

Волинський національний університет імені Лесі Українки

Факультет хімії та екології

Кафедра органічної та фармацевтичної хімії

О. В. Цісар, Н. Ю. Сливка, М. М. Кучер

ТОКСИКОЛОГІЧНА ТА СУДОВА ХІМІЯ

*методичні рекомендації до лабораторного практикуму
для студентів спеціальності 226 Фармація, промислова фармація*



Луцьк – 2025

УДК 615.9:340.6(07)

Ц 75

Рекомендовано до друку науково-методичною радою Волинського
національного університету імені Лесі Українки
(Протокол №3 від 19 листопада 2025 р.)

Рецензент:

Савчук Т. І. – кандидат хімічних наук, доцент кафедри неорганічної та фізичної хімії Волинського національного університету імені Лесі Українки.

Цісар О. В., Сливка Н. Ю., Кучер М. М.

Ц75 Токсикологічна та судова хімія: методичні рекомендації до лабораторного практикуму: для здобувачів освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармація. Луцьк: ФОП Гетьманчук В. Г., 2025. 88 с.

Методичні рекомендації до виконання лабораторного практикуму з курсу «Токсикологічна та судова хімія» для здобувачів освіти медичного факультету, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація.

Навчально-методичне видання містить інформацію щодо якісного виявлення деяких токсикантів у витяжках біологічного матеріалу та інших об'єктів. Роботи структуровані згідно класифікації токсикантів, яку прийнято використовувати у токсикологічній хімії та хіміко-токсикологічному аналізі. Методичні вказівки призначені для підвищення ефективності підготовки студентів до лабораторних занять з курсу «Токсикологічна та судова хімія».

УДК 615.9:340.6(07)

© Цісар О. В., Сливка Н. Ю., Кучер М. М., 2025

© Волинський національний університету імені Лесі Українки, 2025

ЗМІСТ

Вступ.....	4
Правила техніки безпеки при роботі в хіміко-токсикологічній лабораторії....	5
Методичні розробки лабораторних занять.....	10
<i>Лабораторна робота №1. Зміст і завдання хіміко-токсикологічного аналізу.</i>	
<i>Зовнішній огляд і попередні випробування об'єкта дослідження.....</i>	<i>10</i>
<i>Лабораторна робота №2. Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу настоюванням досліджуваних об'єктів водою (мінеральні кислоти, луги, солі).....</i>	<i>14</i>
<i>Лабораторна робота №3. Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу дистиляцією з водяною парою (леткі речовини). Дослідження першої фракції дистиляту на ціаніди.....</i>	<i>19</i>
<i>Лабораторна робота №4. Аналіз дистиляту на наявність летких речовин за допомогою хімічних методів.....</i>	<i>24</i>
<i>Лабораторна робота №5. Група речовин, що вилучаються з біологічного матеріалу методом мінералізації (металічні отрути). Проведення мінералізації біологічного матеріалу. Дослідження осаду мінералізату на наявність металів..</i>	<i>34</i>
<i>Лабораторна робота №6. Дослідження рідкої частини мінералізату на наявність і вміст мангану, хрому, аргентуму, талію та стибію.....</i>	<i>39</i>
<i>Лабораторна робота №7. Дослідження рідкої частини мінералізату на наявність і вміст цинку, кадмію, бісмуту, стибію, купруму та арсену. Виділення меркурію із біологічного матеріалу та її дослідження у деструктаті.....</i>	<i>42</i>
<i>Лабораторна робота №8. Група отруйних речовин, які вилучаються із біологічного матеріалу підкисленим спиртом або підкисленою водою. Методи ізолювання лікарських речовин полярними розчинниками.....</i>	<i>50</i>
<i>Лабораторна робота №9. Реакції виявлення похідних піразолону, ксантину, барбітурової та саліцилової кислот у витяжках з кислого середовища.....</i>	<i>54</i>
<i>Лабораторна робота №10. Реакції виявлення алкалоїдів у витяжках із біологічного матеріалу.....</i>	<i>61</i>
<i>Лабораторна робота №11. Реакції виявлення лікарських засобів, які екстрагуються з лужного середовища.....</i>	<i>65</i>
<i>Лабораторна робота №12. Виділення з біологічного матеріалу та методи аналізу отрут грибів.....</i>	<i>68</i>
<i>Лабораторна робота №13. Група отруйних речовин, які ізолюються із біологічного матеріалу неполярними (малополярними) органічними розчинниками. Методи виділення фосфорорганічних пестицидів (ФОП) та інших фосфорорганічних сполук (ФОС) із біологічного матеріалу.....</i>	<i>71</i>
<i>Лабораторна робота №14. Дослідження витяжок із біологічного матеріалу на вміст ФОС хімічними реакціями.....</i>	<i>74</i>
<i>Лабораторна робота №15. Група отруйних речовин, які потребують особливих методів виділення (фториди, кремній фториди, броміди (бром), йодиди (йод)).....</i>	<i>79</i>
<i>Лабораторна робота №16. Отрути, які визначаються безпосередньо у біологічному матеріалі. Виявлення чадного газу в організмі людей.....</i>	<i>83</i>
Список рекомендованої літератури.....	86

ВСТУП

Навчальний курс «Токсикологічна та судова хімія» є складовою нормативної підготовки здобувачів освіти спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація» другого (магістерського) рівня освіти. Дисципліна належить до циклу професійних дисциплін і забезпечує формування у студентів знань про властивості отруйних і сильнодіючих речовин, їх поведінку в організмі людини, шляхи проникнення, розподіл, метаболізм і шляхи елімінації.

Метою курсу є формування систематизованих наукових знань про властивості токсичних речовин, методи їх ізолювання, ідентифікації та кількісного визначення у біологічних об'єктах, продуктах харчування, лікарських засобах та навколишньому середовищі, а також оволодіння практичними навичками роботи з методами хіміко-токсикологічного аналізу.

У процесі навчання студенти набувають компетентностей, необхідних для роботи у галузі судово-токсикологічних, хіміко-токсикологічних, санітарно-гігієнічних і фармацевтичних досліджень. Особлива увага приділяється практичним аспектам аналізу отрут різних груп.

Курс включає лекційні заняття, лабораторний практикум і самостійну роботу, під час яких студенти вивчають теоретичні основи токсикології, опановують техніку експерименту, освоюють методики виділення та виявлення токсикантів у біологічних середовищах і матеріалах.

Методичні рекомендації містять теоретичні відомості, розробки лабораторних занять та контрольні запитання, укладені відповідно до силабусу освітнього компонента і спрямовані на підвищення ефективності самостійної підготовки студентів до лабораторних занять.

Перед початком практикуму здобувачі освіти повинні ознайомитись із правилами техніки безпеки в хіміко-токсикологічній лабораторії. До виконання лабораторної роботи допускаються лише ті студенти, які засвоїли теоретичні основи теми, знають методику та техніку виконання експерименту.

Виконана на занятті лабораторна робота та отримані результати оформляються у вигляді протоколу. Студентам потрібно описати явища, які спостерігались, записати відповідні рівняння реакцій, відповісти на контрольні запитання або ж пояснити отримані результати експерименту і написати узагальнений висновок до роботи.

ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ У ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Загальні правила

1. Під час роботи в лабораторії необхідно дотримуватись правил техніки безпеки, чистоти та порядку.

2. Пробірки з розчинами реагуючих речовин не можна нагрівати на відкритому полум'ї газового пальника.

3. Проби у пробірках нагрівають на водяному нагрівнику.

4. Забороняється направляти отвір пробірок на себе або на працюючих поруч студентів, оскільки реагуюча суміш може ушкодити шкіру обличчя чи слизові оболонки очей.

5. У випадках, коли виникає необхідність перевірити запах речовин у пробірках або в балонах, в яких зберігаються рідини, необхідно легкими рухами долоні руки направити на себе потік повітря від пробірки чи балона і обережно понюхати.

6. Особливої обережності студент повинен дотримуватись при роботі з центрифугою. З метою безпеки при роботі з центрифугою необхідно:

а) в гнізда центрифуги встановлювати пробірки з досліджуваними розчинами однакової ваги;

б) перед вмиканням в електромережу центрифугу необхідно закрити; в) збільшувати швидкість обертання ротора центрифуги поступово;

г) після закінчення центрифугування вимкнути струм і дати можливість диску центрифуги зупинитись без стороннього втручання (на це потрібно декілька хвилин);

д) центрифуга обов'язково повинна бути заземлена.

Категорично забороняється працювати із несправною центрифугою.

7. Реактиви, дистильовану воду, газ, електричну енергію в лабораторії слід використовувати економно.

8. Всі роботи з речовинами, при взаємодії яких утворюються шкідливі для організму гази і сполуки з неприємним запахом, необхідно проводити в спеціально відведеному для цього приміщенні (сірководневій кімнаті) з підсиленою вентиляцією або витяжною шафою. Категорично забороняється працювати із вказаними речовинами на робочому місці.

9. Для запобігання нищення в лабораторії каналізаційної системи розчини сірководню, кислот, лугів і т.д. необхідно зливати в спеціально відведений для цього посуд. Розчини йодидів, сполук срібла і ртуті слід зливати в окремий посуд для того, щоб пізніше можна було провести регенерацію відходів і отримати з них сполуки, необхідні для роботи в лабораторії.

10. Газові пальники повинні бути справні. При їх несправності в

приміщення лабораторії будуть попадати продукти неповного згоряння газу, які можуть бути причиною отруєння.

11. Не допускати забруднення реактивів, що призначені для загального використання в лабораторії:

а) невикористані реактиви забороняється виливати або висипати назад у посуд, де зберігається відповідний реактив;

б) сухі реактиви слід брати із посуду спеціально призначеним для цього реактиву шпателем або ложечкою. Не дозволяється одною ложечкою або шпателем, без спеціальної їх очистки, брати декілька реактивів;

в) корки від посуду з реактивами слід класти на робоче місце столу так, щоб вони не торкались поверхні столу своєю внутрішньою поверхнею. Категорично забороняється закривати посуд корками від іншого посуду;

г) забороняється класти піпетки на поверхню робочого столу, їх слід поміщати в спеціальні штативи.

12. Всі реакції слід проводити з невеликою кількістю досліджуваних речовин і реактивів. Для виконання більшості реакцій необхідно брати від декількох крапель до 1 мл досліджуваного розчину.

13. Необхідно пам'ятати:

а) більшість реакцій відбуваються лише при створенні певних умов. В зв'язку з цим, як правило, реактив слід додавати лише тоді, коли для цієї мети підготовлений досліджуваний розчин (створене відповідне середовище, досягнута необхідна температура тощо);

б) якщо реакція повинна проходити в кислому або в лужному середовищі, то не слід додавати будь-який об'єм кислоти чи лугу до досліджуваного розчину. Після додавання визначеного об'єму розчину кислоти чи лугу до досліджуваного розчину, рідину необхідно збовтати, а потім краплю суміші скляною паличкою перенести на шматочок лакмусового або індикаторного папірця і визначити рН середовища.

Робота з кислотами і лугами

1. При роботі з концентрованими кислотами і лугами необхідно поводитись дуже обережно. Не допускати їх потрапляння на шкіру чи одяг, що може спричинити опіки і пошкодження одягу.

2. При розведенні концентрованих кислот необхідно обережно і повільно приливати кислоту до води, а не навпаки.

3. При переливанні великих кількостей концентрованих кислот і розчинів лугів необхідно:

а) одягнути гумові рукавиці, фартух і захисні окуляри;

б) встановлені в кошики балони необхідно помістити на підставку, а потім повільно нахилити і переливати ці розчини через лійку в добре вимиті і висушені штанглази або склянки;

в) для набирання необхідних об'ємів кислот і розчинів лугів та реактивів слід використовувати спеціальний дозуючий пристрій (забороняється втягувати ротом через піпетки концентровані кислоти і луги);

г) луги, що знаходяться у твердому стані, необхідно відбирати з банок за допомогою пінцетів або шпателів; при подрібненні кусків лугу очі слід захищати спеціальними окулярами.

Робота зі шкідливими і токсичними речовинами

При роботі з шкідливими і отруйними речовинами (солі барію, ртуті, свинцю, арсену, міді, металічна ртуть, сірководень тощо) необхідно дотримуватись наступних правил:

а) слідкувати за тим, щоб вищевказані речовини не потрапили в організм через шлунково-кишковий тракт. У зв'язку з цим забороняється прийом їжі в лабораторії. Після роботи необхідно добре вмити руки;

б) штанглази з ртуттю або заповнені нею прилади слід встановлювати в спеціальні підставки, щоб під час пошкодження приладів ртуть не потрапляла на робочий стіл чи на підлогу. Пролиту із посуду, або із приладів ртуть слід зразу ж акуратно зібрати за допомогою мідної (срібної) лопатки чи вакуум- шланга і провести демеркуризацію. Робота із ртуттю дозволяється лише в спеціальних приміщеннях. Особи, що працюють із ртуттю, повинні ознайомитись з відповідною інструкцією.

Робота з горючими та легкозаймистими речовинами

1. При роботі з ефірами, спиртами, бензолом, ацетоном та іншими займистими речовинами, нагрівати їх можна лише на водяних нагрівниках в колбах із зворотним холодильником.

2. Нагрівання вогнебезпечних рідин необхідно проводити без вогню, на попередньо нагрітому водяному чи іншому нагрівнику.

3. При роботі з легкозаймистими речовинами не можна доливати їх до суміші реагуючих речовин із штанглазів великого розміру. Необхідну кількість цих речовин чи їх розчинів слід налити в чисту пробірку, а потім з неї доливати ці рідини до досліджуваного розчину.

4. Після закінчення роботи з легкозаймистими речовинами необхідно загасити пальники, які знаходяться близько до приладів з цими речовинами, а потім приступити до демонтування приладів, в яких знаходяться (чи знаходились) легкозаймисті речовини.

5. Забороняється зберігати горючі, легкозаймисті і леткі речовини близько від вогню чи сильно нагрітих електричних приладів (термостати, електричні печі тощо).

6. Лужні метали слід обов'язково зберігати під шаром вільного від води і вологи гасу. При роботі з металічним натрієм чи калієм недопустимою є їх взаємодія з водою. Після закінчення роботи залишок цих металів необхідно

перенести в спеціально відведений для цього посуд. Забороняється викидати металічний натрій і калій в раковину або в склянки, що призначені для відливання інших рідин.

Робота з речовинами, що утворюють вибухонебезпечні суміші

1. Необхідно пам'ятати, що деякі гази (водень, ацетилен, оксид вуглецю тощо), а також спирти, легко киплячі вуглеводні (бензол, гексан тощо), ацетон, діетиловий ефір, сірковуглець і інші речовини при випаровуванні утворюють вибухонебезпечні суміші з повітрям. Працювати з такими речовинами необхідно при ввімкненій вентиляції, щоб їхні пари не накопичувались в атмосфері лабораторії.

2. Забороняється нагрівати чи піддавати удару речовини, що можуть утворювати вибухонебезпечні суміші (хлорати, перхлорати, персульфати тощо).

Робота з біологічними рідинами та тканинами внутрішніх органів трупів людей

При роботі з біологічним матеріалом існує небезпека:

- а) проникнення в організм токсичних речовин (особливо інгаляційним та перкутанним шляхами);
- б) зараження збудниками інфекційних хвороб (СНІДу, вірусних гепатитів, лептоспірозу, сказу, дифтерії тощо);
- в) зараження птомаїнами («трупними алкалоїдами»).

Для запобігання негативного впливу на організм, вказаних вище факторів, працювати з біологічним матеріалом необхідно під витяжною шафою, використовуючи індивідуальні засоби захисту – халати, рукавиці, окуляри, марлеві пов'язки тощо.

Перша допомога при нещасних випадках

Нещасні випадки (опіки, поранення, отруєння) в лабораторії можуть мати місце в результаті недостатньої ознайомленості працюючих з існуючими інструкціями з техніки безпеки або в результаті неакуратної роботи. Надання першої допомоги потерпілому полягає в наступному:

1. При попаданні на шкіру сильних кислот їх слід акуратно змити водою, а потім розчином натрію гідрокарбонату. При попаданні на шкіру концентрованої сульфатної кислоти перед обмиванням пошкодженої ділянки тіла, цю кислоту необхідно обережно зняти сухим ватним тампоном чи сухою лляною або бавовняною тканиною. Потім пошкоджену ділянку промити водою і розчином натріюгідрокарбонату.

2. При попаданні на шкіру концентрованих розчинів лугів ушкоджене місце необхідно промити водою, а потім залишок розчину нейтралізувати розведеною ацетатною чи цитратною кислотою.

3. При попаданні на шкіру фенолу, бромової чи інших подразнюючих речовин ушкоджене місце необхідно промити відповідним органічним розчинником

(спиртом, бензолом, бензином, ефіром тощо).

4. При отруєнні хлором, бромом, оксидами азоту потерпілому необхідно дати вдихати пари розчину аміаку і випити молоко.

5. При опіках тіла вогнем слід негайно промити обпечену ділянку 10 % розчином калію перманганату і покласти на опік компрес із спиртового розчину таніну.

6. При порізах рану слід обробити спиртовим розчином йоду і перев'язати.

7. Після надання потерпілому першої допомоги його необхідно негайно направити в лікувальний заклад.

Ліквідація пожежі

1. При виникненні пожежі в лабораторії необхідно негайно вимкнути газ і всі електричні прилади. Всі займисті речовини забрати від місця пожежі і подзвонити по телефону: 01. Місце пожежі необхідно засипати піском чи накрити шерстяною ковдрою і гасити вогонь за допомогою вогнегасника.

2. Використовувати воду при гасінні пожежі слід обережно, тому що вода в деяких випадках сприяє не гасінню, а поширенню пожежі.

3. При загорянні одягу – на потерпілого слід накинути шерстяну ковдру, яку не слід знімати до згасання полум'я.

МЕТОДИЧНІ РОЗРОБКИ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №1

Зміст і завдання хіміко-токсикологічного аналізу. Зовнішній огляд і попередні випробування об'єкта дослідження

Теоретичні відомості

З розвитком науково-технічного прогресу збільшилася кількість речовин, які використовуються в народному господарстві. Ці речовини токсично впливають на організм людей і можуть викликати гострі та хронічні отруєння. Причиною отруєння можуть бути різні технічні рідини, отрутохімікати, засоби для миття, отруйні гази, луги, кислоти, метали, отрути рослинного та тваринного походження, предмети косметики, дезінфікуючі засоби, лікарські препарати, промислові відходи, сурогатні алкогольні напої тощо. Для встановлення причини отруєння необхідно проводити хіміко-токсикологічне дослідження об'єктів аналізу.

Хіміко-токсикологічний аналіз (ХТА) починають із складання плану досліджень, конкретизують наявність яких отрут необхідно проводити аналіз даного об'єкта, які методи для цього застосовувати та послідовність виконання всіх операцій. Тут також враховують характеристику об'єктів дослідження: в окремих випадках на дослідження поступає загнилий біологічний матеріал (особливо це характерне для екстгумованих тіл). Гниття (амоніфікація) - процес розкладання азотовмісних органічних сполук (білків, амінокислот), в результаті їх ферментативного гідролізу під дією амоніфікуючих мікроорганізмів з утворенням токсичних для людини кінцевих продуктів - аміаку, сірководню, а також первинних і вторинних амінів: путресцину, кадаверину (трупні отрути) та скатолу, індолу (ароматичні сполуки).

Складання плану хіміко-токсикологічного аналізу(судово-токсикологічного дослідження) ґрунтується на:

- 1) завданні, поставленому органами охорони здоров'я, або судово-слідчими органами (повний чи цілеспрямований хіміко-токсикологічний аналіз);
- 2) даних супровідних документів (обставини справи, виписки з історії хвороби, акт судово-медичного дослідження трупа);
- 3) характеристиці доставлених об'єктів дослідження (переліку, кількості, природі, властивостях тощо);
- 4) результатах зовнішнього огляду і попередніх випробувань об'єкта дослідження (колір, запах, наявність сторонніх включень, рН середовища, наявність аміаку, сірководню, тощо).

Попередні випробування. Їх існує два види:

- до ізолювання речовин із біологічних об'єктів дослідження;

- після ізолювання речовин із біологічних об'єктів дослідження.

Попередні проби характеризуються експресністю, чутливістю та специфічністю. Для попередніх випробувань використовують хімічні, біохімічні, імунохімічні та хроматографічні методи аналізу.

При діагностиці гострих інтоксикацій практичне значення мають чутливі тести, які швидко виконуються і дозволяють уточнити клінічний діагноз.

Виділення отрут із об'єктів дослідження.

Вибір методів виділення (ізолювання та очистки) отрут, що підлягають обов'язковому судово-хімічному дослідженню, залежить від результатів попередніх досліджень.

Виявлення та визначення отрут у витяжках.

При виконанні хіміко-токсикологічного аналізу використовують лише апробовані методи та методики, які студенти освоюють на модельних розчинах та сумішах отрут з біологічним матеріалом.

Виконання лабораторної роботи

1. Встановлення наявності сторонніх включень

При огляді вмісту шлунка можуть бути виявлені сторонні включення, які необхідно досліджувати окремо.

2. Визначення забарвлення та запаху об'єктів дослідження

Проводиться визначення забарвлення шлунка і його вмісту. Це забарвлення може бути характерним для деяких отрут.

Специфічний запах та колір об'єктів дослідження орієнтує на пошук конкретної отрути або групи речовин. Так, гіркий мигдальний запах об'єкту дослідження свідчить про можливість наявності ціанідної кислоти, бензальдегіду або нітробензолу. Синьо-зелене забарвлення — на наявність сполук хрому, купруму та ін.

3. Встановлення наявності консервантів

В деяких випадках біологічний матеріал консервується речовинами, які можуть мати певний вплив на хід та результати аналізу. Це необхідно враховувати при складанні плану хіміко-токсикологічного аналізу.

4. Визначення реакції середовища (рН середовища) досліджуваного об'єкта

Невелику кількість досліджуваної біологічної проби (внутрішні органи, вміст шлунка) поміщають в пробірку, заливають водою та перемішують. Частину водної витяжки наносять скляною паличкою на універсальний індикаторний папір, лакмусовий папірець (інтервал рН переходу червоного забарвлення в синє — 5,0- 8,0), а також на папірці, оброблені розчинами індикатора конго червоного (інтервал рН переходу синьо-фіолетового забарвлення у червоне — 3,0-5,2)

та фенолфталеїну (інтервал рН переходу безбарвного розчину в червоний – 8,2-10,0). Попліч проводять контрольні досліди з дистильованою водою.

Кисле середовище дає змогу виключити з кола досліджень речовини основного характеру (гідроксиди та карбонати лужних металів, амонію гідроксид), солей, що гідролізують за катіоном сильної основи (великі кількості калію ціаніду, натрію або калію нітритів тощо).

Сильно кисле середовище (рН 1-3) свідчить на поступлення в організм великої кількості мінеральних чи органічних кислот і потребує проведення їх дослідження.

Лужне середовище вказує на відсутність мінеральних і органічних кислот, орієнтує на пошуки отрут основного характеру.

5. Виявлення аміаку і сірководню

Частину біологічної проби вносять в невелику конічну колбу і закривають корком, до якого знизу прикріплено **три індикаторні папірці**:

перший (червоний лакмусовий папірець, змочений водою) – для визначення рН середовища;

другий (папірець, змочений розчином сульфату купруму) - для виявлення аміаку.

третій (папірець, змочений розчином ацетату плюмбуму) – виявлення сірководню:

Колби залишають на 30 хв, а потім спостерігають за результатом:

1) При наявності **аміаку** спостерігається посиніння **першого** та **другого** папірців.

2) При наявності **сірководню** спостерігається почорніння **третього** папірця.

Зміна забарвлення всіх трьох папірців свідчить про взаємну присутність аміаку і сірководню, а це доказує наявність процесів гниття у досліджуваному об'єкті. Такий об'єкт не досліджується на наявність аміаку екзогенного походження.

6. Виявлення окисників

10 г вмісту шлунка вносять в колбу, заливають водою до покриття твердих частинок, настоюють 30 хв. і водну витяжку зливають. У фарфорову чашку вносять 2-4 краплі витяжки, додають 1 мл 1% розчину дифеніламіну у концентрованій сульфатній кислоті і спостерігають за зміною забарвлення. Негайне утворення синього забарвлення вказує на наявність окисників (нітратів, нітритів, хлоратів, гіпохлоритів, броматів, йодатів).

