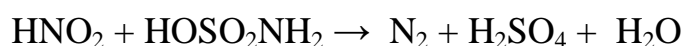
Азотную кислоту, образовавшуюся в приемнике, определяют при помощи качественных реакций с дифениламином и бруцином. Эти реакции дает и азотистая кислота. Поэтому перед выполнением реакций на азотную кислоту исследуемый раствор проверяют на наличие азотистой кислоты и ее солей. При наличии азотистой кислоты ее удаляют из раствора, а затем выполняют реакции на азотную кислоту.

Для удаления азотистой кислоты из растворов предложено несколько способов, которые основаны на разложении этой кислоты мочевиной $\text{O}=\text{C}(\text{NH}_2)_2$, сульфаминовой (амидосульфоновой) кислотой HOSO_2NH_2 , солями аммония, азидом натрия NaN_3 и др. При всех этих реакциях происходит разложение азотистой кислоты с выделением азота:



Для разложения азотистой кислоты удобен способ, основанный на реакции с сульфаминовой кислотой.

Выполнение реакции. К 2 каплям дистиллята прибавляют 0,5 мл 2 н. раствора уксусной кислоты и несколько кристалликов сульфаминовой кислоты. При наличии азотистой кислоты в растворе сразу же или через несколько минут происходит бурное выделение азота.



Когда выделение азота закончится, прибавляют еще 2 кристаллика сульфаминовой кислоты. Прекращение выделения газа свидетельствует о полном разложении азотистой кислоты.

В полученном растворе, не содержащем азотистой кислоты, открывают азотную кислоту при помощи описанных ниже реакций.

Реакция с дифениламином

Дифениламин окисляется азотной кислотой, при этом вначале образуется бесцветный дифенилбензидин, который при дальнейшем окислении превращается в соединение, имеющее синюю окраску (п. 3.5).

На тщательно вымытое, а затем высушенное часовое стекло или капельную пластинку наносят 5 капель 1 %-го раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте и прибавляют каплю дистиллята. При наличии азотной кислоты появляется синяя окраска. Кроме азотной кислоты эту реакцию дают нитраты, нитриты, хроматы и некоторые другие окислители.

Реакция с бруцином

На часовое стекло или капельную пластинку наносят несколько капель дистиллята и прибавляют 3 капли 0,02 %-го свежеприготовленного раствора бруцина в концентрированной серной кислоте. При наличии азотной кислоты в исследуемом растворе появляется красная окраска. Такую же окраску с бруцином дают нитриты, перхлораты и некоторые другие окислители.

Окрашивание шерсти.

Концентрированная азотная кислота окрашивает белые шерстяные нитки в желтый цвет. От прибавления аммиака желтая окраска ниток переходит в оранжевую.

Отгонка соляной кислоты

Диализат проверяют на наличие соляной кислоты при помощи реакции с нитратом серебра. При положительной реакции с нитратом серебра (образование белого осадка хлорида серебра) соляную кислоту отгоняют из диализата методом простой перегонки. При этом отгоняется свободная соляная кислота, а ее соли остаются в растворе.

Из сильно разбавленных растворов соляная кислота не перегоняется. Вначале отгоняется вода, а когда концентрация соляной кислоты увеличится примерно до 10 %, тогда начинает перегоняться и соляная кислота. Поэтому исследуемый диализат, содержащий соляную кислоту, отгоняют почти досуха.

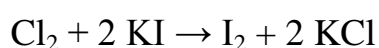
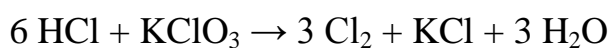
Соляная кислота может перегоняться из диализатов и в тех случаях, когда отравление произошло не соляной, а серной кислотой, которая при взаимодействии с хлоридами, содержащимися в биологическом материале, дает соляную кислоту. Поэтому перед выполнением реакций на соляную кислоту определяют наличие серной кислоты в диализатах. При отсутствии серной кислоты в диализатах их исследуют на наличие соляной кислоты.

Реакция с нитратом серебра

К 2 мл дистиллята прибавляют 2 капли 1 %-го раствора нитрата серебра и 1 мл разбавленной азотной кислоты. Появление белого осадка хлорида серебра, растворимого в аммиаке, указывает на наличие соляной кислоты в дистилляте.

Реакция с хлоратом калия

К 1 мл дистиллята прибавляют несколько кристалликов хлората калия и нагревают. При наличии соляной кислоты в дистилляте выделяется свободный хлор, который можно обнаружить по посинению йод-крахмальной бумаги:



4.2.3 Обнаружение щелочей

При отравлении щелочами водные вытяжки из биологического материала или диализаты имеют ярко выраженную щелочную реакцию среды.

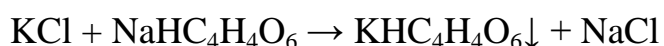
Обнаружение ионов калия

Для обнаружения ионов калия в диализатах применяют реакции с гидротартратом натрия и с кобальтинитритом натрия. Эти реактивы в нейтральных или слабокислых растворах с ионами калия дают осадки.

Поскольку оба реактива с ионами калия дают осадки в нейтральной или слабокислой среде, диализаты, имеющие щелочную реакцию, нейтрализуют или доводят до слабокислой реакции (рН от 3 до 4) раствором уксусной кислоты. После этого приступают к обнаружению ионов калия в диализатах.

Реакция с гидротартратом натрия

Гидротартрат натрия в нейтральных или уксуснокислых растворах с ионами калия дает белый кристаллический осадок.

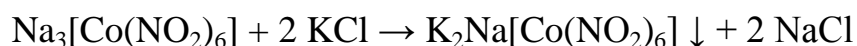


В маленькую пробирку вносят 3-5 капель исследуемого диализата, прибавляют 4 капли 1 н. раствора гидротартрата натрия или такой же объем смеси равных количеств 2 н. раствора винной кислоты и 2 н. раствора ацетата натрия. Стенки пробирки осторожно потирают стеклянной палочкой. В присутствии ионов калия выпадает белый кристаллический осадок. Этот осадок растворяется в горячей воде, минеральных кислотах и щелочах. Реакции мешают ионы аммония, которые с гидротартратом натрия тоже дают осадок.

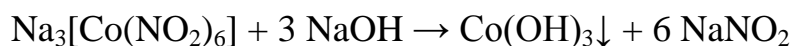
Реакция с кобальтинитритом натрия

Кобальтинитрит натрия из нейтральных или слабокислых растворов осаждает ионы калия в виде.

5 капель исследуемого диализата вносят в маленькую пробирку и прибавляют 3 капли раствора кобальтинитрита натрия. Выпадение желтого осадка указывает на наличие ионов калия в диализате.



В сильнокислой среде происходит разложение реактива с образованием нестойкой кислоты $\text{H}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$, а в щелочной среде при разложении реактива образуется осадок гидроксида кобальта (III).



Потирание стенок пробирки стеклянной палочкой ускоряет выпадение осадка. Реактив должен быть свежеприготовленным.

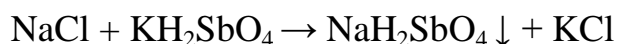
Реакции мешают ионы аммония, иодиды и некоторые восстановители [18].

Обнаружение ионов натрия

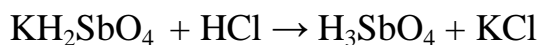
Наличие ионов натрия в диализатах определяют при помощи реакций с гидроксотибиатом калия (антимонатом калия) и с цинкуранилацетатом.

Реакция с дигидроантимонатом калия

Дигидроантимонат калия ($\text{KSbO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, KH_2SbO_4 , $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$) в нейтральной или слабощелочной среде с ионами натрия дает белый кристаллический осадок.



Осадок дигидроантимоната натрия растворяется в горячей воде и в щелочах. В кислой среде происходит разложение реактива с образованием аморфного осадка метасурьмяной кислоты.



Выпадение осадка метасурьмяной кислоты может привести к ошибочному заключению, так как осадок HSbO_3 можно принять за осадок NaH_2SbO_4 .

Поэтому реакция с дигидроантимонатом калия на ионы натрия должна выполняться в нейтральной среде. Щелочные растворы нейтрализуют уксусной кислотой [18].

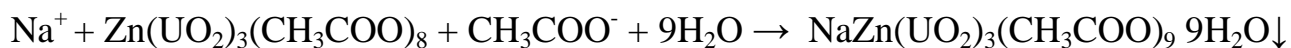
Поэтому к 5 каплям диализата, нейтрализованного уксусной кислотой, прибавляют 3 капли раствора гидроксотибиата калия. Стенки пробирки протирают стеклянной палочкой. Выпадение белого кристаллического осадка указывает на наличие ионов натрия в вытяжке.

При малой концентрации ионов натрия осадок может появиться только через некоторое время. Поэтому растворы, содержащие малые количества ионов натрия, предварительно концентрируют упариванием. Реакции мешают ионы аммония, магния, лития и др.

Реакция с цинк-уранилацетатом

Уранилацетат $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$ в нейтральных или уксуснокислых растворах с солями натрия дает зеленовато-желтый кристаллический осадок $\text{NaUO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_3$.

Чувствительность этой реакции повышается в присутствии ионов цинка или магния. Поэтому в качестве реактива на ионы натрия применяют раствор цинк-уранилацетата $\text{Zn}(\text{UO}_2)_3(\text{CH}_3\text{COO})_8$. Этот реактив с ионами натрия образует кристаллический осадок.



Реакцию на ионы натрия можно выполнять в пробирке и на предметном стекле. Для выполнения этой реакции применяют диализат, нейтрализованный уксусной кислотой.

1 Несколько капель диализата вносят в пробирку, прибавляют 10 капель раствора цинк-уранилацетата. Появление зеленовато-желтого осадка указывает на наличие ионов натрия в диализате.

2 На предметное стекло наносят каплю диализата, который выпаривают досуха. После охлаждения стекла рядом с сухим остатком наносят 2 капли раствора цинк-уранилацетата. Концом заостренной стеклянной палочки реактив надвигают на сухой остаток. При наличии ионов натрия образуются светло-желтые или зеленовато-желтые кристаллы, имеющие форму тетраэдров или октаэдров (рисунок 4.3) [23].

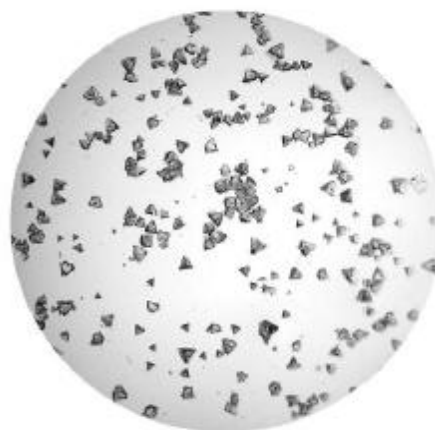
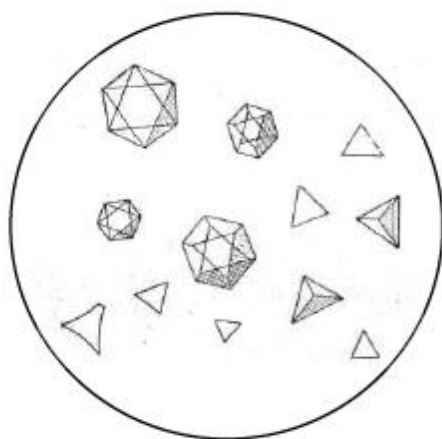


Рисунок 4.3 - Кристаллы натрийцинкуранилацетата $\text{NaZn}(\text{UO}_2)_3(\text{CH}_3\text{COO})_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$

Ионы аммония и калия мешают этой реакции тогда, когда их концентрация в 20 раз больше концентрации ионов натрия. Этой реакции также мешают арсенаты и фосфаты, которые разлагают реактив и дают фосфат или арсенат цинка.

Обнаружение аммиака

Однако обнаружение аммиака в биологическом материале не всегда позволяет сделать вывод об отравлении этим препаратом. Это объясняется тем, что при гниении органов трупов и других объектов биологического происхождения всегда образуются определенные количества аммиака. Кроме аммиака при гниении биологического материала образуется сероводород и ряд других веществ.

Поэтому прежде чем приступить к исследованию водных вытяжек из биологического материала или диализатов на наличие аммиака, химик-эксперт должен проверить эти жидкости на присутствие сероводорода как одного из продуктов гниения белковых веществ. Обнаружение сероводорода в вытяжках из биологического материала указывает на протекание процессов гниения исследуемых объектов, в результате чего образуется как сероводород, так и аммиак. Поэтому при наличии сероводорода в биологическом материале эти объекты на присутствие аммиака не исследуют. На присутствие аммиака подвергают анализу только те органы трупов, которые не подверглись гнилостным изменениям и не содержат сероводорода.

Обнаружение сероводорода: 5 мл вытяжки из биологического материала или диализата вносят в колбу вместимостью 50 мл, в которую прибавляют 10 % раствор соляной кислоты до кислой реакции среды. Колбу сразу же закрывают пробкой, в прорезы на нижней поверхности которой вставлена полоска фильтровальной бумаги, смоченная раствором ацетата свинца. При наличии сероводорода образуется сульфид свинца, в результате чего бумага чернеет.

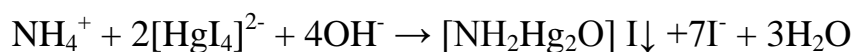
Реакция с сульфатом меди

В колбу вместимостью 50 мл вносят 15 мл водной вытяжки из биологического материала или диализата. Колбу закрывают пробкой, на нижней

поверхности которой в прорезы вставляют две индикаторные бумажки (влажная универсальная индикаторная бумага и бумажка, смоченная раствором сульфата меди). Посинение лакмусовой бумажки и бумажки, смоченной раствором сульфата меди (образуется $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4$), указывает на наличие аммиака в вытяжке из биологического материала. Нагревание на водяной бане ускоряет изменение окраски индикаторных бумажек.

Реакция с реактивом Несслера

Реактив Несслера (раствор $\text{K}_2[\text{HgI}_4]$ в KOH) в присутствии катионов аммония образует характерный красно-бурый осадок:



В пробирку вносят 1-2 капли исследуемой вытяжки или диализата, прибавляют 5 капель воды и 4 капли реактива Несслера. В присутствии аммиака выпадает желто-бурый или оранжево-коричневый осадок. Реакции мешают ионы железа (III) и другие ионы, которые со щелочами дают осадки, а также ионы ртути (II), сурьмы (III), олова (II), которые реагируют с ионами йода и разрушают реактив Несслера.

4.2.3 Обнаружение нитритов и нитратов

Из щелочных солей наибольшее токсикологическое значение имеют соли азотистой кислоты (нитриты) и хлораты. Некоторое токсикологическое значение имеют соли щавелевой и борной кислот. Водное извлечение подвергают исследованию на наличие солей обычно при соответствующих указаниях в материалах дела

Обнаружение нитритов

Для выделения нитритов из биологического материала применяют метод настаивания исследуемых объектов с водой, который используется для выделения минеральных кислот и щелочей. Водные вытяжки, полученные при настаивании биологического материала с водой, фильтруют. Полученные фильтраты подвергают диализу. Диализаты доводят до нейтральной реакции, а

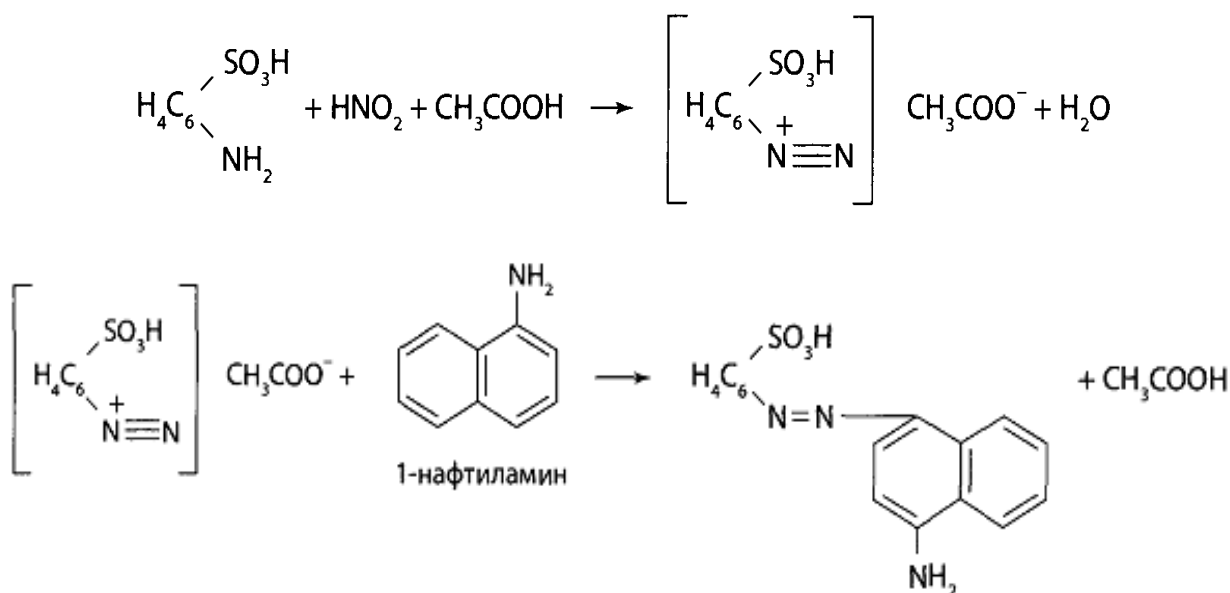
затем определяют наличие нитритов при помощи реакций с сульфаниловой кислотой и с реактивом Грисса.

Реакция с сульфаниловой кислотой и β-нафтолом

На предметное стекло помещают 2 капли предварительно нейтрализованного диализата, прибавляют 3 капли 0,5 % раствора сульфаниловой кислоты в 2 % растворе хлороводородной кислоты. Через 5 минут к смеси прибавляют 1 каплю щелочного раствора β-нафтола – появляется интенсивная оранжево-красная окраска.

Реакция с реактивом Грисса (смесь сульфаниловой кислоты и 1-нафтиламина)

В углубление предметного стекла вносят несколько капель нейтрализованного уксусной кислотой диализата и прибавляют 4 капли реактива Грисса (приложение Б). Через несколько минут появляется интенсивная красная окраска.



В углубление на капельной пластинке или в маленькую пробирку вносят несколько капель нейтрализованного диализата, а затем прибавляют 3-4 капли реактива Грисса. При наличии нитритов в водной вытяжке сразу или спустя

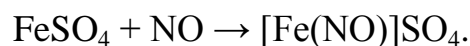
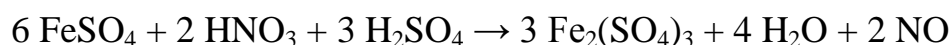
некоторое время появляется интенсивная красная окраска. Интенсивность окраски зависит от количества нитритов в пробе [16].

Обнаружение нитратов

Перед обнаружением в диализате нитратов нитриты должны быть удалены с помощью азиды натрия или сульфаминовой кислоты. После чего проводят качественные реакции с дифениламином в серной кислоте с получением синего окрашивания (п. 3.5) и с сульфатом железа (II).

Реакция с сульфатом железа (II)

В пробирку помещают часть исследуемого раствора (обычно 2 капли) и кристаллик сульфата железа (II). Затем по стенке пробирки медленно приливают каплю концентрированной серной кислоты. На месте соприкосновения двух жидкостей появляется бурое кольцо. Нитраты восстанавливаются до оксида азота (II), который с избытком сульфата железа (II) образует раствор бурого цвета.



4.2.4 Количественное определение

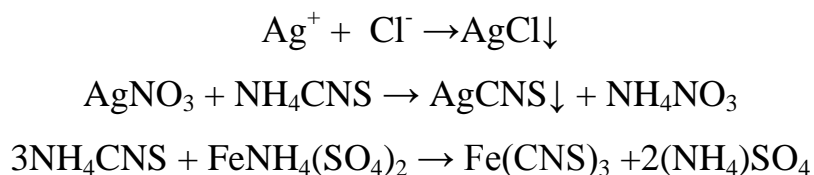
Количественное определение серной и азотной кислот проводят методом титрования. Для этого определенный объем диализата или отгона титруют 0,1 М раствором гидроксида натрия в присутствии индикатора фенолфталеина (для азотной) и метилового оранжевого (для серной кислоты).

Количественное определение соляной кислоты проводят по методу Фольгарда:

К определенному объему диализата прибавляют полуторный или двойной избыток 0,1 М титрованного раствора нитрата серебра, 10-20 капель индикатора (железоаммониевые квасцы) и оттитровывают избыток нитрата

серебра раствором роданида аммония до буровато-оранжевого окрашивания раствора над осадком, устойчивого при непродолжительном вращательном движении.

В данном методе часть нитрат серебра реагирует с ионами галогена, образуя осадок галогенидов серебра. А оставшая часть оттитровывается роданидом аммония с образованием роданида серебра AgCNS . После связывания ионов серебра лишняя капля NH_4CNS будет реагировать с железоммониевыми квасцами с образованием буровато-оранжевого окрашивания раствора $\text{Fe}(\text{CNS})_3$, что указывает на достижение точки эквивалентности.



Количество AgNO_3 , которое пошло на взаимодействие с галогенидом определяют как разность между взятым количеством AgNO_3 и оставшимся в избытке.

Если в исследуемом растворе присутствует сероводород для количественного определения соляной кислоты используют гравиметрический метод. С этой целью к раствору добавляют избыток нитрата серебра. При этом образуются хлорид серебра и сульфид серебра. Осадок отфильтровывают, обрабатывают 10 % раствором аммиака для растворения хлорида серебра. Аммиачный раствор подкисляют азотной кислотой, и полученный осадок хлорида серебра отфильтровывают, высушивают до постоянной массы и взвешивают [24].

Количественное определение щелочей и аммиака проводят методом титрования. Для этого определенный объем диализата титруют 0,1 М раствором соляной кислоты в присутствии фенолфталеина (для гидроксидов натрия и калия) и метилового оранжевого (для аммиака) [16].

Количественно определить содержание катионов и анионов в диализате или отгоне можно также с помощью капиллярного электрофореза.