7. Виявлення летких відновників (метанолу, етанолу тощо)

В пробірку вносять 1 мл сечі і накривають склом з висячою краплею 2,5% розчину каліюдихромату в 50% розчині сульфатної кислоти. Вміст пробірки нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 2 хв. і спостерігають за зміною забарвлення висячої краплі. Поява зеленого забарвлення орієнтує на пошук

спиртів та альдегідів.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Токсикологічна хімія, її мета і завдання.
2. Етапи становлення та розвитку токсикологічної хімії.
3. Законодавчі акти та організація судово-медичної експертизи в Україні.
4. Основна документація, яка ведеться при проведенні хіміко-токсикологічного аналізу.
5. Визначення понять "отруєння" і "отрута". Загальні принципи класифікації отрут: за хімічною будовою, метою застосування, за ступенем токсичності (гігієнічна), видом токсичної дії (токсикологічна), вибірковою токсичністю, за способами виділення з об'єктів біологічного походження, за причиною виникнення, за умовами (місцем) розвитку, за клінічним принципом (гострі, хронічні, підгострі отруєння), за шляхами проникнення в організм; нозологічна класифікація.
6. Шляхи проникнення отрут в організм, транспортні механізми всмоктування і взаємозв'язок їх з фізичними і хімічними властивостями речовин. Розподіл отрут в органах, виведення їх з організму та кумуляція. Залежність токсичності речовин від шляху проникнення.
7. Основні закономірності поведінки отруйних речовин в організмі. Метаболізм (біотрансформація) отрут. Перша і друга фази метаболізму. Летальний синтез. Навести приклади.
8. Загальний та скерований (цілеспрямований) хіміко-токсикологічний аналіз.
9. Особливості аналізу окремих об'єктів у залежності від їх природи, стану, хімічних властивостей отруйних речовин.
10. Розкладання біологічного матеріалу, його види та основні хімічні процеси, що при цьому відбуваються.
11. План проведення хіміко-токсикологічного аналізу. Порядок складання плану хіміко-токсикологічного аналізу та основні фактори, які при цьому слід брати до уваги.
12. Проведення зовнішнього огляду об'єктів дослідження. Його вплив на схему хіміко-токсикологічного аналізу. Навести приклади.
13. Попереді проби, мета їх проведення та вплив на складання плану хіміко-токсикологічного аналізу.
14. Скрінінгові дослідження у токсикологічній хімії, їх завдання. Методи, що використовуються у скрінінгових дослідженнях.
15. Виявлення аміаку, сірководню, кислот, лугів, окисників, відновників та консервантів у пробах. Тракткування одержаних результатів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2

Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу настоюванням досліджуваних об'єктів водою (мінеральні кислоти, луги, солі)

Теоретичні відомості

До групи отрут, які ізолюються із об'єктів дослідження шляхом настоювання біологічного матеріалу водою, належать мінеральні кислоти, луги та деякі солі мінеральних кислот. Для очистки отриманих водних витяжок з біологічного матеріалу застосовують фільтрування чи центрифугування та метод діалізу.

Виділення мінеральних кислот, лугів та солей з біологічного матеріалу.

Досліджувані об'єкти подрібнюють і додають воду до вкриття нею твердих часточок біологічного матеріалу. Суміш води і біологічного матеріалу при частому перемішуванні настоюють протягом 1-2 год, потім фільтрують, або центрифугують. Для повнішого очищення водних витяжок з біологічного матеріалу від домішок застосовують метод діалізу. Діалізати упарюють на водяному нагрівнику до невеликого об'єму (5-10 мл). Упарені діалізати досліджують на наявність кислот, лугів та солей.

Виконання лабораторної роботи

Дослідження діалізату на наявність мінеральних кислот

Виявлення сульфатної кислоти

Частину діалізату перевіряють на наявність сульфат-іонів. Якщо реакція позитивна, проводять визначення вільної сульфатної кислоти. Для цього діалізат переносять у колбу, призначену для відгонки кислот, додають 1–2 г мідних ошурок, з'єднують колбу з холодильником і алонжем. Кінець алонжа занурюють у приймач, що містить розчин йоду в концентрованому розчині калій йодиду. Відгонку проводять на масляній бані. Якщо під час перегонки розчин у приймачі починає втрачати забарвлення, додають додаткову кількість розчину йоду. Коли забарвлення більше не змінюється, приймач від'єднують, отриманий розчин підкислюють 10%-м розчином хлоридної кислоти та нагрівають до повного видалення залишків йоду.

1. Реакція з барій хлоридом

До 3–5 крапель дистиляту додають 1–2 краплі 5%-го розчину барій хлориду. Утворення білого осаду барій сульфату свідчить про наявність у пробі сульфатної кислоти. Отриманий осад не розчиняється в хлоридній чи нітратній кислотах, а також у лужних розчинах.

2. Реакція з плюмбум ацетатом

До кількох крапель дистиляту доливають 2–3 краплі 3%-го розчину плюмбум ацетату. Якщо у зразку присутня сульфатна кислота, спостерігається випадання білого осаду плюмбум сульфату. Цей осад не розчиняється в нітратній кислоті, проте добре розчиняється у розчинах лугів та амоній ацетату під час нагрівання.

3. Реакція з натрій родизонатом

На аркуш фільтрувального паперу наносять краплю 1%-го розчину барій хлориду та краплю свіжоприготованого 0,2%-го розчину натрій родизонату. У результаті утворюється червона пляма. Якщо на неї додати 1–2 краплі дистиляту, то при наявності сульфатної кислоти червоне забарвлення зникає. Ця реакція є специфічною для виявлення сульфатів і сульфатної кислоти.

Виявлення нітратної кислоти

Нітратна кислота не переганяється з сильно розбавлених розчинів, якими можуть бути і діалізати. Під час перегонки нітратної кислоти з дуже розбавлених розчинів спочатку відганяється вода, а потім, при досягненні більш високої концентрації, починає переганятись і нітратна кислота. Тому діалізати, які досліджують на наявність нітратної кислоти, відганяють майже повністю.

Щоб знизити температуру, необхідну для перегонки нітратної кислоти, її переводять при наявності мідних ошурок в оксиди нітрогену. При взаємодії нітратної кислоти з ошурками міді утворюється оксид нітрогену (II), який взаємодіє з киснем повітря з утворенням оксиду нітрогену (IV). Під час реакції оксиду нітрогену (IV) з водою утворюються нітратна і нітритна кислоти. Для відгонки нітратної кислоти з діалізату використовують той самий апарат, що й для відгонки сульфатної кислоти. Однак при відгонці сульфатної кислоти у приймач вносять розчин йоду, а при перегонці нітратної кислоти - воду.

Нітратну кислоту, яка утворилась у приймачі, звільняють від нітритів та досліджують за допомогою хімічних реакцій.

1. Реакція фарбування шерсті

Невелику частину діалізату випаровують до сухого залишку разом із білими вовняними нитками. Якщо у зразку присутня нітратна кислота, волокна набувають жовтого відтінку. Після додавання розчину амоніаку колір змінюється з жовтого на помаранчевий.

2. Реакція з дифеніламіном

На чисте й висушене годинникове скло наносять 4–5 крапель 1%-го розчину дифеніламіну, приготовленого в концентрованій сульфатній кислоті, після чого додають краплю дистиляту. Якщо в досліджуваній рідині міститься нітратна кислота, з'являється синє забарвлення. Подібну реакцію можуть також проявляти нітрати, нітрити, хромати та інші сильні окисники.

3. Реакція з бруцином

На поверхню годинникового скла наносять кілька крапель дистиляту та додають 2–3 краплі 0,02%-го свіжоприготованого розчину бруцину в концентрованій сульфатній кислоті. У присутності нітратної кислоти спостерігається поява червоного забарвлення. Аналогічну реакцію можуть давати нітрити, перхлорати та деякі інші окиснювальні сполуки.

Виявлення хлоридної кислоти

З дуже розбавлених розчинів вільна хлоридна кислота не відганяється. В багатьох випадках такими розбавленими розчинами і є діалізати. З розбавлених розчинів спочатку відганяється вода. Коли концентрація хлоридної кислоти в розчині становитиме приблизно 10 %, тоді почне переганятись і хлоридна кислота. Тому досліджуваний діалізат, який містить хлоридну кислоту, переганяють майже до сухого залишку.

Хлоридна кислота може переганятись з діалігатів і в тих випадках, коли отруєння спричинила не хлоридна, а сульфатна кислота. Під час взаємодії сульфатної кислоти з хлоридами, яких є багато в організмі, виділяється вільна хлоридна кислота, яка і переганяється в ході аналізу. Тому перед виконанням реакцій на хлоридну кислоту, слід перевірити діалізати на наявність сульфатної кислоти. Тільки при відсутності сульфатної кислоти в діалізатах можна проводити дослідження їх на наявність хлоридної кислоти за допомогою хімічних реакцій.

1. Реакція з аргентум нітратом

До 1–2 мл дистиляту додають 1–2 краплі 5%-го розчину аргентум нітрату та приблизно 1 мл розбавленої нітратної кислоти. Поява білого осаду аргентум хлориду, який розчиняється в аміачному розчині, свідчить про наявність у пробі хлоридної кислоти.

2. Реакція з калій хлоратом

До 1 мл дистиляту вносять кілька кристалів калій хлорату і нагрівають. Якщо в зразку є хлоридна кислота, утворюється вільний хлор. Його наявність визначають за посинінням йодкрохмального папірця, що вказує на утворення хлору під час реакції.

Дослідження діалізату на наявність їдких лугів та аміаку

Виявлення гідроксиду натрію

1. Реакція з калій антимоанатом

До 3–5 крапель діалізату, попередньо нейтралізованого оцтовою кислотою, додають 2–3 краплі розчину калій антимоанату. Після цього стінки пробірки обережно потирають скляною паличкою. Якщо з'являється білий кристалічний осад, це свідчить про присутність у зразку іонів натрію.

2. Реакція з цинкураніацетатом

До 3–4 крапель діалізату доливають 8–10 крапель розчину

цинкуранілацетату. Формування зеленувато-жовтого осаду є ознакою наявності в досліджуваній пробі іонів натрію.

Виявлення гідроксиду калію

1. Реакція з натрій гідротартратом

У невелику пробірку додають 3–5 крапель досліджуваного діалізату, після чого вводять 3–4 краплі 1-н розчину натрій гідротартрату або рівний об'єм суміші 2-н розчину винної кислоти та 2-н розчину натрій ацетату. Стінки пробірки акуратно потирають скляною паличкою. Якщо у пробі присутні іони калію, з'являється білий кристалічний осад. Проведенню реакції можуть заважати іони амонію, які також утворюють осад із натрій гідротартратом.

2. Реакція з натрій гексанітрокобальтатом

У невелику пробірку наливають 3–5 крапель діалізату і додають 2–3 краплі розчину натрій гексанітрокобальтату. Поява жовтого осаду свідчить про наявність у зразку іонів калію. Реакція може бути спотворена присутністю іонів амонію, йодидів або відновників, які заважають точності визначення.

Виявлення гідроксиду амонію

1. Реакція з купруму сульфатом і лакмусом

У колбу місткістю 50 мл вносять 10-15 мл водної витяжки з біологічного матеріалу або діалізату. Колбу закривають корком з двома прорізами знизу, в які вставляють 2 індикаторні папірці. Один з цих папірців є червоним лакмусовим папірцем, змоченим водою, другий - смужкою фільтрувального паперу, змоченого 10 %-м розчином купруму сульфату. Колбу вміщують на гарячий водяний нагрівник і витримують протягом 5-10 хв. Якщо у водній витяжці або діалізаті міститься аміак, то обидва папірці посиніють. Під впливом аміаку червоне забарвлення лакмусу зміниться на синє, а на папері, змоченому купруму сульфатом, утвориться комплексна сполука $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4$, забарвлена в інтенсивний синій колір.

2. Реакція з реактивом Несслера

У пробірку вносять 1-2 краплі досліджуваної водної витяжки з біологічного матеріалу або діалізату, додають 3-5 крапель води і 3-4 краплі реактиву Несслера. При наявності аміаку в досліджуваних рідинах утвориться жовто-бурий або оранжево-коричневий осад.

Виконанню цієї реакції заважають іони феруму (III) та іони інших металів, які утворюють з лугами осади, а також іони меркурію (II), стибію (III) та стануму (II), які реагують з іонами йоду, що входять до складу реактиву Несслера. Внаслідок цього реактив Несслера руйнуватиметься.

Дослідження діалізату на наявність солей лужних металів

Виявлення нітритів

1. Реакція з сульфаніловою кислотою і β-нафтолом

У заглиблення на краплинній пластинці або у маленьку пробірку вносять 1-

2 краплі діалізату, додають 2-3 краплі 0,5 %-го розчину сульфанілової кислоти у 2 %-му розчині хлоридної кислоти. Після перемішування рідини через 5 хв. додають краплю лужного розчину β -нафтолу. При наявності нітритів у діалізаті виникає оранжево-червоне забарвлення, інтенсивність якого залежить від кількості нітритів у пробі. Нітрати не дають цієї реакції.

2. Реакція Грісса

У заглиблення на краплинній пластинці або у маленьку пробірку вносять кілька крапель діалізату і додають 3-4 краплі реактиву Грісса. При наявності нітритів відразу або через деякий час з'являється червоне забарвлення. Нітрати не дають цієї реакції.

3. Реакція з 1,8-нафтилендіаміном

У заглиблення на краплинній пластинці або на годинникове скло наносять 2-3 краплі діалізату, 1 краплю 0,1 %-го розчину 1,8- нафтилендіаміну в 10 %-му розчині ацетатної кислоти. Відразу або після нагрівання з'являється оранжево-червоне забарвлення або осад такого самого кольору. Нітрати не дають цієї реакції.

4. Йодкрохмальна реакція

На смужку йодкрохмального паперу наносять краплю 1 %-го розчину хлоридної кислоти і на те саме місце — 3-4 краплі діалізату. При наявності нітритів у діалізаті на папері з'являється пляма синього кольору. Цій реакції заважають окислювачі, які, як і нітрити, виділяють йод з калію йодиду.

Виявлення нітратів

1. Реакція з дифеніламіном

У заглиблення на краплинній пластинці або на предметне скло наносять 2-3 краплі 1 %-го розчину дифеніламіну в концентрованій сульфатній кислоті. До цього розчину додають 1-2 краплі діалізату. Виникнення синього забарвлення розчину свідчить про наявність нітратів у діалізаті.

2. Реакція з феруму (II) сульфатом і концентрованою сульфатною кислотою

У заглиблення на краплинній пластинці або на годинникове скло наносять краплю діалізату. Збоку біля нанесеного діалізату вміщують кристалик феруму (II) сульфату. Краплинну пластинку або годинникове скло злегка нахиляють так, щоб рідина стікала в бік кристалика феруму (II) сульфату. Якщо в діалізаті є нітрати, то навколо кристалика феруму (II) сульфату утворюється коричневе кільце. Ця реакція не специфічна для відкриття нітратів, її дають нітрити.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Неорганічні кислоти (хлоридна, нітратна, сульфатна) та луги (гідроксиди натрію, калію, кальцію, амонію). Механізм їх токсичної дії та ознаки отруєння.
2. Солі нітратної та нітритної кислот (нітрати, нітрити). Механізм їх

токсичної дії та ознаки отруєння. Застосування у побуті.

3. Попередні проби, що вказують на можливе отруєння неорганічними кислотами та лугами.

4. Попередні проби, що вказують на можливе отруєння нітратами та нітридами. Навести хімізм відповідних реакцій.

5. Метод ізолювання з біологічного матеріалу настоюванням з водою. Загальна характеристика методу та порядок проведення.

6. Очистка витяжок з біологічного матеріалу за допомогою діалізу. Принцип методу, його недоліки та переваги. Порядок проведення.

7. Очистка витяжок з біологічного матеріалу за допомогою електродіалізу. Принцип методу, його недоліки та переваги. Порядок проведення.

8. Відгонка кислот із діалізату. Порядок її проведення та мета.

9. Виявлення сульфатної кислоти. Навести хімізм відповідних реакцій.

10. Виявлення нітратної кислоти. Навести хімізм відповідних реакцій.

11. Виявлення хлоридної кислоти. Навести хімізм відповідних реакцій. Трамбування результатів аналізу при одночасній наявності в пробі сульфатної і хлоридної кислот.

12. Виявлення гідроксиду калію в діалізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

13. Виявлення гідроксиду натрію в діалізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

14. Виявлення аміаку в діалізаті. Навести хімізм відповідних реакцій. Особливості трамбування результатів аналізу при одночасній наявності в пробі сірководню.

15. Виявлення нітратів та нітритів в діалізаті. Методи видалення нітритів з досліджуваних розчинів. Загальні реакції на нітрати і нітрити та реакції, якими їх можна відрізнити. Навести хімізм відповідних реакцій.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №3

**Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу
дистиляцією з водяною парою (леткі речовини). Дослідження першої
фракції дистиляту на ціаніди**

Теоретичні відомості

Леткі речовини через широке використання в побуті та виробництві є легкодоступними і дуже часто стають причиною гострих та хронічних отруєнь.

Леткі речовини легко проникають в організм через дихальні шляхи і легені. Це пояснюється великою поверхнею всмоктування в альвеолах ($100-150 \text{ м}^2$) і відсутністю біологічних бар'єрів для затримання отрут. Більшість речовин цієї

групи добре розчинні в жирах і можуть проникати в організм через непошкоджену шкіру та шлунково-кишковий тракт.

Отруєння леткими речовинами часто призводять до летальних наслідків. В цих випадках з метою посмертної діагностики виникає потреба у виділенні цих отрут із внутрішніх органів та біологічних рідин трупа і їх виявленні та кількісному визначенні. Ця група отрут (леткі речовини) виділяється із об'єктів дослідження шляхом перегонки (дистиляції) з водяною парою.

Дистиляцією (перегонкою) називається процес випаровування рідкої суміші і утворення пари, при конденсації якої, утворюється рідина нового складу — дистилят. Дистилят відрізняється від вихідної рідини більшим вмістом леткого компоненту. Для збільшення концентрації речовини у дистиляті, його ще піддають дефлегмації. При перегонці, багатокомпонентні рідкі суміші, розділяються на окремі фракції, які відрізняються за своїм складом.

В судово-токсикологічному аналізі найчастіше використовується метод дистиляції з водяною парою при атмосферному тиску.

Здатність речовин переганятися з водяною парою залежить від їх хімічних і фізичних властивостей. Речовини, які переганяються з водяною парою можна розділити на 3 групи:

- які змішуються з водою (розчинні у воді);
- які обмежено змішуються з водою (обмежено розчинні у воді);
- які не змішуються з водою (нерозчинні у воді).

Зовнішній огляд одержаного дистиляту. Візуально встановлюють наявність крапель рідини, що не змішується з водою. Рідка гетерофаза може знаходитися у виді крапель або тонкої плівки на поверхні дистиляту, або на дні колби під шаром конденсату. Якщо рідини, що не змішується з водою, є дуже мало, то вона може не сконденсуватися у гетерофазу, особливо у свіжовідігнутому теплом дистиляті, а утворити рідину з помітною опалесценцією. Наявність гетерофази над або під шаром води дозволяє зробити попереднє припущення про наявність вуглеводнів чи вищих спиртів (густина їх є меншою за густину води) або галогенпохідних вуглеводнів (їх густина є більшою за густину води).

В одержаному дистиляті (який конденсується в приймач без додавання кислоти чи лугу) слід також визначити рН середовища за допомогою універсального індикатора. Речовини, що здатні до гідролізу або дисоціації, будуть змінювати рН розчину залежно від своїх основних чи кислотних властивостей (наприклад, фенол).

Специфічний запах дистиляту у більшості випадків вказує на присутність відповідної речовини.

Загалом, дистилят з біологічного матеріалу є безбарвним. Наявність певного забарвлення одержаного дистиляту може бути дуже важливою ідентифікаційною

ознакою, особливо під час дослідження отруєнь технічними рідинами чи денатурованим спиртом.

Дистилят розділяють на кілька частин і зберігають у колбах із притертим корком, для його наступного дослідження різними методами.

Виконання лабораторної роботи

Попередні проби на леткі речовини

1. Проба на метанол та формальдегід

До 1 мл сечі вносять краплю 2,5% розчину калію дихромату в 50 % розчині сульфатної кислоти і залишають при кімнатній температурі на 5 хв. Потім в пробірку додають краплю етанолу, на кінчику скальпелю декілька міліграмів хромотропової кислоти і обережно по стінці пробірки приливають концентровану сульфатну кислоту до утворення помітного шару.

Утворення фіолетового забарвлення на межі двох шарів вказує на наявність метанолу чи формальдегіду.

2. Проба на галогенпохідні вуглеводнів

До 1 мл сечі чи профільтрованої витяжки із вмісту шлунка вносять 1 мл 10% розчину натрію гідроксиду та 1 мл свіжоперегнаного піридину. Пробірку нагрівають 2 хв. на киплячому водяному нагрівнику. Виникає рожеве чи червоне забарвлення при наявності хлороформу, дихлоретану та тетрахлориду карбону. При позитивному результаті цієї проби проводять наступні дослідження на галогенпохідні вуглеводнів.

Методика виділення летких речовин із об'єктів дослідження

100 г біологічного матеріалу (внутрішніх органів трупа або інших об'єктів біологічного походження) ретельно подрібнюють ножицями, вносять у круглодонну колбу апарата для перегонки з водяною парою, додають воду до одержання кашоподібної маси, яку підкислюють насиченим водним розчином щавлевої або винної кислоти до $\text{pH} = 2 - 2,5$ (вміст маси для перегонки не повинен перевищувати 1/3 об'єму колби).

Після підкислення вмісту колби її одразу ж закривають корком з двома склянимитрубками. Через одну трубку, що майже досягає дна колби, колбу для перегонки приєднують до пароутворювача з киплячою водою. Через другу скляну трубку, зігнуту під прямим кутом, колбу приєднують до холодильника Лібіха, який охолоджується холодною водою. На кінець холодильника Лібіха за допомогою корка надягають алонж для стікання дистиляту в приймач.

Після з'єднання всіх частин апарата починають перегонку летких речовин з водяною парою з біологічного матеріалу. При цьому вода в пароутворювачі і водяному нагрівнику, в який занурена колба для перегонки, повинна бути нагріта до кипіння.

Першу порцію дистиляту в кількості 3 мл збирають у приймач, що містить

2—3 мл 2 %-го розчину натрію гідроксиду. При цьому кінець алонжа повинен бути занурений у цей розчин лугу. Зібраний у розчин лугу дистилят використовують для виявлення в ньому ціанідів. Потім у конічні колби місткістю 50 мл збирають 1–2 порції дистиляту по 25 мл.

Дослідження синильної кислоти у дистиляті

1. Реакція утворення берлінської блакиті

До 2 мл першої порції дистиляту, що збирався у розчин лугу, додають 2 мл 10 % розчину сульфату заліза (II) і такий самий об'єм 10 % розчину заліза (III) хлориду. Суміш збовтують і нагрівають на газовому пальнику майже до кипіння, а потім охолоджують до кімнатної температури і додають 10 % розчин хлоридної кислоти до слабко кислої реакції на лакмус. Виникнення синього осаду або синього забарвлення вказує на наявність ціановодневої кислоти (ціанідів) у дистиляті.

Для дослідження гнильного біоматеріалу застосовують іншу методику виконання цієї реакції — на індикаторному папері. Для цього 2-3 мл дистиляту поміщають у пробірку, додають 1 мл 10 % розчину сульфатної кислоти і щільно закривають отвір пробірки фільтрувальним папером, просоченим розчином сульфату заліза (II), що вміщує домішки сульфату заліза (III). Пробірку 15 хв. витримують на водяній бані при 70°C. Індикаторний папір занурюють у 25 % розчин сульфатної кислоти. За наявності ціанідів на індикаторному папірці утворюється пляма синього кольору (берлінська блакить) на білому тлі паперу.

2. Реакція утворення роданіду заліза

До 2-3 мл досліджуваного дистиляту додають 3-5 крапель 20 % розчину амонію полісульфіду і суміш упарюють на водяній бані до невеликого об'єму. До цієї суміші додають по краплях 10 % розчин хлоридної кислоти до слабко кислої реакції (за універсальним індикатором), а потім додають 1-2 краплі 10 % розчину заліза (III) хлориду. Виникнення криваво-червоного забарвлення свідчить про наявність ціанідів у дистиляті.

3. Реакція з міді ацетатом та бензидином

Реакція виконується на фільтрувальному папері, просоченому сумішшю розчинів ацетату міді та бензидину. В пробірку додають 2-3 мл дистиляту і 1 мл 10 % розчину тартратної кислоти. Пробірку закривають корком з прикріпленим до нього клаптиком зволоженого індикаторного паперу. Пробірку впродовж декількох хвилин нагрівають на водяній бані. При наявності ціанідів у дистиляті індикаторний папір набуває синього кольору.