4.3 Лабораторная работа. Химико-токсикологический анализ объектов на минеральные кислоты, щелочи и их соли

Полученный объект на исследование тщательно осматривают. Отмечают внешний вид, консистенцию, наличие или отсутствие запаха. Проводят предварительное исследование по пункту 4.2.1.

Подлежащие исследованию объекты измельчают и прибавляют к ним дистиллированную воду до получения кашицеобразной массы, которую оставляют на 2 часа, а затем фильтруют.

Для более полного освобождения вытяжек из биологического материала от белковых веществ и некоторых других примесей проводят диализ. Для этого в стакан наливают полученные водные вытяжки, закрывают его целлофаном, переворачивают и опускают в кристаллизатор с водой на четыре часа или используют прибор для осуществления электродиализа (п. 4.2.2). Диализаты упаривают на водяной бане до небольшого объема (10 мл). Упаренные диализаты исследуют на наличие щелочей и солей с помощью качественных реакций (п. 4.2.3). Для обнаружения кислот осуществляют простую перегонку. Полученные отгоны исследуют на наличие кислот.

При обнаружении кислоты или щелочи определяют их количественное содержание в исходной пробе (п. 4.2.4).

По полученным данным оформляют экспертное заключение (приложение В).

4.4 Лабораторная работа. Определение неорганических катионов методом капиллярного электрофореза

Оборудование и реактивы

- система КЭ «КАПЕЛЬ-105» (любая модификация) с положительной полярностью высокого напряжения;
- ГСО растворов катионов: аммония, калия, натрия, лития, магния, стронция, бария, кальция (1 мг/мл);
- кислота соляная, х.ч.;
- кислота винная, ч.д.а.;
- натрия гидроксид, х.ч.;
- бензимидазол (БИА), ч.;
- 18-краун-6, ч.д.а., имп.

Подготовить систему капиллярного электрофореза к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Полученный диализат или отогнанную пробу фильтруют через мембранный фильтр. Затем в сухую пробирку Эппендорфа помещают 0,5 мл отфильтрованной пробы и проводят дегазацию с помощью центрифугирования или вакуумирования. Далее выполняют анализ в соответствии с рекомендуемыми условиями:

Рабочий буфер: 20 мМ БИА, 4 мМ винная кислота, 2 мМ 18-краун-6.

Капилляр: $L_{эф}/L_{обш} = 50/60$ см, ID= 75 мкм

Ввод пробы: 300 мбар·с

Напряжение: +13 кВ

Детектирование: 267 нм, косвенное.

Время ввода пробы: 5 секунд

Время анализа: 15 минут

По окончании анализа проверяют правильность идентификации и разметки пиков. Пример электрофореграммы представлен на рисунке 4.4.

После каждого анализа капилляр обязательно промывается буферным раствором. Все данные заносятся в лабораторный журнал [25].

По окончании эксперимента делается вывод о количественном содержании катионов в пробе.

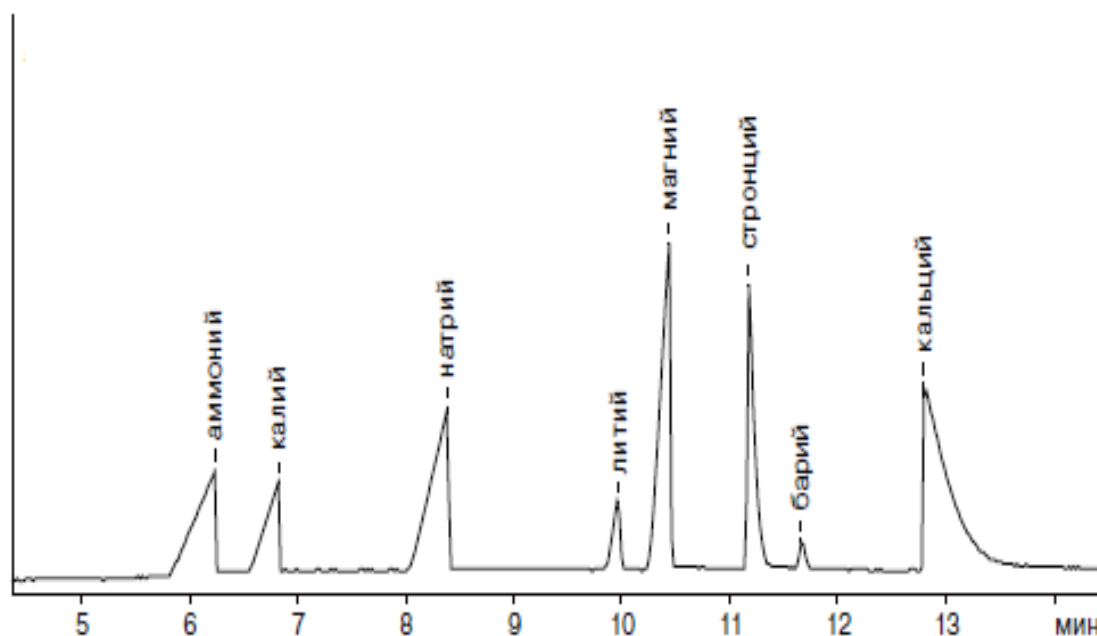


Рисунок 4.4 – Пример электрофореграммы градуировочной смеси

4.5 Лабораторная работа. Определение неорганических анионов методом капиллярного электрофореза

Оборудование и реактивы

– система КЭ «КАПЕЛЬ-105» (любая модификация) с отрицательной полярностью высокого напряжения;

– ГСО состава растворов анионов: хлорид-иона (10 мг/см^3), нитрит-иона (1 мг/см^3), сульфат-иона (10 мг/см^3), нитрат-иона (1 мг/см^3), фторид-иона (1 мг/см^3), фосфат-иона ($0,5 \text{ мг/см}^3$);

– вода дистиллированная (по ГОСТ 6709-72);

– кислота соляная, х.ч.;

– натрия гидроксид, х.ч.;

– хрома (VI) оксид, ч.д.а.;

- цетилтриметиламмония гидроксид (ЦТА-ОН), имп., квалификации р.а.;
- диэтаноламин (ДЭА), имп., квалификации р.а.;
- глюконат кальция, ч.д.а.

Подготовить систему капиллярного электрофореза к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Полученный диализат или отогнанную пробу фильтруют через мембранный фильтр. Затем в сухую пробирку Эппендорфа помещают 0,5 мл отфильтрованной пробы и проводят дегазацию с помощью центрифугирования или вакуумирования. Далее выполняют анализ в соответствии с рекомендуемыми условиями:

Буфер: 7 мМ CrO_3 , 20 мМ диэтанолamina (ДЭА), 0,25 мМ глюконат кальция, 2 мМ ЦТА-ОН

Капилляр: Lэфф/ Лобщ = 50/60 см, ID= 75 мкм

Ввод пробы: 300 мбар·с

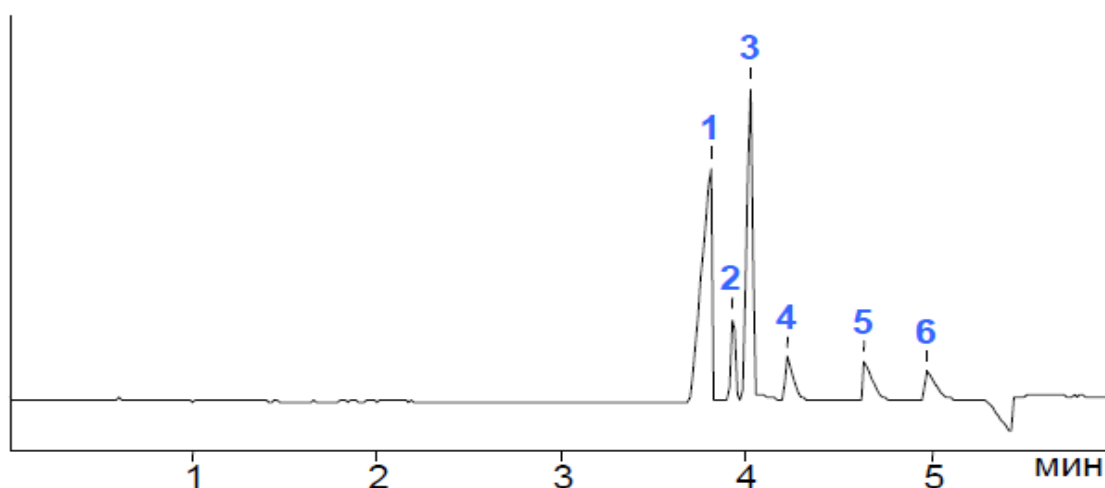
Напряжение: –17 кВ

Температура: + 20 °С

Детектирование: 375 нм, косвенное

Время анализа: 7 минут

Пример электрофореграммы представлен на рисунке 4.5



1 – хлорид; 2- нитрит; 3 – сульфат; 4 – нитрат; 5 – фторид; 6 – фосфат.

Рисунок 4.5 – Пример электрофореграммы градуировочной смеси

По окончании анализа проверяют правильность идентификации и разметки пиков. После каждого анализа капилляр обязательно промывается буферным раствором. Все данные заносятся в лабораторный журнал [26].

Контрольные вопросы

1 В чем заключается токсикологическое значение минеральных кислот, щелочей и их солей.

2 Какие предварительные испытания, указывают на отравление минеральными кислотами и щелочами?

3 Пробоподготовка биологических образцов к исследованию?

4 Изолирование. Диализ. Перспективы использования мембранной фильтрации (фильтры из нитроцеллюлозы, мембранная фильтрация).

5 Особенности химико-токсикологического анализа кислот (серной, азотной, соляной), щелочей (гидроксиды натрия, калия и аммония), нитратов и нитритов. Сохраняемость в трупном материале.

5 Группа веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией

5.1 Общая характеристика лекарственных и наркотических ядов

Группа веществ, изолируемых из объектов экстракцией и сорбцией (их ещё называют «нелетучие» яды), включает в себя органические вещества различной химической структуры, прежде всего, наркотики, лекарственные средства и пестициды.

По своей химической природе «нелетучие» яды можно разделить на три группы:

1 Соединения кислотного характера:

а) органические кислоты: бензойная, салициловая, ацетилсалициловая, пикриновая;

б) барбитураты: барбитал, фенобарбитал, барбамил, этаминал-натрия, бутобарбитал, гексенал, бензонал, бензобамил, циклобарбитал и др.

2 Вещества нейтрального характера:

а) небарбитуровые снотворные: ноксирон, тетридин;

б) сердечные гликозиды;

в) многоатомные фенолы: гидрохинон, пирогаллол;

г) полинитропроизводные: *м*-динитробензол, динитротолуолы, тринитротолуол;

д) производные анилина и *п*-аминофенола: фенацетин, *п*-фенилендиамин.

3 Вещества основного характера:

а) алкалоиды: производные пиридина и пиперидина (жидкие алкалоиды), тропана (атропин, кокаин и др.), хинолина (хинин), изохинолина (опийные), индола (стрихнин, бруцин, резерпин), пурина (кофеин, теобромин, теофиллин), пирролизидина (платифиллин, саррацин), ациклические (эфедрин), стероидоподобные (вератрин), неуставленного строения (аконитин) [33].

б) Синтетические вещества основного характера: производные пиразола (антипирин, амидопирин), производное пиперидина (промедол), производные аминокислот ароматического ряда (новокаин и дикаин), изониазид, производные фенотиазина (аминазин и др.), производные бензодиазепина и т.д.

5.2 Методы изолирования

Методы изолирования подкисленным спиртом и подкисленной водой являются общими методами изолирования для всех перечисленных выше веществ.

5.2.1 Метод извлечения подкисленным спиртом

Современная модификация метода извлечения подкисленным спиртом (метод Стаса - Отто) сводится к следующему. Тщательно измельченный объект (100 или 200 г внутренних органов трупа) помещают в толстостенную колбу или банку, заливают 96 % этиловым спиртом так, чтобы были покрыты твердые части объекта, и подкисляют 10 % спиртовым раствором винной (или щавелевой) кислоты [26, 50].

Когда исследуемый объект подкислен, колбу, не закрывая, пробкой, встряхивают и спустя некоторое время (в неводных растворах и в гетерогенной среде время нейтрализации больше, чем в воде), содержимое испытывают реакцией на универсальный индикатор. рН среды должно быть в интервале от 2,5 до 3,0.

Пробирку закрывают неплотно (имеется в виду возможность, продолжения выделения некоторого количества газа), оставляют колбу на сутки в теплом месте (температура от 25 °С до 30 °С), часто перемешивая ее содержимое. Спустя сутки убеждаются в сохранении кислой реакции. Тогда спиртовую вытяжку сливают и заменяют новой порцией спирта. Если через сутки реакция, жидкости изменилась, стала нейтральной или щелочной, объект вновь

подкисляют органической кислотой до рН 2,5 или 3,0 и снова оставляют на сутки. Операцию извлечения проводят 3 или 4 раза.

Спиртовые вытяжки соединяют вместе, а биологический материал промывают спиртом. Спирт присоединяют к слитым ранее порциям вытяжек. Извлечения отфильтровывают и сгущают до густоты сиропа в фарфоровой чашке на водяной бане, имеющей температуру воды не выше 40 градусов (во избежание разрушения таких веществ, как атропин, кокаин, и некоторых других соединений, имеющих характер сложных эфиров). Сиропообразную жидкость обрабатывают 96 %, а еще лучше абсолютным спиртом, приливая его по каплям и перемешивая жидкость стеклянной палочкой. Спирт добавляют до тех пор, пока не прекратится осаждение белков.

Осторожное добавление спирта вызывает осаждение белковых веществ в виде мелких хлопьев, не захватывающих раствора, что может иметь место при добавлении большого количества спирта сразу, когда осадок выделяется в виде больших сгустков.

Жидкость отстаивают, фильтруют, фильтр промывают спиртом и фильтрат упаривают до густоты сиропа при описанных выше условиях. В сиропообразном остатке снова осаждают белки, жидкость отстаивают и фильтруют. Операцию осаждения белков повторяют до тех пор, пока спирт перестанет что-либо осаждать. Тогда вытяжку упаривают до густоты сиропа и обрабатывают 20 мл воды. Если при этом образуется осадок, его отфильтровывают и тщательно промывают небольшим количеством воды.

Из водного раствора производят повторные извлечения (3 или 4 раза) небольшими порциями (по 10 или 15 мл) хлороформа сначала из кислой, а затем из щелочной (рН 10) среды. Подщелачивание производят 25 % раствором аммиака (рисунок 5.1).

Удобство применения хлороформа в качестве растворителя заключается в том, что он достаточно хорошо растворяет большинство токсикологически важных органических веществ из группы изолируемых подкисленным спиртом и легко отделяется от водного раствора.

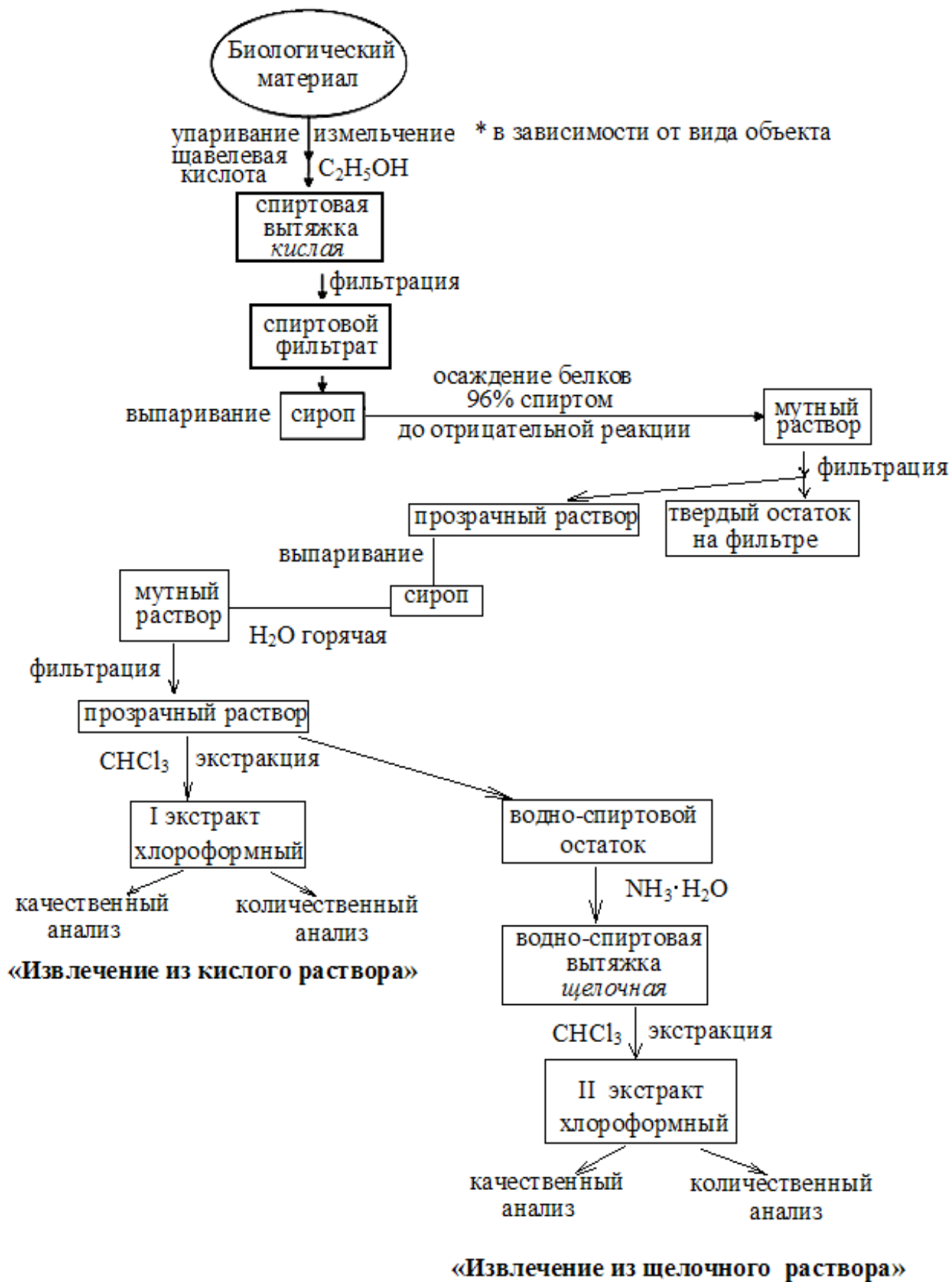


Рисунок 5.1 – Схема изолирования подкисленным спиртом из биологического материала [27]

Извлечение как из кислой, так и из щелочной жидкости должно производиться осторожно, лишь легким взбалтыванием или многократным перевертыванием делительной воронки, но отнюдь не энергичными встряхиваниями. Последние могут вызвать образование трудноразделимой эмульсии. Образовавшуюся эмульсию можно попытаться разрушить, добавив 1 мл спирта и поставив объект исследования в теплое место. Расслоение достигается при насыщении жидкости сульфатом аммония. Лучшим способом является центрифугирование.

Экстрагированием хлороформом сначала из кислого, а затем из щелочного раствора преследуется цель разделения веществ, изолируемых подкисленным спиртом, на две большие подгруппы:

- 1) подгруппа веществ, экстрагируемых хлороформом из кислого раствора;
- 2) подгруппа веществ, экстрагируемых хлороформом из щелочного раствора.

Экстрагирование хлороформом из кислого водного раствора, кроме того, ставит своей задачей очистку жидкости от жира, красящих, дубильных и других веществ, мешающих дальнейшему качественному обнаружению алкалоидов и других токсикологически важных веществ основного характера.

Из числа веществ, представляющих токсикологический интерес, хлороформ экстрагирует из кислого раствора:

- 1) кислоты и их производные;
- 2) многоатомные фенолы;
- 3) некоторые вещества нейтрального характера (полинитросоединения), производные анилина и парааминофенола;
- 4) слабые основания.

Все хлороформные извлечения из кислого раствора сливают вместе, фильтруют через фильтр и отдельные порции исследуют на наличие производных барбитуровой кислоты и таких слабых оснований, как стрихнин, бруцин, кофеин и др.

При наличии наводящих указаний (характерная окраска хлороформного извлечения или остатка после удаления растворителя, например, в присутствии пикриновой кислоты, кристаллическое строение при наличии полинитропроизводных, фенацетина и т. п.), так же как и при специальных запросах, круг исследований в той или иной степени расширяется или суживается.

Практически в большинстве случаев бывает достаточно 3 или 4-кратного экстрагирования. Хлороформные вытяжки из щелочного раствора также сливают вместе, промывают небольшим количеством воды, фильтруют через возможно маленький фильтр и хлороформ выпаривают при комнатной температуре в небольшой фарфоровой или стеклянной чашке. Остатки после удаления хлороформа исследуют на наличие алкалоидов и синтетических лекарственных веществ.

Достоинства и недостатки метода изолирования подкисленным спиртом. Удобство применения этилового спирта для изолирования разнообразных органических веществ из объектов биологического происхождения заключается в его способности хорошо растворять многие органические вещества, а также свертывать, переводить в нерастворимое состояние белки — главную составную часть большинства объектов химико-токсикологического исследования (внутренние органы трупов, пищевые продукты животного происхождения и т.д.). При этом неизбежны потери искомым веществ, так как свернувшийся белок удерживает ту или иную часть их.

Метод изолирования подкисленным спиртом обладает рядом недостатков, к числу которых относятся следующие:

а) длительность настаивания объектов со спиртом, а также упаривания спиртовых вытяжек и удаления осажденных белков, в общей сложности обработка занимает 8 или 10 рабочих дней и больше (в случае упаривания спиртовых вытяжек на теплой водяной бане в открытых фарфоровых чашках);

б) большое количество операций, связанных с очисткой спиртовой вытяжки от белков и продуктов белкового распада;

в) возможность потери малых количеств алкалоидов и других веществ основного характера как вследствие сорбции их белками и фильтровальной бумагой (особенно при многократном фильтровании), так и в результате продолжительного нагревания кислого раствора;

г) относительная дороговизна метода, так как на каждое исследование, например, внутренних органов трупа расходуется до 500 мл 96 % этилового спирта. Все это приводит к тому, что классический метод Стаса - Отто как общий метод теряет свое значение и постепенно заменяется более быстрыми, эффективными и более экономичными методами, хотя он еще и сохраняет свою роль при изолировании некоторых веществ, плохо растворимых в воде, а также при исследовании биологических объектов в сильно гнилом виде [2].

5.2.2 Изолирование подкисленной водой

Современная модификация метода извлечения подкисленной водой (рисунок 5.2):

5 г исследуемого объекта тщательно смешивают с 60 мл дистиллированной воды, подкисленной насыщенным водным раствором винной (или щавелевой) кислоты до pH 2,0 или 2,5 (по универсальному индикатору), и оставляют при комнатной температуре на 2 часа. Периодически смесь взбалтывают. Водный слой сливают декантацией и подвергают центрифугированию 30 минут при 3000 оборотов в минуту. Прозрачную жидкость переносят в делительную воронку и трижды новыми порциями (по 15 или 20 мл) осторожно, чтобы избежать образования эмульсии, экстрагируют хлороформом. Для разделения эмульсии (в случае ее образования) пользуются центрифугированием. Хлороформную вытяжку исследуют на группу веществ, экстрагируемых из кислого раствора, а также и некоторые алкалоиды и вещества, обладающие слабо основными свойствами (кофеин, стрихнин, бруцин).

Водный остаток подщелачивают раствором аммиака до pH 10 по универсальному индикатору и вновь 3 или 4 раза, соблюдая осторожность,

экстрагируют небольшими порциями (по 15 или 20 мл) хлороформа. Хлороформные извлечения, слитые вместе, после удаления хлороформа исследуют на наличие алкалоидов и других веществ основного характера.

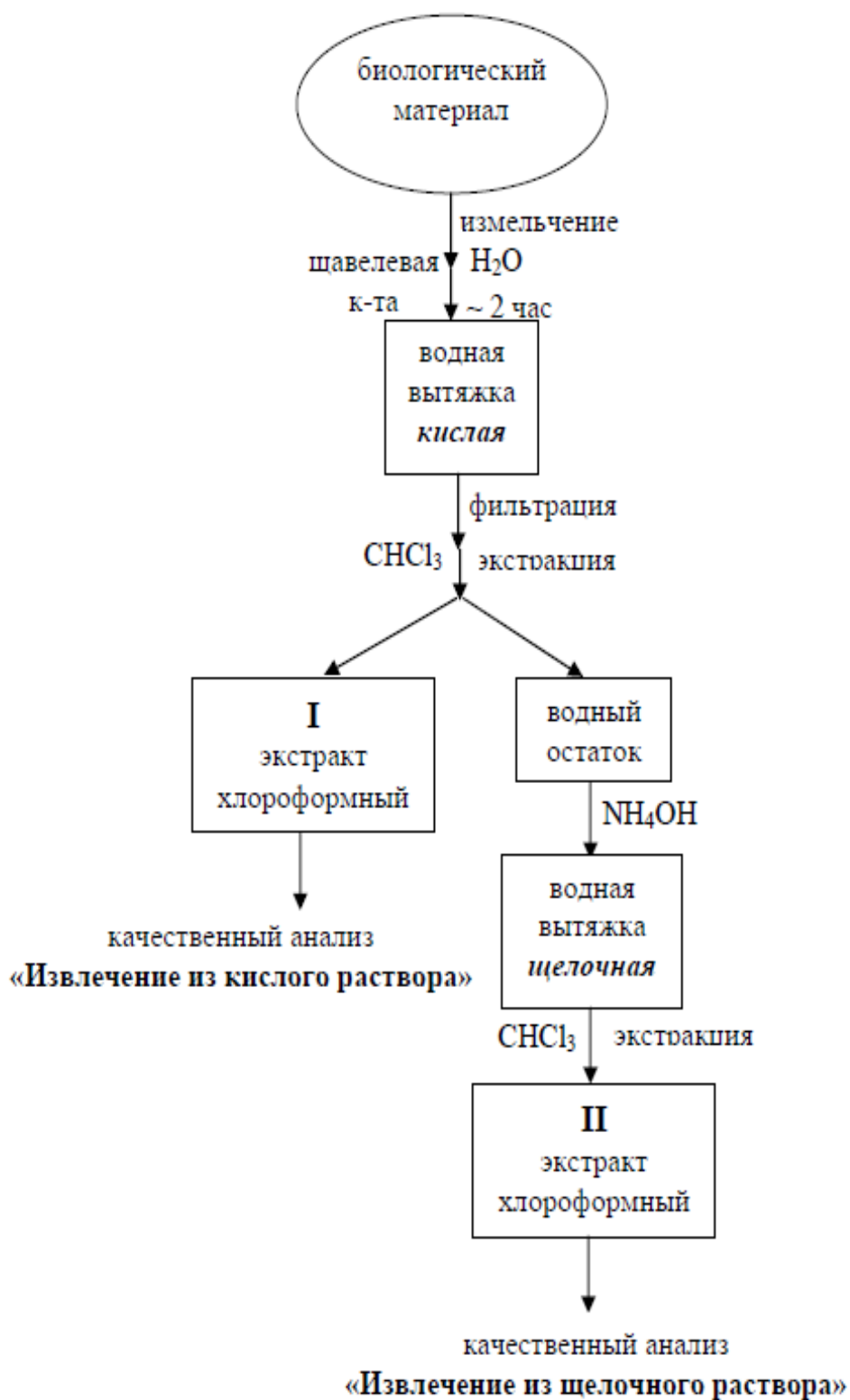


Рисунок 5.2 - Схема изолирования из биологического материала настаиванием подкисленной водой [29]

При исследовании на наличие алкалоидов соли, сахара и т. п. задача значительно упрощается. Такие продукты растворяют в воде, подкисляют винной (щавелевой) кислотой до кислой реакции (рН от 2 до 2,5) и повторно экстрагируют хлороформом из кислого раствора, а затем из раствора подщелоченного аммиаком до рН 10. Хлороформные вытяжки исследуют на наличие веществ, экстрагируемых хлороформом из кислого и щелочного растворов.

При исследовании внутренних органов трупов (печень, желудок и т. п.) на наличие алкалоидов и других органических веществ поступают следующим образом: 100 г тщательно измельченного материала заливают 200 мл дистиллированной воды (соотношение объекта и воды 1:2), подкисленной до рН в интервале от 2,0 до 2,5 насыщенным водным раствором винной или щавелевой кислоты, и оставляют на 2 часа при периодическом взбалтывании.

Водное извлечение сливают с твердых частиц объекта, а последние еще раз настаивают, примерно час с водой, подкисленной винной или щавелевой кислотой до рН 2,5. Водную вытяжку процеживают через двойной слой марли. Объединенные извлечения центрифугируют. Прозрачную жидкость повторно экстрагируют хлороформом из кислого раствора (3 или 4 раза по 15 или 20 мл хлороформа), а затем из щелочного (3 или 4 раза). Подщелачивание до рН 10 производят 25 % раствором аммиака, проверяя реакцию среды по универсальному индикатору.

Соединенные вместе хлороформные вытяжки из кислого раствора исследуют на вещества, изолируемые из кислых растворов, а хлороформные вытяжки из щелочного раствора — на алкалоиды и синтетические вещества основного характера.

Достоинства и недостатки метода изолирования подкисленной водой. Метод изолирования алкалоидов и других органических веществ, имеющих токсикологическое значение, подкисленной водой обладает рядом преимуществ перед методом извлечения подкисленным спиртом. Наиболее важные из них следующие:

1) ускорение времени производства анализа;

2) более высокая чувствительность по отношению к ряду органических веществ: стрихнину, брущину, кониину, колхицину, дикаину, ареколину и другим соединениям (повышение чувствительности в основном связано с меньшим количеством операций, возможно, и с отсутствием нагревания);

3) метод не требует затраты чистого этилового спирта.

Недостаток метода заключается в трудности использования его для исследования на органические вещества, трудно растворимые в воде, а иногда также при исследовании сильно загнившего трупного материала.

Кроме описанных методов изолирования алкалоидов, при химико-токсикологических исследованиях иногда для отдельных алкалоидов (ареколин, никотин, кониин) рекомендуется дистилляция с водяным паром с последующим экстрагированием алкалоида из дистиллята соответствующим органическим растворителем.

Все описанные методы изолирования алкалоидов не гарантируют, однако, получения настолько чистого вещества, чтобы оно могло быть обнаружено и определено в дальнейшем обычными аналитическими реакциями и методами. Как правило, алкалоид или другое вещество основного характера, представляющее токсикологический интерес, изолируется из объектов исследования вместе с жирами, жирными кислотами, белками и продуктами их распада (смолы, красящие вещества и т. п.), маскирующими это вещество и мешающими его обнаружению и определению. Особое значение при этом приобретает очистка изолированных из биологического материала (трупный материал) алкалоидов [2].

Полученные экстракты анализируют с помощью качественных реакций, методами тонкослойной хроматографии, газожидкостной хроматографией, газовой хроматографией с масс-спектрометрическим детектированием, ИК-спектрометрии и др.

5.3 Качественный анализ веществ, экстрагируемых органическими растворителями из подщелоченных водных вытяжек

Описанные ниже качественные реакции изучаются сначала на водных или хлороформных растворах (или сухом остатке) известных веществ. При выполнении контрольной задачи описанные реакции применяют к исследованию экстракта после удаления органического растворителя.

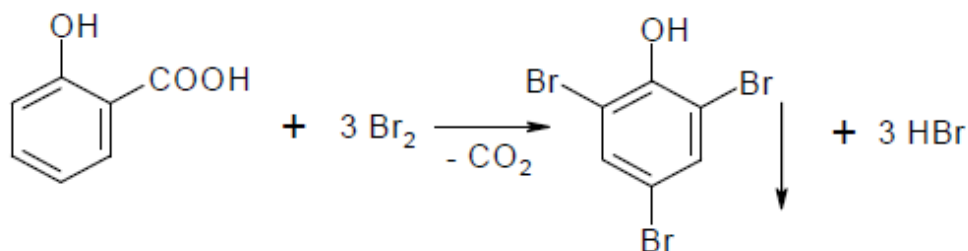
5.3.1 Салициловая кислота

Салицилат натрия и другие производные салициловой кислоты (аспирин, салол) широко применяются в качестве лекарств. Салициловая кислота применяется как консервант при изготовлении вин, овощных консервов, варенья, соков и т.д. [12].

При попадании салициловой кислоты внутрь наблюдается раздражение слизистой оболочки желудка, появляется боль, тошнота, а иногда и рвота.

Реакция образования трибромфенола

К остатку после удаления хлороформа в пробирке добавляют несколько капель дистиллированной воды и каплю этилового спирта, жидкость перемешивают и добавляют 2-3 капли насыщенного раствора бромной воды.

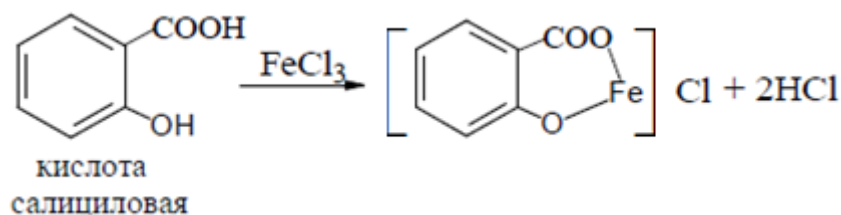


При наличии салициловой кислоты должен образоваться белый осадок.

Реакция с раствором хлорида железа (III)

К остатку после удаления хлороформа в фарфоровой чашке добавляют 1 каплю свежеприготовленного раствора хлорида железа (III). При наличии

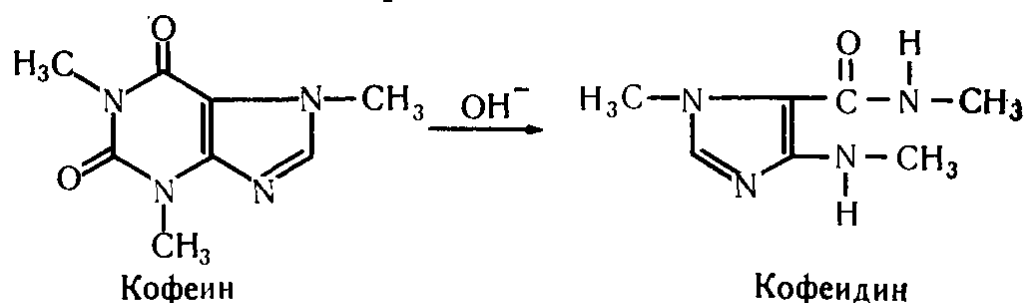
салициловой кислоты появляется сине-фиолетовое окрашивание, не исчезающее от добавления 2-3 капель этилового спирта.



На фильтровальную бумагу помещают 1 каплю свежеприготовленного раствора хлорида окисного железа и подсушивают. Затем на то же место наносят 1-2 капли исследуемого хлороформного извлечения – тотчас появляется сине-фиолетовое окрашивание.

5.3.2 Кофеин

Кофеин принадлежит к числу алкалоидов, содержащихся в кофе, чае и в некоторых других растениях. В щелочной среде кофеин разлагается с образованием физиологически неактивного кофеидина:



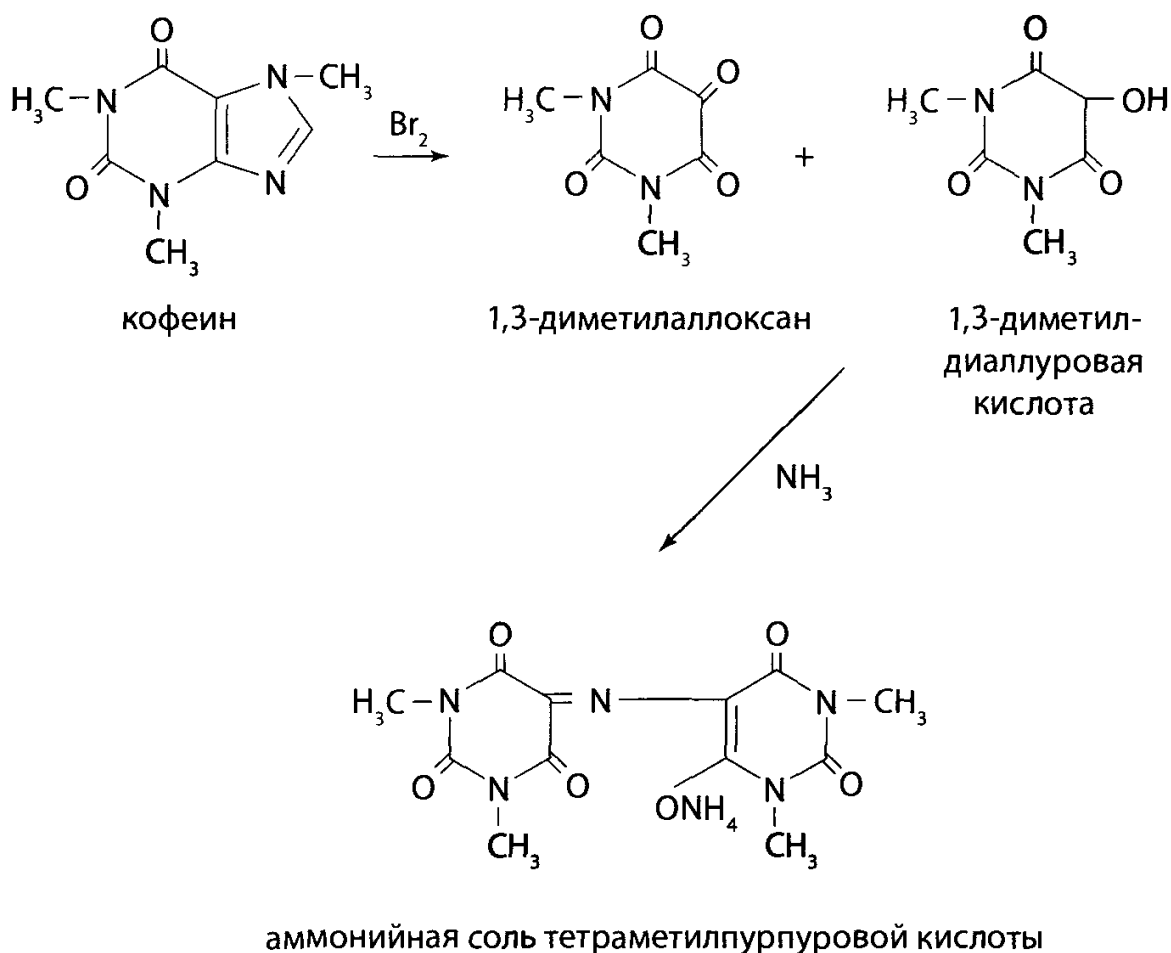
Кофеин оказывает возбуждающее действие на центральную нервную систему организма, усиливает сердечно-сосудистую деятельность. Кофеин входит в состав многих лекарственных форм (цитрамон, аскофен, пирамеин и др.). Кофеин быстро разлагается в организме, его метаболиты выводятся с мочой.

Реакция образования мурексида

6 капель хлороформного раствора исследуемого вещества помещают в фарфоровую чашку, и растворитель испаряют без нагревания. К сухому остатку

прибавляют 1 мл насыщенного раствора бромной воды и выпаривают на водяной бане досуха. К окрашенному в буроватый цвет остатку подносят на стеклянной палочке одну каплю 25 % раствора аммиака.

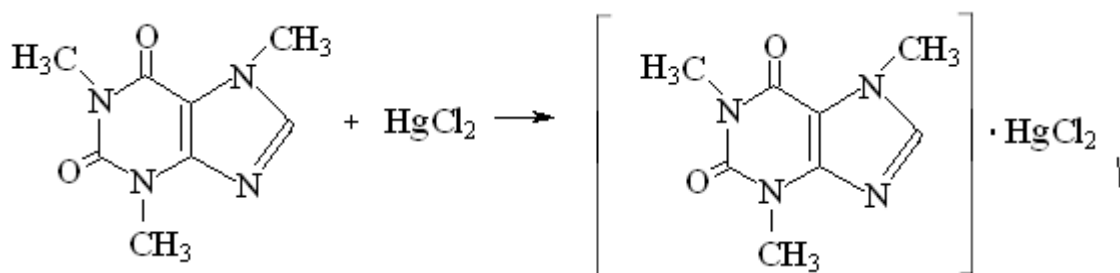
Остаток в чашке при наличии кофеина приобретает пурпурно-фиолетовое окрашивание аммонийной соли тетраметилпурпуровой кислоты.



Общегрупповая реакция образования мурексида.

Реакция с хлоридом окисной ртути

На предметное стекло наслаивают 2 или 3 капли исследуемого хлороформного раствора. На сухой остаток после удаления хлороформа наносят каплю 0,1 н раствора соляной кислоты и каплю 5 % раствора хлорида окиси ртути, через 10 или 15 минут образуются крупные, шелковистые, бесцветные иглообразные кристаллы.



Открываемый минимум 9,4 мкг, предельная концентрация 1:532.

$\text{HgCl}_2 \cdot \text{CH}_3$

5.3.3 Теобромин

Теобромин (3,7 – диметилксанти) относится к числу алкалоидов, которые содержатся в плодах какао и листьях чая. Этот алкалоид получают и синтетическим путем. Теобромин стимулирует сердечную деятельность, слабее, чем кофеин возбуждает центральную нервную систему.

В медицинской практике применяется при спазмах сосудов мозга, при хронической коронарной недостаточности.

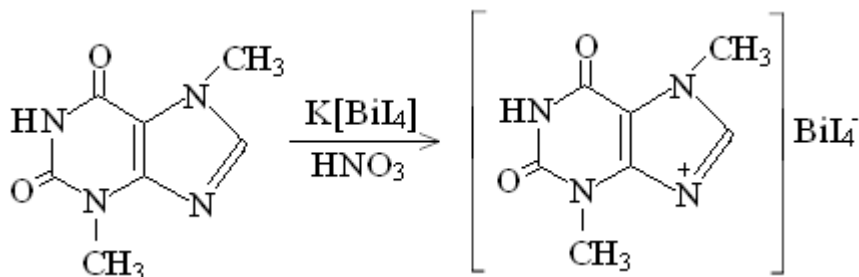
Теобромин применяется в виде натриевой соли в сочетании с салицилатом натрия. Входит в состав таблеток темисал, теоверин, теодинал и др.

Реакция образования мурексида

Реакция проводится аналогично реакции на кофеин.

Реакция с раствором йодвисмутата калия

К остатку исследуемого вещества на предметном стекле добавляют 1 каплю 10 % раствора соляной кислоты и 1 каплю раствора йодвисмутата калия (реактив Драгендорфа).



Через 10 – 15 минут образуются характерные игольчатые кристаллы темно-красного цвета, собранные в пучки. Рост кристаллов сначала наблюдается

у края капли, затем распространяется к центру. Открываемый минимум 19 мкг, предельная концентрация 1:263.

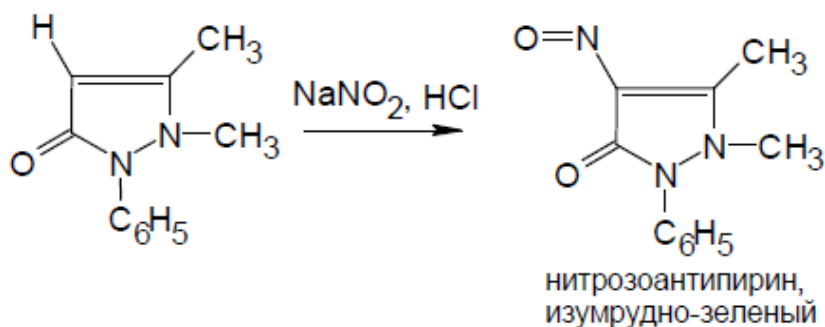
5.3.4 Антипирин

Антипирин применяется при невралгиях, ревматизме, простудных и некоторых других заболеваниях. Этот препарат обладает болеутоляющим, жаропонижающим и противовоспалительным действием.