4. Реакція утворення поліметинового барвника (з піридин-бензидиновим реактивом)

До 2-3 мл дистиляту додають 0,5 мл бромної води, 1 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти, а потім по краплях 0,5 % розчин гідразину сульфату до знебарвлення рідини і додатково ще одну краплю. До суміші додають 3 мл

піридин-бензидинової суміші. За наявності ціанідів виникає оранжеве забарвлення, яке поступово переходить у червоно-фіолетове. Проходженню реакції не заважають продукти гнильного розпаду біоматеріалу.

5. Мікрокристалоскопічна реакція утворення ціаніду срібла

Частину дистилату випаровують до сухого залишку і переносять його на предметне скло. До сухого залишку додають по одній краплі 10 % розчину нітратної кислоти, 1 % розчину метиленового синього та 1 % розчину нітрату срібла. Під мікроскопом спостерігають утворення кристалів у формі довгих голок або зростків з них блакитного кольору. Цю реакцію можна використовувати для дослідження гнильного біоматеріалу.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Фізико-хімічні властивості, будова і дія на організм летких речовин. Причини і частота отруєнь леткими речовинами. Особливості комбінованих отруєнь. Токсикоманія.

2. Перегонка з водяною парою. Принцип методу, будова приладу та порядок проведення. Переваги та недоліки методу. Закон Дальтона.

3. Азеотропні суміші, їх види. Використання явища утворення азеотропних сумішей в хіміко-токсикологічному аналізі. Навести приклади.

4. Вплив рН середовища на відгонку речовин із проби. Навести приклади.

5. Особливості використання селективних носіїв для виділення деяких лікарських отрут.

6. Метод фракційної перегонки (дефлегмації). Принцип методу та порядок проведення. Використання в токсикологічній хімії.

7. Метод мікродифузії. Принцип методу та порядок проведення досліджень. Використання в токсикологічній хімії.

8. Синильна кислота та ціаніди, їх механізм токсичної дії та ознаки отруєння. Основні антидоти, які використовуються при отруєнні ціанідами.

9. Напрямки метаболізму синильної кислоти та ціанідів. Навести формули метаболітів.

10. Виявлення синильної кислоти та її солей в дистилаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №4

Аналіз дистилляту на наявність летких речовин за допомогою хімічних методів

Теоретичні відомості

Основні типи хімічних реакцій, які використовуються в аналізі:

- кислотно-основні реакції;
- реакції комплексоутворення - комплексометрія;
- окисно-відновні реакції;
- реакції з утворенням осаду (преципітація).

Аналітичними ознаками хімічних реакцій є утворення характерного осаду, утворення чи зміна забарвлення, виділення газу, характерний запах тощо.

Дослідження дистилляту за допомогою реакцій ідентифікації рекомендується проводити за поданою нижче схемою. В першу чергу виконуються реакції, що дозволяють виявити групу речовин, або є однаковими для декількох речовин. У випадку негативного результату таких реакцій ці речовини можна виключити з плану подальших досліджень. За позитивного результату слід виконати наступні за схемою реакції для підтвердження присутності виявленої речовини.

Таблиця 1.

Схема поетапного виконання реакцій при дослідженні дистилляту

Речовина, що досліджується	1 етап	2 етап	3 етап	4 етап	5 етап
1	2	3	4	5	6
Синильна кислота	Утворення берлінської блакиті	Утворення роданіду заліза	Утворення бензидинової сині		
Формальдегід	З хромотроповою кислотою	З фуксин-сірчистою кислотою	З реактивом Фелінга	З резорцином	
Ацетатна Кислота	З хлоридом заліза (III)	Утворення індиго	Утворення етилацетату		
Фенол	З хлоридом заліза (III)	Утворення індофенолу	З бромною водою	З реактивом Мілона	
Ацетон	Утворення йодоформу	З натрію Нітропрусид м (реакція Легала)	З фурфуролом	З о-нітро-бензальдегідом	
Етанол	Утворення йодоформу	Утворення етилацетату	Утворення ацетальдегіду		

Речовина, що досліджується	1 етап	2 етап	3 етап	4 етап	5 етап
1	2	3	4	5	6
Метанол	Утворення метилсаліцилату	Утворення формальдегіду і реакція з хромотроповою кислотою	Утворення формальдегіду і реакція з Фуксинсірчистою кислотою		
Ізоаміловий спирт	3 п-диметил-амінобензальдегідом	Утворення ізоамілацетату	Утворення ізовалер'янової кислоти		
Етиленгліколь	3 міді (II) сульфатом	Утворення оксалатної кислоти	Утворення формальдегіду та його виявлення		
Хлороформ	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення ізонітрилу	3 резорцином	3 реактивом Фелінга
Хлоралгідрат	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення ізонітрилу	3 резорцином	3 реактивом Фелінга 3 реактивом Неслера
Чотирехлористий вуглець	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення ізонітрилу	3 резорцином	
Дихлоретан	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення етиленгліколю і його виявлення	Утворення ацетиленіду міді	3 хіноліном

У ході дослідження дистилати зберігають у закритих корками колбах.

Виконання лабораторної роботи

Виявлення формальдегіду

1. Реакція з хромотроповою кислотою

До 1 мл дистилату додають 0,2 мл 1 % розчину хромотропової кислоти в концентрованій сульфатній кислоті, 5 мл концентрованої сульфатної кислоти і збовтують. Суміш нагрівають 10 хв. на водяній бані при 60 °С. При наявності формальдегіду виникає фіолетове забарвлення. Для успішного перебігу цієї реакції концентрація сульфатної кислоти повинна бути не меншою, ніж 72 %.

2. Реакція з фуксинсірчистою кислотою (реактивом Шіффа)

В пробірку вносять 1 мл дистилату і 3 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки збовтують і охолоджують протічною водою, а потім

додають 1 мл розчину фуксинсірчистої кислоти. За наявності формальдегіду одразу або впродовж 10-15 хвилин виникає синє чи синьо-фіолетове забарвлення. Забарвлення може виникати не лише за присутності формальдегіду, але і під впливом окисників (оксидів азоту, хлору, кисню повітря), підвищеної температури. Тому виникнення забарвлення через 30 хв. після додавання реактивів не слід вважати за позитивний результат реакції.

3. Реакція з резорцином

До 1 мл дистилату додають 0,5 мл 10 % розчину натрію гідроксиду і 1 мл 1 % розчину резорцину. В іншій пробірці (контрольний дослід) змішують 1 мл дистильованої води з цими ж реактивами. Обидві пробірки 3-5 хвилин нагрівають на водяній бані. За наявності формальдегіду виникає малинове або рожеве забарвлення. В контрольному досліді продукти окислення резорцину забарвлюються у жовто-зелений або зелений колір.

4. Реакція відновлення іонів срібла (утворення «срібного дзеркала»)

У знежирену пробірку вносять 5 крапель 1 % розчину нітрату срібла і по краплях додають 10 % розчин амонію гідроксиду до розчинення осаду. До одержаного розчину додають 1 мл дистилату і суміш обережно нагрівають на полум'ї газового пальника. На стінках пробірки утворюється блискучий наліт металічного срібла («срібне дзеркало») або випадає бурий осад (чорна муть) металічного срібла.

5. Реакція з реактивом Фелінга

1 мл дистилату вносять у пробірку, додають 1-2 краплі 10 % розчину натрію гідроксиду до лужної реакції (за універсальним індикатором) і 2-3 краплі реактиву Фелінга. Рідину інтенсивно збовтують і нагрівають на полум'ї газового пальника. Утворення жовтого або червоного осаду вказує на наявність формальдегіду в дистилаті.

Виявлення оцтової кислоти

1. Реакція з хлоридом заліза (III)

У пробірку до 2-3 мл дистилату додають 1 краплю 5 % розчину заліза (III) хлориду. Виникнення червоного забарвлення вказує на наявність ацетат-іонів в дистилаті. При нагріванні забарвленого розчину до кипіння випадає об'ємний бурий осад.

2. Реакція з лантану нітратом і йодом

До 1 мл дистилату додають 0,5 мл 5 % розчину нітрату лантану, 0,5 мл 0,25 % спиртового розчину йоду і 5 крапель 2 н. розчину аміаку. Виникнення інтенсивного синього забарвлення або випадіння синього осаду свідчить про присутність ацетат-іонів у дистилаті. Якщо забарвлення не виникає на холоді, то пробу повільно нагрівають до кипіння.

3. Реакція утворення індиго

Половину дистилату вносять в пробірку і випаровують насухо. До сухого

залишку додають суміш оксиду кальцію і карбонату кальцію (1 : 1). Отвір пробірки накривають фільтрувальним папером, змоченим розчином о-нітробензальдегіду в 5 % розчині натрію гідроксиду (папір набуває жовтого кольору). Потім пробірку нагрівають на полум'ї газового пальника до прожарювання її вмісту. За наявності ацетат-іонів на жовтому тлі фільтрувального паперу з нанесеним реактивом виникає синя пляма (забарвлення індиго).

4. Реакція утворення оцтово-етилового ефіру

3-5 мл дистиляту випаровують в пробірці насухо. До сухого залишку додають 1 мл етанолу і 2 мл концентрованої сульфатної кислоти, а потім суміш обережно нагрівають на полум'ї газового пальника. За наявності ацетатів у дистиляті виникає специфічний фруктовий запах етилацетату (запах яблучної есенції).

5. Реакція утворення оксиду какодилу (алкарзину, диметиларсину)

0,5 мл дистиляту у фарфоровому тиглі нейтралізують насиченим розчином натрію карбонату і випаровують насухо. Сухий залишок змішують із 100 мг оксиду арсену (III) і нагрівають на полум'ї газового пальника. Виникнення специфічного неприємного запаху какодилу свідчить про наявність ацетатної кислоти в пробі.

Виявлення фенолу

Для виявлення фенолу використовується частина третього дистиляту. Його вносять у роздільну лійку, додають розчин натрію гідрокарбонату до лужної реакції (за універсальним індикатором) і 2-3 рази збовтують з новими порціями діетиловоефіру по 10 мл. Ефірні екстракти об'єднують і випаровують насухо при кімнатній температурі. Сухий залишок розчиняють у 2-3 мл дистильованої води. Одержаний розчин використовують для виявлення фенолу за допомогою описаних нижче якісних реакцій. При виконанні якісних реакцій з чистою речовиною, екстракцію ефіром не проводять.

1. Реакція утворення трибромфенолу

До 0,5-1,0 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель бромної води. За наявності фенолу утворюється жовтуватобілий осад.

2. Реакція утворення індофенолу

До 0,5-1,0 мл досліджуваного розчину додають 1 мл 1 % розчину аніліну і 2 мл розчину натрію гіпохлориту або хлорного вапна. Виникнення брудно-фіолетового забарвлення вказує на наявність фенолу в пробі. Після додавання 10 % розчину аміаку забарвлення змінюється на стійке синє. Підкислення розчину 10 % хлоридною кислотою викликає зміну забарвлення на рожеве.

3. Реакція Лібермана

1-2 краплі досліджуваного розчину випаровують насухо в маленькому тиглі. До сухого залишку додають 1 краплю 1 % свіжовиготовленого розчину натрію

нітриту в концентрованій сульфатній кислоті і залишають суміш на декілька хвилин. Після охолодження до суміші по краплях додають 4 н. розчин натрію гідроксиду до лужної реакції (за універсальним індикатором). Виникнення синього забарвлення, яке переходить в червоне, а потім у зелене, вказує на наявність фенолу в пробі.

4. Реакція з хлоридом заліза (III)

До 1-2 крапель досліджуваного розчину додають 1-2 краплі 5 % розчину заліза (III) хлориду. За наявності фенолу виникає фіолетове або синьо-фіолетове забарвлення, що зникає від додавання води, спирту і кислот.

5. Реакція з реактивом Мілона

В тигель до досліджуваного розчину додають 1-2 краплі реактиву Мілона і суміш залишають на декілька хвилин. Якщо за цей час не відбудеться зміна забарвлення, то суміш нагрівають до кипіння і кип'ятять декілька хвилин. Виникнення червоного забарвлення вказує на наявність фенолу в пробі. За малих кількостей фенолу виникає жовте забарвлення.

6. Реакція з бензальдегідом

У пробірку до 0,1-0,5 мл досліджуваного розчину додають 2 мл концентрованої сульфатної кислоти і 1-2 краплі бензальдегіду. Під час нагрівання суміші до кипіння виникає темно-червоне забарвлення. Після охолодження до суміші додають 10 мл дистильованої води і 10 % розчин натрію гідроксиду до лужної реакції (за універсальним індикатором) — колір суміші змінюється на червоно-фіолетовий. Утворені забарвлені сполуки добре екстрагуються діетиловим ефіром і хлороформом.

Виявлення ацетону

1. Реакція утворення йодоформу

До 1 мл дистилату додають 1 мл 10 % розчину аміаку і по краплях 1 % розчин йоду в калію йодиді до стійкого слабко-жовтого забарвлення. За присутності ацетону утворюється жовтий осад з характерною формою кристалів і запахом.

2. Реакція з натрію нітропрусидом

До 1 мл дистилату додають 1 мл 10 % розчину натрію гідроксиду і 5 крапель 1 % розчину натрію нітропрусиду. За наявності ацетону в пробі виникає червоне або оранжево-червоне забарвлення. При підкисленні 10 % оцтовою кислотою забарвлення змінюється на червоно-фіолетове, а потім на вишнево-червоне.

3. Реакція з фурфуролом

До 1 мл дистилату додають 5 крапель 1 % розчину фурфуролу в етанолі (96 %) і 3 краплі 10 % розчину натрію гідроксиду. Через 5 хвилин до цієї рідини додають 10 крапель концентрованої хлоридної кислоти. За наявності ацетону виникає червоне забарвлення.

4. Реакція утворення індиго

У пробірку до 3-5 крапель дистиляту додають одну краплю насиченого розчину о-нітробензальдегіду в 2 н. розчині натрію гідроксиду. Суміш нагрівають на водяній бані, а потім охолоджують до кімнатної температури. Після цього в пробірку додають 1 мл хлороформу і збовтують. За наявності ацетону хлороформний шар забарвлюється в синій колір.

Незначні кількості ацетону реагують з о-нітробензальдегідом повільно. Спочатку виникає жовте забарвлення, яке змінюється на жовто-зелене, а потім у зелено-синє. Індиго, що при цьому утворилося, добре екстрагується хлороформом, який і набуває синього забарвлення.

Виявлення етилового спирту

1. Реакція утворення йодоформу

До 1 мл дистиляту додають 2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду і по краплях 1 % розчин йоду в 2 % розчині калію йодиду до стійкого блідо-жовтого забарвлення суміші. Суміш обережно нагрівають на водяній бані при 50 °С, потираючи скляною паличкою стінки пробірки. За наявності етанолу виникає характерний запах йодоформу. При великій кількості етанолу в пробі утворюються кристали йодоформу, що мають форму шестикутних зірочок і пластинок.

2. Реакція утворення етилацетату

До 1 мл дистиляту додають безводний натріюацетат до насичення розчину (до припинення його розчинення) і по краплях 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Суміш ретельно перемішують і обережно нагрівають на полум'ї газового пальника до появи перших бульбашок газу. Потім суміш виливають у 20 кратний об'єм дистильованої води. Виникнення специфічного фруктового запаху (запаху яблучної есенції) свідчить про наявність етанолу в пробі. Межа виявлення становить 15 мкг етанолу в пробі. Реакція є не специфічною, і застосовується для підтвердження наявності етанолу в пробі.

3. Реакція утворення етилбензоату

До 1 мл дистиляту додають 1-2 краплі бензоїлхлориду. До суміші при постійному збовтуванні по краплях додають 10 % розчин натрію гідроксиду до зникнення задушливого запаху бензоїлхлориду. Виникнення запаху етилбензоату вказує на наявність етанолу в пробі. Цей запах краще відчувається після нанесення декількох крапель реакційної суміші на клаптик фільтрувального паперу.

4. Реакція окислення етанолу до ацетальдегіду

До 1 мл дистиляту додають 10 % розчин сульфатної кислоти до кислої реакції (за універсальним індикатором) і по краплях 10 % розчин калію дихромату до оранжево-червоного забарвлення реакційної суміші. Суміш

залишають на декілька хвилин при кімнатній температурі. За наявності етанолу виникає фруктовий запах ацетальдегіду (запах свіжих яблук).

5. Реакція виявлення ацетальдегіду після окислення етанолу

2-3 краплі розчину, що утворився в ході реакції окислення етанолу до ацетальдегіду, наносять на крапельну пластинку або на фільтрувальний папір і додають 1 краплю реактиву: суміш однакових об'ємів 20 % розчину морфоліну і 5 % розчину натрію нітропрусиду. За наявності ацетальдегіду в розчині виникає синє забарвлення.

Межа виявлення становить 1 мкг ацетальдегіду в пробі. Формальдегід не дає даної реакції, а пропіоновий альдегід реагує лише при значній його концентрації. Тому реакцію окислення етанолу до ацетальдегіду і виявлення його з морфоліном і натрію нітропрусидом можна використовувати для розрізнення метанолу і етанолу.

Виявлення метилового спирту

Зважаючи на леткість метилового спирту, під час ізолювання його з біологічного матеріалу шляхом дистиляції, необхідно охолоджувати приймач холодною водою або льодом. Одержаний дистилят, як правило, містить незначні кількості метанолу, тому дистилят переганяють з дефлегматором з метою концентрування метилового спирту.

1. Реакція утворення метилсаліцилату

В пробірку вносять 1 мл дистиляту, додають 0.03-0,05 г саліцилової кислоти і 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Суміш обережно нагрівають на полум'ї газового пальника, а потім виливають у 20-кратний об'єм дистильованої води. За наявності метанолу в дистиляті відчувається характерний запах метилового ефіру саліцилової кислоти.

2. Реакція окислення метанолу до формальдегіду

До 5 мл дистиляту додають 2 мл 10 % розчину сульфатної кислоти. Рідину охолоджують, занурюючи пробірку у холодну воду з льодом. Потім по краплях у досліджувану суміш додають 1 % розчин калію перманганату до стійкого рожевого забарвлення. Через 20 хв. у реакційну суміш по краплях додають 15 % розчин натрію сульфіту до знебарвлення розчину. Безбарвний розчин ділять на дві частини і проводять реакції виявлення формальдегіду: з фуксинсірчистою кислотою та з кодеїном і сульфатною кислотою.

Виявлення ізоамілового спирту

1. Реакція з саліциловим альдегідом

У фарфорову чашку до залишку після випаровування діетилового ефіру додають 1 мл 1 % спиртового розчину саліцилового альдегіду і 3 мл концентрованої сульфатної кислоти. Після охолодження вміст фарфорової чашки переносять у пробірку і нагрівають впродовж 3 хвилин на киплячій

водяній бані. Виникнення рожево-червоного забарвлення свідчить про наявність ізоамілового спирту в пробі. При наявності великої кількості ізоамілового спирту забарвлення рідини може виникнути без нагрівання.

2. Реакція з п-диметиламінобензальдегідом

У фарфорову чашку до залишку після випаровування ефіру додають 5-10 крапель 5 % розчину п- диметиламінобензальдегіду в концентрованій сульфатній кислоті. Виникнення темно-червоного забарвлення свідчить про наявність ізоамілового та інших вищих спиртів у пробі. При розбавленні реакційної суміші водою забарвлення змінюється на фіолетове.

3. Реакція утворення ізоамілацетату

До залишку у фарфоровій чашці після випаровування ефіру додають 1 мл води, сухий натрію ацетат до насичення та 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Одержану суміш ретельно перемішують і обережно нагрівають. Відчувається характерний фруктовий запах ізоамілацетату (запах грушевої есенції). Запах посилюється, якщо вилити реакційну суміш у 20 кратний об'єм води.

4. Реакція окислення ізоамілового спирту

До залишку у фарфоровій чашці додають 1мл 10 % розчину калію перманганату і 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Суміш ретельно перемішують і нагрівають на киплячій водяній бані 1-2 хвилини. Спочатку відчувається приємний запах ізовалеріанового альдегіду, а потім неприємний запах(запах гнилого сиру) ізовалеріанової кислоти.

Виявлення етиленгліколю

1. Реакція окислення етиленгліколю до формальдегіду

До 3-5 мл дистиляту додають 5 крапель 12 % розчину сульфатної кислоти та 5 крапель 5 % розчину калію періодату в 5 % розчині сульфатної кислоти. Суміш збовтують і через 5 хвилин додають 3-5 крапель розчину сірчистої кислоти (для зв'язування надлишку йодат- та періодат-іонів), а потім 4 краплі розчину фуксинсірчистої кислоти. За наявності етиленгліколю через 3-20 хвилин виникає рожеве або червоно-фіолетове забарвлення.

2. Реакція окислення етиленгліколю до щавлевої кислоти

Частину дистиляту у фарфоровій чашці змішують з концентрованою нітратною кислотою і випаровують насухо. Сухий залишок розчиняють в 1 мл дистильованої води, переносять розчин у пробірку і додають 1 мл 10 % розчину хлориду кальцію. За наявності етиленгліколю випадає білий осад.

3. Реакція утворення гліколяту міді

До 2-3 мл досліджуваного розчину додають 1-2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду та по краплях 10 % розчин сульфату міді. Утворюється осад гідроксиду міді, який розчиняється в етиленгліколі з утворенням розчину

синього кольору.

Виявлення хлороформу

1. Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору

Перед виконанням реакції необхідно обов'язково переконатися у відсутності іонів хлору в дистиляті та в реактивах (контрольний дослід).

До 1-2 мл дистиляту в пробірку вносять 1 мл 10 % спиртового розчину натрію гідроксиду. Пробірку обережно нагрівають на полум'ї газового пальника впродовж 3-5 хвилин. Після охолодження розчин підкислюють 10 % розчином нітратної кислоти до кислої реакції (за універсальним індикатором) і додають 0,5 мл 1 % розчину нітрату срібла. Утворення білого осаду або помутніння (більш інтенсивного, ніж у контрольному досліді), що розчиняється в розчині амонію гідроксиду, вказує на наявність хлороформу в дистиляті.

2. Реакція Фудживара

До 2-3 мл дистиляту додають 2 мл піридину і 2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду. Суміш нагрівають на водяній бані 2-3 хв. За наявності хлороформу виникає червоне забарвлення.

3. Реакція з резорцином

В пробірку до 1 мл дистиляту додають 1 мл 10 % розчину резорцину в 10 % розчині натрію гідроксиду. Після нагрівання пробірки на киплячій водяній бані впродовж 5-10 хвилин виникає рожеве або малинове забарвлення. Обов'язково слід провести контрольний дослід. У контрольному досліді продукти окислення резорцину утворюють жовте або жовто-зелене забарвлення.

4. Реакція утворення ізонітрилу

До 1 мл дистиляту додають 10 крапель 10 % спиртового розчину натрію гідроксиду і одну краплю водного розчину аніліну. Рідина нагрівають на водяній бані впродовж 1-2 хвилин. Виникнення неприємного запаху (запах горілої гуми) свідчить про наявність хлороформу в пробі. Ізонітрильну пробу виконують під тягою! Для руйнування ізонітрилу використані пробірки кип'ятять з 10 % розчином сульфатної кислоти.

5. Реакція з реактивом Фелінга

До 2 мл дистиляту в пробірку додають 2 мл 10% розчину натрію гідроксиду і 5 крапель реактиву Фелінга, а потім нагрівають на водяній бані. За наявності хлороформу в дистиляті випадає жовтий осад, що змінює колір на цеглясто-червоний.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Принципова схема дослідження біологічних об'єктів на леткі речовини при загальному та цілеспрямованому аналізі.

2. Формальдегід. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
3. Основні напрямки метаболізму формальдегіду. Написати основні метаболіти.
4. Виявлення формальдегіду в дистиляті. Попередні проби на формальдегід. Написати хімізм відповідних реакцій.
5. Фенол. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
6. Основні напрямки метаболізму фенолу. Написати основні метаболіти.
7. Виявлення фенолу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
8. Ацетон. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
9. Основні напрямки метаболізму ацетону. Написати основні метаболіти.
10. Виявлення ацетону в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
11. Попередні проби, що використовуються для виявлення метанолу та етанолу. Написати рівняння відповідних реакцій.
12. Метанол. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
13. Основні напрямки метаболізму метанолу. Написати основні метаболіти. Поняття про «летальний» синтез. Атидоти, які використовують при отруєнні метанолом.
14. Виявлення метанолу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
15. Етанол. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння. Поняття про алкоголізм.
16. Основні напрямки метаболізму етанолу. Написати основні метаболіти.
17. Виявлення етанолу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
18. Сп'яніння, його ступені. Концентрації етанолу в крові при різних ступенях сп'яніння.
19. Ізоаміловий спирт. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
20. Основні напрямки метаболізму ізоамілового спирту. Написати основні метаболіти.
21. Виявлення ізоамілового спирту в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
22. Етиленгліколь. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
23. Основні напрямки метаболізму етиленгліколю. Написати основні метаболіти.
24. Особливості виділення етиленгліколю із біологічного матеріалу. Поняття про селективний носій.
25. Виявлення етиленгліколю в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
26. Попередні проби на хлорпохідні вуглеводнів. Написати хімізм відповідних реакцій.