Реакция с хлоридом железа (III)

К остатку в фарфоровой чашке после удаления хлороформа добавляют одну каплю хлорида железа (III). При наличии антипирина появляется кроваво-красное окрашивание.

Реакция получения нитроантипирина

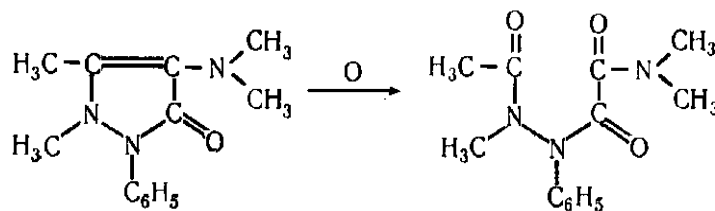


Остаток после удаления хлороформа растворяют в дистиллированной воде, подкисляют 10 % раствором серной кислоты и добавляют несколько капель насыщенного раствора нитрита натрия. При наличии антипирина наблюдают зеленое окрашивание, при больших количествах вещества может выпасть зеленый осадок.

5.3.5 Амидопирин

Амидопирин (пирамидон, аминофеназон, аминопирин и др.) — 1-фенил-2,3-диметил-4-диметиламинопиразолон-5 — мелкие бесцветные кристаллы, слегка горьковатого вкуса. При действии окислителей на амидопирин образуется

ряд окрашенных промежуточных продуктов. При дальнейшем окислении этих продуктов образуется бесцветное вещество диокси-амидопирин:



Амидопирин экстрагируется органическими растворителями из кислых и щелочных водных растворов.

Применение. Действие на организм. Амидопирин оказывает жаропонижающее, болеутоляющее и противовоспалительное действие. Применяется при головных болях, невралгии, миозите, остром суставном ревматизме, артритах и т. д. При длительном применении амидопирин в отдельных случаях наблюдается угнетение кроветворения, кожные сыпи и т. д.

Амидопирин подвергается метаболизму путем деметилирования и ацетилирования. Метаболитами амидопирин являются 4-аминоантипирин, метиламиноантипирин, рубазоновая и метилрубазоновая кислоты. Эти кислоты имеют красноватую окраску. Из-за наличия указанных кислот в моче лиц, принимающих большие дозы амидопирин, она может иметь красновато-буроватую окраску.

Реакция с хлоридом железа (III)

К остатку в фарфоровой чашке после удаления хлороформа добавляют одну каплю хлорида железа (III). При наличии амидопирин появляется фиолетовое окрашивание, исчезающее от избытка реактива.

Реакция с азотистой кислотой

Остаток после удаления хлороформа растворяют в дистиллированной воде, подкисляют 10% раствором серной кислоты и добавляют несколько капель насыщенного раствора нитрита натрия. При наличии амидопирин наблюдают фиолетовое быстро исчезающее окрашивание.

Реакция с нитратом серебра

Часть водного раствора исследуемого вещества помещают в пробирку, добавляют 3-5 капель раствора нитрата серебра и нагревают в течение 3-5 минут. При наличии амидопирина наблюдают образование фиолетового окрашивания.

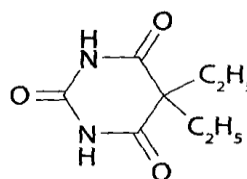
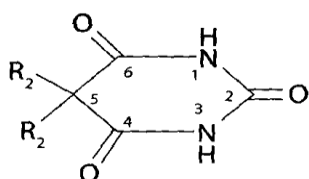
При больших количествах амидопирина может наблюдаться образование темного осадка металлического серебра.

Реакция с раствором йода в соляной кислоте

К остатку амидопирина на предметном стекле прибавляют 1-2 капли раствора йода в концентрированной соляной кислоте – выделяются через некоторое время призматические кристаллы. Открываемый минимум 0,3 мкг при предельной концентрации 1:666666.

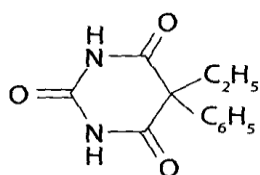
5.3.5 Производные барбитуровой кислоты

Производные барбитуровой кислоты – барбитал, фенобарбитал, барбамил, этаминал-натрия, бутобарбитал и бензонал (рисунок 5.3)



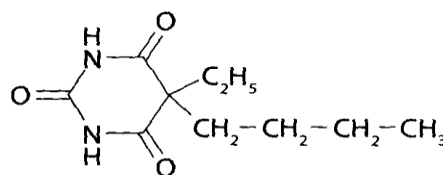
барбитал

5,5-диэтилбарбитуровая кислота



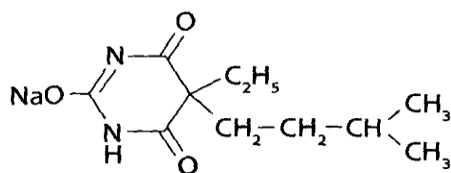
фенобарбитал

5-этил-5-фенилбарбитуровая кислота



бутобарбитал

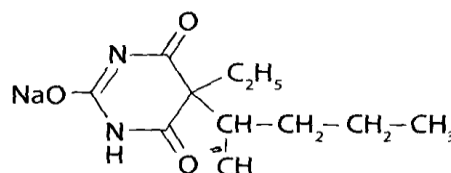
5-этил-5-н-бутилбарбитуровая кислота



барбамил

(амобарбитал)

5-этил,5-изоамилбарбитурат натрия



этаминал-натрий

5-этил-5-метилбутилбарбитурат натрия

Рисунок 5.3 – Производные пиримидин-2,4,6-триона (барбитураты)

Важным действием барбитуратов на организм является угнетение центральной нервной системы. Этот процесс избирательно захватывает кору головного мозга и центры ствола мозга. С лечебной целью производные барбитуровой кислоты находят применение в медицинской практике в качестве снотворных и успокаивающих средств. По продолжительности сна, вызываемого барбитуратами, их делят на 3 группы: длительного действия (барбитал, фенобарбитал); средней продолжительности действия (бутобарбитал, барбамил, этаминал-натрий); короткого действия (гексенал).

В настоящее время в медицинской практике находят применение барбитал и фенобарбитал. Барбитал назначают внутрь перед сном по 0,25 г или 0,5 г, фенобарбитал - по 0,1 г или 0,2 г. Фенобарбитал в качестве снотворного средства применяется редко. Его чаще используют как противосудорожный. Фенобарбитал входит в состав некоторых готовых лекарственных форм «Пенталгин», «Андипал», «Беллатаминал», «Теофедрин», «Корвалол», «Валокордин», «Барбовал» и др. [16, 51].

Отравления барбитуратами встречаются относительно редко. Чаще эти препараты используются с целью самоубийства. Большинство острых отравлений барбитуратами имеют сходную клиническую картину и характеризуются незначительными морфологическими изменениями. Клиническое течение отравления связано с принятой дозой вещества и чувствительностью организма. Токсические дозы барбитуратов вызывают первоначально наркотическое опьянение, затем коматозное состояние, которое осложняется сердечно-сосудистой или дыхательной недостаточностью. Тяжелые отравления характеризуются глубокой комой, редким поверхностным дыханием, слабым пульсом, цианозом. Зрачки у пострадавшего узкие, не реагирующие на свет. В заключительной стадии отравления, вследствие поражения дыхательного центра, дыхание становится неравномерным, после чего наступает его остановка.

Токсическое действие барбитуратов усиливают наркотики, алкоголь, транквилизаторы. Токсическими дозами для барбитала считают от 3 до 4 г, для барбамила от 1 до 3 г, для фенобарбитала от 0,6 до 1 г; смертельными - от 6 до 10, от 4 до 6 и от 4 до 10 г соответственно [2].

Извлекаются из кислого раствора органическим растворителем. В качестве биологического материала берется содержимое желудка, печень, почки, моча.

Общие реакции на барбитураты

Реакция с аммиачным раствором нитрата или ацетата кобальта

При значительных количествах исследуемого вещества к остатку после удаления хлороформа в фарфоровой чашке добавляют каплю свежеприготовленного аммиачного раствора нитрата кобальта (раствор готовится перед употреблением из равных объемов 1 % раствора нитрата кобальта и 25 % раствора аммиака) или каплю 1 % раствора нитрата кобальта и каплю 25 % раствора аммиака.

При наличии барбитуратов появляется красно- фиолетовое окрашивание.

Мурексидная проба

Раствор исследуемого вещества в этиловом спирте помещают в фарфоровую чашку, спирт осторожно испаряют, к остатку добавляют 0,1 мл раствора хлорида аммония, содержащего следы соли Мора, и 0, 1 мл 30 % раствора перекиси водорода.

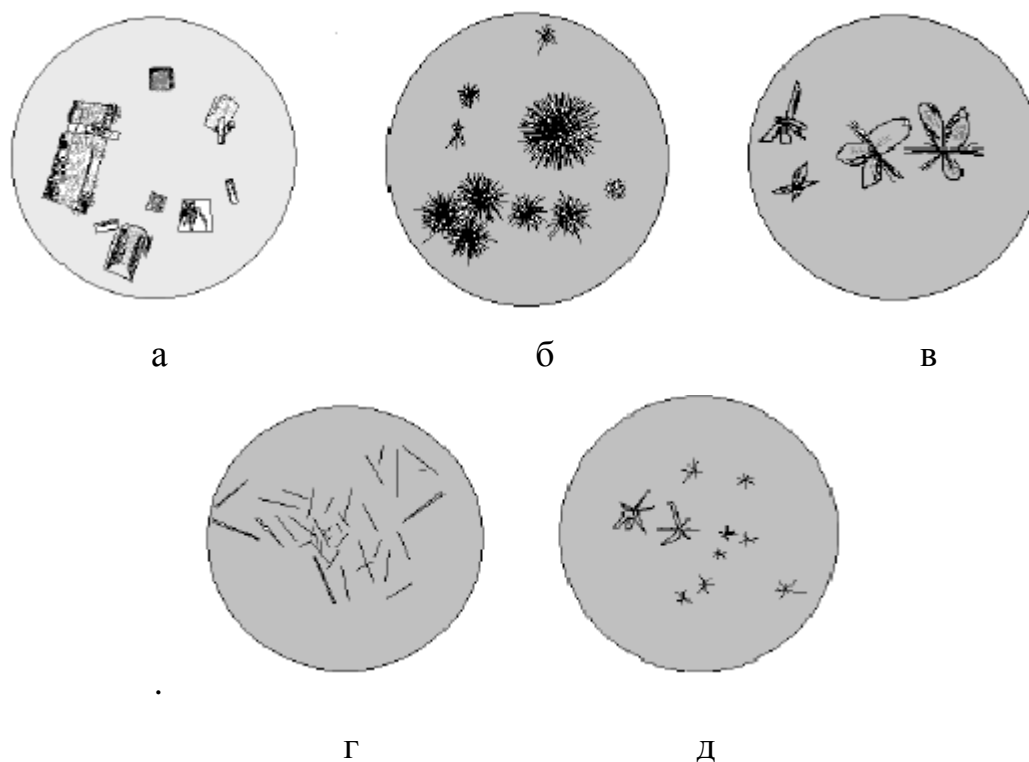
Реакционную смесь перемешивают и чашку нагревают на спиртовке. Через 5 минут по краям сухого остатка появляется розовое или красное окрашивание.

Окрашивание становится интенсивнее при нанесении на остаток капли 25 % раствора аммиака. Чувствительность реакции различна для каждого из барбитуратов. В среднем она составляет 3-5 мг вещества в пробе.

Реакция выделения кислотной формы барбитуратов.

На предметное стекло наслаивают несколько капель хлороформного раствора исследуемого вещества, удаляя хлороформ при комнатной температуре. Следующую каплю наносят после испарения предыдущей. Сухой остаток

растворяют в капле концентрированной серной кислоты. Через 5 минут рядом с этой каплей помещают одну каплю дистиллированной воды, после чего их осторожно соединяют при помощи капилляра. Через 20 минут наблюдают появление кристаллического осадка, характерного для каждого отдельного барбитурата (рисунок 5.4).



а - кислотная форма барбитала; б - кислотная форма фенобарбитала; в - кислотная форма барбамила; г - кислотная форма бутобарбитала; д - кислотная форма этаминала-натрия.

Рисунок 5.4 - Форма кристаллов [27]

Эту реакцию можно провести в других модификациях: к сухому остатку на предметном стекле добавляют одну каплю 10 % раствора аммиака, а после растворения остатка одну каплю 10 % раствора серной кислоты; через 10 или 15 минут наблюдают характерные сростки кристаллов. Вместо 10 % раствора аммиака можно добавить кристаллы соли NaH_2PO_4 или NaHSO_4 . Через несколько минут наблюдают выделение кислотной формы барбитурата.

Реакция с дифенилкарбазоном и сульфатом ртути

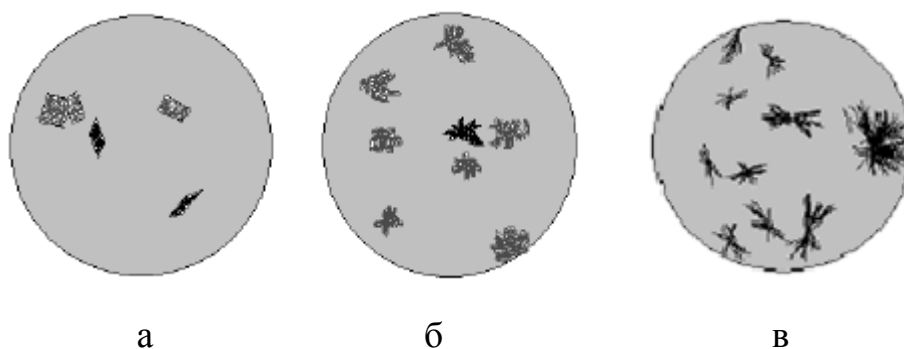
К хлороформному извлечению (при больших количествах барбитуратов) или к остатку после удаления хлороформа (при малых количествах) в пробирке добавляют 2 мл 3 % раствора дифенилкарбазона в хлороформе и 3 мл 5 % раствора HgSO_4 .

При наличии барбитуратов появляется сине- или красно- фиолетовое окрашивание.

Частные реакции на барбитураты

Реакция с хлорцинкйодом

На остаток исследуемого вещества на предметном стекле (после удаления хлороформа) наносят каплю раствора хлорцинкйода. Через 10-15 минут под микроскопом наблюдают образование кристаллических осадков. Если осадок долго не образуется, к каплям на предметных стеклах добавляют 2 кристалла йода и препараты снова через 10 или 15 минут рассматривают под микроскопом (рисунок 5.5).



а - барбитал; б - барбамил; в - этаминал натрия.

Рисунок 5.5 – Кристаллы, образующиеся при взаимодействии раствора хлорцинкйода

Реакция с железойодидным комплексом

К сухому остатку на предметном стекле добавляют одну каплю железойодидного комплекса, через 10 или 15 минут наблюдают образование

характерных сростков кристаллов. Если кристаллический осадок получается слишком обильным, реакцию смесь осторожно выпаривают на предметном стекле на пламени спиртовки, а к сухому остатку добавляют каплю дистиллированной воды. Через 10 или 15 минут препарат вновь рассматривают под микроскопом рисунок 5.6.



а - этаминал-натрия с железойодидным реактивом; б - бутобарбитала с железойодидным реактивом.

Рисунок 5.6 - Кристаллы продукта взаимодействия

Реакция со спиртовым раствором йодида калия

К сухому остатку на предметном стекле добавляют одну каплю спиртового раствора йодида калия в присутствии серной кислоты, через 10 минут образуются хорошо оформленные кристаллические осадки (рисунок 5.7).



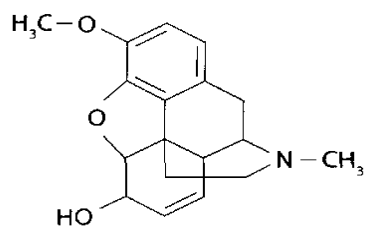
Рисунок 5.7 - Продукт взаимодействия бутобарбитала со спиртовым раствором йодида калия

5.4 Алкалоиды мака снотворного и их синтетические аналоги

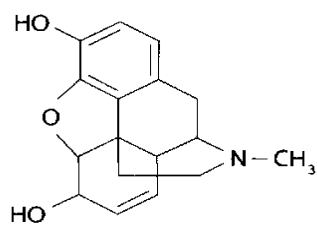
Термин «опиаты» объединяет природные алкалоиды мака снотворного: морфин, кодеин - и полусинтетические производные морфинанового ряда: этилморфин, героин и др.

В группу опиоидов относят различные синтетические вещества, оказывающие однотипное действие с опиатами, причем механизм действия является сходным. Однако наряду с индивидуальными субстанциями опийных алкалоидов или полусинтетических производных морфинанового ряда химику приходится анализировать случаи отравления исходным сырьем, вытяжками из маковой соломки, маковых семян и опия.

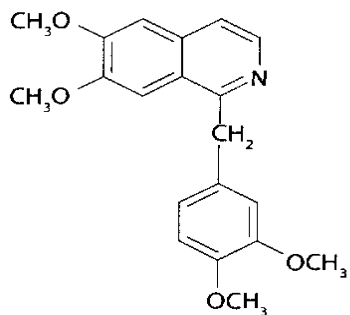
Производящее растение - мак снотворный (*Papaver somniferum*, семейство *Papaveraceae*) содержит несколько десятков алкалоидов, главными из которых являются морфин, кодеин, наркотин, папаверин и тебаин:



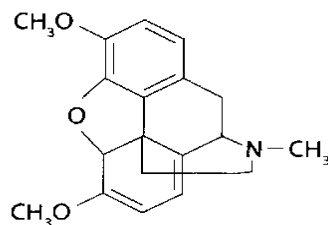
кодеин



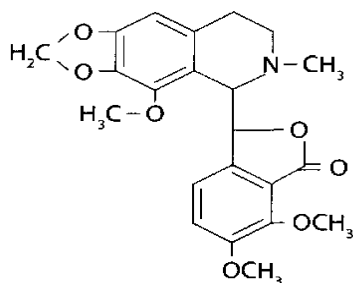
морфин



папаверин

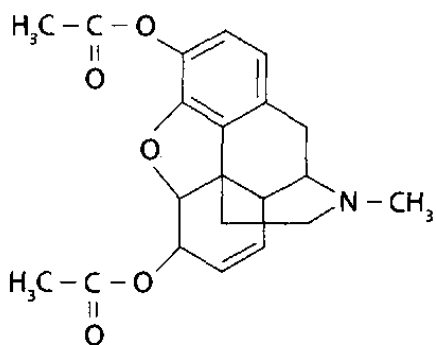


тебаин

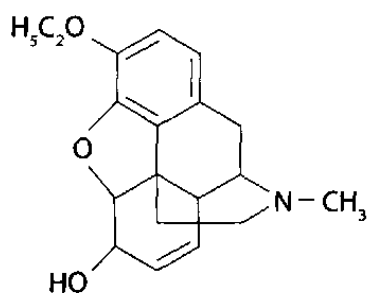


носкапин (наркотин)

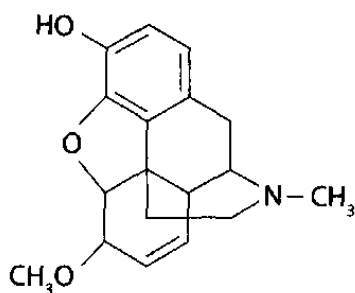
Полусинтетические производные морфина:



диацетилморфин (героин)



этилморфин (дионин)



орипавин

5.4.1 Токсикологическое значение опиатов

Опий, наиболее доступный для наркоманов продукт, представляет собой сгущенный млечный сок, получаемый из незрелых головок мака снотворного. Высушенный сок является опиум-сырцом. В состав опиум-сырца входит более 50 алкалоидов, содержание которых доходит до 20 % общей массы. Остальную часть составляют углеводы, кислоты, жиры, аминокислоты.

Опий как таковой принимают в виде смеси для курения. Чаще всего из него готовят вытяжки для внутривенного введения. Опий действует на организм подобно опиопону.

Опиопон получают следующим образом. Водную вытяжку из опиума обрабатывают раствором щелочи. При этом часть алкалоидов выпадает в осадок, который отделяют и обрабатывают хлороводородной кислотой. Щелочной фильтрат экстрагируют органическим растворителем и органическую фазу взбалтывают с хлороводородной кислотой. Обе кислые вытяжки объединяют, выпаривают досуха.

Таким образом, опиопон представляет собой смесь гидрохлоридов алкалоидов опиума. В его состав входят от 48 % до 50 % морфина и от 32 % до 35 % других алкалоидов. Это порошок от кремового до желто-коричневого цвета, хорошо растворимый в воде. Водный раствор при взбалтывании сильно пенится. Медицинские показания для применения опиопона такие же, как и для морфина. При отравлении опиумом и опиопоном проявляются признаки, характерные для морфина.

Острое отравление опиумом и опиопоном развивается постепенно, так как эти препараты медленно всасываются. Появляется головокружение, тошнота, рвота, наступает сонливость, а затем непробудный сон. Зрачки узкие, не реагирующие на свет. Дыхание поверхностное, замедленное. Пульс малый, еле прощупывается. Лицо бледное с синюшным оттенком. Глубокое угнетение ЦНС

заканчивается параличом дыхательного центра. Смертельный исход наступает при явлениях нарастающего отека легких.

При судебно-химическом анализе, в случае обнаружения в исследуемом объекте морфина, меконовой кислоты, наркотина и других алкалоидов делают заключение об отравлении опиумом. Иногда в содержимом желудка и в кишечнике обнаруживают семена опийного мака. При обнаружении в исследуемых объектах только морфина, наркотина и других алкалоидов опиума делают заключение об отравлении опиумом.

Объектами исследования при отравлении опиумом (опиумом) являются: желудок с содержимым, почки, моча, печень с желчным пузырем, селезенка, легкие в случае ингаляционного отравления.

Морфин - наиболее фармакологически активный алкалоид опийного мака. Содержащиеся в маке алкалоиды представлены солями меконовой, яблочной и серной кислот. Опиум был известен уже за много веков до нашей эры. Название «опиум» по-гречески означает «растительный сок». Морфин - один из основных представителей группы наркотических анальгетиков, используемых в медицинской практике. Это сильное болеутоляющее средство. Морфин оказывает противошоковое действие при травмах, которое объясняется понижением возбудимости болевых центров.