27. Хлороформ. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
28. Основні напрямки метаболізму хлороформу. Написати основні метаболіти.
29. Виявлення хлороформу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №5

Група речовин, що вилучаються з біологічного матеріалу методом мінералізації (металічні отрути). Проведення мінералізації біологічного матеріалу. Дослідження осаду мінералізату на наявність металів

Теоретичні відомості

До групи металів, які мають токсикологічне значення, відносять сполуки важких металів та елементів з властивостями неметалів (телур, арсен, стибій, бісмут, германій, олово, свинець, галій, індій, талій). У медичній практиці використовуються сполуки As, Sb, Bi, Pb, Cu, Ag, Zn, Hg, Ba, Mn, Co, а у господарстві — практично всі елементи таблиці Менделєєва.

Широке використання металів, забруднення ними навколишнього середовища та їх висока токсичність створюють загрозу здоров'ю і життю людей. У випадках отруєння металами, виникає потреба у проведенні судово-токсикологічного дослідження.

Характерною особливістю металів є те, що деякі з них, є складовою частиною організму (мікроелементи та макроелементи), які беруть участь у фізіологічних процесах. Токсичність металів проявляється, як місцевою дією (денатурація та некрози тканин), так і резорбтивною дією (інгібування ферментів, незворотні конформаційні зміни білків та нуклеїнових кислот). В симптоматиці отруєнь металами проявляються: нефропатія, гепатопатія, парези, паралічі, гемоліз еритроцитів.

Метали виводяться з організму дуже повільно, в основному, через кишечник і нирки. Інколи метали затримуються в організмі на десятки років. Виділення металів із об'єктів аналізу біологічного походження, проводять шляхом мінералізації цих об'єктів. Це пояснюється тим, що іншими способами неможливо зруйнувати міцні зв'язки між металами та тканинами організму.

Методи мінералізації об'єктів біологічного походження

Найчастіше використовуються 2 варіанти мінералізації:

- «мокра мінералізація»;
- «суха мінералізація».

Суть методів «мочної мінералізації» полягає у руйнуванні органічних

речовин за допомогою окисників у кислому середовищі. Окисниками «мокрої мінералізації» можуть бути сульфатна кислота та її суміші з нітратною, хлорною кислотами або концентрованим розчином водню пероксиду.

Основні методи «мокрої мінералізації»:

- мінералізація сульфатною та нітратною кислотами;
- мінералізація сульфатною, нітратною та хлорною кислотами;
- метод неповної мінералізації для виявлення ртуті в об'єкті

дослідження

(метод деструкції).

Основні методи «сухої мінералізації»:

- сплавляння з натрію карбонатом та натрію нітратом;
- сухе озолення (спалювання).

Хімічні методи аналізу металів мінералізату

Мінералізати досліджують, використовуючи систематичний хід аналізу, або проводять поокреме дослідження металів (яке також в літературі називають особливим дослідженням чи дробним методом).

При поокремому дослідженні використовуються прийом маскування іонів, які заважають проведенню хімічних реакцій. Для маскування використовують ціаніди, фториди, фосфати, тіосульфати, тіосечовину, гідроксиламін, аскорбінову кислоту, трилон Б тощо.

Виконання лабораторної роботи

Мінералізація біологічного матеріалу сульфатною та нітратною кислотами

Мінералізацію проводять у колбі К'ельдаля, в яку вносять 100 г подрібненого об'єкта і 75 мл суміші однакових об'ємів сульфатної, нітратної кислот та води. Колбу К'ельдаля закріплюють на 2 см вище металічної сітки і над колбою закріплюють ділильну лійку з нітратною кислотою, розведеною водою у співвідношенні 1:1.

На **першій стадії** (стадія деструкції) суміш повільно нагрівають, не допускаючи обуглювання. При цьому руйнуються структура тканин і проходить частковий гідроліз органічних сполук. Окислення відбувається під впливом нітратної кислоти. Перша стадія мінералізації триває за 15-40 хв.

На **другій стадії** мінералізації колбу К'ельдаля опускають на металічну сітку, збільшують нагрівання і з ділильної лійки краплями додають нітратну кислоту. На цій стадії проходить повне окислення і руйнування органічних речовин. Друга стадія може тривати 3-4 год.

Завершенням другої стадії вважають момент, коли не спостерігають

потемніння мінералізату при 30-хвилинному нагріванні без додавання нітратної кислоти.

Для **денітрації** (усунення оксидів азоту, нітратної та нітритної кислот) до мінералізату додають 10-15 мл води, нагрівають до 110-130 °С і краплями до суміші додають формалін. При цьому відбувається реакція відновлення нітратної та нітритної кислот до азоту та оксидів азоту і окислення формальдегіду до вуглекислого газу. Реакція завершується за 1-2 хв. Можливі залишки формальдегіду усувають нагріванням рідини протягом 5-10 хв. Відсутність синього забарвлення, при проведенні реакції, свідчить про повне усунення з мінералізату сполук азоту.

Після завершення денітрації, мінералізат розводять водою до 180 мл. Якщо утворюється осад, то мінералізат нагрівають до кипіння для укрупнення осаду і охолоджують.

Поокреме дослідження металів у мінералізаті

1. Органолептичний контроль

Мінералізат може бути з осадом чи без осаду, а також може бути безбарвним чи забарвленим. В осаді будуть **барій** та **плюмбум**, а рідкій фазі - манган (марганець), хром, аргентум (срібло), купрум (мідь), бісмут, цинк, талій, стибій (сурма), арсен (миш'як), кадмій тощо.

При наявності у мінералізаті білого осаду (сульфати свинцю і барію), його відокремлюють від рідини центрифугуванням (або фільтруванням).

2. Дослідження осаду мінералізату

Мінералізат з осадом переносять у центрифужну пробірку місткістю 200 мл і центрифугують 10 хв (2000-3000 об/хв). Рідину (центрифугат) зливають, а осад кількісно переносять у фарфорову чашку. До осаду додають невелику кількість 5 % розчину сульфатної кислоти, перемішують скляною паличкою і центрифугують у пробірці невеликого об'єму. Надосадову рідину приєднують до першого центрифугату. До осаду додають 3-5 мл гарячого 30 % розчину амонію ацетату. Вміст фарфорової чашки перемішують, нагрівають. При цьому свинець переходить у розчин, а барій залишається в осаді.

Виявлення плюмбуму

Одержаний розчин свинцю ацетату, зливають з осаду і досліджують за допомогою хімічних реакцій на наявність катіонів свинцю.

1. Реакція з дитизоном

У пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину, додають 1 мл 10 % розчину гідроксиламіну хлориду і доводять рН розчину до 8 розчином аміаку. Додають 3 мл розчину дитизону в хлороформі і суміш ретельно збовтують. Зміна зеленого забарвлення шару органічного розчинника на оранжево-червоне свідчить про наявність плюмбуму в досліджуваному розчині.

2. Реакція з натрію родизонатом

На фільтрувальний папір наносять краплю досліджуваного розчину і додають краплю 0,2 % свіжоприготованого розчину натрію родизонату. У випадку присутності в розчині іонів плюмбуму на папері з'являється синя пляма або синє кільце плюмбуму (II) родизонату. Якщо на забарвлену пляму нанести 1-2 краплі буферного розчину (рН 2,8), то синя пляма стане яскраво-червоною. Ця реакція дуже чутлива. Її дають не лише іони плюмбуму, а й нерозчинні сполуки цього металу (сульфід, сульфат, хромат тощо).

3. Реакція з калію йодидом

У пробірку вносять 0,5 мл досліджуваного розчину і декілька крапель 0,5 % розчину калію йодиду. При наявності іонів плюмбуму в досліджуваному розчині утворюється жовтий осад PbI_2 . Після нагрівання вмісту пробірки цей осад розчиняється, а після охолодження — з'являються кристали золотисто-жовтого кольору у вигляді пластинок.

4. Реакція з калію хроматом

До 0,5 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель 5 % розчину калію хромату, який з іонами плюмбуму утворює оранжево-жовтий осад.

5. Реакція з купруму ацетатом і натрію нітритом

На предметне скло наносять 2-3 краплі досліджуваного розчину і випаровують на невеликому полум'ї насухо. Після охолодження предметного скла на сухий залишок наносять 1-2 краплі 1 % розчину купруму ацетату і знову випаровують насухо. На сухий залишок наносять 2-3 краплі 30 % розчину ацетатної кислоти. На край одержаної плями наносять 1-2 кристалики калію нітриту. Під мікроскопом спостерігають утворення чорних або коричневих кристалів, які мають форму кубів.

6. Реакція із сірководневою водою

До 0,5 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель свіжоприготованої сірководневої води. Поява чорного осаду плюмбум сульфід (або муті) вказує на наявність іонів плюмбуму в розчині.

7. Реакція з сульфатною кислотою

0,5 мл досліджуваного розчину вносять в пробірку і додають 5 крапель 10 % розчину сульфатної кислоти. Поява білого осаду вказує на наявність іонів плюмбуму в розчині.

Виявлення барію

Якщо весь осад з мінералізату розчинився у амонію ацетаті, то дослідження на барій не проводяться.

Після виявлення іонів свинцю, осад на фільтрі промивають гарячим розчином амонію ацетату до повного видалення іонів свинцю (коли останні краплі фільтрату не будуть давати реакції на свинець). Для виявлення барію

хімічними реакціями осад барію сульфату переводять у розчинну сполуку. Для цього барію сульфат багаторазово кип'ятять з новими порціями натрію карбонату (оскільки барію сульфат — важкорозчинна сполука). Утворений барію карбонат розчиняють у 4 мл 10 % розчину ацетатної кислоти (або хлоридної кислоти). Одержаний розчин барію ацетату (чи хлориду) досліджують на наявність катіонів барію. Осад барію сульфату також можна розчинити у 5% розчині трилону Б в 0,1 н. розчині натрію (чи амонію) гідроксиду.

1. Реакція з натрію родизонатом

На фільтрувальний папір наносять краплю досліджуваного розчину і додають краплю 0,2 % розчину натрію родизонату. При цьому на папері з'являється червонувато-коричнева пляма.

Диференціація зі стронцієм. При додаванні краплі розбавленої хлоридної кислоти пляма барію родизонату набуває яскраво-червоного забарвлення, а червонувато-коричнева пляма стронцію родизонату зникає.

2. Реакція з сульфатною кислотою

До 2-3 крапель досліджуваного розчину додають 3-4 краплі насиченого розчину калію перманганату і 2-3 краплі 2 н. розчину сульфатної кислоти. Суміш нагрівають до кипіння. Після охолодження рідину з осаду зливають, а до осаду вносять розчин оксалатної кислоти або іншого відновника і нагрівають до кипіння, а потім охолоджують. При цьому розчин над осадом знебарвлюється, а осад залишається фіолетовим.

3. Реакція з калію дихроматом

До 3-5 крапель досліджуваного розчину додають 4 краплі 5 % розчину калію дихромату та 3-4 краплі 2 М розчину натрію ацетату. Випадає жовтий осад барію хромату.

Ця реакція дає змогу не лише виявити іони барію, а й відділити їх від іонів стронцію (осад стронцію хромату розчиняється в ацетатній кислоті).

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Механізм токсичної дії металів. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії металівотрут з білками, пептидами і амінокислотами в організмі.

2. Залежність токсичності металів від атомної маси, нормального потенціалу, ступенюгідратації, величини іонного радіусу і кількості електронних оболонок, ступеню окислення, розчинності у рідинах організму та від інших факторів.

3. Поняття про мікроелементи та макроелементи.

4. Попередні проби на метали.

5. Мінералізація. Класифікація методів, принцип вибору методу мінералізації.

6. Методи «сухої» мінералізації, порядок їх проведення, переваги та недоліки.

7. Методи «мокрої» мінералізації, порядок їх проведення, переваги та недоліки.

8. Мінералізація біологічного матеріалу сумішшю сульфатної та нітратної кислот. Основні етапи методу.

9. Способи проведення денітрації мінералізату, її значення та перевірка повноти. Навести хімізм відповідних реакцій.

10. Систематичний та поокремий аналіз мінералізату. Принципи методів.

11. Використання вибіркової екстракції для очистки та концентрування металів. Навести хімізм реакцій, які використовуються при цьому.

12. Основні інструментальні методи, що використовуються для виявлення металів у мінералізаті, принцип методів, переваги та недоліки.

13. Розчинення осаду плюмбуму сульфату, виявлення та кількісне його визначення. Навести хімізм відповідних реакцій.

14. Переведення барію сульфату у розчин. Його виявлення та кількісне визначення. Навести хімізм відповідних реакцій.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №6

Дослідження рідкої частини мінералізату на наявність і вміст мангану, хрому, аргентуму, талію та стибію

Виконання лабораторної роботи

Дослідження рідкої частини мінералізату

Після відділення осаду доосліджують рідку частину мінералізату. Тут можуть міститися : манган (марганець), хром, аргентум (срібло), купрум (мідь), бісмут, цинк, талій, стибій (сурма), арсен (миш'як), кадмій тощо.

Органолептичний аналіз. Рідку частину мінералізату досліджують на наявність забарвлення. При наявності іонів міді мінералізація може набувати голубого забарвлення, а при наявності іонів хрому – зелено-фіолетового.

Виявлення мангану

1. Реакція з калію перйодатом

У пробірку вносять 1 мл мінералізату, 4 мл води, 1 мл насиченого розчину натрію дигідрофосфату і 0,2 г калію перйодату. Пробірку нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв..

2. Реакція з амонію персульфатом

У пробірку вносять 1 мл мінералізату, 4 мл води, 1 мл насиченого розчину натрію дигідрофосфату. Суміш нагрівають на киплячій водяній бані протягом

5-6 хв. До гарячого розчину додають 1 краплю 10 % розчину аргентуму нітрату і 0,5 г амонію персульфату. Суміш знову нагрівають протягом декількох хвилин (до розкладання надлишку амонію персульфату).

Виявлення хрому

1. Реакція з дифенілкарбазидом

Методика виконання реакції: у пробірку вносять 1 мл мінералізату, до якого додають 4 мл води, 1 краплю 10 % розчину аргентуму нітрату і 0,5 г амонію персульфату. Пробірку з сумішшю нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв. Потім вносять 1 мл насиченого розчину натрію дигідрофосфату і краплями додають 5 % розчин хлоридної кислоти до рН 1-2. Після досягнення цього значення рН додають 1 мл 0,25 % розчину дифенілкарбазиду в суміші етилового спирту і ацетону (1:1) і вміст пробірки збовтують. При наявності іонів хрому в мінералізаті розчин забарвлюється у рожевий або червоно-фіолетовий колір.

2. Реакція утворення надхромової кислоти

У пробірку вносять 5 мл мінералізату і краплями додають 30% розчин натрію гідроксиду до рН 7. Суміш збовтують, у пробірку вносять 1-2 краплі 10 % розчину аргентуму нітрату, 0,5 г амонію персульфату і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв. Потім пробірку з вмістом охолоджують у крижаній воді протягом 10-15 хв. До охолодженої рідини додають 1 мл насиченого розчину натрію дигідрофосфату і перевіряють рН середовища. При необхідності рН рідини доводять до 1,5. Після цього в пробірку вносять етилацетат або інший органічний розчинник з таким розрахунком, щоб товщина його шару становила 0,5-1,0 см, і додають 2-3 краплі 25 % розчину гідрогену пероксиду. Вміст пробірки енергійно збовтують. При наявності іонів хрому в мінералізаті шар органічного розчинника забарвлюється в голубий або синій колірсульфату.

Виявлення аргентуму

1. Реакція з дитизоном

У ділильну лійку вносять 5 мл мінералізату, 1 мл розчину сульфатної кислоти і 3 мл 0,01 % розчину дитизону в хлороформі або карбоні тетрахлориді. Після збовтування вмісту ділильної лійки хлороформний шар забарвлюється в жовтий колір. Якщо в мінералізаті міститься незначна кількість іонів аргентуму, то жовте забарвлення маскується зеленим забарвленням надлишку дитизону. Щоб усунути надлишок дитизону з хлороформного шару, цей шар відділяють від водної фази і збовтують з 5 мл 0,3 н. розчину аміаку. При цьому амонійна сіль дитизону перейде у водну фазу, а хлороформний шар, в якому міститься аргентуму дитизонат, матиме жовтий колір. Аргентуму дитизонат розкладається 0,5 н. розчином хлоридної кислоти, а меркурію дитизонат має інший колір, ніж

аргентуму дитизонат, і не розкладається цією кислотою. Тому за допомогою реакції з дитизоном можна відрізнити іони аргентуму від іонів меркурію.

2. Реакція з хлоридами

В пробірку вносять 1 мл мінералізату, додають 5 крапель 2 % розчину натрію хлориду або розбавленої хлоридної кислоти. При наявності іонів аргентуму випадає білий осад аргентуму хлориду, не розчинний в нітратній кислоті, але розчинний в аміаку.

Якщо отриманий аміачний розчин залишити на предметному скельці, то через деякий час під мікроскопом спостерігають утворення дрібних безбарвних кристалів і зрощених тетраедрів і трикутників.

3. Реакція з калію йодидом

До 0,5 мл мінералізату додають 0,5 мл 10 % розчину калію йодиду. Поява жовтого осаду свідчить про наявність іонів аргентуму в мінералізаті.

Осад практично нерозчинний у аміаку (на відміну від AgCl) і розведених нітратній кислоті, добре розчинний у розчині натрію тіосульфату.

4. Реакція з тіосечовиною і пікриною кислотою

1-2 краплі мінералізату наносять на предметне скло, додають 1 краплю 10% розчину аміаку і рідину випаровують насухо. На сухий залишок наносять краплю насиченого розчину тіосечовини, а потім краплю насиченого розчину пікринової кислоти.

Утворення жовтих призматичних кристалів або зростків свідчить про наявність іонів аргентуму в мінералізаті.

Виявлення талію

У рідкій частині мінералізату талій знаходиться у вигляді талію сульфату.

1. Реакція з дитизоном

В ділильну лійку вносять 5 мл досліджуваного розчину або мінералізату, додають по 2 мл 20 % розчину лимонної кислоти, 10 % розчину гідроксиламіну сульфату і 5 % розчину калію ціаніду. Після цього вносять розчин аміаку до рН 11-12 (за універсальним індикатором) і 2-3 мл 0,01% розчину дитизону в хлороформі. При струшуванні хлороформовий шар забарвлюється в червоний чи фіолетовий колір. Хлороформовий шар відокремлюють, переносять в пробірку і промивають сумішшю 1 % розчину калію ціаніду з 0,3 н. розчином аміаку (1:1). У присутності талію шар хлороформу забарвлюється від рожевого до малиново-червоного кольору.

2. Реакція з малахітовим зеленим

В ділильну лійку вносять 1 мл досліджуваного розчину чи мінералізату, додають 4 мл 40 % розчину сульфатної кислоти, 3 мл 5 н. розчину хлоридної кислоти, 2 краплі 5 % розчину натрію нітриту (для окислення талію (I) до талію (III)), 7 крапель 0,5 % спиртового розчину малахітового зеленого, 1-2 г безводного

натрію сульфату і 5 мл толуену. Суміш збовтують 1-2 хвилини. У присутності талію толуенова фаза забарвлюється в голубий колір, а водна фаза — в оранжевий колір. Якщо відокремити органічну фазу і додати до неї 3 мл 25 % розчину сульфатної кислоти і збовтати, то голубе забарвлення толуенової фази залишається, якщо досліджуваний розчин містить іони талію чи стибію.

Виявлення стибію

1. Реакція з малахітовим зеленим

Проводиться аналогічно, як при виявленні талію.

2. Реакція з тіосульфатом натрію

До 5 мл досліджуваного розчину додають 5 крапель насиченого водного розчину натрію тіосульфату і пробу кип'ятять 1-2 хв. При наявності стибію випадає осад, який через 5-10 хвилин забарвлюється в оранжевий колір.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Характеристика реагентів, які використовуються для маскування іонів, виділення, виявлення та кількісного визначення металів.
2. Виявлення та кількісне визначення марганцю у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
3. Виявлення та кількісне визначення хрому у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
4. Виявлення та кількісне визначення аргентуму у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
5. Виявлення та кількісне визначення талію у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
6. Виявлення та кількісне визначення стибію у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №7

Дослідження рідкої частини мінералізату на наявність і вміст цинку, кадмію, бісмуту, стибію, купруму та арсену. Виділення меркурію із біологічного матеріалу та її дослідження у деструктаті

Теоретичні відомості

Катіони цинку, кадмію, бісмуту і міді називають екстракційними катіонами. При відсутності іонів, що заважають дослідженню цих катіонів, їх досліджують безпосередньо у мінералізаті.

При наявності іонів, що заважають дослідженню цих катіонів, аналіз проводять занаступною схемою:

1. Виділяють з мінералізату у вигляді діетилдитіокарбаматів (ДДТК) при певному рН розчину і екстрагують в органічну фазу.

2. Руйнують утворені комплекси і шляхом реекстракції переводять катіони у водну фазу.

3. Проводять виявлення та кількісне визначення катіонів у водній фазі..

ДДТК металів утворюються при строго певних значеннях рН середовища. У лужному середовищі утворюються комплекси цинку (рН 8,5), кадмію (рН 12,5), бісмуту (рН 14). Оптимальним значенням рН для утворення ДДТК міді є рН 3, однак цей комплекс стійкий і в інтервалі рН від 4 до 11. Таким чином, регулюючи рН розчину, можна вибірково ізолювати з мінералізату той чи інший катіон.

У ряді випадків, для відокремлення різних катіонів у вигляді ДДТК та для виявлення одних металів в присутності інших, використовують прийоми «маскування».

Виконання лабораторної роботи

Органолептичний аналіз

Мінералізат, який вміщує катіони кадмію, бісмуту, талію, стибію, арсену являє собою безбарвний прозорий розчин без осаду.

Мінералізат досліджують на вміст перелічених іонів за допомогою хімічних реакцій.

Виявлення цинку

Попередня проба з дитизоном

До 0,5 мл мінералізату додають 0,25 мл насиченого розчину натрію тіосульфату, а потім краплями 5 % розчин калію гідроксиду до рН 4,5- 5,0. До цієї суміші додають 1 мл ацетатного буферного розчину (рН 5). Рідину добре перемішують і кількісно переносять у ділильну лійку, в яку додають 1 мл хлороформу, 2 краплі 0,01 % розчину дитизону в хлороформі. Вміст ділильної лійки добре збовтують. При наявності іонів цинку, утворюється цинку дитизонат, який естрагується хлороформом. При цьому зелене забарвлення (яке дає дитизон) хлороформного шару, змінюється на рожеве або пурпурово-червоне забарвлення (залежно від кількості іонів цинку у дитизонаті). Попередня проба має судово-токсикологічне значення при негативному результаті — дослідження цинку не проводиться. При позитивному результаті попередньої проби, проводять виділення цинку із мінералізату (див.нижче).

Виділення цинку з мінералізату

Для виділення цинку із мінералізату, його спочатку екстрагують хлороформом (у вигляді діетилдитіокарбамату), а потім іони цинку

реекстрагують у розчин хлоридної кислоти. У ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, додають 4 мл 10 % розчину калію-натрію тартрату, 4 мл 10 % розчину лимонної кислоти (для маскування іонів феруму) і 1 мл насиченого розчину натрію тіосульфату (для маскування іонів купруму і кадмію), декілька крапель індикатора (0,1 % розчину нільського голубого), а потім краплями — 2,5 н. розчин натрію гідроксиду до появи рожевого забарвлення. Потім додають 2 н. розчин сульфатної кислоти до рН 8,5 (за універсальним індикатором), 3 мл 1 % розчину натрію діетилдитіокарбамату в суміші води та етилового спирту (3:1) і 5 мл хлороформу. Вміст ділильної лійки інтенсивно збовтують, а потім від водної фази відділяють хлороформний шар, який переносять в іншу ділильну лійку. При цьому у хлороформний шар переходить *цинку діетилдитіокарбамат*.

До хлороформного розчину цинку діетилдитіокарбамату додають 10 мл води і збовтують. Потім від хлороформної фази відділяють водну фазу. До хлороформної фази додають 3 мл 1 н. розчину хлоридної кислоти. Суміш збовтують протягом 0,5 хв. Після збовтування від хлороформної фази відділяють водну фазу, куди перейшов цинк у вигляді хлориду. У цьому розчині виявляють цинк за допомогою хімічних реакцій.