Морфин способен вызвать эйфорию. При повторном применении развивается пристрастие (морфинomanия). Для здорового человека, не употребляющего наркотики, токсическая доза составляет при подкожном введении 0,1 г, а смертельная при приеме внутрь от 0,3 до 1,4 г.

Малые дозы морфина (от 5 до 10 мг) урежают и повышают глубину дыхания, возникает эйфория, оживляются фантазии, острее становится восприятие, выполнение умственной и физической работы сопровождается иллюзией легкости, затрудняется концентрация внимания, уменьшается двигательная активность. Внешний вид морфиниста характеризуется преждевременным старением, трофическими расстройствами, кожа становится сухой, землисто-серого цвета, зубы лишаются эмали, появляется кариес, зрачки

сужаются, вместо вен определяются плотные тяжи, лицо одутловатое, нарушается функция желудочно-кишечного тракта.

Основные пути метаболизма морфина – конъюгирование с глюкуроновой и серной кислотами.

Объектами судебно-химического анализа на морфин являются желудок с содержимым, печень, селезенка, почки, легкие, кровь, моча, головной и спинной мозг.

Кодеин - алкалоид, содержащийся в опийном маке. Его получают также полусинтетическим путем из морфина. По характеру действия на организм кодеин близок к морфину, но болеутоляющий эффект у него выражен слабее. Кодеин способен уменьшать возбудимость кашлевого центра, он в меньшей степени угнетает дыхание, слабее тормозит деятельность ЖКТ, но может вызывать запоры.

В медицинской практике кодеин назначают для подавления возбуждения кашлевого центра и реже при диарее. Его часто сочетают в лекарственных формах с анальгином, кофеином, фенobarбиталом. Кодеин способен усилить действие жаропонижающих и анальгезирующих средств. Такие комбинированные лекарственные препараты применяют при головных болях, невралгиях, мигренях и т.п. Максимальные дозы кодеина: разовая - 0,05 г, суточная - 0,2 г. Выпускают кодеин в виде порошка и таблеток (с гидрокарбонатом натрия) по 0,015 г. Кодеин входит в состав комбинированных препаратов «Коделак», «Терпинкод», «Кодтерпин», «Таблетки от кашля», «Пенталгин», «Кодипронт», «Седалгин».

Кодеина фосфат по характеру действия и показаниям аналогичен кодеину (содержит 80 % кодеина основания). Он применяется при лечении детей раннего возраста.

При повторном применении кодеина иногда наблюдается пристрастие. При приеме больших доз кодеина (от 0,2 до 0,3 г) отмечается угнетение дыхательного центра, возбуждающий эффект с подъемом нервно-психического тонуса. Смертельная доза кодеина 0,5 г. Признаки отравления проявляются через 30 или 40 мин после приема симптомами сонливости, головной боли, шума в

ушах, тошноты, жжения в подложечной области, сухости во рту, заторможенности.

При тяжелом отравлении развивается глубокая кома с полной потерей рефлексов. Смерть наступает от остановки дыхания.

Объектами анализа при отравлении кодеином являются желудок и толстая кишка с содержимым, почки, моча, мозг, печень с желчным пузырем, кровь.

Папаверин - алкалоид опийного мака. В настоящее время его получают синтетическим путем и применяют в виде гидрохлорида. Папаверин оказывает сосудорасширяющее и спазмолитическое действие. В больших дозах уменьшает возбудимость сердечной мышцы и замедляет внутрисердечную проводимость, проявляет слабый седативный эффект. Имеет небольшое токсикологическое значение.

Наркотин (носкапин) - алкалоид, входящий в состав опия и опнопона. Наркотин в медицинской практике применения не находит. Он не обладает наркотическим и анальгезирующим эффектом, не вызывает привыкания. Имеет судебное и судебно-медицинское значение. Обнаружение его во внутренних органах, биологических жидкостях или в кустарно изготовленных наркотических средствах является одним из доказательств отравления опиумом или опнопоном.

Полусинтетические опиаты.

Этилморфин (дионин). Этот лекарственный препарат по действию близок к кодеину. Этилморфин применяют (редко) внутрь для уменьшения возбуждения кашлевого центра при хронических бронхитах, туберкулезе легких и как болеутоляющее средство. Иногда этилморфин используют в офтальмологической практике. Препарат оказывает анальгезирующее действие на глаза при кератите, ирите, инфильтратах роговой оболочки, конъюнктивите, воспалении радужной оболочки и других заболеваниях глаз. В глазной практике применяют этилморфин в виде 1 % или 2 % растворов или в виде мази. Этилморфин оказывает слабое действие на ЦНС. Картина отравления этилморфином напоминает картину отравления кодеином.

Героин (Smack, Junk, Horse, Stuff). Это быстродействующий наркотический анальгетик с малым периодом полувыведения. Он относится к числу наиболее опасных наркотических средств. Героин является синтетическим веществом, изготавливаемым в подпольных лабораториях. Его получают по реакции ацетилирования из морфина и морфинсодержащего сырья, к числу которого относится морфин-сырец, экстракционный опий, экстракт маковой соломки и др. Продуктом реакции является диацетилморфин. Полученный, таким образом героин содержит примеси алкалоидов, не подвергшихся ацетилированию, ацетилкодеин, носкапин, меконин (продукт восстановительного разложения носкапина) и др.

На нелегальный рынок героин часто поступает с добавками (с целью разбавления) прокаина или в виде смеси с кокаином основанием (спидболл), которая предназначена в основном для курения. Героин используют в виде раствора для подкожных или внутривенных инъекций, порошкообразную форму курят, вдыхают или втягивают носом. Применение героина часто сочетается с приемом алкоголя или депрессантов.

Последствием действия героина на организм является привыкание, которое наступает быстро, иногда с первого раза. Героин вызывает расстройство пищеварения, деятельности внутренних органов. Наблюдается нарушение эндокринного баланса, снижение иммунитета, импотенция, опасное подавление многих реакций организма. Развивается безразличие, депрессия, раздражительность, истерия, психопатические реакции, склонность к гневу, агрессии, суициду. Ухудшается работа мозга, наблюдаются отек мозга, судорожные припадки, необратимые изменения личности, умственная, психическая и физическая деградация, остановка дыхания, потеря сознания, перебои в работе сердца и смерть.

После прекращения приема наркотика характерно эмоциональное напряжение, раздражительность, зрачки расширяются, глаза слезятся, наблюдается слюнотечение, потливость, «гусиная кожа», мышцы спины, рук и ног напрягаются, возникает физическая слабость, аритмия, тахикардия, тошнота,

рвота, появляются выламывающие боли мышц рук, ног, сведение жевательных мышц, икр, нестерпимые боли в животе, пояснице, в области сердца, зуд, жжение.

Смесь героина с кокаином (спидболл) используют для внутривенного введения и курения. Присутствие двух веществ усиливает действие на организм каждого из них. Постоянное курение спидболла вызывает болезнь горла, эмфизему легких, бронхиты, респираторные заболевания, теряется интерес к еде и сну, привыкание к наркотику очень быстрое.

Следует отметить, что группа морфинановых анальгетиков постоянно расширяется, и в ближайшем будущем химику, возможно, придется решать новые задачи с новыми опиатами. Все вещества проявляют основные свойства.

5.4.2 Изолорование и обнаружение опиоидов

При изолировании из биологических объектов в хлороформный экстракт из водной вытяжки при рН от 2 до 3 переходят частично папаверин, наркотин. Хлороформом из раствора с рН от 8 до 10 экстрагируются морфин, кодеин, этилморфин, наркотин и папаверин. Общими методами, из-за плохой растворимости в хлороформе, морфин изолируется в количестве от 1 % до 2 %. При анализе трупного материала на морфин был предложен хроматографический метод, основанный на использовании катионита СДВ-3 и элюировании сорбированного морфина 5 % раствором аммиака (изолируется до 20 % морфина), и метод Крамаренко (можно изолировать до 50 % морфина).

При химико-токсикологическом исследовании лекарственных, наркотических, ядовитых веществ, часто используют ТСХ-скрининг [16, 35 - 36].

Скрининг («screening» в переводе с английского означает «просеивание», «отбор», «сортировка») — это поэтапное движение к выявлению индивидуального вещества путем последовательного исключения групп ядовитых веществ, а затем отсеивания веществ в обнаруженной группе до выявления конкретного соединения.

При проведении общего ТСХ-скрининга извлечений из кислого и щелочного растворов папаверин, наркотин, морфин, кодеин, этилморфин, героин обнаруживаются в виде оранжевых пятен при обработке пластинки реактивом Драгендорфа [16, 41, 42].

Хроматография в тонком слое сорбента. Остаток после испарения экстракта из водной вытяжки при рН=2 и рН от 8 до 10 наносят на стартовые линии хроматографических пластинок марки «Силуфол», «Сорбфил», «Кизельгель-60 (G)», содержащие флуоресцирующую добавку. Одновременно на пластинку наносят растворы «стандартов» в метаноле с концентрацией 1 мг/мл морфина, кодеина и других опиатов в количестве от 5 до 10 мкл. В качестве частных систем растворителей для опиатов чаще всего используют системы толуол - ацетон - этанол – 25 % раствор аммиака (45:45:7:3) или этилацетат - метанол -25 % раствор аммиака (85:10:5). Камеру насыщают парами системы путем обертывания внутренней ее части смоченной в системе фильтровальной бумагой. После подъема системы на высоту 10 см пластинку высушивают и выдерживают в термостате при 120 °С в течение 10 мин с целью удаления следов аммиака [48].

Для проявления пятен на пластинке используют (последовательно):

- освещение УФ-светом при длине волны 254 нм - регистрируют пятна по отсутствию флуоресценции;
- обработку реактивом Драгендорфа - обнаруживают оранжевые пятна на желтом фоне;
- обработку подкисленным раствором йодплатината калия - пятна опиатов темнеют, а пятна морфина переходят в сине-фиолетовый цвет.

В указанных условиях опиаты, их метаболиты и аналоги хорошо разделяются между собой. Значение величин R_f зависит от лабораторных условий (температуры, влажности и др. параметров).

Качественные реакции

Часть хлороформных экстрактов, полученных из объектов исследования, распределяют на фарфоровых чашках, испаряют до получения сухих остатков и наносят по 2 капли реактивов, образующих характерное окрашивание с большинством опиатов. Полученную окраску фиксируют сразу и затем наблюдают ее изменение (переход в другое окрашивание).

Основными реактивами окрашивания для опийных алкалоидов и их аналогов являются реактивы Манделина (раствор ванадата аммония в концентрированной серной кислоте), Марки (раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте), Фреде (раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте), Эрдмана (смесь концентрированной серной и азотной кислот). Аналитический сигнал действия этих реактивов на опиоиды приведен в таблице 5.1.

Если ни с одним из реактивов ни мути, ни осадка не образуется, делают заключение о необнаружении алкалоидов и веществ основного характера. Если хотя бы с одним из реактивов образуется муть и осадок, то проводят дальнейшее исследование с использованием подтверждающих методов и реакций [16, 43].

Кроме использования специальных реактивов проводят характерные реакции окрашивания на отдельные вещества.

Морфин

При добавлении к остатку, содержащему морфин, хлорида железа (III) наблюдают синее окрашивание.

При добавлении к остатку пару капель концентрированной азотной кислоты морфин дает кроваво-красное окрашивание, переходящее в оранжево-желтое.

Часть экстракта из объекта испаряют до сухого остатка, который растворяют в 1 мл 10 % раствора гидроксида натрия. Полученный щелочной раствор осторожно по стенкам пробирки переливают в раствор диазотированной сульфаниловой кислоты. На месте соприкосновения двух растворов появляется красное окрашивание.

Таблица 5.1 - Перечень качественных реакций на алкалоиды

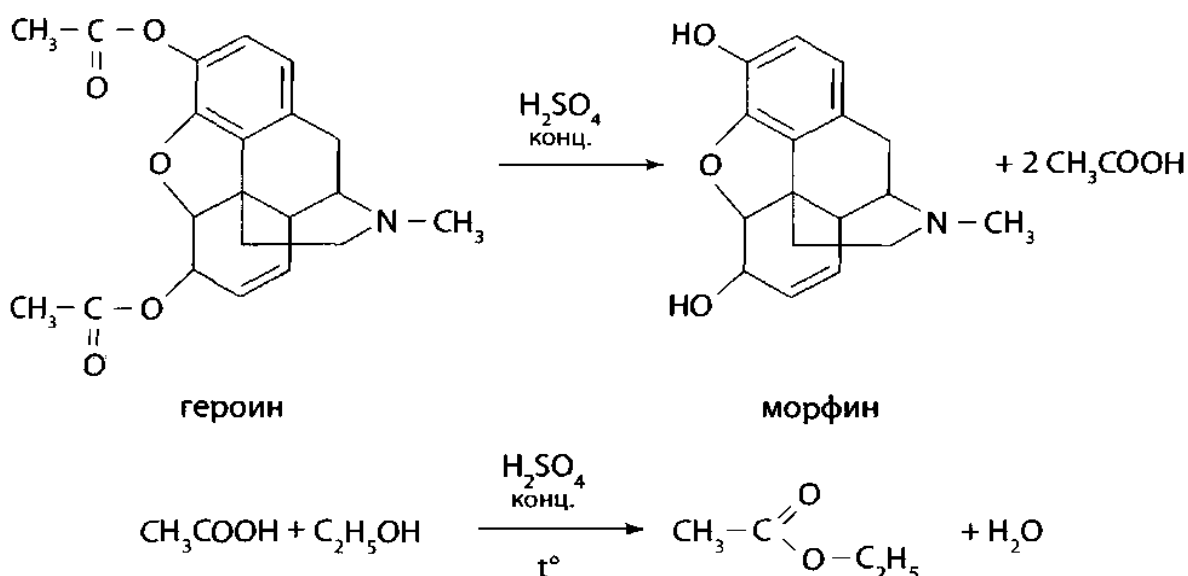
Исследуемое вещество	Окраска, возникающая при добавлении реактива			
	Манделина	Марки	Фреде	Эрдмана
Героин	фиолетовая	красная → фиолетовая	фиолетовая → грязно-зеленая → розовая	
Морфин	фиолетовая	красно- фиолетовая	фиолетовая	красная → желтая
Кодеин	зеленая → синяя	сине- фиолетовая → зеленая	зеленая → синеватая	—
Этилморфин	зеленая	синяя → сине- фиолетовая	зеленая → синяя	—
Наркотин	красная → бурая → фиолетовая	фиолетовая → зеленая → желтая	сине-зеленая, при t° → вишнево- красная	красная → фиолетово- красная
Папаверин	сине- фиолетовая	розовая → фиолетовая	зеленая	красная

Героин

При добавлении к наркотическому средству концентрированной серной кислоты наблюдают образование синего окрашивания.

При добавлении к наркотическому средству концентрированной азотной кислоты наблюдают образование желтого окрашивания.

Реакция этерификации. К части исследуемого наркотического средства добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, несколько капель этилового спирта и нагревают - ощущают характерный запах уксусноэтилового эфира (яблочной эссенции).



Микрокристаллоскопические реакции

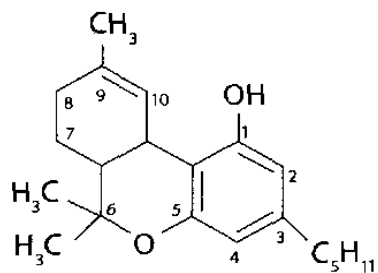
Для проведения реакций хлороформный экстракт из объекта испаряют на предметных стеклах до сухого остатка, добавляют 2 капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю соответствующего реактива. Смесь выдерживают во влажной камере 15 мин - наблюдают образование кристаллического осадка с характерной формой кристаллов для каждого вещества. В качестве реактивов используют хлорид ртути (II), хлорид кадмия (II), соль Рейнеке, пикролоновую кислоту, цианид натрия и др.

5.5 Каннабиноиды

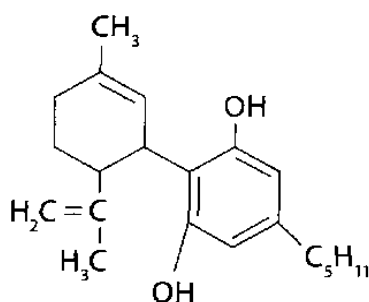
К этой группе относят вещества, находящиеся в различных частях конопли посевной (*Cannabis sativa*). В конопле идентифицировано более 30 различных каннабиноидов. Наркоманы употребляют препараты конопли чаще всего в виде марихуаны и гашиша. Действие гашиша на организм в 5 раз сильнее, чем действие марихуаны.

С 1992 г. в США и Германии используется тетрагидроканнабинол для лечения глаукомы и токсикоза раковых больных, прошедших курс химиотерапии.

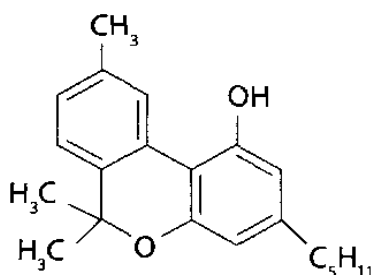
Основными каннабиоидами являются 5 соединений:



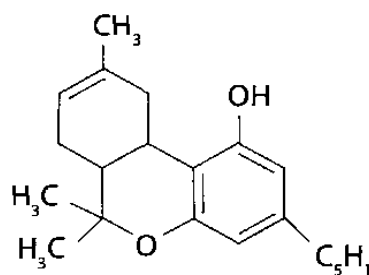
Δ^9 -тетрагидроканнабинол
 Δ^9 -ТГК



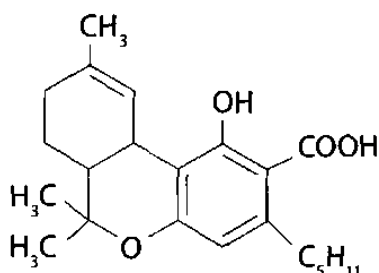
каннабидиол (КБД)



каннабинол (КБ)



Δ^8 -тетрагидроканнабинол
(Δ^8 -ТГК)



Δ^9 -тетрагидроканнабинол-2-карбоновая кислота (Δ^9 -ТГК-кислота)

В настоящее время каннабис, его препараты и все изомеры ТГК входят в список № 1 Постоянного Комитета по контролю наркотиков РФ, что запрещает их использование с любыми, в том числе и медицинскими целями.

Наибольшее распространение на нелегальном коммерческом рынке получили следующие формы наркотических средств из конопли.

Марихуана - высушенная и измельченная верхняя часть растения с листьями и цветками. Содержание психоактивных веществ в марихуане доходит до 15 %.

Гашиш (hash) - смола (смолка), производимая каннабисом (*Cannabis sativa*) в определенный период развития растения. Имеет зеленый, темно-коричневый или черный цвет. Содержание ТГК составляет от 2 % до 10 %.

Гашишное масло - экстракт растительного материала или смолы каннабиса, полученный извлечением органическими растворителями. Это темная, жидкая, вязкая масса. Содержание ТГК колеблется от 10 % до 60 %.

В зависимости от способа изготовления полученные наркотические средства из конопли на черном рынке получили названия: «анаша», «харас», «хирус», «марихуана», «травка», «план», «киф», «дагга», «маханга» и др [4, 38].

Способы употребления наркотических средств из конопли:

- курение (вдыхание дыма). С этой целью используют сигареты с добавкой гашиша или гашишного масла. Наркотический эффект появляется через несколько минут;

- оральное употребление. Чаще всего жевание, заварка, напитки, конфеты с добавкой марихуаны и т.д. Наркотический эффект появляется примерно через один час.

Действие одной дозы длится 3 или 5 часов, иногда 12 часов и более. При употреблении марихуаны, развивается эйфория, которая сопровождается двигательным и речевым возбуждением (появляется необходимость быстро ходить, прыгать, бегать, танцевать), яркими красочными галлюцинациями, ощущением беззаботности и веселья. В таком состоянии человек высказывает свои сокровенные мысли. Любые действия окружающих вызывают неудержимый смех, внимание отвлекается, ассоциации возникают легко и быстро. Возникает гипертрофия собственного «Я» (субъект считает себя высшим человеческим существом), раздвоение личности. Появляется чувство ужаса перед любым шумом (навязчивое ощущение тиканья часов, жужжания комара). Нарушается представление о времени и пространстве. Расстояние между двумя рядом стоящими предметами кажется настолько огромным, что рука никогда не дотянется до рядом стоящего стакана, а вертикальная лестница у стены «тянется до самого неба». Наблюдается обострение эмоциональных

переживаний (давно пережитые сцены прошлого оживают перед глазами в мельчайших деталях с острыми эмоциональными переживаниями). Затем наступает общая слабость, вялость, плаксивость и долгий, глубокий сон с замедлением пульса и понижением температуры тела. Характер действия гашиша зависит от особенностей организма, принятой дозы и активности наркотического средства. Длительное применение наркотических средств из конопли снижает умственные способности человека. Каннабиноиды поражают легкие, сердце, снижают содержание тестостерона (у мужчин), накапливаются в женских репродуктивных органах, вызывают токсическое действие на развитие плода, тяжелое течение родов и раннюю смерть младенцев [39].

При смертельных отравлениях гашишем (в эксперименте на животных) в мозге выявляются тяжелые деструктивные нарушения (венозный застой, различная деструкция ганглиозных клеток вплоть до их гибели).

Биотрансформация и пути метаболизма

При курении каннабиноиды быстро всасываются в кровь. Вследствие разложения веществ возрастает количество физиологически активных соединений КБ и Д⁹-ТГК. Концентрация ТГК в крови достигает максимума через 5 или 30 мин.

Метаболитические процессы проходят активно. Известно около 50 метаболитов каннабиноидов. При введении каннабиноидов через рот за счет плохой растворимости концентрация в крови нарастает медленно и достигает максимума в зависимости от формы приема через 1 или 3 часа [16, 40].

Схема метаболизма представлена на рисунке 5.8.