1. Реакція з амонію тетрароданомеркуріатом

На предметне скло наносять 3 краплі водної фази, яку випаровують насухо. На сухий залишок наносять краплю 10 % розчину ацетатної кислоти і краплю розчину амонію тетрароданомеркуроату . У присутності іонів цинку утворюються поодинокі клиновидні кристали або дендрити білого кольору.

2. Реакція з калію гексаціанофератом(II)

До 1 мл водної фази краплями додають 5 % розчин калію гідроксиду до рН 5, а потім — 3 краплі 5 % розчину калію гексаціаноферату (II). У присутності іонів цинку випадає білий осад у вигляді характерних кристалів — хрестів та дендритів.

3. Реакція з натрію або амонію сульфідом

До 1 мл водної фази краплями додають 5 % розчин натрію гідроксиду до рН 5 і 3-4 краплі 5 % свіжоприготованого розчину натрію сульфіду. Утворення білого осаду ZnS свідчить про присутність іонів цинку в розчині.

Виявлення кадмію

При наявності іонів, що заважають дослідженню кадмію, проводять його виділення з мінералізату у вигляді кадмію діетилдитіокарбаміната з наступною його реекстракцією в 1 М розчин хлоридної кислоти.

Виділення іонів кадмію з мінералізату

В ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, додають 2 мл 10 % розчину гліцерину, 4 мл 10 % розчину калію-натрію тартрату і декілька крапель 0,1 % спиртового розчину нільського голубого (індикатора). До цієї суміші краплями

додають 2,5 М розчин натрію гідроксиду до переходу забарвлення індикатора від синього до рожевого і збовтують. Після цього до розчину додають 3 мл 1 % розчину натрію діетилдитіокарбамату в суміші спирту і води (1:3) і 10 мл хлороформу.

Вміст ділильної лійки збовтують півхвилини, а потім хлороформний шар відділяють в іншу ділильну лійку. Для промивання хлороформного шару до нього додають 10 мл води, збовтують, відстоюють і зливають водну фазу (її не досліджують).

Хлороформний шар, що містить кадмію діетилдитіокарбамат, переносять у іншу ділильну лійку, додають 2 мл 1 М розчину хлоридної кислоти. Вміст лійки збовтують протягом 1 хв і відділяють хлороформний шар. При цьому кадмій у вигляді солі хлоридної кислоти переходить у водний розчин. Цей розчин досліджують на вміст іонів кадмію за допомогою реакцій.

1. Реакція з натрію сульфідом

До 1 мл водної фази краплями добавляють 2,5 н.розчин гідроксиду натрію до досягнення рН 5,0 (за універсальним індикатором) і 3-4 краплі 5% свіжоприготовленого розчину сульфиду натрію. Утворення жовтого осаду свідчить про наявність іонів кадмію у досліджуваному водному розчині.

2. Реакція з піридином і калію бромідом

На предметне скло наносять 2-3 краплі водної фази, яку випарюють насухо. На сухий залишок наносять краплю піридину і краплю 5%-ного розчину калію броміду. При наявності іонів кадмію в розчині утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів

3. Реакція з бруцином і калію бромідом

2-3 краплі водної фази наносять на предметне скло і випарюють насухо. На сухий залишок наносять краплю насиченого розчину бруцину в

1 М розчині сульфатної кислоти і краплю 5% -ного розчину калію броміду. При наявності іонів кадмію в розчині утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Виявлення бісмуту

1. Реакція з оксихіноліном у присутності калію йодиду

До 10 мл досліджуваної проби додають 20-30 крапель 20% розчину натрію тіосульфату до утворення і зникнення фіолетового забарвлення, потім додають 10 крапель калію-натрію тартрату і надлишок кристалічного калію йодиду до утворення жовтого забарвлення калію йодбісмутату. Потім вносять декілька крапель 2 % розчину оксихіноліну в 5 % розчині хлоридної кислоти — випадає яскраво оранжево-червоний осад оксихінолінового комплексу бісмуту. Якщо в цю суміш внести 1 мл ацетону та амілацетату (1:1), осад розчиняється в органічному розчиннику, забарвлюючи останній від жовтого до малинового

кольору.

2. Реакція з тіосечовиною

До 1 мл досліджуваного розчину додають 0,5 мл насиченого розчину тіосечовини. При наявності іонів бісмуту розчин забарвлюється в лимонно-жовтий колір. При позитивному результаті цих двох реакцій (з оксихіноліном; з тіосечовиною) бісмут екстрагують з мінералізату у вигляді ДДТК-бісмуту.

Виділення іонів бісмуту із мінералізату.

Виділення базується на додаванні до мінералізату розчину натрію діетилдитіокарбамату, з яким іони бісмуту утворюють внутрішньокмплексну сполуку. Крім іонів бісмуту з натрію діетилдитіокарбаматом внутрішньокмплексні сполуки утворюють деякі інші катіони, які можуть міститись у мінералізаті. Для маскування цих іонів додають розчин трилону Б. Утворений комплекс бісмуту діетилдитіокарбамату екстрагують хлороформом, а потім руйнують нітратною кислотою. Водний розчин досліджують на катіони бісмуту.

В ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, 0,1 мл комплексону III і декілька крапель 0,1 % спиртового розчину нільського голубого (індикатора). До цієї суміші додають 3 М розчин натрію гідроксиду до рН 12 (до переходу забарвлення індикатора від синього до голубого). Після цього до розчину додають ще 2-3 мл 3 М розчину натрію гідроксиду і 3 мл 1 % розчину натрію діетилдитіокарбамату в суміші однакових об'ємів спирту і води і 5 мл хлороформу.

Вміст ділильної лійки збовтують півхвилини, а потім хлороформний шар відділяють в іншу ділильну лійку. Для промивання хлорормного шару до нього додають 5 мл 0,3 М розчину натрію гідроксиду, збовтують і після відстоювання водну фазу зливають (її не досліджують).

Хлороформний шар, що містить бісмуту діетилдитіокарбамат, переносять у іншу ділильну лійку, додають 3 мл 4 М розчину нітратної кислоти. Вміст лійки збовтують протягом 1 хв і відділяють хлороформний шар. Водну фазу досліджують на вміст іонів бісмуту за допомогою хімічних реакцій.

3. Реакція з бруцином і бромідом калію

На предметне скло наносять декілька крапель досліджуваної проби і випаровують досуха. На сухий залишок наносять краплю 2 М розчину нітратної кислоти, 1 краплю насиченого розчину бруцину в сульфатній кислоті і краплю 5 % розчину калію броміду. При наявності бісмуту відразу або через декілька хвилин утворюються жовто-зелені кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

4. Реакція з цезію хлоридом і калію йодидом

На предметне скло наносять декілька крапель досліджуваного водного розчину, додають 1-2 краплі розчину калію йодиду і 2 краплі цезію хлориду.

Через 10-15хв під мікроскопом спостерігають утворення помаранчевих кристалів у вигляді багатокутників і шестипроменевих зірочок.

Виявлення купруму

Судово-токсикологічний аналіз іонів міді ґрунтується на їх виділенні із мінералізату у вигляді діетилдитіокарбамату.

При відсутності іонів, що заважають дослідженню міді, виділення не проводять і досліджують іони міді у мінералізаті.

Виділення купруму з мінералізату

Суть методу виділення полягає у тому, що спочатку мідь екстрагують хлороформом у вигляді діетилдитіокарбамату, а потім в присутності меркурію (II) хлориду проводять реекстракцію іонів міді у воду.

До 10 мл мінералізату додають 2-3 краплі індикатора (безбарвний 0,1 % спиртовий розчин 2,4-динітрофенолу), а потім невеликими порціями

25 % розчин аміаку до зміни забарвлення індикатора на жовте (до рН 3). Рідину переносять у ділильну лійку, у яку додають 5 мл хлороформного розчину плюмбуму діетилдитіокарбамату і збовтують. При цьому утворюється купруму діетилдитіокарбамат, який, залежно від кількості купруму в мінералізаті, забарвлює хлороформний шар у жовтий або коричневий колір.

До ділильної лійки, що містить хлороформний розчин купруму діетилдитіокарбамату, додають краплями 1 % розчин меркурію (II) хлориду і збовтують до повного знебарвлення хлороформного шару. Потім у ділильну лійку, не відділяючи хлороформний шар, вносять 1,5-2,0 мл води і інтенсивно збовтують. Через 2-3 хв від хлороформної фази відділяють водну фазу, яка містить іони міді.

1. Реакція з амонію тетрароданомеркуріатом

До 0,5 мл водної фази додають декілька крапель 5 % розчину цинку сульфату і декілька крапель розчину амонію тетрароданомеркуріату. У присутності іонів купруму випадає рожево-ліловий або фіолетовий осад.

2. Реакція з калію гексаціанофератом (II)

До 0,5 мл водної фази додають 2 краплі 5 % розчину калію гексаціаноферату (II). У присутності іонів купруму випадає червоно-бурий осад.

3. Реакція з піридин-роданідним реактивом

У пробірку вносять 0,5 мл водної фази, до якої краплями додають 1-2 мл піридин-роданідного реактиву. Утворюється осад, до якого додають 2 мл хлороформу, і суміш збовтують. У присутності іонів купруму хлороформний шар забарвлюється в смарагдово- зелений колір.

Виявлення арсену

1. Реакція Зангер-Блека

В колбу апарата Зангер-Блека вносять 2 мл мінералізату, 10мл 4 н. розчину

сульфатної кислоти, 5 мл дистильованої води і 1 мл 10 % розчину стануму (II) хлориду в 50 % розчині сульфатної кислоти. Потім в колбу вносять 2 г дрібних гранул «купованого цинку». Колбу закривають насадкою, отвір якої накривають папером, змоченим хлоридом або бромідом меркурію(II), а нижче вставляють тампон вати, змочений розчином плюмбуму ацетату. При наявності великих кількостей арсену на папері з'являється бурувато-коричнева пляма вже через декілька хвилин. При малих кількостях — пляма з'являється через 35-45 хвилин. Якщо через 45 хвилин пляма не з'явилась, то папір занурюють в 3 % водний розчин калію йодиду. При цьому весь папір (крім плям сполук арсену з хлоридом чи бромідом меркурію) забарвлюється в червоний колір. Після цього папір занурюють у насичений розчин калію йодиду. При наявності арсену в мінералізаті на папері залишається жовта або коричнева пляма, а навколо неї зникає червонувате забарвлення.

2. Реакція з розчином аргентуму діетилдитіокарбамату в піридині

В колбу місткістю 50 мл вносять 2 г дрібних гранул «купованого» цинку, який не містить арсену. Колбу закривають притертою скляною пробкою, в яку вмонтовані ділильна лійка з краном і відвідна газова трубка. У лійку вносять 10 мл мінералізату, 5 мл дистильованої води і 1 мл 10 % розчину стануму (II) хлориду в 50 % розчині сульфатної або хлоридної кислоти. Кінець відвідної трубки занурюють у приймач, в який налито 1 мл 0,5 % розчину аргентуму діетилдитіокарбамату в піридині. Після цього відкривають кран ділильної лійки і поступово спускають її вміст у колбу з гранулами цинку. Лійку промивають 5 мл 4 н. розчину сульфатної кислоти і цю рідину також зливають у колбу. У присутності арсену вміст приймача забарвлюється в рожевий або червоно-фіолетовий колір. Іноді забарвлення в пробірці може з'явитись через 4-15 хвилин.

Виділення ртуті із біологічного матеріалу

Оскільки сполуки ртуті є леткими, при використанні методів повної мінералізації об'єктів ртуть може втрачатися. Тому в хіміко-токсикологічному аналізі для виділення ртуті проводять часткову мінералізацію біологічних об'єктів (**метод деструкції**). За допомогою цього методу руйнують основні структурні елементи тканин. Незруйнованими залишаються жири, поліпептиди і амінокислоти, які важко окислюються.

Проведення деструкції. До об'єкта (печінка або нирки) масою 20 г додають 5 мл води, 1 мл етилового спирту і 10 мл концентрованої нітратної кислоти. Після цього краплями додають 10 мл концентрованої сульфатної кислоти. Такий процес дає можливість контролювати швидкість розкладу нітратної кислоти. Цьому сприяє також присутність етилового спирту, який має здатність зв'язувати нітратну кислоту нестійким ефірним зв'язком. Після додавання сульфатної кислоти колбу залишають на 15 хв при кімнатній

температурі до зупинки виділення оксидів азоту, а потім нагрівають на водяній бані 10-20 хв. Якщо реакція проходить надто бурхливо з виділенням бурих парів, тоді додають 30-50 мл гарячої води. Гарячий деструктат фільтрують у колбу з 20 мл насиченого розчину сечовини, який додають для проведення денітрації. Надлишок сечовини усувають нагріванням з розчином сульфатної кислоти. Деструктат розводять водою до певного об'єму і далі проводять необхідні дослідження.

Виявлення меркурію в деструктаті

1. Реакція з дитизоном

Половину деструктату вносять в ділильну лійку, додають 10 мл хлороформу і збовтують 1-2 хвилини. Хлороформний шар відокремлюють, а водну фазу ще декілька разів збовтують з новими порціями хлороформу, поки хлороформний шар не перестане забарвлюватись у жовтий абобуруватий колір. До очищеного деструктату додають 10 мл 10 % розчину гідроксиламінісульфату або 10 мл 10 % розчину аскорбінової кислоти, 5 мл хлороформу і 0,3 мл 0,01 % розчину дитизону в хлороформі. Суміш збовтують 1-2 хв. Поява жовтого або оранжево-жовтого забарвлення хлороформового шару свідчить про наявність меркурію в деструктаті.

2. Реакція із суспензією йодиду купруму

До 10-15 мл деструктату добавляють 10 мл суспензії купруму (I) йодиду. Поява червоного або оранжевого осаду свідчить про наявність меркурію в деструктаті.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Виділення за допомогою екстракції з мінералізату, виявлення та кількісне визначення цинку у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
2. Виділення за допомогою екстракції з мінералізату, виявлення та кількісне визначення кадмію у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
3. Виділення за допомогою екстракції з мінералізату, виявлення та кількісне визначення бісмуту у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
4. Виділення за допомогою екстракції з мінералізату, виявлення та кількісне визначення міді у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
5. Виділення за допомогою екстракції з мінералізату, виявлення та кількісне визначення арсену у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
6. Виділення меркурію із біологічного матеріалу. Метод деструкції, порядок проведення, переваги та недоліки.
7. Виявлення та кількісне визначення меркурію у деструктаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №8

Група отруйних речовин, які вилучаються із біологічного матеріалу підкисленим спиртом або підкисленою водою. Методи ізолювання лікарських речовин полярними розчинниками

Теоретичні відомості

Однією з причин гострих отруєнь, які є поширеними серед населення — це отруєння лікарськими засобами. Найчастіше отруєння зумовлені снодійними та психотропними препаратами, одурманюючими та наркотичними сполуками.

Отруєння ліками відбувається:

- при свідомому вживанні великих кількостей фармацевтичних препаратів у дозах, які перевищують терапевтичну дозу з метою суїциду;
- в результаті помилкового або випадкового вживання (стосується дітей);
- передозування внаслідок помилкового вживання.

Про отруєння також свідчать симптоми, що виникають в результаті довготривалого вживання певного лікарського засобу в терапевтичних дозах. Причиною отруєнь теж може бути індивідуальна непереносимість лікарського засобу.

Токсичні прояви отруєнь залежать від віку, маси людини, стану здоров'я, взаємодії лікарського засобу з іншими чинниками чи препаратами. Гострі отруєння спостерігаються при вживанні алкоголю, який потенціює токсичний ефект, одночасному прийомі декількох лікарських препаратів одного з одним чи з іншими ксенобіотиками (наприклад, пестицидами, металами, наркотичними сполуками, СО та ін.). Деякі випадки отруєнь є смертельними.

З метою встановлення причини отруєння в хімічні відділення бюро судово-медичної експертизи направляють внутрішні органи та біологічні рідини трупів (печінка, нирки, мозок, шлунок з кишківником, кров, сеча та ін.). При цьому необхідно проводити ізолювання отруйної сполуки із досліджуваного матеріалу. Метод ізолювання залежить від природи сполуки, яка стала причиною смертельного отруєння. При дослідженні внутрішніх органів та тканин на наявність «лікарської отрути» у вітчизняних судово-хімічних лабораторіях для ізолювання використовують настоювання з водою, підкисленою оксалатною кислотою (у випадку свіжого біологічного матеріалу), чи настоювання з підкисленим спиртом (якщо на дослідження поступає гнилий зразок біопроби).

Виконання лабораторної роботи

1. Методика виділення отруйних речовин кислотного, нейтрального і лужного характеру водою, підкисленою оксалатною кислотою (модифікований метод А.А Васильєвої)

Об'єкт дослідження студенти реєструють в робочому журналі і проводять зовнішній огляд. Для експериментальних досліджень відбирають по 5 г біологічного матеріалу (печінки), який подрібнюють, переносять в хімічний стакан і заливають дистильованою водою до повного покриття твердих частинок. У пробу вносять невеликими кількостями насичений розчин оксалатної кислоти до рН 2-3 (за універсальним індикатором) і настоюють 30 хв. При цьому досліджувану пробу періодично перемішують і перевіряють рН. Витяжку фільтрують через марлю, а біологічний матеріал ще двічі настоюють з водою, підкисленою оксалатною кислотою (по 15 хв). До об'єднаних витяжок додають насичений розчин сульфату амонію для осадження білків. Осаджену білкову фракцію відокремлюють від витяжки центрифугуванням або фільтруванням. Очищену кислу водну витяжку вносять у ділильну лійку і тричі екстрагують хлороформом (порціями по 10 мл). При цьому з кислого середовища екстрагуються речовини, в яких переважають кислотні властивості (екстракт №1).

Водну витяжку у ділильній лійці підлучають 25 % розчином аміаку до рН 8-9 і тричі екстрагують хлороформом (по 10 мл) речовини основного характеру (екстракт № 2).

Одержані хлороформові витяжки переносять в колби з пришліфованими корками і залишають для виявлення та кількісного визначення в них отруйних речовин.

2. Методика виділення отруйних речовин підкисленим спиртом (модифікований метод Стаса-Отто)

Подрібнений біологічний матеріал (5 г печінки) поміщають у склянку, заливають 96% етиловим спиртом, суміш підкислюють 10 % спиртовим розчином оксалатної кислоти до рН 2,5 (за універсальним індикатором) і залишають на добу при періодичному перемішуванні. Кислу спиртову витяжку відділяють, фільтруючи через змочений етанолом паперовий фільтр. Операцію настоювання повторюють 2-3 рази. Спиртові кислі витяжки об'єднують і упарюють на водяному огрівнику при 40-50 °С до сиропоподібної консистенції. Сиропоподібну рідину обробляють 96 % етанолом, вносячи його краплями поки етанол не перестане осаджувати білкові домішки (викликати помутніння витяжки). Осад відфільтровують через фільтр, попередньо змочений етанолом. Фільтр промивають невеликою кількістю спирту. Фільтрат згущують на

водяному ogrівнику у фарфоровій чашці до консистенції сиропу і знову повторюють операцію осадження білкової фракції. Осадження повторюють до припинення випадання білків. Потім витяжку упарюють на водяному ogrівнику до консистенції сиропу, залишок розчиняють у 25 — 30 мл теплої дистильованої води і мутний розчин фільтрують через невеликий паперовий фільтр, змочений водою в роздільну лійку. Водно-спиртовий розчин тричі екстрагують хлороформом порціями по 15, 10 та 10 мл. Хлороформові витяжки фільтрують через фільтр, змочений хлороформом в суху колбу з написом “кисла хлороформова витяжка” (екстракт № 1). Водний залишок в роздільній лійці підлужнюють 25 % розчином аміаку до рН 8-9 за універсальним індикаторним папером і знову проводять екстракцію хлороформом, як описано вище. Об’єднані хлороформові витяжки поміщають в суху колбу з написом “лужна хлороформова витяжка” (екстракт № 2).

3. Методика виділення отруйних речовин ацетоном (метод В.А. Карташова)

5 г гомогенізованої тканини внутрішніх органів поміщають в пеніциліновий флакон ємністю 20 мл, додають 5 мл ацетону, суміш перемішують, закривають поліетиленовим корком і збовтують протягом 10 хв. Потім вміст флакону центрифугують 5 хв при 2500 об/хв. Рідину з над осаду зливають через невеликий ватний тампон у флакон ємністю

30 мл. Операцію екстрагування ацетоном повторюють ще 3 рази. До ацетонових витяжок додають 20 мл 0,5 М розчину хлоридної кислоти і 2 рази екстрагують н-гексаном (по 10 мл). Органічну фазу відділяють і не досліджують.

З водної фази речовини екстрагують діетиловим ефіром (2 рази по 10 мл). Ефірні екстракти об’єднують, фільтрують через паперовий фільтр і випаровують в потоці теплового повітря. Сухий залишок досліджують на наявність речовин кислотного характеру.

Водну фазу підлужнюють до рН 11, додають 5 г хлориду натрію і екстрагують 2 рази діетиловим ефіром (по 10 мл). Ефірні екстракти об’єднують, фільтрують, розчинник випаровують, сухий залишок досліджують на речовини основного характеру.

4. Експрес-метод виділення похідних фенотіазину підкисленням ацетонітрилом (метод Є.М. Саломатіна)

50 г подрібненого біологічного матеріалу поміщають у колбу, підкислюють 10 % розчином хлоридної кислоти до рН 2-3 і проводять екстракцію отруйних речовин послідовно 100, 50 і 50 мл ацетонітрилу протягом 30, 15 і 15 хв, поміщаючи колби в механічний струшувач. Ацетонітрильну витяжку фільтрують через зволожений дистильованою водою паперовий фільтр в роздільну лійку, що містить 500 мл 2,5 % водного розчину сульфату натрію.

Вміст роздільної лійки перемішують до утворення гомогенного розчину, підкислюють 5 М розчином хлоридної кислоти до рН 2-3 (за універсальним індикаторним папером) і тричі екстрагують діетиловим ефіром по 100 мл. Водно-ацетонітрильний розчин, що залишився після екстракції ефіром, підлучнюють насиченим водним розчином гідроксиду натрію до рН 13 і тричі екстрагують ефіром по 100 мл. Ефірні екстракти випаровують під вакуумом у роторному випаровувачі при 40 °С до об'єму 35 — 40 мл і фільтрують в мірну колбу ємністю 50 мл через паперовий фільтр, що містить 1,5-2 г безводного сульфату натрію. Колбу для випаровування і фільтр промивають 10-15 мл діетилового ефіру, який об'єднують з фільтратом у мірній колбі. Вміст колби доводять до позначки діетиловим ефіром і піддають дослідженню.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Особливості хіміко-токсикологічного аналізу біологічного матеріалу.
2. Загальні та індивідуальні методи ізолювання отруйних речовин із біологічного матеріалу в хіміко-токсикологічному аналізі.
3. Основні етапи ізолювання “лікарських” отрут за методом О.О. Васильєвої.
4. Основні етапи ізолювання “лікарських” отрут за методом Стаса-Отто.
5. Основні етапи ізолювання “лікарських” отрут за методом В.А. Карташова.
6. Основні етапи ізолювання “лікарських” отрут за методом В.П. Крамаренка.
7. Експрес-метод ізолювання похідних фенотіазину підкисленим ацетонітрилом (метод Є.М. Саломатіна).
8. Ізолювання барбітуратів підлучненою водою (метод П. Валова).
9. Ізолювання барбітуратів водою, підкисленою сульфатною кислотою (метод В.І. Попової).
10. Фактори, що впливають на ефективність ізолювання речовин з біологічного матеріалу та витяжок.
11. Методи очистки витяжок від домішок і концентрування виділених речовин. Основні вимоги до рідин, які використовуються для ізолювання з біологічного матеріалу отруйних речовин основного, нейтрального і кислотного характеру.
12. Вплив рН середовища на ступінь ізолювання з біологічного матеріалу речовин, які характеризуються різними кислотно-основними властивостями.
13. Способи очистки водної витяжки з біологічного матеріалу від білкових домішок.
14. Вплив рН середовища і електролітів на ступінь екстракції речовин кислотного і основного характеру із водних розчинів.

15. Вплив природи екстрагентів на ступінь екстракції токсичної сполуки з витяжок.

16. Які органічні сполуки максимально екстрагуються з кислого середовища, а які — з лужного?

17. На яких етапах виділення із біологічного матеріалу мають місце втрати отруйних речовин при ізолюванні підкисленою водою?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №9

Реакції виявлення похідних піразолону, ксантину, барбітурової та саліцилової кислот у витяжках з кислого середовища

Теоретичні відомості

З кислих витяжок біологічного матеріалу органічними розчинниками екстрагуються лікарські препарати та продукти їх метаболізму, які проявляють кислотні властивості (похідні саліцилової кислоти, похідні барбітурової кислоти, ксантину, піразолону та деякі інші).