I фаза – окисление

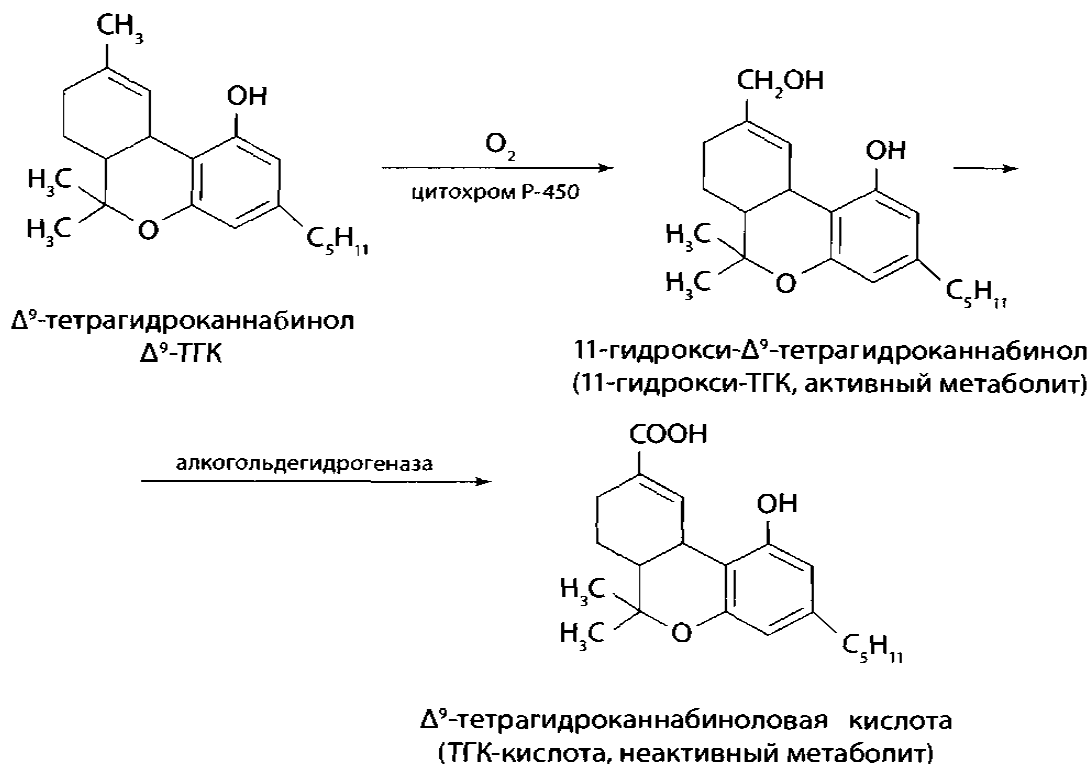


Рисунок 5.8 – Схема метаболизма Δ^9 -тетрагидроканнабинола

Реакции окрашивания (предварительное исследование).

1 Экстракт из объекта в объеме нескольких капель наносят на фильтровальную бумагу, подсушивают и обрабатывают 0,5 % раствором прочного синего Б в 10 % растворе гидрокарбоната натрия. Каннабиноиды обнаруживаются на бумаге в виде пурпурно-красного пятна.

2 К части экстракта добавляют ацетальдегид, раствор ванилина в 96 % этиловом спирте, концентрированную хлороводородную кислоту и 1 мл хлороформа. При встряхивании слой хлороформа окрашивается в фиолетовый цвет.

Реакциям придают судебно-химическое значение при получении отрицательного результата.

Хроматография в тонком слое сорбента.

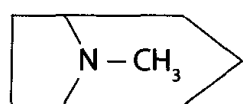
Анализ проводят на хроматографических пластинках «Силуфол». На стартовую линию хроматограммы наносят экстракт, полученный из слюны,

плазмы крови, смывов со рта, мочи и помещают в систему растворителей петролейный эфир - диэтиловый эфир (4:1). Хроматографирование осуществляют двукратно. После подсушивания пластинку обрабатывают 0,5 % раствором прочного синего Б в 10 % растворе карбоната (или гидрокарбоната) натрия. Каннабиноиды на пластинке проявляются в виде окрашенных полос или пятен красного, пурпурного, оранжевого цвета (каннабинол образует пятно с R_f 0,76 пурпурного цвета, тетрагидроканнабинол с R_f 0,84 красного цвета).

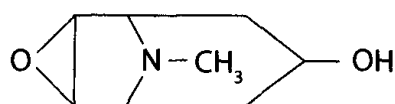
Иммуноферментный метод. Этот метод отличается простотой выполнения и высокой чувствительностью. С его помощью можно обнаружить многие метаболиты каннабиноидов. У лиц, хронически употребляющих каннабиноиды, после последнего употребления этим методом можно их обнаружить в течение 77 дней, а у периодически употреблявших - в течение 29 дней.

5.6 Производные тропана

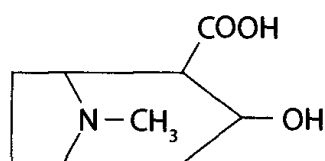
Тропан представляет собой конденсированную систему, состоящую из пирролидинового и пиперидинового циклов. Производные тропана распространены в основном в растениях семейства пасленовых и эритроксиловых. Природные алкалоиды подразделяют на производные спиртов тропина (3-гидрокситропан), скопина (6,7-эпокси-3-гидрокси-тропин) и эггонина (3-гидрокси-2-карбокситропан) [29]:



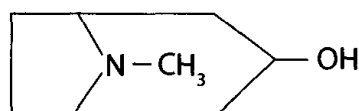
тропан



скопин



эггонин



тропин

В медицинской практике применяют «Атропина сульфат» и различные препараты красавки.

Из листьев и травы красавки производят настойку, густой и сухой экстракты, входящие в различные лекарственные формы (таблетки, свечи) и комбинированные препараты («Бекарбон», «Бесалол», «Белалгин», «Бепасол», «Белластезин», «Таблетки желудочные с экстрактом красавки», «Беллатаминал», «Беллоид», «Бетиол», «Анузол», препарат «Солутан»). Порошок листьев красавки входит в состав «Астматола» и «Астматина» [40].

Атропина сульфат находит применение в качестве активного антидота при отравлении разными веществами, в том числе и фосфорорганическими соединениями.

Атропина сульфат применяют широко в глазной практике для расширения зрачка с диагностической целью (исследование глазного дна, определение истинной рефракции и т.д.), а также при паркинсонизме, при различных патологических состояниях, сопровождающихся повышением тонуса блуждающего нерва, при болях, связанных со спазмами гладкой мускулатуры.

Качественное обнаружение

1 Реакция перевода атропина в полинитропроизводное и доказательство последнего (реакция Витали — Морена)

Несколько капель хлороформного раствора исследуемого вещества помещают в фарфоровую чашечку и растворитель испаряют без нагревания. К сухому остатку добавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и подвергают выпариванию на водяной бане досуха. Затем чашку охлаждают и к полученному остатку добавляют одновременно 2 капли 10 % раствора едкого натра и 5 капель ацетона, при наличии атропина наблюдают фиолетовое быстро исчезающее окрашивание.

Обнаруживается 1 мкг алкалоида в пробе.

2 Реакция с солью Рейнеке

Остаток исследуемого вещества растворяют в капле 0,1 н. HCl и соединяют на предметном стекле с каплей свежеприготовленного 1 % раствора

соли Рейнеке — выделяется аморфный сиреневого цвета осадок, быстро кристаллизующийся при стоянии. Рейнекат атропина выделяется в виде сростков кристаллов с ромбовидными концами (рисунок 5.9).

Открываемый минимум 0,1 мкг атропина при предельном разбавлении 1:200 000.

3 Реакция с бромной водой

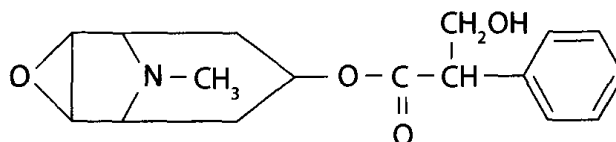
При действии на каплю исследуемого водного раствора каплей насыщенной бромной воды в ту же минуту выделяется осадок, состоящий из желтых и красно-бурых кристаллов рисообразной и игольчатой формы. Кристаллы при стоянии препарата растворяются.

Открываемый минимум 0,016 мкг атропина при предельном разбавлении 1:24 312.



Рисунок 5.9 - Кристаллы пахикарпина с раствором йода в йодиде калия

Скополамин - алкалоид, содержащийся вместе с гиосциамином в красавке, белене, дурмане, скополии:



Применяется в медицинской практике в виде скополамина гидробромида в качестве спазмолитического средства. Скополамин действует на периферические холинреактивные системы: вызывает расширение зрачков, паралич аккомодации, учащение сердечных сокращений, расслабление гладких мышц (bronхов, ЖКТ), уменьшение секреции пищеварительных и потовых желез. Его

используют в психиатрической практике как успокаивающее средство, в неврологии для лечения паркинсонизма, как противорвотное и успокаивающее средство при морской и воздушной болезни. Известны таблетки «Аэрон», содержащие скополамин камфорнокислый. Кроме того, в медицинской практике находят применение синтетические производные тропана: гоматропина гидробромид, тропацин и тропафен. Их токсикологическое значение значительно меньше по сравнению с указанными выше веществами.

Качественное обнаружение

Реакцию Витали — Морена и с солью Рейнеке для скополамина проводят так же, как и для атропина.

Образующийся кристаллический осадок, как по форме кристаллов, так и по их окраске аналогичен с рейнекатом атропина.

Открываемый минимум 3 мкг скополамина при пре дельном разбавлении 1:1000.

Реакция образования бромоаурата

К остатку исследуемого вещества, растворенному в одной капле 0,1 н. соляной кислоты, добавляют каплю реактива, состоящего из 5 % раствора золотохлористоводородной кислоты, концентрированной соляной кислоты и ацетона (1 : 1 : 1), а затем туда же вносят 3 или 4 кристалла бромида калия. При наличии скополамина образуются односторонние зубчатые дендриты светло-коричневого, желтого и красно-оранжевого цвета.

Чувствительность реакции 1 мкг скополамина при предельном разбавлении 1:20 000.

Кокаин ("кока", "кокс", "снег", "крэк", "марафет") - метилбензоилэргонин - одно из самых распространенных наркотических средств, является алкалоидом, содержащимся в листьях куста коки (*Erythroxylon coca*). Содержание кокаина в листьях колеблется от 1 % до 2 %. Он представляет собой вещество стимулирующего действия и при употреблении вызывает сильную психическую зависимость. Кокаин употребляют, как правило, вдыхая через нос, а также

курением с табаком или марихуаной. Иногда употребляют кокаин и внутривенно.

Наряду с кокаином в листьях коки содержатся другие алкалоиды: экгонин, метилэксгонин, *cis*- и *trans*-циннамилкокаин, труксилкокаин. Эти алкалоиды являются эфирами экгонина и органических кислот (бензойной, коричной, труксильной).

Чистый кокаин - основание - белое кристаллическое вещество с температурой плавления 98 °С, растворимое в воде (1:700), этаноле (1:6,5), хлороформе (1:0,7), диэтиловом эфире (1:3,5).

Кокаина гидрохлорид - белый кристаллический порошок с горьким вкусом, вызывающий онемение языка, имеющий температуру плавления 183 °С. Кокаина гидрохлорид легко растворим в воде, этаноле, хлороформе, нерастворим в диэтиловом эфире.

Изымаемый из незаконного оборота кокаин встречается в виде белого кристаллического порошка, гранул и комков белого, желтого, коричневого цвета. Особой разновидностью кокаина является крэк, представляющий собой кокаин - основание, приготовленное по определенной технологии с применением воды и питьевой соды.

Кокаин готовят почти исключительно полусинтезом из алкалоидной смеси (кокаина - сырца), получаемой путем кислой или щелочной экстракции листьев коки. Листья перемешивают со щелочью, керосином и серной кислотой (и иногда добавляют KMnO_4). В дальнейшем получают от белого до слабокоричневого цвета пасту со средним содержанием кокаина от 40 % до 70 % (в виде соли и свободного основания), содержащую также другие алкалоиды, бензойную кислоту, остатки керосина, серной кислоты и другие компоненты.

В криминальных образцах кокаина в качестве примесей встречаются: *cis*- и *trans*-циннамилкокаин, бензойная кислота, метилэксгонин, поташ, характерные для кокаина - сырца. В кокаин также часто входят посторонние добавки: прокаин (новокаин), лидокаин, совкаин, анальгин, сахара, крахмал, сода.

Качественные реакции

Реакция с парадиметиламинобензальдегидом

Раствор *n*-диметиламинобензальдегида готовят следующим образом: 0,5 г *n*-диметиламинобензальдегида растворяют в 50 мл смеси 60 объемных частей этанола и 40 объемных частей концентрированной серной кислоты.

Раствор может храниться достаточно долго в герметически закрытой темной склянке. При проведении испытаний несколько миллиграммов исследуемого вещества помещают в фарфоровую чашку, прибавляют несколько капель индикаторного раствора, нагревают смесь до 100 °С и выдерживают при этой температуре 3 минуты. В случае наличия кокаина появляется красное окрашивание.

Реакция образования перманганата кокаина

Несколько капель исследуемого хлороформного раствора постепенно наслаивают на предметное стекло, органический растворитель испаряют без нагревания, к остатку добавляют одну каплю 1 % раствора соляной кислоты. Жидкость испаряют при комнатной температуре.

Операцию переведения основания кокаина в хлоргидрат повторяют 2 или 3 раза. Затем к сухому остатку прибавляют одну каплю 1 % раствора перманганата калия. Через 10 или 20 минут при наличии кокаина наблюдают характерной формы кристаллы красно-фиолетового цвета в виде прямоугольных пластинок и сростков из них.

В тех случаях, когда вместо прямоугольных кристаллов по краю капли образуются розетки неправильной формы, окрашенные в розовый цвет, необходимо осторожно перемешать осадок концом оплавленного капилляра, добавить еще каплю раствора перманганата калия, оставить на 20 минут, а затем снова рассматривать под микроскопом (рисунок 5.10).

Открываемый минимум 4 мкг при предельном разбавлении 1:10 000.

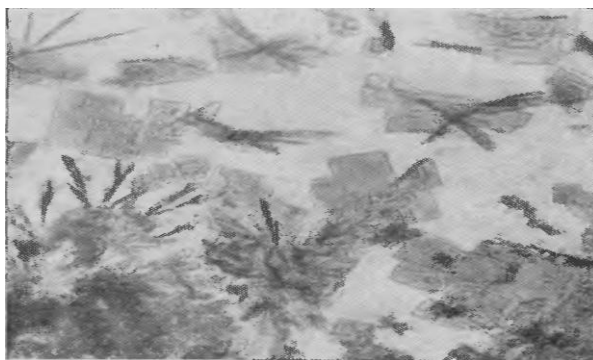


Рисунок 5.10- Кристаллы перманганата кокаина

Микрористаллическую реакцию на кокаин рекомендуется ставить в начале занятия, так как испарение соляной кислоты при комнатной температуре занимает много времени.

Реакция образования хлороплатината

При нанесении на каплю водного раствора исследуемого вещества капли 10 % раствора платинохлористоводородной кислоты через несколько минут (при концентрированных растворах тотчас) образуются сrostки кристаллов в виде перистых дендритов светло-желтого цвета (рисунок 5.11).



Рисунок 5.11 - Кристаллы хлороплатината кокаина

Открываемый минимум 33 мкг кокаина при предельном разбавлении 1:3333.

Тонкослойная хроматография

Исследование кокаина методом тонкослойной хроматографии проводят в системах растворителей: метанол – 25 %-ый водный раствор аммиака, 100:1,5 (система № 1) и гексан-хлороформтриэтиламин, 14:9:4 (система № 2), используя при этом хроматографические пластины с немодифицированным слоем

силикагеля - sorbfil, merck, silufol. Навеску порошкообразного вещества массой от 1 до 20 мг (если на исследование поступили гранулы или комки, то их предварительно измельчают в ступке) растворяют в 0,5 мл хлороформа, добавляя 1 каплю 25%-го водного раствора аммиака, нагревают смесь до начала кипения и после охлаждения наносят на хроматографическую пластину 5 или 6 мкл полученного экстракта. После однократного хроматографирования в системах № 1 или № 2 зоны выявляют по гашению флуоресценции в лучах УФ-лампы при 254 нм, а также реактивом Драгендорфа - коричневое окрашивание (для системы № 2).

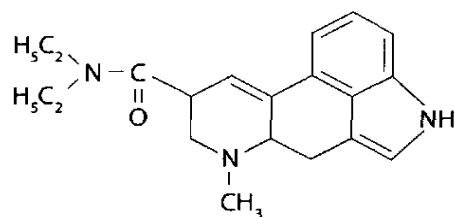
Значение Rf для кокаина на пластинах silufol в системе № 1 равно 0,71, в системе № 2 равно 0,76, причем в обеих системах зона кокаина располагается очень близко к зоне димедрола.

5.7 Производные индола – галлюциногены

В группу галлюциногенов включены вещества различного химического строения, объединенные по признаку токсического воздействия на организм человека, главным образом по их влиянию на ЦНС. Галлюциногены способны вызвать изменение настроения и характер мышления человека. Возбуждение ЦНС, приводящее к сдвигу сознания, эйфории, неадекватному восприятию окружающей среды, нарушению логического мышления, сильной депрессии и деперсонализации, может быть причиной несчастных случаев и даже самоубийства.

По химической классификации галлюциногены можно разделить на производные индола, фенциклидин и близкие по структуре соединения, являющиеся производными амфетамина.

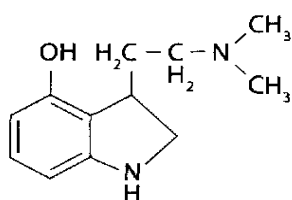
К галлюциногенам относят диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD), бутофенин, псилобицин, псилоцин и др.



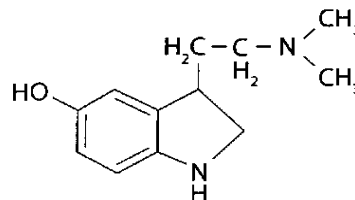
диэтиламид лизергиновой кислоты
(LSD)



псилоцибин
фосфорнокислый эфир-4-гидрокси-
-N-диметилтриптамина



псиоцин
4-гидрокси-N-диметилтриптамин



буфотенин
5-гидрокси-N-диметилтриптамин

Для России наибольшее токсикологическое значение имеет диэтиламид лизергиновой кислоты.

Токсикологическое значение и анализ LSD

LSD - бесцветное кристаллическое вещество без запаха и вкуса, нерастворимо в воде, растворимо в органических растворителях, химически стабильно. При кипячении в течение 1 часа в 7 % водном растворе щелочи гидролизуется до лизергиновой кислоты и диэтиламина. Обладает основными свойствами, образует соли с неорганическими и органическими кислотами.

Реакция с реактивом Марки

К части сухого остатка добавляют 2-3 капли реактива Марки. Образуется оранжево-коричневое окрашивание, переходящее в фиолетовое.

Реакция с *n*-диметиламинобензальдегидом в присутствии серной кислоты и хлорида железа (III) (реактив ван-Урка) образуется красно-фиолетовое или фиолетовое окрашивание. Это групповая реакция на алкалоиды спорыньи.

Менее специфичны реакции с концентрированной серной кислотой, с реактивом Фреде, которые также могут быть использованы для подтверждения наличия LSD.

Тонкослойная хроматография. Анализ проводится с извлечением из биологического объекта или из кустарно изготовленного препарата LSD. Сухой остаток после испарения органического растворителя растворяют в метаноле и наносят на стартовую линию пластинки «Силуфол».

Хроматографируют в системе хлороформ - ацетон - этанол – 25 % раствор аммиака (20:20:3:1). Пластинку высушивают и детектируют в УФ-свете (366 нм), а затем обрабатывают реактивом Эрлиха (п-диметиламинобензальдегид в кислой среде). Пятно LSD проявляется со значением R_f 0,57.

5.8 Лабораторная работа. Обнаружение и разделение барбитуратов с помощью тонкослойной хроматографии

На стартовую линию хроматографической пластинки «Силуфол» или «Сорбфил» наносят с помощью капилляров в виде точек стандартные (1 мг/мл) хлороформные растворы барбитуратов (барбитал, бармамил, фенobarбитал, этаминал, бензонал, бензобамил) и хлороформное извлечение. Пластинку хроматографируют в системе хлороформ – н-бутанол – 25 % раствор аммиака в объемном соотношении 7:4:0,5.

Длина пробега фронта растворителей 10 см. После сушки пластинок при комнатной температуре в токе теплого воздуха до полного удаления растворителей пластинку равномерно опрыскивают 0,03 % раствором дифенилкарбазона (ДФК) в хлороформе, а затем водным раствором сульфата ртути. После этого пластинку высветляют под УФ-лампой.

Барбитураты обнаруживают по сине-фиолетовым или красно- фиолетовым пятнам на исчезающем сиреневом фоне. По их расположению рассчитывают значения R_f изучаемых веществ.

Величина R_f исследуемого хлороформного извлечения и отношение его к метчикам позволяют сделать предположение о возможном присутствии одного или нескольких барбитуратов.

Количественный анализ

Количественное определение барбитуратов, изолированных из биологического материала, проводят методом спектрофотометрии.

Барбитураты обладают специфической абсорбцией в ультрафиолетовой области спектра, при рН 10 и 13 и отсутствии таковой при рН 2. Максимум поглощения – 240 нм (при рН 10), 260нм (при рН 13) (рисунок 5.12).

Предварительно необходимо определить наличие определенного барбитурата методом ТСХ. Приготовление стандартного раствора барбитуратов.

Точную навеску барбитурата (50 мг) помещают в мерную колбу на 1000 мл и растворяют ее в 100 мл фосфатного буфера (рН 7,4) при осторожном перемешивании, затем объем жидкости доводят до метки дистиллированной водой. Концентрация барбитурата составляет 50 мкг/мл.

Построение калибровочного графика. В ряд мерных колб на 50 мл вносят соответственно 2, 5, 10, 15, 20 мл стандартного раствора барбитурата и доводят до метки боратным буфером (рН 10,0). Измеряют оптическую плотность растворов при $\lambda = 240$ нм в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. Раствором сравнения служит боратный буфер. По средним значениям из 3 определений строят калибровочный график.

Количественное определение барбитуратов, изолированных из биологического материала, проводят следующим образом. 5 мл хлороформного извлечения из кислого раствора помещают в делительную воронку и экстрагируют 3 порциями боратного буфера (15, 10 и 10 мл).

Объединенные водные извлечения собирают в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки боратным буфером. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при $\lambda = 240$ нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см по сравнению с боратным буфером.

По калибровочному графику находят содержание данного барбитурата и рассчитывают концентрацию его в исходном биологическом материале по формуле

$$m = C \cdot 50,$$

где m – масса барбитуратов в пробе, мкг;

C – содержание барбитуратов по калибровочному графику, мкг/мл.

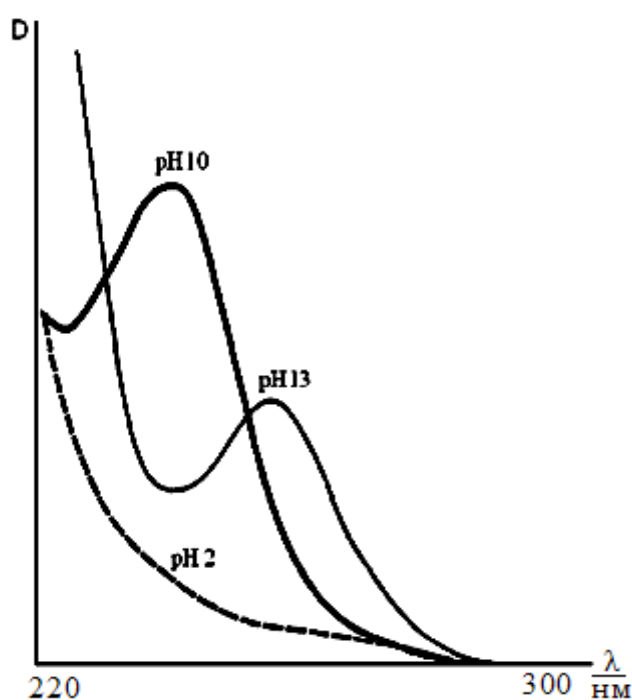


Рисунок – 5.12 Спектры поглощения барбитуратов в зависимости от pH раствора

По полученным данным, делают вывод о количественном содержании барбитуратов в пробе.

5.9 Лабораторная работа. Экспертное исследование плодовых тел грибов, содержащих псилоцин и псилоцибин

Экспертное исследование плодовых тел грибов, содержащих псилоцин и псилоцибин является в настоящее время актуальной задачей в связи с широким распространением данного наркотического средства на территории Российской Федерации [31, 32].

Исследование методом качественных цветных реакций

В ходе исследования несколько мг высушенных измельченных грибов заливают метанолом в соотношении «проба (г) - экстрагент (мл)» 1:10, помещают в ультразвуковую баню на 1 час. После отстаивания и охлаждения несколько капель полученного экстракта наносят на предметное стекло и

упаривают при 50 °С досуха. К полученному сухому остатку прибавляют несколько капель:

- реактива Эрлиха, через 15 минут появляется серо-фиолетовое окрашивание;

- реактива Фреде, через 3 минуты наблюдается серо-коричневое окрашивание.

Исследование методом тонкослойной хроматографии

3 или 10 мкл полученного ранее экстракта наносят на хроматографическую пластину. Хроматографию проводят в системе растворителей: *n*-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода (2:1:1). После окончания хроматографирования пластину сушат при комнатной температуре до удаления растворителей, затем проявляют хроматографические зоны по гашению флуоресценции при 254 нм проявлением реактивами Эрлиха и Фреде.

Для хроматографирования использовали пластины с немодифицированным слоем силикагеля. Значения R_f на этих пластинах, а также окраска зон приведены в таблице 5.2.

Таблица 5.2 - Значения R_f исследуемых соединений в системе *n*-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода в соотношении 2:1:1

Компонент	Пластины		Окраска хроматографических зон после обработки проявляющим реактивом	
	Merck R _f	Sorbfil R _f	Эрлиха	Фреде
Псилоцин	0,75	0,75	Черно-фиолетовая	Темно-зеленая → черно-зеленая
Псилоцибин	0,50	0,46	фиолетовая	зеленая → желто-коричневая

Контрольные вопросы

- 1 Методы изолирования лекарственных ядов?
- 2 Направленное исследование на соединения кислого (производные барбитуровой кислоты), слабоосновного (производные 1,4 – бенздиазепина) и основного характера (алкалоиды, производные эфедрина, новокаин и др.).
- 3 Аналитический скрининг на наркотические вещества на основе тонкослойной хроматографии?
- 4 Токсикологическое значение основных представителей лекарственных и наркотических ядов?

6 Пестициды

6.1 Общая характеристика

Пестициды являются единственным загрязнителем, который сознательно вносится человеком в окружающую среду. Пестициды (ядохимикаты) представляют собой химические препараты для защиты сельскохозяйственной продукции и кормов, для уничтожения паразитов у животных, для борьбы с переносчиками опасных заболеваний и т.п.

Применение пестицидов за последние 20 лет увеличилось в 2,5 раза, число различных пестицидов возросло и в настоящее время составляет более 1000 типов. В развитых странах применение пестицидов достигает до 2 кг на 1 га или около 1,5 кг на душу населения. Пестициды распространяются на большие пространства, весьма удалённые от мест их применения. Кроме того, ядохимикаты легко мигрируют из почвы в растения и оказываются в овощах, картофеле, фруктах, попадают через корма и воду в фауну. Даже в тканях белых медведей Заполярья обнаружены различные высокотоксичные пестициды.

Пестициды, которые могут отрицательно воздействовать на здоровье человека, можно разделить на следующие группы:

- хлорсодержащие инсектициды;
- органические эфиры фосфорной кислоты и карбаматы;
- гербициды и фунгициды;
- пестициды, используемые для борьбы с паразитами животных.

Свойственная человеку вера в сказку дает ему надежду на чудо, что яды убивают только “вредные” организмы, а для человека они безопасны.

Пестициды поступают в организм человека следующим образом:

Непосредственно с фруктами и овощами, если продукты не моются перед едой.

В случае, если пестициды, применяемые для обработки сельскохозяйственных культур, смываются в водоемы, озера, реки и подземные

воды. Употребление в пищу загрязненной воды или рыбы, выращенной в такой воде, также приводит к поступлению пестицидов в организм человека. Вместе с продуктами питания, полученными при переработке сельскохозяйственных культур. Это возможно тогда, когда большое количество пестицидов распыляется на зерновые культуры во время их роста или они попадают в почву и воду, всасываясь затем вместе с минеральными веществами в стебель растения.

При скармливании загрязненных кормовых культур животным, пестициды концентрируются в организме животного и затем поступают в организм человека вместе с мясом и молоком животного.

Поскольку пестициды на каждом последующем пищевом уровне (растения, животные, человек) не распадаются, не выводятся, а только концентрируются, то в организме человека содержание ядовитых веществ может быть очень высоким. Последствия их воздействия на здоровье человека - токсические отравления, осложненные канцерогенными, тератогенными и другими тяжелыми проявлениями.

Особую опасность присутствия в пищевых продуктах представляют хлорсодержащие инсектициды, так как они вызывают острые и хронические отравления с поражением печени, центральной и периферийной нервной систем, других органов.

Остатки хлорорганических инсектицидов сохраняются в окружающей среде в течение многих лет (период полураспада дихлордифенил-трихлорэтана в воде оценивается в 10 лет). Хлорорганические пестициды способны накапливаться в пищевых цепочках до уровней, которые вызывают необратимые изменения в организмах животных и людей. Столь тяжелые последствия привели к тому, что применение этой группы пестицидов ограничено, а наиболее токсичных запрещено.

Но совсем не применять пестициды нельзя – на сегодняшний день это практически единственный способ борьбы с вредителями сельского хозяйства.

6.2 Химико-токсикологический анализ биологических объектов на пестициды

Изолирование пестицидов из биологических материалов наиболее часто осуществляется экстракцией различными органическими растворителями: пентан, н-гексан, гептан, петролейный эфир, эфир, хлороформ, четыреххлористый углерод и др. Единого универсального метода изолирования пестицидов для различных объектов, так же как и общей схемы очистки полученных экстрактов, в настоящее время не существует.

Предложены общие схемы изолирования и очистки хлорорганических пестицидов при исследовании пищевых продуктов и при определении фосфорорганических пестицидов в биологических объектах, но они не получили широкого применения в химико-токсикологическом анализе.

Практически рекомендуются методы изолирования пестицидов для каждого объекта исследования (воздух, пищевые продукты растительного происхождения, почва, кровь, моча, мясо, сливочное масло и т. д. и т. п.) и пестицида.

Методы очистки пестицидов, выделенных из биологических объектов, также чрезвычайно разнообразны. Имеет место очистка перегонкой с водяным паром, экстракцией, кристаллизацией, окислением — восстановлением и т. п. В настоящее время все шире и шире применяются в целях очистки и разделения хроматографические методы, в частности хроматография в тонких слоях и газовая хроматография.

Качественный анализ и количественное определение пестицидов не всегда проводятся по нативному веществу. В большинстве случаев органическое вещество, обладающее пестицидными свойствами, подвергается превращениям в другие, более простые вещества, которые и обнаруживаются или определяются химико-токсикологическим анализом.

Для определения пестицидов по нативному соединению наиболее широкое применение получили хроматографические и биохимические методы анализа [49].

Количество пестицидов органической природы очень велико. Особенно большое токсикологическое значение в настоящее время приобрели пестициды, относящиеся к галогенопроизводным, фенолам, производным карбаминовой кислоты, простым и сложным эфирам фосфорной кислоты, элементоорганическим соединениям [52].

6.3 Лабораторная работа. Обнаружение фосфорорганических пестицидов

Биологический материал в количестве 15 г измельчают, помещают в колбу емкостью 250 мл с притертой пробкой, заливают трехкратным количеством (40 мл) смеси ацетона, этанола, воды (в соотношении 2:2:1), перемешивают, подкисляют кристаллической щавелевой кислотой до рН 4,5 по универсальному индикатору (около 0,5 г щавелевой кислоты) и однократно настаивают при комнатной температуре 4 часа при периодическом взбалтывании через 15 или 20 минут или 2 часа при непрерывном перемешивании.

После настаивания надосадочную жидкость отфильтровывают через бумажный фильтр в фарфоровую чашку и упаривают на водяной бане вдвое. Остаток переносят в делительную воронку, добавляют 15 мл хлороформа, 30 мл 25 % раствора хлорида натрия, содержимое воронки встряхивают 5 мин. После отстаивания хлороформный слой сливают в колбу емкостью 100 мл, а оставшуюся в делительной воронке жидкость еще дважды экстрагируют, добавляя по 10 мл хлороформа. Объединенные хлороформные извлечения обесцвечивают активированным углем и фильтруют через бумажный фильтр с безводным сульфатом натрия в сухую фарфоровую чашку, упаривают до объема 2 мл и исследуют.

На стартовую линию хроматографической пластинки наносят в виде точек исследуемое хлороформное извлечение и растворы метчиков в хлороформе

(о,о-диметил-о(2,2-дихлорвинил) фосфат (ДДВФ), хлорофоса, метафоса, карбофоса). Пластинку хроматографируют в системе растворителей гексан: ацетон (2:1). Условия хроматографирования и значения R_f (таблица 6.1). После подъема растворителя на 10 см пластинку вынимают из камеры, высушивают при комнатной температуре до полного испарения растворителей и ФОС проявляют соответствующими реактивами [53].

Проявление серосодержащих ФОС (карбофос, метафос).

I способ. Пластинку опрыскивают 0,5 % раствором хлорида палладия в 1 % растворе хлористоводородной кислоты. Карбофос проявляется без нагревания в виде пятен желтого цвета. При нагревании пластинки в течение 10 минут в сушильном шкафу при 100 °С появляется коричневатое-желтое пятно метафоса.

II способ. Пластинку обрабатывают раствором бромфенолового синего, содержащим нитрат серебра. Появляются лиловые (сиреневые) пятна на синем фоне. Затем пластинку нагревают 20 минут в термостате при 60 °С и после охлаждения для обесцвечивания фона опрыскивают 10 % раствором уксусной кислоты. Карбофос и метафос проявляются в виде пятен лилового цвета.

Проявление метафоса. Пластинку обрабатывают 5 % спиртовым раствором гидроксида натрия, нагревают 10 минут в термостате при 100 °С. Появляются пятна лимонно-желтого цвета.

Проявление дихлофоса и хлорофоса.

I способ. Пластинку обрабатывают 1 % раствором резорцина в 5 % растворе гидроксида натрия. Через 2 мин проявляется ДДВФ в виде пятна красно-розового цвета (оранжевого). Затем пластинку нагревают 5 мин в сушильном шкафу при 100 °С. При этом проявляется хлорофос в виде пятна красно-розового цвета (оранжевого).

II способ. Пластинку опрыскивают 1 % раствором о-толидина в ацетоне и облучают УФ-светом. Через 2–5 мин дихлофос и хлорофос проявляются в виде пятен голубовато-синего цвета.

Таблица 6.1 – Значение Rf для некоторых фосфорорганических соединений

Вещество	Сорбент	Система растворителей и значения Rf		
		хлороформ	бензол	гексан:ацетон 2:1
Хлорофос	Силуфол-UV 254	0,05	0,10	0,26
Дихлофос		0,20	0,32	0,12
Карбафос		0,50	0,36	0,60
Метафос		0,60	0,58	0,70
Хлорофос	Сорбфил	0,05	0,14	0,09
Дихлофос		0,02	0,10	0,20
Карбафос		0,40	0,23	0,13
Метафос		0,50	0,50	0,58

Контрольные вопросы

- 1 Токсикологическое значение пестицидов?
- 2 Какие группы пестицидов наиболее опасны для человека?
- 3 Перечислите основные этапы химико-токсикологического анализа пестицидов.
- 4 Какие инструментальные методы анализа применяются при количественном определении пестицидов?

Список использованных источников

- 1 Крамаренко, В.Ф. Токсикологическая химия / В.Ф. Крамаренко. - Киев: Выща шк. Головное изд-во, 1989. - 447 с.
- 2 Швайкова, М.Д. Токсикологическая химия / М.Д. Швайкова. – М. : Медицина, 1975. – 377 с.
- 3 Токсикологическая химия: учеб. для мед. вузов / под ред. Т. В. Плетеневой. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 512 с. - ISBN 978-5-9704-0768-4.
- 4 Волков, В. Н. Судебная медицина: учеб. пособ.для вузов / В. Н. Волков, А. В. Датий; под. ред. проф. А. Ф. Волынского. – М.: ЮНИТИ-ДАНА, Закон и право, 2000. – 639 с.
- 5 Голиков, С.Н. Яды и противоядия / С.Н. Голиков. - М.: Знание, 1968. - 82 с.
- 6 Токсикология / под ред. А.А. Савицкого. – М.: Медицина, 2002. –12 с.
- 7 Занько, Н.Г. Медико-биологические основы безопасности жизнедеятельности / Н.Г. Занько, В.М. Ретнев. – М.: Академия, 2004. –223 с.
- 8 ГОСТ 12.1.007-76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности . - Введ.1977-01-01. – М. : Изд-во стандартов, 1977. – 5 с.
- 9 Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации: приказ № 346н от 12.05.2010. Зарегистрировано в Минюсте РФ 10 августа 2010 г. N 18111 // Российская газ. – 2010. - 20 августа. № 186.
- 10 Шкутина, И.В. Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых дистилляцией "Летучие яды" / И.В. Шкутина, [и др.]. - Воронеж: ВГУ, 2004. - 44 с.
- 11 Гаврилова, С.А. Химико-токсикологическое определение ксенобиотиков. Летучие яды: метод. указ. к лабораторно-практическому

занятию по токсикологической химии для студентов IV курса фармацевтического факультета / С.А. Гаврилова, [и др.]. - Нижний Новгород: НГМА, 2006. - 39 с.

12 Степанов, А. Судебная химия и открытие профессиональных ядов / А. Степанов. – М.: Медгиз, 1939. - 295 с.

13 Хорсли, Л. Таблицы азеотропных смесей / Л. Хорсли; пер. с англ. Н.К. Кочеткова. – М. : Изд-во иностранной литературы, 1951. – 288 с.

14 Белова, А.В. Руководство к практическим занятиям по токсикологической химии / А.В. Белова. - М.: Медицина, 1976. – 232 с.

15 ГОСТ Р 51786-2001 Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности. - Введ.2002-07-01. – М. : Изд-во стандартов, 1977. – 25 с.

16 Вергейчик, Т.Х. Токсикологическая химия : учебник / Т.Х. Вергейчик ; под. ред. Проф. Е.Н. Вергейчика. – М. : МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.

17 Крылова, А.Н. Исследование биологического материала на «металлические» яды дробным методом / А.Н. Крылова. - М.: Медицина, 1975. – 101 с.

18 Стряпков, А.В. Качественный анализ катионов : учеб.пособ. / А.В. Стряпков, Е.В. Сальникова. – Оренбург: ОГУ, 2001. - 51 с.

19 Сальникова, Е.В. Методы концентрирования и разделения микроэлементов : учеб. пособ. / Е.В. Сальникова, Е.А. Кудрявцева. – Оренбург : ОГУ, 2012. – 223 с.

20 Немерешина, О.Н. Методические указания к лабораторным занятиям по основам токсикологической химии / О.Н. Немерешина, Н.Ф. Гусев. – Оренбург: ОГАУ, 2003. -146 с.

21 Воюцкий, С.С. Курс коллоидной химии / С. С. Воюцкий. - М.:Химия, 1975. – 512 с.

22 Пери, Дж. Справочник инженера-химика / Дж. Пери; пер. с англ. под ред. Н.М. Жаворонкова. - Л.: Химия, 1969, - 1144 с.

23 Яковлев, К.И. Качественный химический анализ катионов: методические указания к выполнению лабораторных работ / К.И.Яковлев, Л.Б.Сельдерханова, Е.С.Дмитриева. – СПб. : Изд-во СПХФА, 2009 – 84 с.

24 Пилипенко, А.Т. Аналитическая химия : в 2 кн. / А.Т. Пилипенко, И.В. Пятницкий. – М.: Химия, 1990. – Кн. 2. – 846 с. - ISBN 5-7245-0752-8.

25 Кощей, Е.В. Хроматографические методы анализа: учебное пособие / Е.В. Кощей, Д.В. Манаков. – Оренбург: ИПК ГОУ ОГУ, 2008. -118 с.

26 Комарова, Н. В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» / Н. В. Комарова, Я. С. Каменцев. - СПб.: Веда, 2006. - 212 с.

27 Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией и сорбцией (барбитураты) : уч.-метод. пособ. / С.А. Гаврилова, Л.Н. Карякина, Н.Б. Мельникова, Т.В.Саликова. - Нижний Новгород: изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2009. – 24 с.

28 О наркотических средствах и психотропных веществах: федер. закон от 8 января 1998 г. N 3-ФЗ " С изменениями и дополнениями от: 1 марта 2012 г.: [принят Гос. Думой 10 декабря 1997 г.: одобрен Советом Федерации 24 декабря 1997 г.] // Парламентская газ. – 2002. - 30 июля. - № 142-143.

29 Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией и сорбцией (лекарственные средства, некоторые алкалоиды): уч.-метод. пособ. / С.А. Гаврилова, Л.Н. Карякина, Н.Б. Мельникова, Т.В. Саликова. – Нижний Новгород: изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2009. - 20 с.

30 Еремин, С.К. Анализ наркотических средств / С.К. Еремин, Б.Н. Изотов, М.В. Веселовская. - М.:Мысль, 1993. – 250 с.

31 Методические рекомендации по экспертизе кокаина (утв. Постоянным комитетом по контролю наркотиков 7 февраля 1996 г., протокол № 45/1-96)

32 Криминалистическое исследование материалов, веществ и изделий : учебное пособие / Э.В. Сысоев, А.В. Селезнев, Е.В. Бурцева, И.П. Рак. – Тамбов : Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2007. – 84 с. – ISBN 978-5-8265-0647-9.

33 Орехов, А.П. Химия алкалоидов / А.П. Орехов. – М.: Академия наук СССР, 1955, - 859 с.

34 Микроэлементозы человека : этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.

35 Практическое руководство по скринингу лекарственных, наркотических веществ и их метаболитов методом газовой хроматографии с масс -селективным детектором для целей судебной токсикологии / под. ред. А.Б. Мелентьева. –Челябинск: Челябинское областное бюро СМЭ, 2001. - 62 с.

36 Некоторые вопросы токсичности ионов металлов / Ф.Т. Бингам, [и др.]; пер. с англ. Х. Зигеля, А. Зигель. – М. : Мир, 1993. – 368 с.

37 Оксенгендлер, Г.И. Яды и противоядия / Г.И. Оксенгендлер. -Л.: Наука, 1982. -192 с.

38 Лазурьевский, Г. В. Каннабиноиды (наркотические вещества конопли) / Г. В. Лазурьевский, Л. А. Николаева. – Кишинев: Штиинца, 1972. – 68 с.

39 Веселовская, Н.В. Наркотики / Н.В. Веселовская, А.Е. Коваленко. –М.: Триада-Х, 2000. – 204 с.

40 Симонов, Е.А. Наркотические средства и психотропные вещества, контролируемые на территории Российской Федерации / Е.А. Симонов, Л.Ф. Найденова, С.А. Ворнаков. – М.: InterLab, 2003. – 411 с.

41 Симонов, Е.А. Наркотики: методы анализа на коже, в её придатках и выделениях / Е.А. Симонов, Б.Н. Изотов, А.В. Фесенко. -М.: Анахарсис, 2000.— 130 с.

42 Химико -токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией и сорбцией. Наркотические и другие одурманивающие средства / В.П. Евстигнеева, И.В. Шкутина, Т .А. Брежнева, А.И.Сливкин, В.Ф.Селеменев. –Воронеж: Изд.-во ВГУ, 2003. – 47 с.