У медичній практиці використовуються барбітурати, які мають токсикологічне значення. Сама барбітурова кислота (малонілсечовина) не застосовується в медицині, проте широко використовуються її похідні.

Барбітурати, які використовуються в медицині, відносяться до представників 5,5-заміщених барбітурової кислоти (барбаміл, барбітал, фенobarбітал, бутobarбітал, етамінал) та 1,5,5-заміщених (гексенал, бензонал).

Залежно від будови і дози, барбітурати проявляють заспокійливу, снодійну та протисудомну дію. За тривалістю дії їх поділяють на довго-, середньо-, короткотривалої та дуже короткої дії. Барбітурати довготривалої дії в малих дозах проявляють заспокійливу дію, у вищих — снодійну. Барбітурати середньо- та короткотривалої дії в основному проявляють снодійну дію.

Саліцилову кислоту застосовують у медицині для лікування захворювань шкіри. При потраплянні саліцилової кислоти всередину, подразнюється слизова оболонка шлунка, з'являється біль в епігастральній ділянці, нудота, іноді блювання. Тому саліцилову кислоту не вживають всередину. З цією метою застосовують її солі — саліцилати та похідні.

Похідні саліцилової кислоти мають протизапальну, жарознижуючу та антиангінальну фармакологічну дію. У малих дозах сильніше виражена антиангінальна та жарознижуюча дія, у високих — протизапальна. Найчастіше із групи цих препаратів використовують ацетилсаліцилову кислоту, натрію саліцилат, метилсаліцилат та саліциламід.

Похідні піразолону. Токсичний вплив на організм при передозуванні

проявляють і похідні піразолону (антипін, амідопін, анальгін, бутадіон). Їх відносять до групи ненаркотичних анальгетиків, які проявляють анальгетичну, антипиретичну та протизапальну дію.

До похідних ксантину (пурину), які застосовуються в медицині, належать алкалоїди: кофеїн, теобромін і теofilін, які екстрагуються як з кислого так і з лужного середовища органічними розчинниками.

Виконання лабораторної роботи

Виявлення похідних барбітурової кислоти за допомогою мікрокристалоскопічних реакцій

1. Реакція з концентрованою сульфатною кислотою

На предметне скло наносять декілька крапель модельної витяжки, що містить похідні барбітурової кислоти і випаровують досуха при кімнатній температурі. Сухий залишок розчиняють в 1 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Через 3-5 хв. поряд наносять краплю води. Краплі з'єднують. Через 20 хв. з'являються кристалічні осадки. Форму кристалів спостерігають під мікроскопом.

2. Реакція з хлор-цинк-йодом

На предметне скло наносять 2-3 краплі хлороформового розчину модельної витяжки і випаровують досуха. До сухого залишку додають 1 краплю розчину хлор-цинк-йоду. Через 15 хв. спостерігають форму кристалів.

3. Реакція з сумішшю розчинів хлориду феруму (III) і йодиду калію

На предметне скло наносять 2-3 краплі хлороформової модельної витяжки і випаровують досуха. До сухого залишку додають краплю реактиву. Через 10-15 хв. під мікроскопом спостерігають за формою утворених кристалів.

4. Реакція з диіодокупратом калію в розчині йоду

До сухого залишку, одержаного після випаровування хлороформової модельної витяжки додають 2 краплі реактиву. Через 10-15 хв. спостерігають за формою утворених кристалів.

5. Реакція з солями купруму(II) і піридином

На предметне скло наносять декілька крапель модельної хлороформової витяжки і випаровують насухо. До сухого залишку додають 2 краплі 10 % розчину аміаку і 1-2 краплі реактиву (розчин сульфату купруму в аміаку і піридині). При наявності *барбіталу* через 10-15 хв утворюються фіолетові кристали, які мають форму прямокутника, друз або зірочок:

Під впливом піридину відбуваються енолізація і часткова іонізація барбітуратів. Піридин з іонами купруму утворює позитивно заряджений комплексний іон $[Cu(Py)]^{2+}$. Під час взаємодії комплексу піридину і іонів

купруму з іонізованими молекулами барбітуратів утворюється внутрішньокмплексна сполука. Мінеральні кислоти розкладають цю сполуку.

Виявлення похідних барбітурової кислоти кольоровими реакціями

1. реакція із спиртовими розчинами ацетату кобальту та гідроксиду калію

0,5 мл хлороформового розчину сухого залишку випаровують досуха, сухий залишок розчиняють в 0,2—0,5 мл абсолютного етилового спирту. Після чого послідовно вносять по 2 краплі 1 %-го розчину ацетату кобальту в абсолютному етиловому спирті та 2 краплі 1 %-го розчину гідроксиду калію в абсолютному етиловому спирті. При наявності барбітуратів з'являється рожеве або червоне забарвлення.

2. Реакція з ацетатом кобальту та розчином ізопропіламіну

До 0,5 мл хлороформової витяжки додають 0,3 мл 1 % розчину ацетату кобальту в абсолютному етанолі і 1 мл 5 % розчину ізопропіламіну в етиловому спирті. При наявності похідних барбітурової кислоти виникає фіолетове забарвлення:

3. Мурексидна проба

0,5 мл хлороформової витяжки вносять у фарфорову чашку і випаровують до сухого залишку. Вносять 3 краплі 3 % розчину пероксиду водню і 3 краплі реактиву, який містить сіль Мора і хлорид амонію. Вміст чашки випаровують, сухий залишок нагрівають до появи білих парів. Після охолодження додають 3 краплі 6 н. розчину аміаку. При наявності деяких барбітуратів і тіобарбітуратів з'являється рожеве забарвлення.

Виявлення похідних барбітурової кислоти реакціями осадження

Декілька крапель модельної витяжки наносять на предметне скло і при кімнатній температурі випаровують досуха. Сухий залишок на предметному склі розчиняють в 1-2 краплях 0,1 н. розчину хлоридної кислоти. Поряд з цим розчином на предметне скло наносять краплю одного із реактивів групового осадження алкалоїдів. Ці краплі з'єднують між собою при допомозі скляної палички. Поява осаду або муті вказує на наявність в досліджуваному розчині алкалоїдів або інших азотистих органічних речовин. Для вивчення реакцій осадження студенти використовуються реактиви, які утворюють з алкалоїдами прості солі: танін, пікринову, пікролонову кислоти і реактиви, які утворюють з алкалоїдами комплексні солі, які в свою чергу розподіляються на дві підгрупи:

а) реактиви, які вміщують в своєму складі металоїди: розчин йоду у йодиді калію, фосфорно-молібденову (реактив Зонненшейна), фосфорно-вольфрамову (реактив Шейблера) кислоти;

б) реактиви, які вміщують в своєму складі метали: реактив Марме, реактив Майєра, реактив Драгендорфа.

Виявлення похідних саліцилової кислоти

Виявлення саліцилової кислоти

1. Реакція з хлоридом феруму(III)

5-10 крапель хлороформної витяжки, яка містить саліцилову кислоту, вносять у фарфорову чашку і випаровують досуха. До сухого залишку вносять краплю 1 % свіжо приготовленого розчину хлориду феруму (III). Виникає синьо-фіолетове забарвлення, яке не зникає при додаванні 2-3 крапель етанолу.

Цю реакцію також можна проводити на фільтрувальному папері. Для цього на фільтрувальний папір наносять краплю 1 % свіжовиготовленого розчину хлориду феруму (III) і підсушують. На те саме місце наносять 1-2 краплі хлороформної витяжки, яка містить саліцилову кислоту. При наявності цієї кислоти у витяжці з'являється синьо- фіолетова пляма.

Склад і забарвлення комплексів залежить від рН середовища. При рН 1,8-2,5 утворюється моносаліцилатний комплекс, який має синьо-фіолетове забарвлення. При рН = 4-8 утворюється дисаліцилатний комплекс червоно-бурого кольору. Трисаліцилатний комплекс жовтого кольору утворюється при рН 8-11.

2. Реакція утворення трибромфенолу

Кілька крапель хлороформної витяжки, яка містить саліцилову кислоту, вносять у фарфорову чашку і випаровують досуха. До сухого залишку додають 5-6 крапель дистильованої води, перемішують та вносять 2-3 краплі розчину бромної води. Утворюється білий осад трибромфенолу.

3. Реакція утворення метилсаліцилату

0,2-0,3 мл хлороформної витяжки вносять у пробірку і випаровують органічний розчинник на водяному нагрівнику (при 50-60 °C). До сухого залишку додають 2 краплі метанолу та 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки нагрівають. При наявності саліцилової кислоти з'являється характерний запах метилсаліцилату.

Виявлення ацетилсаліцилової кислоти

1. Реакція з розчином гідроксиду натрію

Сухий залишок, одержаний після випаровування кількох крапель хлороформової витяжки нагрівають з 10 % розчином гідроксиду натрію. При цьому утворюється динатрійсаліцилат та ацетат натрію. Вміст пробірки охолоджують і підкислюють 2 н. розчином сульфатної кислоти. Випадає осад саліцилової кислоти. Коли до утвореної суміші додати етиловий спирт і нагріти, то виникає характерний запах етилсаліцилату (подібний до метилсаліцилату).

Виявлення похідних піразолону

Виявлення антипірину

1. Реакція утворення нітрозантипірину

У пробірку вносять 3 мл хлороформної витяжки і на водяному огрівнику випарюють досуха. Сухий залишок розчиняють у 3-5 краплях води, вносять 2-4 краплі 10 % розчину сульфатної кислоти та 2-3 краплі насиченого розчину нітриту натрію. При наявності антипірину виникає зелене забарвлення:

2. Реакція утворення азобарвника

У пробірку вносять 0,5 мл досліджуваної хлороформної витяжки та випаровують хлороформ на водяному огрівнику. Сухий залишок розчиняють у 2 краплях води, та вносять по краплі льодяної ацетатної кислоти та 5 % розчину нітриту калію. Суміш залишають на 5 хв, періодично збовтуючи. Потім у пробірку вносять невелику кількість азиду натрію. Після того, як припиниться виділення бульбашок газу, у пробірку вносять 3-4 кристалики нафтиламіну. Вміст пробірки нагрівають на киплячому водяному огрівнику протягом 1-2 хв. Залежно від кількості антипірину виникає темно- або світло-фіолетове забарвлення. Ця реакція є специфічною для виявлення антипірину. За допомогою описаної реакції можна відрізнити антипірин від амідопірину, який не дає цієї реакції.

3. Реакція з хлоридом феруму (III)

У фарфорову чашку вносять 5-6 крапель хлороформної витяжки, яку випарюють досуха. До сухого залишку вносять краплю 5 % розчину хлориду феруму (III). При наявності антипірину з'являється криваво-червоне або оранжево-червоне забарвлення:

Виявлення амідопірину

1. Реакції з реактивами групового осадження алкалоїдів

Амідопірин з реактивами групового осадження алкалоїдів (таніном, пікриною кислотою, реактивом Майєра та ін.) утворює осад.

2. Реакція з хлоридом феруму (III)

При наявності амідопірину виникає фіолетове забарвлення, яке зникає при надлишку реактиву. (*Див. виконання реакції на антипірин*). При дії окисників на амідопірин утворюється ряд забарвлених проміжних продуктів.

При подальшому окисненні цих продуктів утворюється безбарвна речовина – діоксамідопірин. Проміжні продукти окислення амідопірину мають синє або синьо-фіолетове забарвлення. Забарвлення виникає при взаємодії амідопірину з розчинами ферум (III) хлориду, нітратної і нітритної кислот, аргентум нітрату, плумбум (IV) оксиду та іншими окисниками.

3. Реакція з нітратом аргентуму

У пробірку вносять 0,5 мл хлороформного розчину витяжки та випаровують хлороформ на водяному огрівнику. До сухого залишку вносять по 4-5 крапель води, 1% розчину аргентуму нітрату і нагрівають на водяному огрівнику протягом 5 хв. Поява фіолетового забарвлення свідчить про наявність

амідопіріну в розчині. При великих кількостях амідопіріну може випадати чорний осад металічного срібла.

4. Реакція з нітритом натрію

(Див. виконання реакції утворення *нітрозо антипірину*). При наявності амідопіріну з'являється фіолетове забарвлення, яке зникає від надлишку реактиву.

Виявлення анальгін

1. Лігнінова проба

На газетний папір наносять в одну точку 2-3 краплі досліджуваної хлороформної витяжки. При наявності анальгін спостерігається поява характерного жовтого забарвлення, яке посилюється при обробці плями розведеним розчином хлоридної кислоти.

2. Реакція з хлоридом феруму (III)

(Див. виконання реакції на *антипін*). Поява червоно-фіолетового забарвлення свідчить про наявність в пробі анальгін.

3. Реакція з реактивом Несслера

У пробірку вносять 0,2 мл хлороформної витяжки і випарюють розчинник досуха. До сухого залишку додають по 1 краплі води та реактиву Несслера. При нагріванні випадає оранжевий осад.

Виявлення похідних ксантину (пурини)

Для виявлення окремих похідних ксантину (пуринів) використовують кольорові реакції та реакції осадження.

1. Мурексидна реакція

Фарфорову чашку вносять 0,5 мл хлороформового розчину витяжки та випаровують розчинник до суха. До сухого залишку вносять по 0,5 мл бромної води та 2-3 краплі хлоридної кислоти. Рідину випаровують на водяному огрівнику досуха. До залишку вносять краплю 25 % розчину аміаку. Поява пурпурно-фіолетового забарвлення свідчить про наявність в пробі похідних ксантину.

До сухого залишку, одержаного після випарювання хлороформної витяжки, додають 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти і кілька кристаликів калій хлорату. Суміш перемішують і випаровують на водяному огрівнику досуха. До сухого залишку додають краплю 2 н. розчину аміаку. При наявності кофеїну, теоброміну і теофіліну або інших похідних ксантину в пробі з'являється пурпурове або фіолетове забарвлення.

2. Реакції з реактивами групового осадження алкалоїдів

Кофеїн, теобромін та теофілін утворюють осад з реактивами групового осадження алкалоїдів: Драгендорфа, Зонненшейна, Шейблера, таніном, пікриною кислотою, реактивом Майєра та ін. Для цього на предметне скельце

чи у заглиблення фарфорової пластинки наносять по 2-3 краплі хлороформного розчину витяжки, розчинник випаровують досуха, до сухих залишків прибавляють по 1-2 краплі відповідного реагенту. Спостерігають за кольором утворених осадів.

3. Реакція з реактивом Несслера

Після випаровування 0,5 мл хлороформового розчину сухого залишку, в пробу додають 0,2 мл води та 0,1 мл реактиву Несслера і нагрівають пробірку 1-2 хв. на киплячому водяному огрівнику. Утворюється червоно-бурий осад (теобромін за цих умов дає слабо-коричнєве забарвлення).

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Групи лікарських препаратів, що екстрагуються органічними розчинниками із кислих витяжок, одержаних при настоюванні біологічного матеріалу підкисленою водою, або підкисленим спиртом?

2. Методи ізолювання барбітуратів із біологічного матеріалу. Характеристика методик В.І.Попової та П. Валова.

3. Основні напрямки метаболізму органічних сполук в організмі людей.

4. Реакції I фази біотрансформації.

5. Реакції II фази біотрансформації.

6. Фізико-хімічні властивості, застосування, токсична дія, метаболізм барбітуратів.

7. Фізико-хімічні властивості, застосування, токсична дія, метаболізм похідних саліцилової кислоти.

8. Фізико-хімічні властивості, застосування, токсична дія, метаболізм похідних пурину (кофеїн, теобромін, теofilін).

9. Фізико-хімічні властивості, застосування, токсична дія, метаболізм похідних піразолону (антипирин, анальгін, амідопирин).

10. Хімічні методи дослідження “лікарських” отрут. Переваги та недоліки хімічних реакцій – осадження, кольорових, мікрокристалоскопічних.

11. Загальні реакції, які застосовують для виявлення похідних ксантину (пурину), виділених з біологічного матеріалу.

12. Загальні реакції виявлення барбітуратів.

13. Характерні реакції виявлення похідних барбітурової кислоти (барбіталу, барбамілу, фенobarбіталу та етаміналу натрію).

14. З якою метою і як виконується мурексидна реакція в хіміко-токсикологічному аналізі?

15. Як виявити саліцилову кислоту у витяжках із біологічного матеріалу? Чому забарвлення саліцилатів феруму залежить від рН середовища?

16. Яке значення надається реакціям осадження в хіміко-токсикологічному

аналізі у випадку позитивних та негативних результатів?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №10

Реакції виявлення алкалоїдів у витяжках із біологічного матеріалу

Теоретичні відомості

Із лужного середовища органічними розчинниками екстрагуються алкалоїди та їх синтетичні аналоги, оскільки вони характеризуються основними властивостями. Основні властивості цих сполук зумовлені наявністю в їх молекулі атому нітрогену. Це можуть бути первинні, вторинні або третинні аміногрупи, гетероцикли, що містять нітроген, тощо. Атом нітрогену цих угруповань має вільну пару електронів і утворює хімічні зв'язки із акцепторами вільної пари електронів. Найчастіше акцептором є іон водню, який приєднується до нітрогенвмісних угруповань утворюючи сполуки по типу амонію, і набуваючи при цьому позитивного заряду. Таким чином органічні сполуки, що містять нітрогенвмісні угруповання будуть утворювати органічні катіони, які з аніонами утворюють солі, іонні асоціати та комплексні сполуки. Реагенти, які утворюють з органічними катіонами малорозчинні сполуки, отримали назву реактивів групового осадження алкалоїдів. Це пов'язано з тим, що історично першою групою органічних сполук з такими властивостями були алкалоїди, виділені із рослин. Як правило, до реактивів групового осадження алкалоїдів відносяться речовини, що у водних розчинах утворюють великі аніони. Найбільш широкого використання набули комплексні сполуки і гетерополікислоти. Реакції з використанням реактивів групового осадження алкалоїдів не є специфічними, тому для одержання більш достовірних результатів аналізу потрібно використовувати інші методи аналізу.

Також для виявлення лікарських засобів було розроблено ряд реакцій з реактивами, які із багатьма сполуками вступали у різні взаємодії, зокрема реакції дегідратації, окислення, конденсації з альдегідами, нітрування та інших, в результаті яких утворювалися забарвлені сполуки.

Виконання лабораторної роботи

Загальні реакції, що використовуються для виявлення речовин основного характеру

1. Реакції осадження

Модельну хлороформову витяжку (екстракт №2) випаровують насухо, залишок розчиняють в 0, 1 М розчині хлоридної кислоти. По краплі розчину

наносять на предметне скло, куди додають різні реактиви:

- а) розчин пікринової кислоти (атропін, кокаїн);
- б) реактиви Бушарда, Драгендорфа, Майєра (кодеїн, хінін, кокаїн);
- в) реактив Зонненшейна (морфін).

2. Кольорові реакції

Для проведення кольорових реакцій частину модельної витяжки вносять у фарфорові чашки, в заглиблення на фарфорових пластинках або в пробірки. Хлороформ випаровують насуху. На сухі залишки наносять відповідні реактиви і спостерігають забарвлення.

Виявлення похідних тропану (алкалоїди беладони і дурману, атропін, скополамін, кокаїн)

1. Реакція Віталі-Морена (атропін, скополамін)

У фарфорову чашку вносять декілька крапель модельної витяжки і випаровують насуху. До сухого залишку додають 1 мл концентрованої нітратної кислоти, яку випаровують на киплячому водяному огрівнику насуху і одержують жовтий сухий залишок. На сухий залишок наносять 2-4 краплі ацетону, поряд наносять 1-2 краплі 10% спиртового розчину гідроксиду калію і з'єднують ці розчини. Утворюється фіолетове забарвлення.

2. Реакція з перманганатом калію (кокаїн)

0,5 мл модельної витяжки наносять на предметне скло і випаровують хлороформ насуху при кімнатній температурі. Сухий залишок розчиняють в 1 краплі 10% розчину хлоридної кислоти. Цей розчин також випаровують насуху. До сухого залишку додають краплю 1% розчину калію перманганату. Утворюються червоно-фіолетові кристали, які мають форму прямокутних пластинок та зростків з них.

3. Реакція з платино хлористоводневою кислотою

До сухого залишку, одержаного після випаровування хлороформового розчину досліджуваної речовини або хлороформової витяжки з біологічного матеріалу, додають краплю 0,1 н. розчину хлоридної кислоти і краплю 10% розчину платино хлористоводневої кислоти. Утворення світло-жовтих кристалів, які мають форму дендритів, свідчить про наявність кокаїну в пробі.

Виявлення похідних хіноліну (алкалоїди хінного дерева: хінін, хінідин, хінозол, хініофон)

1. Флуоресцентна проба (хінін)

Сухий залишок, одержаний після випаровування частини хлороформової витяжки обробляють у фарфоровій чашці 2-3 мл 1 н. розчину сульфатної кислоти. Отриманий розчин виливають у пробірку і розглядають в УФ-світлі. Спостерігається фіолетова флуоресценція.

2. Реакція утворення талейохіну

Сухий залишок обробляють декількома краплями води. До розчину додають краплями бромну воду до слабо-жовтого забарвлення, після чого декілька крапель розчину аміаку. Утворюється зелене забарвлення (R — хінуклединовий фрагмент молекули).

3. Реакція утворення еритрохіну (хінін)

До сухого залишку додають невелику кількість води, слабо підкисленої сульфатною або ацетатною кислотою, краплю бромної води і краплю 10% розчину гексаціаноферату (III) калію. Одержану рідину ретельно перемішують і краплями додають розчин аміаку до лужної реакції. При наявності хініну в досліджуваному розчині з'являється рожеве або червоно-фіолетове забарвлення, при збовтуванні з хлороформом це забарвлення переходить у хлороформний шар.

Виявлення похідних ізохіноліну (опіати – наркотин, нарцеїн, папаверин, морфін, кодеїн, тебаїн, а також етилморфін, героїн, гідрокодон, оксикодон, декстрометорфан, леворфанол і пентазоцин)

1. Реакція з реактивом Маркі (похідні ізохіноліну - морфін, кодеїн, папаверин)

До сухого залишку на фарфоровій пластинці додають 2 краплі реактиву Маркі. Утворюються червоно-фіолетове забарвлення.

2. Реакція з реактивом Пелагрі (морфін, кодеїн)

У пробірку вносять декілька крапель модельної хлороформової витяжки, яку випарюють насухо. До сухого залишку додають 1-2 краплі концентрованої хлоридної кислоти і 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Суміш нагрівають на киплячому водяному огрівнику 15 хв., охолоджують і додають 3 мл води. При утворенні осаду його розчиняють в хлоридній кислоті. Одержаний розчин нейтралізують 10% розчином карбонату натрію і додають 3 краплі спиртового розчину йоду. З'являється зелене забарвлення. Якщо до суміші додати діетиловий ефір, то органічна фаза забарвиться в червоний колір.

3. Реакція з хлоридом феруму (III) (морфін)

До сухого залишку додають 2 краплі свіжовиготовленого 2% водного розчину реактиву. Утворюється синє забарвлення.

Виявлення ациклічних алкалоїдів (ефедрин, псевдоефедрин, ефедрон)

1. Реакція з нінгідрином (ефедрин)

До 2 мл розчину, отриманого після розчинення сухого залишку, додають 1 краплю 1% розчину нінгідрину і 1 краплю 1% розчину карбонату натрію. Суміш нагрівають, а потім охолоджують. Після цього додають 2 мл амілового спирту, який забарвлюється в фіолетовий колір.

2. Реакція з солями міді і сірковуглецем

В мікропробірку вносять краплю модельної витяжки і випарюють насухо. Сухий залишок розчиняють в 1 краплі води і додають 1 краплю ацетатної кислоти. Потім додають 1 краплю 5% розчину сульфату міді і аміак до лужної реакції. До одержаної суміші додають 2 краплі суміші сірковуглецю і бензолу (1:3) і струшують. Утворюється коричневе або жовте забарвлення.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Які токсикологічно–важливі речовини екстрагують органічними розчинниками із підлужнених витяжок, що не змішуються з водою?
2. Які реактиви групового осадження алкалоїдів застосовуються в хіміко–токсикологічному аналізі?
3. Як відрізнити опій від омнопону? При допомозі яких реакцій можна виявити морфін і кодеїн і відрізнити один від одного?
4. Як виявити нікотин і анабазин у витяжках із біологічного матеріалу і як відрізнити один від одного?
5. Які основні фізичні і хімічні властивості алкалоїдів необхідно знати при проведенні хіміко–токсикологічного аналізу?
6. Які кольорові реакції застосовуються для виявлення алкалоїдів групи фенантренизохіноліну?
7. Які реакції застосовують для виявлення хініну і хінідину?
8. Чи специфічна реакція Віталі-Морена для атропіну ? Які речовини, крім атропіну, можуть давати цю реакцію?
9. Якщо реакція Віталі-Морена неспецифічна для атропіну, то якими ще реакціями доказують наявність цього алкалоїду при хіміко-токсикологічних дослідженнях?
10. Реакції виявлення алкалоїдів похідних тропану – атропіну, кокаїну.
11. Що може служити джерелом отруєнь алкалоїдами тропанового ряду?
12. Якими реакціями можна доказати наявність скополаміну в об'єкті дослідження?
13. Як оцінюють реакцію одержання перманганату кокаїну при хіміко-токсикологічному аналізі?
14. Які ще реакції можуть доказати наявність кокаїну при хіміко-токсикологічному аналізі?
15. Приведіть реакції, які застосовуються для виявлення алкалоїдів похідних піридину і піперидину.
16. Що покладено в основу реакцій утворення талейохіну і еритрохіну?
17. Які із описаних для морфіну реакцій є найбільш характерними, специфічними і доказовими?

18. Які із описаних для морфіну реакцій є загальними для всіх алкалоїдів, похідних ізохіноліну?
19. Яке хіміко-токсикологічне значення наркотину?
20. На чому базується доказ отруєння опієм?
21. На основі яких результатів аналізу базується висновок про відкриття опію?
22. Які реакцій застосовуються для виявлення ефедрину у витяжках із біологічного матеріалу?
23. Використання флуоресценції для ідентифікації речовин, виділених із біологічного матеріалу.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №11

Реакції виявлення лікарських засобів, які екстрагуються з лужного середовища

Виконання лабораторної роботи

При складанні плану хіміко-токсикологічного аналізу необхідно врахувати обставини справи, які викладені в супровідному документі. Слід врахувати дані виписки з історії хвороби (якщо вона прикладена до супровідного документу) та дані акту судово-медичного дослідження трупа.

В ряді випадків результати зовнішнього огляду об'єктів дослідження, виявлення в них чужорідних включень, визначення рН середовища, запаху і забарвлення об'єктів дозволяє передбачити речовини, які спричинили отруєння і включити в план хіміко-токсикологічного аналізу дослідження передбачуваної речовини.

Визначення рН середовища

Для визначення рН середовища невелику кількість досліджуваного об'єкту подрібнюють, вносять в пробірку, додають дистильовану воду і добре збовтують. Водну витяжку відділяють від твердого осаду. В одержаній водній витяжці визначають кислотність або лужність середовища за допомогою індикаторного паперу. Для цього застосовують індикаторний папір, оброблений розчином фенолфталеїну або універсальним індикатором. Червоне забарвлення паперу, обробленого фенолфталеїном, вказує на наявність основ у водній витяжці із біологічного матеріалу.

Отруйні речовини, що екстрагуються із витяжок з лужного середовища виявляють осадовими і кольоровими реакціями. У витяжках можуть міститися похідні феноліазину, 1,4-бензодіазепіну, п-амінобензоатної кислоти, ізонікотинової кислоти, бутерофенону та їх метаболіти. Ці продукти вступають у

хімічну взаємодію із відповідними реагентами.

Осадкові реакції

Для виконання осадкових реакцій по декілька крапель хлороформового екстракту вносять у заглиблення фарфорових пластинок предметні стекла і при кімнатній температурі випарюють насухо. Сухі залишки розчиняють в 1-2 краплях 0,01 н. розчину хлоридної кислоти. Вносять по краплі одного з реактивів групового осадження алкалоїдів. Поява осаду або муті вказує на наявність в досліджуваному розчині алкалоїдів або інших азотовмісних речовин.

Кольорові реакції.

Для виявлення досліджуваних сполук кольоровими реакціями невеликі порції хлороформових розчинів екстракту (0,02-0,1 мл) вносять у фарфорові чашки, лунки фарфорових пластинок чи у пробірки. Хлороформ випарюють насухо. Сухі залишки розчиняють і вводять в реакції з відповідними реактивами.

Виявлення похідних фенотіазину (аміназин, дипразин, етмозин, левомепромазин, тіоридазин та ін.)

1. Реакція з концентрованою сульфатною кислотою (аміназин)

На пластинку наносять 1-2 краплі хлороформової витяжки і випаровують хлороформ насухо. На сухий залишок наносять 1 краплю концентрованої сульфатної кислоти. Утворюється червоне забарвлення;

2. Реакція з реактивом ФПН

Сухий залишок, одержаний після випаровування частини хлороформової витяжки розчиняють в декількох краплях дистильованої води і додають декілька крапель реактиву ФПН (суміш розчину хлориду заліза(III), хлорної і нітратної кислот). Утворюється рожеве або червоне забарвлення (механізм аналогічний до попередньої).

Виявлення 1,4-бенздіазепіну (хлордіазепоксид, діазепам, оксазепам, мезапам, феназепам, нітразепам, клоназепам тощо)

У хлороформних екстрактах містяться нативні бенздіазепіни і продукти їх метаболізму.

1. Реакція утворення азобарвника (похідні 1,4-бензодіазепіну – хлордіазепоксид)

До 2 мл модельної витяжки додають 2 мл 2 н. розчину хлоридної кислоти і нагрівають на водяному огрівнику в пробірці із зворотним холодильником протягом однієї години. Після цього до гідролізату додають насичений розчин гідроксиду натрію до рН 8-10 і екстрагують хлороформом. Хлороформову фазу відділяють, випаровують насухо. До сухого залишку додають 0,1% розчин нітриту натрію, 2 н. розчин хлоридної кислоти і через 1 хв. додають 0,5% розчин сульфату амонію і 0,1% лужний розчин β -нафтолу. При цьому розчин забарвлюється в оранжево-червоний колір.

Бенздіазепіни і їх метаболіти гідролізують при кип'ятінні в кислому середовищі. При цьому відбувається руйнування азепінового циклу з утворенням продуктів гідролізу, що містять первинну аміногрупу.

Для виявлення первинної аміногрупи застосовують реакцію утворення азобарвника (з α чи β -нафтолом) Цю реакцію використовують, як для виявлення, так і для кількісного визначення похідних бенздіазепіну.

Виявлення похідних *p*-амінобензойної кислоти (новокаїн, новокаїнамід). Реакції виявлення похідних *p*-амінобензоатної кислоти

1. Реакція одержання азосполук (новокаїн)

В пробірку вносять 3 мл модельної хлороформової витяжки, яку випарюють насухо. До сухого залишку додають 5 крапель 0,1 н. розчину хлоридної кислоти, а потім краплями вносять 1% розчин нітриту натрію до тих пір, поки йодкрохмальний папірець не почне забарвлюватися в синій колір. Через 5 хв. рідину підлужнюють 2% розчином гідроксиду натрію і додають 5 крапель лужного розчину β -нафтолу. Утворюється червоно-оранжеве забарвлення.

Виявлення похідних ізонікотинової кислоти (ізоніазид, іпроніазид, фтивазид)

1. Реакція з кремніємолібденовою кислотою (ізоніазид)

В пробірку вносять 5 мл розчину силікату калію, 4 мл води, 2 мл 0,5 н. розчину хлоридної кислоти. Через 3 хв. до суміші додають 2 мл досліджуваного розчину і перемішують. Після цього вносять 5 мл 6% розчину аміаку. Розчин забарвлюється в синій колір.

Виявлення похідних бутирофенону (галоперидол, дроперидол, бенперидол)

1. Реакція з 2,4-динітрофенілгідразином (галоперидол)

До розчину, одержаний після розчинення сухого залишку з модельної хлороформової витяжки, додають 1 мл розчину 2,4-динітрофенілгідразину. Суміш нагрівають на кип'ячому водяному огрівнику 5 хв. і охолоджують. При наявності галоперидолу випадає оранжевий осад.

2. Реакція з *m*-динітробензолом

До спиртового розчину галоперидолу додають 1% спиртовий розчин *m*-динітробензолу і 15% спиртовий розчин гідроксиду калію. При цьому виникає фіолетове забарвлення в результаті утворення калієвої солі похідного 2,4-динітрофенілбутирофенону.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Які реакції використовують для виявлення похідних фенотіазину та яке їх судово-хімічне значення?
2. Похідні 1,4-бензодіазепіну і реакції їх виявлення.

3. Похідні гідразиду ізонікотинової кислоти і реакції їх виявлення (ізоніазид, фтивазид, салюзид).

4. Які реакції використовуються для виявлення похідних бутирофенону (галоперидолу, трифлуперидолу, дроперидолу)?

5. Якими реакціями можна виявити похідні *n*-амінобензойної кислоти (новокаїну, дикаїну, новокаїнамідну)?

6. Реакції виявлення ксикаїну і тримекаїну.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №12

Виділення з біологічного матеріалу та методи аналізу отрут грибів

Теоретичні відомості

Таблиця 2

Класифікація грибних токсинів

За клінічними ознаками	За хімічною будовою
1. Токсини, які подразнюють шлунково-кишковий тракт.	Альдегіди і кетони
2. Токсини-агглютиніни.	Будова не відома
3. Токсини, які діють на периферичну нервову систему: а) холінергічної дії; б) антабусоподібної дії.	Мускарин Коприн
4. Токсини, які діють на центральну нервову систему: а) психотоміметики; б) галюциногени.	Похідні ізоксазолу Похідні індолу
5. Токсини, які руйнують клітини певних органів.	Циклопептиди Похідні гідразину
6. Токсини, які впливають на функцію нирок (ротоксини).	Похідні дипіридилу

Виконання лабораторної роботи

Ізолювання мускарину з мухомора

10 грамів плодових тіл досліджуваних грибів подрібнюють і поміщають у фарфорову чашку. Утворену масу заливають дистильованою водою до покриття твердих частинок, додають 2 н. розчин сульфатної кислоти до рН 2 (за універсальним індикатором) і кип'ятять цю масу 5 хв. Суміш охолоджують і фільтрують через паперовий фільтр. Фільтрат переносять у роздільну лійку, додають 10 % розчин гідроксиду амонію до рН 10-11 (за універсальним індикатором) і двічі екстрагують мускарин хлороформом порціями по 5 мл.

Хлороформний екстракт об'єднують, переносять у випарну чашку і висушують на повітрі. Сухий залишок використовують для дослідження на наявність мускарину та інших четвертинних амонійних основ.

Якісні реакції на мускарин

1. Реакція з реактивом Драгендорфа

До сухого залишку на фарфоровій пластинці додають 1-2 краплі реактиву Драгендорфа. Виникає червоне забарвлення. Чутливість реакції становить 6 мкг.

2. Реакція з дипікриламином

До сухого залишку на фарфоровій пластинці додають 1-2 краплі 0,2 % розчину дипікриламіну в 50 % ацетоні. Виникає синьо-фіолетове забарвлення, що стає більш інтенсивним після нагрівання при 80°C впродовж 5 хв. Межа виявлення — 3 мкг.

3. Реакція з реактивом Шиффа

До сухого залишку на фарфоровій пластинці додають 1 краплю розбавленої хлоридної кислоти. Суміш перемішують скляною паличкою і додають 1 краплю реактиву Шиффа – виникає фіолетове забарвлення.

При взаємодії реактиву Шиффа з альдегідами, деякими кетонами, окисниками та ненасиченими сполуками утворюється пурпурно-фіолетовий барвник (фуксин).

4. Реакція з сіллю Рейнеке

0,5 мл фільтрату вносять у пробірку і додають 5 крапель 2 % розчину солі Рейнеке в етанолі. Впродовж 2-3 хв випадає осад пурпурового кольору. При додаванні до суміші 5 мл ацетону осад розчиняється і колір розчину змінюється на синій. З метою підвищення чутливості цю реакцію виконують як мікрокристалоскопічну. Для цього на предметне скло наносять 2 краплі фільтрату і 1 краплю реактиву. Предметне скло злегка підігрівають і через 5-10 хв. спостерігають під мікроскопом утворення кристалів, що мають характерну форму і забарвлення.

Ізолювання пептидних токсинів блідої поганки

10 грамів плодових тіл досліджуваних грибів подрібнюють, поміщають у ступку і розтирають з 20 мл етилового спирту до однорідної маси. До утвореної маси додають 2 н. розчин сульфатної кислоти до рН 2 (за універсальним індикатором). Суміш залишають на 20-30 хвилин, періодично перемішуючи її за допомогою скляної палички та контролюючи величину рН. Після настоювання суміш проціджують через декілька шарів марлі. Твердий залишок відкидають, а рідину поміщають у роздільну лійку і підлужнюють 10 % розчином аміаку до рН 10.

Токсини грибів екстрагують хлороформом двічі порціями по 5 мл. Хлороформні витяжки об'єднують, поміщають у випарну чашку і висушують

насухо на повітрі або потоком повітря. Сухий залишок використовують для дослідження на наявність грибних отрут.

Якісні реакції на токсини блідої поганки

1. Проба Мейкснера

Застосовується для виявлення аманітинів безпосередньо у плодових тілах та споровому порошку блідої поганки. Проба Мейкснера полягає в утворенні основи Шиффа з лігніном, в складі молекул якого є альдегідні групи. Сама реакція проводиться крапельним методом безпосередньо на клаптику газетного паперу або лігніну і може бути виконана у польових умовах. На газетний папір або лігнін наносять 1-2 краплі соку блідої поганки або 2-3 краплі спиртової витяжки і чекають поки сік повністю поглинеться і пляма підсохне. На пляму наносять 1 краплю концентрованої хлоридної кислоти. При наявності анатоксинів через 1-2 хвилини виникає синя або синьо-фіолетова пляма; за невеликої концентрації забарвлення виникає повільніше.

2. Реакція з реактивом Ерліха (п-диметиламінобензальдегідом)

Реакція Ерліха — це кольорова проба на індол. Індол утворюється з амінокислоти триптофану, яка є складовою частиною біциклічних олігопептидів токсинів блідої поганки. п- Диметиламінобензальдегід утворює з інделом продукт конденсації синього або пурпурового кольору. Ця реакція відбувається в кислому середовищі. Реактив Ерліха є 1 % розчином п-диметиламінобензальдегіду у суміші етанолу і концентрованої хлоридної кислоти (4:1). Цей реактив може зберігатися тривалий час і використовуватися для експрес-аналізу гострих отруєнь грибами.

У пробірку вносять 0,1-0,2 мл досліджуваної витяжки з біологічного матеріалу, додають 0,5 мл реактиву Ерліха і зміст пробірки збовтують. Впродовж 1-2 хвилин виникає пурпурове забарвлення.

3. Реакція з розчином хлориду паладію

На фільтрувальний папір наносять краплю витяжки з біологічного матеріалу і додають 1-2 краплі реактиву — виникає жовте забарвлення.

Виготовлення реактиву: 0,2 г хлориду паладію (II) розчиняють в 10 мл 10 % хлоридної кислоти і доводять об'єм розчину водою до 200 мл.

4. Реакція осадження

У пробірку або у лунку на фарфоровій пластинці вносять 5 крапель досліджуваної витяжки з біологічного матеріалу. Додають по 1 краплі розчину нітропрусиду натрію, хлориду цинку і 2-3 краплі розчину піридину в спирті — випадає рожевий осад.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Особливості грибів як продуктів харчування та специфіка отруєнь, що викликаються грибами.
2. Токсикологічна характеристика отрут шляпкових грибів, що діють на периферичну нервову систему.
3. Токсикологічна характеристика отрут шляпкових грибів, що діють на центральну нервову систему.
4. Токсикологічна характеристика отрут шляпкових грибів з гепатотоксичною дією.
5. Токсикологічна характеристика отрут шляпкових грибів з нефротоксичною дією.
6. Особливості ізолювання грибних отрут з біологічного матеріалу.
7. Методи хіміко-токсикологічного аналізу грибних токсинів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №13

**Група отруйних речовин, які ізолюються із біологічного матеріалу неполярними (малополярними) органічними розчинниками.
Методи виділення фосфорорганічних пестицидів (ФОП) та інших фосфорорганічних сполук (ФОС) із біологічного матеріалу**

Теоретичні відомості

Велику групу токсикантів складають отрутохімікати (пестициди). Пестициди – речовини хімічного чи біологічного походження, що використовуються для боротьби з організмами, які шкодять оброблюваним сільськогосподарським культурам і запасам сільськогосподарських продуктів, для знищення небажаної рослинності, збудників хвороб, переносників захворювань тварин і рослин, а також для регулювання розвитку організмів.

До отрутохімікатів належать речовини різних класів неорганічних (арсено-, мідь-, ртуть-, сірковмісні сполуки) та органічних сполук: хлорорганічні пестициди (ХОП), органічні сполуки фосфору або фосфорорганічні пестициди (ФОС), похідні карбамінової кислоти, похідні сечовини та тіосечовини, похідні гетероциклічних сполук, нітропохідні пестициди, синтетичні піретроїди, органічні сполуки ртуті, органічні сполуки олова, отрутохімікати рослинного походження (алкалоїди похідні піридину і піперидину).

Пестициди при їх виробництві та застосуванні у сільському господарстві можуть забруднювати навколишнє середовище. Пестициди та його метаболіти і продукти розпаду, а також продукти взаємодії з іншими хімічними речовинами і хімічні домішки, які шкідливо впливають на організм, називаються

залишковими кількостями пестицидів. Пестициди потрапляють в атмосферне повітря, ґрунти, стічні та питну води, в їстівні частини рослин, у корми, у продукти харчування (молоко, м'ясо, жир, кури, яйця). Багато пестицидів здатні тривалий час зберігатися в середовищі, що оточує людину, переходити з одного об'єкта в інший, перетворюватися, надходити в організм людини і нагромаджуватися в ньому.

Отрутохімікати часто стають причиною смертельних отруєнь. Для метаболізму речовин цієї групи характерне явище «летального синтезу», при якому токсичність метаболітів є більшою ніж токсичність вихідних речовин.

Для виділення пестицидів з біологічного матеріалу використовують екстракцію органічними розчинниками, перегонку з водяною парою, вакуумну сублімацію, співвипаровування в потоці органічного розчинника, адсорбцію на різних сорбентах.

Основними методами, які забезпечують високий рівень виділення і застосовують для всіх пестицидів, є екстракція органічними розчинниками. Вибір екстрагента і умов екстракції залежить від природи об'єкта та аналізованої сполуки. Втрати пестицидів при екстракції можуть бути обумовлені розчинністю органічних розчинників у воді, а також пестицидів в ендогенних сполуках (жирах, ліпоїдах).

Для одержання очищених витяжок, при проведенні аналізу на стійкі пестициди, використовують сульфкування перед екстракцією отрутохімікатів органічними розчинниками. Метод застосовують для очищення витяжок багатих ліпідами.

Також ефективним методом очищення витяжок є екстракційний метод, який полягає на розподілі речовин між рідинами, що не змішуються.

Для очищення екстрактів від жирів і восків використовують спосіб виморожування, який полягає на поганій розчинності вказаних речовин в холодному ацетоні, від білків – на їх осадженні.

Виконання лабораторної роботи

Виділення ФОП із біологічного матеріалу

I спосіб. В колбу місткістю 500 мл вносять 100 г подрібненого біологічного матеріалу і 150 мл води, підкисленої сульфатною кислотою до рН 2,0-2,5. Суміш залишають на 2 год. часто перемішуючи, потім проціджують через марлю. До біологічного матеріалу ще два рази додають воду, підкислену до рН 2,0–2,5 (по 75 мл) і кожний раз настоюють по 1 год., а потім зливають водні витяжки. Об'єднані кислі водні витяжки центрифугують. Центрифугат переносять в роздільну лійку, додають 30 мл хлороформу і суміш збовтують 10

хв. Хлороформну витяжку зливають. ФОП із кислої водної фази ще 4 рази екстрагують хлороформом (по 30 мл). Хлороформні витяжки з'єднують і випаровують при кімнатній температурі насухо. Сухий залишок розчиняють в 5 мл води, потім розчин фільтрують через паперовий фільтр. Фільтрат використовують для виявлення хлорофосу.

II спосіб. До 25 г подрібненого органу, поміщеного в колбу, додають 50 мл гексану і 25 г безводного натрію сульфату. Суміш залишають на 12 год. у закритій колбі при періодичному перемішуванні. Витяжку відфільтровують в колбу для відгонки розчинника чи чашку Петрі. Подрібнені органи знову заливають 50 мл гексану і настоюють при періодичному перемішуванні протягом години. Витяжку відфільтровують і приєднують до попередньої. Розчинник відганяють в роторному випарнику чи чашці Петрі при кімнатній температурі до об'єму 10-20 мл.

Екстракційне очищення витяжок

Сконцентровану витяжку за допомогою гексану переносять в роздільну лійку (загальний об'єм гексанової фази 25 мл). Туди ж додають 25 мл диметилформаміду (ДМФА), насиченого гексаном. Суміш енергійно збовтують протягом 3 хв. Після розділення нижню фазу (ДМФА) відділяють, операцію екстракції повторюють знову два рази. Фракції ДМФА об'єднують і зливають в 400 мл 12 % розчину натрію хлориду, який знаходиться в роздільній лійці об'ємом 500 мл. Суміш перемішують, додають в лійку 10 мл гексану і збовтують фази протягом 3 хв. Після розподілу шарів, водну фазу відділяють і екстрагують ще два рази порціями гексану по 10 мл. Гексанові екстракти об'єднують, відмивають їх від ДМФА розчином натрію хлориду, сушать протягом 30 хв безводним сульфатом натрію (7 г) і декантують в мірну колбу ємністю 50 мл. Осад промивають не менше 3-5 разів гексаном (по 3-5) мл і приєднують до основного розчину. Об'єм розчину в мірній колбі доводять гексаном до мітки і перемішують.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Основні класифікації пестицидів.
2. На які групи діляться пестициди залежно від їхньої будови?
3. Основні вимоги, які ставляться до хімічних засобів захисту рослин (гігієнічні і промислові).
4. Правила перевезення, зберігання, відпуску і використання отрутохімікатів і гербіцидів.
5. Основні правила використання гербіцидів і отрутохімікатів у сільському господарстві і побуті.
6. Техніка безпеки при використанні отрутохімікатів у побуті.

7. Механізм дії і біотрансформація пестицидів – похідних карбамінової кислоти і дитіокарбамінової кислоти в організмі людей і тварин.
8. Фізичні і хімічні властивості, токсикологічна характеристика і шляхи проникнення ртутьорганічних отрутохімікатів в організм людей і тварин.
9. Фізичні і хімічні властивості пестицидів – похідних 2,4-дихлорфеноксиацетатної кислоти, їх токсичність і застосування.
10. Фізичні і хімічні властивості і токсикологічна характеристика пестицидів — похідних фенолу і нітрофенолу.
11. Зберігання у зовнішньому середовищі і шляхи перетворення пестицидів — похідних феноксиалкілкарбонових кислот.
12. Пестициди — похідні сечовини і тіосечовини. Їх токсичність і зберігання в об'єктах зовнішнього середовища.
13. Токсикологічне значення ФОП.
14. Фізичні і хімічні властивості пестицидів - ефірів кислот фосфору і карбамінової кислоти і шляхи проникнення їх в організм.
15. Зберігання у зовнішньому середовищі і нормативні терміни «витримування» при використанні фосфорорганічних пестицидів.
16. Залежність токсичності ФОП для теплокровних і комах від хімічної будови і структури молекули.
17. Біотрансформація ФОП в організмі людей і тварин і характеристика токсичних властивостей їх метаболітів.
18. Механізм токсичної дії ФОП на організм людей і тварин.
19. Біотрансформація ФОП в організмі людей і тварин і шляхи виведення їх із організму.
20. Способи виділення ФОП із біологічного матеріалу і рідин організму.
21. На якій властивості жирів і восків основане очищення від них витяжок з біологічного матеріалу ?
22. Назвіть раціональний метод очищення витяжок від білків.
23. Антидотна терапія при отруєннях ФОС

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №14

Дослідження витяжок із біологічного матеріалу на вміст ФОС хімічними реакціями

Теоретичні відомості

Для виявлення пестицидів у витяжках із біологічного матеріалу застосовують різні методи: хімічні, фізико-хімічні, ензимні тощо.

Хімічні методи виявлення пестицидів основані на використанні реакцій на

окремі функціональні групи та атоми (фосфор, хлор, сірку, аміногрупу та ін.) Ензимний метод виявлення фосфоровмісних пестицидів оснований на властивостях ФОП, а також похідних карбамінової кислоти (наприклад, севіну) пригнічувати фермент холінестеразу. Біохімічна проба є чутливішою ніж хімічні методи. При негативному результаті біохімічної проби - дослідження закінчують, при позитивному — для підтвердження проводять дослідження за допомогою хімічних та фізико-хімічних методів (ХТШС, ГРХ тощо).