43 Анализ лекарственных препаратов производных пиримидина / С.А. Гаврилова, [и др.] - Нижний Новгород: Изд.-во НГМА, 2008. – 12 с.

44 Франке, З. Химия отравляющих веществ / З. Франке, П. Франц, В. Варнке. - М.:Химия, 1973. - 404 с.

45 Методы определения токсичности и опасности веществ / под. ред. В.И. Саноцкого. –М.: Медицина, 1970. – 342 с.

46 Марченко, З. Фотометрическое определение элементов / З. Марченко. - М.: Наука, 1971. - 501 с.

47 Аналитическая химия. Физические и физико - химические методы анализа: учебник для вузов / под ред. О.М. Петрухина. – М.: Химия, 2001. – 496 с.

48 Лурье, А.А. Хроматографические материалы: справочник / А.А. Лурье. – М.: Химия, 1978. – 440 с.

49 Горосян, В.Ф. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : практическое руководство: учебно-методическое пособие / В.Ф. Горосян. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2010. – 195 с.

50 Кулешова, М.И. Анализ лекарственных форм, изготавливаемых в аптеках / М.И. Кулешова, Л.Н. Гусева, О.К. Сивицкая. – М. : Медицина, 1989. – 288 с.

51 Машковский, М.Д. Лекарства XX века / М.Д. Машковский. – М. : Новая волна, 1998. – 320 с.

52 Крамаренко, В.Ф. Анализ ядохимикатов / В.Ф. Крамаренко, Б.М. Туркевич. – М. : Химия, 1978, - 264 с.

53 Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией органическими растворителями (фосфорсодержащие пестициды): уч.-метод. пособ. / С.А. Гаврилова, Л.Н. Карякина, Н.Б. Мельникова, Т.В. Саликова. – Нижний Новгород: изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2009. - 20 с.

Приложение А

(обязательное)

Примеры неводных азеотропных смесей

Таблица А.1 – Азеотропные растворы, образующиеся при перегонке двух органических растворителей

Компоненты		Точки кипения компонентов, °С		
А	Б	А	Б	смеси
Метанол	Бензол	64,7	80,2	58,34
Этанол	Бензол	78,3	80,2	68,24
Этанол	Хлороформ	78,3	61,16	59,4
Сероуглерод	Ацетон	16,25	56,25	39,25

Приложение Б

(обязательное)

Методика приготовления именных реактивов

Барбитуровая кислота (раствор в пиридине)

В колбу вносят 3 г барбитуровой кислоты, прибавляют 15 мл свежеперегнанного пиридина и 3 мл концентрированной соляной кислоты. Содержимое колбы хорошо взбалтывают, прибавляют воду до 50 мл и фильтруют. Этот реактив должен быть свежеприготовленным.

Гидроксотибиат калия (раствор)

В 100 мл горячей воды растворяют 2,2 г гидроксотибиата калия. Полученный раствор кипятят в течение 2 мин. После охлаждения к раствору прибавляют 3,5 мл 6 н. раствора гидроксида калия. Жидкость оставляют на сутки, а затем фильтруют.

Ванилин

- 1) 1 г ванилина растворяют в 99 г концентрированной соляной кислоты;
- 2) 1 г ванилина растворяют в 99 г концентрированной серной кислоты.

Гипохлорит натрия

а) в ступку вносят 20 г хлорной извести, прибавляют 100 мл холодной воды и хорошо смешивают, затем прибавляют 520 мл 5 %-го раствора карбоната натрия. Жидкость хорошо перемешивают и оставляют на некоторое время. Прозрачную жидкость сливают с осадка и фильтруют; б) через 5 %-й раствор гидроксида натрия пропускают газообразный хлор до насыщения раствора этим газом.

Дийодокупрат калия (в растворе йода)

В 3 мл воды растворяют 0,3 г сульфата меди, прибавляют 1 мл концентрированной соляной кислоты и 3 г йодида калия. Жидкость взбалтывают и прибавляют воду до 10 мл. Через сутки с осадка сливают жидкость и

применяют ее в качестве реактива представляющего собой смесь раствора йода и дийодокупрата калия.

Дифенилкарбазон

1) 0,1 г дифенилкарбазона растворяют в 50 мл этилового спирта 2) 1 г хлорида ртути (II) растворяют 50 мл этилового спирта. Перед использованием смешивают 1 и 2 раствор в соотношении 1:1.

Диэтилдитиокарбамат свинца (раствор в хлороформе)

К 0,5 г ацетата свинца прибавляют воду до его растворения. К полученному раствору прибавляют 25 мл 10 %-го раствора нитрата калия. Смесь этих растворов переносят в делительную воронку и прибавляют 50 мл 1 %-го раствора диэтилдитиокарбамата аммония (или натрия). Содержимое делительной воронки несколько раз взбалтывают с новыми порциями хлороформа (по 50 мл) до тех пор, пока осадок не растворится и не перейдет полностью из водной фазы в хлороформный слой. Полученные при этом хлороформные вытяжки соединяют, доводят хлороформом до 250 мл, фильтруют и применяют в качестве реактива.

Диэтилдитиокарбамат серебра (раствор в пиридине)

В 200 мл воды растворяют 3 г диэтилдитиокарбамата натрия. К этому раствору прибавляют 50 мл 7 %-го раствора нитрата серебра. Выпавший желтый осадок отфильтровывают через воронку Бюхнера и высушивают между листами фильтровальной бумаги. Из этого осадка готовят 0,5 %-й раствор в пиридине. Полученный раствор годен к употреблению 10 сут. Его сохраняют в прохладном месте в склянке из темного стекла.

Йодид калия (раствор в серной кислоте и этиловом спирте)

К 3 г йодида калия прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 5 мл этилового спирта (96 %) и 8 мл воды.

Йодид меди (I) (суспензия)

В 100 мл воды растворяют 21,2 г йодида калия. К этому раствору прибавляют 100 мл 16 %-го раствора сульфата меди (II). Образовавшийся осадок йодида меди (I) отстаивают, а затем осторожно сливают жидкость. Осадок

несколько раз взбалтывают с водой, затем с 2 н. раствором сульфата натрия и снова с водой. Осадок, отмытый от йода, промывают насыщенным раствором сульфата натрия для коагуляции частичек этого осадка. Жидкость с осадка переносят на бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают водой, а затем переносят в цилиндр, прибавляют 100 мл воды и взбалтывают. Полученную таким образом суспензию йодида меди (I) сохраняют в склянке из темного стекла.

1-Нафтол (раствор)

В 40 %-м этиловом спирте растворяют 0,05 г 1-нафтола, а затем объем жидкости доводят тем же спиртом до 100 мл.

2-Нафтол (раствор)

В 40 мл 10 %-го раствора гидроксида натрия растворяют 2 г 2-нафтола и прибавляют воду до 100 мл. Этот раствор используют свежеприготовленным.

Нингидрин

Вариант 1. 0,1 г нингидрина растворяют в смеси, состоящей из 40 мл этилового спирта и 10 мл ледяной уксусной кислоты.

Вариант 2. 0,1 г нингидрина растворяют в смеси, состоящей из 95 мл н-бутанола и 5 мл ледяной уксусной кислоты.

Вариант 3. 0,2 г нингидрина растворяют в 100 мл этилового спирта.

Вариант 4. 0,1 г нингидрина растворяют в 100 мл изо-пропанола.

Нитрат меди (аммиачный раствор)

В небольшом объеме воды растворяют 1 г нитрата меди (I) и 4 г гидрохлорида гидроксилamina, прибавляют 5 мл 20 %-го раствора аммиака. Жидкость взбалтывают до обесцвечивания, а затем прибавляют воду до 50 мл.

Пиридин-2-альдегид (реактив)

В 10 мл 0,5 % раствора пиридин-2-альдегида растворяют 2-3 мг железоаммониевых квасцов. Первоначально бесцветный раствор постепенно приобретает желтую окраску.

Пиридин-роданидный реактив

Этот реактив представляет собой смесь равных объемов 50 %-го водного раствора пиридина и 20 %-го водного раствора роданида аммония.

Реактив Букэ

2 объемные части концентрированной серной кислоты растворяют в 3 частях этилового спирта.

Реактив Бушарда

В 10-15 мл воды растворяют 2 г йодида калия. К полученному раствору прибавляют 1,27 г йода. После растворения йода прибавляют воду до 100 мл.

Реактив Вагнера

В 10-15 мл воды растворяют 2 г йодида калия и к этому раствору прибавляют 1 г йода. После растворения йода прибавляют воду до 50 мл.

Реактив Грисса

Для получения этого реактива готовят 2 раствора: 1 %-й раствор сульфаниловой кислоты в 30 %-м растворе уксусной кислоты (раствор А) и 0,1 %-й раствор 1-нафтиламина в 30 %-м растворе уксусной кислоты (раствор Б). Перед употреблением смешивают равные объемы растворов А и Б. Реактив применяется для обнаружения нитритов.

Реактив Дениже

В 100 мл воды растворяют 5 г окиси ртути и 20 мл концентрированной серной кислоты.

Реактив Драгендорфа

В 20 мл азотной кислоты (пл.1,18) растворяют 8 г основного нитрата висмута. Полученный раствор вливают в раствор, содержащий 27,2 г йодида калия в 30 мл воды. Через несколько дней жидкость фильтруют и разбавляют водой до 100 мл.

Реактив Драгендорфа, модифицированный по Мунье

В 10 мл ледяной уксусной кислоты растворяют 0,85 г основного нитрата висмута и прибавляют 40 мл воды. К этой жидкости прибавляют раствор, содержащий 8 г йодида калия в 20 мл воды. Перед употреблением берут 1 мл

указанного раствора, прибавляют к нему 2 мл ледяной уксусной кислоты и 10 мл воды.

Реактив Зонненшейна

К раствору моногидрофосфата натрия прибавляют раствор молибдата аммония в азотной кислоте. Образовавшийся осадок отфильтровывают и растворяют в небольшом объеме раствора карбоната натрия. Раствор выпаривают досуха, сухой остаток прокаливают, а затем охлаждают. К остатку прибавляют десятикратное количество воды и азотную кислоту до растворения осадка.

Реактив Карно

Смешивают 1 объем 0,5 н раствора азотнокислого висмута $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ с 3 объемами 0,5 н раствора серноватистокислого натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и добавляют 10-20 объемов этилового спирта. Применяют только свежеприготовленным.

Реактив Копани-Цвиккера

1 грамм нитрата кобальта растворяют в 100 мл этилового спирта.

Реактив Либермана

1 г нитрита натрия растворяют 10 мл концентрированной серной кислоте.

Реактив Лукаса

0,5 г безводного хлорида цинка при охлаждении растворяют в 0,5 моль концентрированной соляной кислоты.

Реактив Майера

К 1,35 г хлорида ртути (II) прибавляют 20 мл 25 %-го раствора хлорида калия. После растворения хлорида ртути прибавляют воду до 100 мл.

Реактив Марки

К 1 мл концентрированной серной кислоты прибавляют каплю формалина и охлаждают. Этот реактив используют свежеприготовленным.

Реактив Манделина

К 0,01 г ванадата аммония прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты. Реактив должен быть свежеприготовленным.

Реактив Марше

В горячем растворе, содержащем 10 г йодида калия в 30 мл воды, растворяют 5 г йодида кадмия. Полученный раствор смешивают с равным объемом насыщенного раствора йодида калия.

Реактив Миллона

Этот реактив представляет собой смесь нитратов одно- и двухвалентной ртути, которая содержит примесь азотистой кислоты. Описано несколько способов приготовления реактива Миллона: а) 10 г нитрата ртути (I) растворяют в 8,5 мл концентрированной азотной кислоты. Полученный раствор разбавляют двойным объемом воды; б) 10 г металлической ртути растворяют в 15 мл концентрированной азотной кислоты и прибавляют 30 мл воды. Прозрачный раствор сливают и применяют в качестве реактива.

Реактив Мэкье

1 г селеновой кислоты растворяют в 100 мл концентрированной серной кислоте.

Реактив Несслера

В 50 мл воды растворяют 50 г йодида калия. К этому раствору при постоянном перемешивании прибавляют насыщенный раствор хлорида ртути (II) (6 г хлорида ртути (II) в 100 мл воды) до появления устойчивого осадка йодида ртути. Затем прибавляют 200 мл 6 н. раствора гидроксида калия и воду до 520 мл. Реактив сохраняют в темном месте.

Реактив Толленса

Растворяют 1 г нитрата серебра в 10 мл воды, раствор хранят в темноте. Перед употреблением небольшое количество этого раствора смешивают с равным объемом раствора 1 г гидроксида натрия в 10 мл воды, выпавший осадок оксида серебра растворяют, осторожно добавляя концентрированный раствор аммиака.

Реактив Фелинга

а) 34,66 г перекристаллизованного сульфата меди растворяют в воде, подкисленной 2-3 каплями разбавленной серной кислоты, и прибавляют воду до

520 мл (раствор А). Затем к 173 г сегнетовой соли прибавляют 50 г гидроксида натрия и растворяют в 400 мл воды. Этот раствор доводят водой до 520 мл (раствор Б). Перед употреблением смешивают равные объемы растворов А и Б; б) 7 г сульфата меди растворяют в 100 мл воды. К этому раствору прибавляют раствор, содержащий 14 г гидроксида натрия и 36 г сегнетовой соли в 100 мл воды.

Реактив Фреде

К растертому в порошок молибдату аммония (или натрия) прибавляют концентрированную серную кислоту. Смесь интенсивно взбалтывают. Полученный насыщенный раствор молибденовой кислоты в концентрированной серной кислоте сливают с осадка. Реактив используют свежеприготовленным. При стоянии реактив может изменять свою окраску.

Реактив Цимерманна

а) 1 г 2,4-динитробензола растворяют в 100 мл метанола. б) 15 г гидроксида калия растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Перед употреблением реактивы смешивают в равных количествах.

Реактив Швейцера

10 г сульфата меди растворяют в 100 мл воды, приливают раствор едкого натра в достаточном для осаждения гидрата окиси меди количестве, собирают последний на фильтре и промывают водой до исчезновения реакции на сульфаты. Влажный осадок растворяют в минимальном количестве раствора аммиака, необходимом для полного растворения осадка.

Реактив Шейблера

К 20 мл 25 %-го раствора вольфрамата натрия прибавляют 10 мл 25 %-го раствора фосфорной кислоты и хорошо перемешивают.

Реактив Шиффа

Готовят 0,025 %-ный водный раствор фуксина и пропускают через него сернистый газ до обесцвечивания.

Реактив Эрдмана

К 20 мл концентрированной серной кислоты прибавляют 10 капель 15 %-й азотной кислоты и взбалтывают.

Реактив Эрлиха

520 мг *n*-диметиламинобензальдегида растворяют в 75 мл разбавленной соляной кислоты.

Сульфат меди (раствор в аммиаке и пиридине)

К 10 мл 3 %-го раствора сульфата меди по каплям прибавляют 25 %-й раствор аммиака до полного растворения образующегося осадка. После этого прибавляют еще несколько капель 3 %-го раствора сульфата меди до получения нерастворимого осадка, к которому по каплям прибавляют свежеперегнанный пиридин до растворения осадка. К полученному раствору еще прибавляют пиридин из расчета 5-8 капель на каждые 10 мл раствора.

Тетрароданокобальтат (II) аммония

17,4 г роданида аммония и 2,8 г нитрата кобальта (II) растворяют в воде и разбавляют раствор до 100 мл.

Тетрароданомеркурат (II) аммония

Смешивают 5 г хлорида ртути (II) и 5 г роданида аммония. Полученную смесь растворяют в 60 мл воды.

Тетрароданомеркурат (II) калия

21,6 г оксида ртути (II) растирают в кашицу с раствором 39 г роданида калия в 200 мл воды. Суспензию переносят в мерную колбу на 1 л и добавляют разведенную азотную кислоту почти до полного растворения оксида. Затем объем доводят водой до метки. Необходимо всегда проверять реакцию раствора на лакмус - она должна оставаться слабощелочной.

Тиоцианат кобальта

1 раствор: 16 % раствор соляной кислоты 2 раствор: 2,5 г тиоцианата кобальта (II) растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Вначале к исследуемому веществу прибавляют раствор 1 и после перемешивания раствор 2.

Фукусинсернистая кислота (раствор)

а) 0,2 г химически чистого основного фуксина растворяют в 120 мл горячей воды. После охлаждения раствора к нему прибавляют 6 г безводного сульфита натрия, растворенного в 20 мл воды, и 4 мл соляной кислоты (пл. 1,18). Затем жидкость доводят водой до 200 мл и фильтруют. Профильтрованную жидкость переносят в склянку из темного стекла с притертой пробкой. Реактив должен быть бесцветным или слабожелтоватого цвета;

б) через 0,1 % раствор фуксина пропускают ток оксида серы (IV) до обесцвечивания жидкости.

Хлорид железа (III) (раствор, содержащий йодид калия)

К 3 мл 10 %-го раствора хлорида железа (III) прибавляют 1 мл концентрированной соляной кислоты и 3 г йодида калия, а затем прибавляют воду до 10 мл. Через сутки реактив сливают с осадка и сохраняют в склянке из темного стекла.

Хлорцинкйод


Растворяют 2 г хлорида цинка в 10 мл воды (раствор А). В другой склянке растворяют 2,1 г йодида калия в 5 мл воды. В полученной жидкости растворяют 0,1 г дважды сублимированного иода (раствор Б).

К раствору А прибавляют по каплям при перемешивании раствор Б. К смеси растворов А и Б прибавляют несколько кристаллов дважды сублимированного йода. Через сутки прозрачную жидкость переносят в склянку из оранжевого стекла.

Приложение В

(обязательное)

Пример оформления акта судебно-химического исследования

	
МИНИСТЕРСТВО ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	
ГЛАВНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЦЕНТР	
СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ И КРИМИНАЛИСТИЧЕСКИХ ЭКСПЕРТИЗ	
ОТДЕЛ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ	
105229, Москва Госпитальная пл., д.3	тел. 263-06-66 факс 263-02-65
ЗАКЛЮЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИСТА 399 (судебно-химическое исследование)	
На основании Пост. ст. следов. по ОВД отд. расслед. Отран В.В. в отделе химико-токсикологической экспертизы Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз МО РФ нами, врачами судебно-медицинскими экспертами судебно-химического отделения	
Мигаль Е.Н., стаж до 1 года <small>(должность, место работы, Ф.И.О., стаж, квалификационная категория, ученая степень и звание)</small>	
произвел(и) судебно-химическую экспертизу:	крови
от трупа	Филлипова С.К. <small>фамилия, имя, отчество умершего, возраст</small>
Права и обязанности эксперта, предусмотренные ст.61 УПК Республики Беларусь, разъяснены; об уголовной ответственности за дачу заведомо ложного заключения эксперта и за отказ либо уклонение эксперта от исполнения возложенных на него обязанностей по ст. ст.401-402 УК Республики Беларусь, а также об ответственности, предусмотренной ст.133 УПК Республики Беларусь за неисполнение без уважительных причин процессуальных обязанностей и неподчинение законным распоряжениям органа, ведущего уголовный процесс, предупрежден(ы)	
Эксперт (ы)	_____ Подпись (и)
При экспертизк присутствовали:	Филипович
Экспертиза начата:	05.02.2007 в 08:00
Экспертиза окончена:	05.02.2007 в 14:00

Закключение эксперта изложено на 2 страницах
Обстоятельства дела

ДТП

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ
Описание объектов

21.11.04 г. нарочным доставлены 2 флакона из стеклodrота для медпрепаратов номинальной емкостью 10 мл. Горловины флаконов закупорены стандартными резиновыми пробками серого цвета, сверху обтянуты фрагментами эластичного по-лимерного материала, перевязаны белыми нитями, концы которых вклеены в бумажные бирки с оттиском круглой печати, выполненным красителем фиолетового цвета: "Республика Беларусь Государственная служба медицинских судебных экс-пертиз Управление по Витебской области Отдел общих экспертиз Для документов №1". Во флаконе, на бирке которого имелась надпись, выполненная от руки и типографским способом: «кровь от трупа Шматко С И Умер 07.05.05 Вскрыт 08.05.05 СМЭ Рябов Д М» находилась кровь темно-вишневого цвета, без запаха разложения со сгустками. Флакон запол-нен под пробку. Во флаконе, на бирке которого имелась надпись, выполненная от руки и типографским способом: «моча от трупа Шматко С И Умер 07.05.05 Вскрыт 08.05.05 СМЭ Рябов Д М» находилась моча слабо желтого цвета, прозрачная, без осадка. Флакон заполнен под пробку.

ИССЛЕДОВАНИЕ

Анализ проводили на газовом хроматографе "Кристалл-2000М", колонка-нерж. ст. 3ммx2м, неподвижная фаза-5% ДНФ на хроматоне NAWDMCS, газ-носитель гелий, расход 28мл/мин Тип детектора- катарометр, температура детектора- 150⁰С, температура колонки88⁰С, температура инжектора - 88⁰С. #

Пробоподготовку пробы проводили по МВИ

Результаты качественного определения пробы крови:

Наименование спирта	Результаты идентификации	Время удерживания, мин
Этанол	обнаружен	0,82

Результаты количественного определения пробы крови:

№ анализа	Высоты пиков		Площади пиков		Результат
	Этанол	Пропанол	Этанол	Пропанол	
1	494	320	56	59	3,15 ‰
2	465	300	53	56	3,03 ‰

Результат 3,1 ‰

Коэффициенты уравнения регрессии $C/C_{ст} = K \cdot H/H_{ст}$, где C и C_{ст}-концентрации растворов этанола и пропанола; H и H_{ст} - высоты пиков спиртов, равны: $K_1 = 0,87$ $K_2 = 0,84$

Государственный медицинский судебный эксперт

ВЫВОДЫ

На основании судебно-химической экспертизы пробы крови

от трупа Филипова С.К.

произведенной на

основании Пост. ст. следов. по ОВД отд. расслед. Отран В.В.

следует: #

в крови обнаружен этанол в концентрации 3,1‰

Государственный медицинский судебный эксперт

КМА 2 21.11.07