Аналіз витяжки з метою діагностики отруєння ФОП проводять за наступною схемою:

1. Виявлення фосфорорганічних речовин за фосфором.
2. Виявлення фосфорилюючої активності.
3. Виявлення похідних тіо- і дитіофосфорної кислот.
4. Виявлення та ідентифікація методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту.
5. Виявлення хромато-ензимним методом.
6. Виявлення за активними функціонально-активними групами та за продуктами гідролізу.
7. Ідентифікація методом спектроскопії.
8. Ідентифікація методом газорідинної хроматографії.

Виконання лабораторної роботи

Виявлення фосфорорганічних речовин за фосфором

Для виявлення фосфору в органічних речовинах проводять їх мінералізацію, а потім визначають в мінералізаті фосфат-іони. При виявленні ФОП у біологічному матеріалі проводять їх виділення, а для мінералізації використовують залишок витяжки після випаровування розчинника. Мінералізацію проводять сумішшю сульфатної і нітратної кислот або шляхом сплавлення (спікання) залишку витяжки з натрію карбонатом і натрію пероксидом. Для виявлення фосфат-іонів виконують реакцію одержання фосфорномолібденової кислоти. Одержану кислоту переводять у молібденову синь за допомогою одного із відновників (аскорбінова кислота, олова хлорид (II), бензидин тощо).

У пробірку вносять 3-5 крапель мінералізату і 5 крапель розчину амонію молібдату. Суміш підкислюють 10% розчином нітратної кислоти. При наявності фосфат-іонів виникає жовте забарвлення. До цього розчину додають 3-5 крапель насиченого водного розчину гідрохлориду бензидину і 10 % розчин аміаку до лужної реакції. При наявності фосфат-іонів розчин забарвлюється в синій колір.

Виявлення фосфорилюючої активності

Фосфорилюючі (алкілюючі) властивості ФОП виявляють за допомогою реакції з 4-(п-нітробензил)-піридином. Частину витяжки випаровують, залишок розчиняють в 0,5 мл ацетону. Розчин переносять у пробірку із шліфом, додають 3 мл води, 1 мл універсальної буферної суміші (рН 4,5) і 0,5 мл 5 % розчину 4-(п-нітробензил)-піридину в ацетоні. Суміш у пробірці нагрівають з повітряним холодильником на киплячому водяному нагрівнику 1 годину. Після охолодження суміш центрифугують 5 хв (при 10000 об/хв). Центрифугат відділяють шляхом декантації у пробірку із скляним корком і додають 2 мл ацетону, 4 мл етилацетату та 1 мл 1 н. розчину натрію гідроксиду. Вміст пробірки перемішують і залишають на 1 хв для розділення фаз. При наявності ФОП органічна фаза забарвлюється в червоно- фіолетовий колір. Реакція з 4-(п-нітробензил)-піридином є характерною для ефірів фосфорної, тіо- та дитіофосфорної кислот. Похідні фосфонові кислоти (рипід-п) в реакцію вступають дуже повільно з причини того, що зв'язок Р-С дуже міцний. Винятком є хлорофос, який при першому атомі вуглецю має гідроксильну групу, що сприяє гідролізу. При цьому хлорофос перетворюється в дихлорофос - похідне фосфорної кислоти, який і вступає в реакцію з 4-(п-нітробензил)-піридином.

Чутливість реакції: 0,5 - 2 мкг ФОП у пробі.

Виявлення похідних тіо- і дитіофосфорної кислот

1. Речовини, які мають кетонну сірку вступають в реакцію з паладію хлоридом з утворенням внутрішньокмплєксних сполук. Продукти реакції мають жовто-коричневе забарвлення. Реакцію виконують на пластинці з тонким шаром сорбенту. Хроматограму обприскують 0,5 % розчином паладію хлориду в 10 % розчині хлоридної кислоти. Після обприскування пластинку нагрівають 5-10 хв при 100°C.

2. Для виявлення сірковмісних речовин використовують розчин бромфенолового синього з срібла нітратом. В 10 мл ацетону розчиняють 0,05 г бромфенолового синього і об'єм доводять до 100 мл 1 % розчином срібла нітрату в суміші ацетону і води (3:1). Пластинку обприскують і залишають на 5 хвилин. Після цього пластинку повторно обприскують 1 % розчином лимонної кислоти. Плями речовин, які вміщують сірку, забарвлюються в синій колір.

3. Виявлення ФОП похідних дитіофосфорної кислоти проводять реакцією з сульфатом міді. При лужному гідролізі утворюється диметоксидитіофосфорна кислота, яка з сульфатом міді в слабкокислому середовищі утворює внутрікмплєксну сполуку. До сухого залишку витяжки додають 1 мл 10 % розчину натрію гідроксиду в спирті і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 10 хв. Після охолодження до суміші по краплях додають 25 % розчин сульфатної кислоти до рН 4-5, 1 мл хлороформу, 2 краплі 10 % розчину міді

сульфату і перемішують, При наявності ФОП похідних дитіофосфорної кислоти хлороформний шар забарвлюється в жовтий колір.

Виявлення окремих ФОП за активними функціонально-активними групами та за продуктами гідролізу

Виявлення хлорофосу

1. Реакція з піридином і натрію гідроксидом (реакція Фудживара)

У пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину, 1 мл піридину і 1 мл 50 % розчину натрію гідроксиду. Суміш нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 5 хв. При наявності хлорофосу спостерігають червоне або рожеве забарвлення.

2. Реакція з резорцином

До 1мл досліджуваного розчину додають 2 краплі 1 % розчину резорцину в 20 % розчині натрію карбонату або 1 % розчині натрію гідроксиду. Через 10 хв спостерігається рожеве забарвлення, а через 15-30 хв – жовто-зелена флуоресценція розчину.

3. Реакція утворення ізонітрилу

До 0,01-0,03 г досліджуваної речовини додають 1 мл етилового спирту. Суміш збовтують, потім додають 2 мл спиртового розчину натрію гідроксиду і 1 краплю аніліну. При нагріванні відчувається характерний запах ізонітрилу.

4. Реакція з о-толідіном

В фарфорову чашку вносять 0,2-0,5 мл водного або спиртового розчину досліджуваної речовини, 1 мл розчину толідину в ацетоні і 1 мл суміші розчинів водню пероксиду і лугу. В присутності хлорофосу спостерігають жовте або оранжеве забарвлення.

5. Реакція з 2,4-динітрофенілгідразином

До кількох крапель розчину досліджуваної речовини додають 2 краплі 1,2 н. розчину натрію гідроксиду. Суміш залишають при кімнатній температурі на 20 хв, потім додають 1 краплю 0,1 % розчину 2,4- динітрофенілгідразину в 4 н. хлоридній кислоті. Пробірку тримають в киплячому водяному нагрівнику 30 хв Суміш охолоджують і додають до неї краплю 4 н. розчину натрію гідроксиду і 0,5 мл етилового спирту. Спостерігають синє або синьо-фіолетове забарвлення.

6. Реакція з ацетоном

До 0,1 – 1,0 мл розчину досліджуваної речовини в етиловому спирті додають 1 мл ацетону і 0,5 мл 0,5 н. спиртового розчину натрію гідроксиду. Через 5-15 хв спостерігають рожеве забарвлення, яке переходить в оранжеве.

7. Реакція Шенемана

До 1 мл розчину досліджуваної речовини в ацетоні додають 0,5 мл розчину о-діанізидину і 2 мл розчину натрію перборату. В залежності від вмісту досліджуваної речовини розчин забарвлюється в жовтий або червоний колір.

Виявлення дихлорофосу

Для виявлення дихлорофосу використовують кольорові реакції з о-толідином, 2,4-динітрофенілгідразином, ацетоном і реакцію Шенемана (див. хлорофос).

Виявлення карбофосу

1. Реакція з діазотованою сульфаніловою кислотою

1 мл хлороформної витяжки вносять у пробірку і рідину випаровують насуху. До сухого залишку додають 2 мл води, 1 мл діазотованої сульфанілової кислоти і 0,5 мл 5 % розчину натрію гідроксиду. Спостерігають вишнево-червоне забарвлення розчину.

2. Реакція з реактивом Маркі

У фарфорову чашку вносять 1 мл хлороформного розчину витяжки і хлороформ випаровують насуху. До сухого залишку додають 5-10 крапель реактиву Маркі. Спостерігають утворення оранжевого забарвлення, яке через деякий час переходить в темно-коричнєве.

3. Реакція з сульфатом міді

1 спосіб. 1 мл розчину досліджуваної речовини випаровують насуху. До сухого залишку додають 1 мл 10 % спиртового розчину натрію гідроксиду. Пробірку нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 10 хв. При цьому відчувають неприємний запах продуктів розкладу карбофосу. Після охолодження пробірки в неї по краплях вносять 25 % розчин сульфатної кислоти до рН 4-5. Потім додають 1 мл хлороформу і 2 краплі 10 % розчину міді сульфату. Якщо в досліджуваному розчині міститься карбофос, то хлороформ забарвлюється в зеленувато-жовтий колір.

2 спосіб. В роздільну лійку вносять 5 мл чотирихлористого вуглецю, 2-5 крапель розчину досліджуваної речовини і 0,2 мл 5 % розчину натрію гідроксиду. Суміш інтенсивно збовтують 1 хв, потім додають 15 мл 2 % розчину натрію хлориду і рідину знову збовтують 1 хв. Після розділення органічну фазу відділяють, а до водної фази в роздільній лійці додають 5 мл чотирихлористого вуглецю. 0,2-0,3 мл 6 н. розчину хлоридної кислоти і збовтують рідину 30 с. Після розділення фаз, відділяють фазу органічного розчинника, який пізніше досліджують. В роздільну лійку до водної фази додають 1 мл тетрахлоркарбону, 0,4 мл 1 % розчину міді сульфату і суміш збовтують 1 хв. Спостерігають лимонно-жовте забарвлення органічного розчинника.

Виявлення фосфаміду

1. Реакція з реактивом Маркі

У фарфорову чашку вносять краплю досліджуваного розчину і 1-2 краплі реактиву Маркі. Поява рожевого забарвлення вказує на присутність фосфаміду в пробі;

2. Реакція з реактивом Фреде

На предметне скло наносять краплю досліджуваного розчину і 1-2 краплі реактиву Фреде. При наявності фосфаміду спостерігають синьо- зелене забарвлення, яке переходить в зелено-жовте;

3. Реакція з реактивом Мілона

На предметне скло наносять краплю досліджуваного розчину і 1-2 краплі реактиву Мілона. При наявності фосфаміду в досліджуваному розчині через 5-10 хв спостерігають рожеве забарвлення. Потім випадає такого ж кольору осад;

4. Реакція реакція Шенемана (див. хлорофос).

Виявлення метафосу

Для виявлення метафосу проводять реакцію Шенемана (див. хлорофос) .

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Реакції і методи аналізу, які використовуються для виявлення ФОП у витяжках із біологічного матеріалу.
2. Способи дослідження похідних карбамінової і дитіокарбамінової кислот у витяжках із біологічного матеріалу.
3. Характеристика основних способів і реакцій, які використовуються для дослідження похідних 2,4-дихлорфеноксикарбонових кислот.
4. Методи ідентифікації пестицидів – похідних фенолу і нітрофенолу.
5. Методи виявлення ртутьорганічних пестицидів.
6. Токсикологічна характеристика та методи хіміко-токсикологічного аналізу пестицидів — органічних сполук олова та ртуті. Методи ідентифікації за нативною формою і за ртуттю (II). Оцінка результатів аналізу.
7. Токсикологічна характеристика та основні методи аналізу синтетичних піретроїдів - пестицидів похідних циклопропанкарбонової кислоти (алетрин, ресметрин, тетраметри, фенотрин, перметрин, циперметрин, дельтаметрин, цигалотрин тощо). Діагностика гострих отруєнь та надання медичної допомоги.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №15

Група отруйних речовин, які потребують особливих методів виділення (фториди, кремній фториди, броміди (бром), йодиди (йод))

Теоретичні відомості

Фтор у невеликих кількостях знаходиться в людському організмі. Він бере участь в утворенні зубної емалі, кісткової тканини, в обміні речовин, у активації деяких ферментів.

Основні сполуки фтору — це фторидна (плавикова) кислота, фториди, гідрофториди металів, фтор борати та фтор силікати, а також фтор волокна

(фторкаучуки, фторопласти), фторвуглеводні.

Медичне значення мають фторид натрію та фторотан. Натрію фторид застосовується у стоматології у вигляді 2 % розчину, а також у вигляді таблеток по 0,0005 г. Фторотан — це засіб для інгаляційного наркозу. Він швидко виводиться з організму і майже не викликає подразнень слизових оболонок.

Фтор та його сполуки високотоксичні. Контакт з фтором викликає подразнення шкіри, слизових оболонок носа і очей, дерматити, кон'юнктивіти, набряк легень.

Натрію фторид — це білий порошок, який при дії сильних кислот розкладається з виділенням фторидної кислоти — сильного подразнюючого засобу слизових оболонок, який також викликає набряк легень. Технічний натрію фторид застосовується у сільському господарстві як інсектицид і зооцид.

Натрію кремнійфторид — це білий, іноді жовтуватий або сіруватий порошок без запаху, малорозчинний у холодній воді. Технічний кремній фторид застосовується у сільському господарстві для боротьби зі шкідниками цукрового буряка, бавовника, зернових культур. Кремній фторид має здатність всмоктуватись через шкіру. При отруєнні кремній фторидами спостерігають ураження нервової системи і порушення обміну речовин.

Бром — летка димлячи рідина темно-червоного кольору і задушливого запаху, легко розчинна у спирті, хлороформі, ефірі, сірковуглеці і чотирьохлористому вуглеці, роз'їдає метали і всі органічні тканини, легко випаровується при кімнатній температурі. Як дуже їдка речовина бром уражає всі тканини і структури, з якими контактує, утворюючи глибокі опіки, що переходять у важкозаживаючі виразки. Поглинутий бром також викликає рух інших галогенів (хлору, йоду), що призводить до нервових порушень.

Броміди застосовуються як седативно-снотворні засоби, але зараз в значній мірі витіснені менш токсичними і більш ефективними препаратами, наприклад, бензодіазепінами. Броміди раніше також використовувались як антиепілептичні речовини.

У промисловості та медицині можуть застосовуватись натрію, калію і амонію броміди, скополаміну гідробромід, гоматропіну гідробромід, бромований теофілін. Бром також застосовується як антигістамінний препарат і як складова бромфеніраміну.

Йод — речовина синьо-чорного кольору, з металевим блиском і характерним запахом. Дуже отруйний. Так, ковтання 2-3 г йоду може призвести до смерті. Органічні та неорганічні сполуки йоду є токсичнішими від аналогічних сполук хлору та бромів.

Навіть мала концентрація парів йоду викликає подразнення слизової оболонки дихальних шляхів, кон'юнктивіти, менше — шкіри. Вищі дози можуть

викликати подразнення всього дихального апарату з наступним набряком легень. При контакті шкіри з кристалами або концентрованим розчином йоду утворюються ураження, подібні до теплових опіків. Ковтання концентрованого розчину йоду викликає гостре роз'їдаюче запалення стравоходу і шлунка.

5-процентний спиртовий розчин йоду використовується для дезінфекції шкіри навколо пошкоджень (рваної, різаної або іншої рани). Продукти йоду з крохмалем, іншими ВМС (наприклад, так-званий. «Синій йод» — Йодинол, Йокс, Бетадин тощо) є м'якшими антисептиками.

В рентгенологічних і томографічних дослідженнях широко застосовуються йодвмісні контрастні препарати. У криміналістиці пари йоду використовуються для виявлення відбитків пальців на паперових поверхнях, наприклад, на купюрах.

Йод отруйний. Смертельна доза становить 3 г. Викликає ураження нирок та серцево-судинної системи.

Виконання лабораторної роботи

Ізолювання фторидів та кремнійфторидів із технічних препаратів та біологічного матеріалу

Таке ізолювання проводиться у присутності суспензії оксиду кальцію з метою зменшення втрат досліджуваних сполук.

У фарфоровий тигель вносять 25 г подрібненого об'єкта, додають 13-14 мл суспензії оксиду кальцію (5 г оксиду кальцію і 15 мл води очищеної). Суміш добре перемішують, змочують розчином нітрату амонію, висушують і спалюють. Золю промивають водою і висушують. У золі повинен міститись малорозчинний фторид або кремнійфторид кальцію.

Виявлення фторидів і кремнійфторидів

1. Реакція «травлення» скла

Частину золи вносять у платиновий тигель, додають невелику кількість концентрованої сульфатної кислоти. Тигель накривають годинниковим склом, нижню частину якого попередньо покривають шаром воску або парафіну і за допомогою голки наносять напис. Тигель залишають на добу при кімнатній температурі. Після цього годинникове скло знімають, звільняють від парафіну (воску). Наявність на склі нанесеного напису свідчить про присутність в досліджуваному об'єкті фторидів або кремнійфторидів. Фтористий водень, що виділяється, взаємодіє з оксидом кремнію, що міститься у склі. Відбувається «роз'їдання» скла.

2. Реакція утворення гелю ортокремнієвої кислоти

У пробірку вносять частину отриманої золи і декілька крапель

концентрованої сульфатної кислоти. До отвору пробірки підносять платинову дротину (або скляну паличку), на кінці якої знаходиться крапля води. При дії сульфатної кислоти на золу виділяється водню фторид, який реагує зі стінками пробірки, утворюючи газоподібний кремнію тетрафторид.

Кремнію тетрафторид гідролізує з утворенням гелю SiO_2 або H_2SiO_3 і кремнійфторидної кислоти. Помутніння краплі води вказує на присутність фторидів або кремнійфторидів у досліджуваній пробі.

3. Реакція з алізаринцирконієвим лаком

На смужку фільтрувального паперу наносять краплю суміші, що складається з рівних об'ємів 0,25% розчину алізаринового червоного і 0,25% розчину цирконію нітрату. Після підсушування на отриману пляму червоного кольору наносять краплю досліджуваного розчину. Якщо досліджуваний розчин містить фториди або кремнійфториди, то забарвлення плями змінюється на жовте.

Реакції, що дають можливість відрізнити фториди від кремнійфторидів

Щоб відрізнити фториди від кремнійфторидів, використовують реакції з розчином аміаку, гідроксидом натрію, солями калію і реакцію утворення гелю ортокремнієвої кислоти.

1. Реакція з розчином аміаку

До водного розчину досліджуваної речовини додають декілька крапель 10 % розчину аміаку. При нагріванні у присутності кремнійфторидів (на відміну від фторидів) випадає драглистий осад (нерозчинна ортокремнієва кислота).

2. Реакція з розчином натрію гідроксиду

До 5 мл водного розчину досліджуваної речовини додають 3 мл 10 % розчину натрію гідроксиду. У присутності кремнійфторидів (на відміну від фторидів) спостерігають утворення білого драглистого осаду.

3. Реакція з солями калію

До 3 мл досліджуваного розчину додають 4 мл 5 % розчину калію хлориду і 5 мл етанолу. У присутності кремнійфторидів (на відміну від фторидів) випадає білий осад складу $\text{K}_2[\text{SiF}_6]$. Етанол прискорює випадіння осаду.

4. Утворення гелю ортокремнієвої кислоти

На відміну від фторидів реакція проводиться обов'язково у платиновому або залізному тиглі з використанням описаної вище методики. У цих умовах фториди не дають реакцію утворення ортокремнієвої кислоти.

Виявлення бромідів (бromу) у сечі

До 10 мл сечі додають 5 мл хлороформу і декілька крапель розчину нітратної кислоти. Суміш перемішують і залишають на 3 хв.

У присутності бромідів у сечі хлороформ забарвлюється у жовтий колір.

Виявлення йодидів (йоду) у сечі

До 10 мл сечі додають 5 мл хлороформу і декілька крапель розчину нітратної кислоти. Суміш перемішують і залишають на 3 хв.

У присутності йодидів у сечі хлороформ забарвлюється у рожево-фіолетовий колір.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №16

Отрути, які визначаються безпосередньо у біологічному матеріалі.

Виявлення чадного газу в організмі людей

Теоретичні відомості

Моноксид вуглецю (CO) є провідною причиною смертей під час пожеж. Решта випадків не пов'язаних з пожежами неслетельних та ненавмисних отруєнь чадним газом пов'язані з несправністю опалювальних та вентиляційних систем. Майже у половини хворих після отруєння чадним газом розвиваються віддалені психічні порушення.

Виконання лабораторної роботи

Хімічні методи виявлення монооксиду вуглецю в крові

1. Попередня проба на карбоксигемоглобін

Досліджувану кров у розведенні 1:20 змішують з 0,01 М розчином аміаку і порівнюють з нормальною кров'ю, обробленою аналогічно. Рожевий відтінок аналізованої крові вказує на необхідність наступного дослідження.

Іон заліза (II) в молекулі карбоксигемоглобіну міцно зв'язаний з молекулою монооксиду вуглецю і не може вступати у взаємодію з більшістю реактивів, що утворюють комплексні або нерозчинні сполуки з іоном заліза. Усі перелічені нижче якісні реакції ґрунтуються на встановленні здатності іона заліза (II) утворювати ті чи інші продукти взаємодії, тобто на наявності в молекулі гемоглобіну незаблокованого (активного) іона заліза (II). Тобто, позитивний ефект реакції свідчить про наявність у крові дезоксигемоглобіну чи оксигемоглобіну. Кров, що містить карбоксигемоглобін, практично не змінює свого забарвлення від додавання вказаних реактивів, а нормальна кров без карбоксигемоглобіну під дією цих реактивів значно змінює своє забарвлення.

Під час виконання усіх перелічених нижче реакцій виявлення карбоксигемоглобіну слід паралельно проводити дослід з нормальною кров'ю. До обох проб — нормальної і з карбоксигемоглобіном додають однакові об'єми реактивів і спостерігають за змінами, що відбулися в обох пробах під дією реактивів.

2. Реакція з розчином гідроксиду натрію (проба Гоппе-Зейлера)

До певного об'єму крові додають такий самий або подвійний об'єм 30 %-го розчину гідроксиду натрію. Кров, що містить карбоксигемоглобін, залишається яскраво-червоною, а кров без карбоксигемоглобіну набуває бурого забарвлення.

Кров, що зазнала гнильних змін, під дією лугу може так само набувати яскраво- червоно забарвлення і без карбоксигемоглобіну через утворення гемохромогену.

3. Реакція з сульфідом амонію (проба Сальковского-Катаяма)

До 10 мл дистильованої води додають 5 крапель крові і 5 крапель свіжовиготовленого розчину сульфиду амонію. Суміш обережно збовтують, додають 30 %-й розчин оцтової кислоти до слабкокислої реакції і знову злегка збовтують. Кров, що містить карбоксигемоглобін, має малиново-червоне забарвлення, а кров без карб оксигемоглобіну змінює колір на сіро-зелений.

4. Реакція з хініном і сульфідом амонію (проба Хорошкевича-Маркса)

До 2 мл крові додають 4 мл 8 %-го розчину гідрохлориду хініну і суміш кип'ятять нетривалий час. Після охолодження суміші додають 2—3 краплі свіжовиготовленого розчину сульфиду амонію і сильно збовтують.

Кров, що містить карбоксигемоглобін, має світло-червоне забарвлення, а кров без карбоксигемоглобіну набуває брудого червоно-бурого забарвлення.

5. Реакція з гексаціанофератом (III) калію (проба Бюркера)

До 5 мл крові додають воду до 500 мл і збовтують. До 5-10 мл одержаного розчину крові додають 5 крапель 1 %-го розчину гексаціаноферату (III) калію $K_3[Fe(CN)_6]$. Кров, що містить карбоксигемоглобін, залишається червоною, а кров без карбоксигемоглобіну змінює забарвлення на жовтий.

6. Реакція з гексаціанофератом (III) калію и дихроматом калію (проба Сидорова)

1 мл крові розбавляють водою до 10 мл. До 2 мл одержаного розчину крові додають 3-5 крапель 20 %-го розчину гексаціаноферату (III) калію і такий самий об'єм 0,01 %-го розчину дихромату калію. Суміш крові і реактивів злегка збовтують. Кров, що містить карбоксигемоглобін, змінює забарвлення на карміново-червоне, а кров без карбоксигемоглобіну набуває коричнево-зеленого забарвлення.

7. Реакція з гексаціанофератом (III) калію і оцтовою кислотою (проба Ветцеля)

До 10 мл крові додають 90 мл води. До 10 мл одержаног розчину додають 5 мл 20 %-го розчину гексаціаноферату (III) калію і 1 мл льодяної оцтової кислоти. З крові, що містить карбоксигемоглобін, випадає вишнево-червоний осад, а з крові без карб оксигемоглобіну — сіро-коричневий осад.

8. Реакція з таніном (проба Кункеля-Ветцеля)

Кров розбавляють п'ятикратним об'ємом дистильованої води. В пробірку вносять 5 мл цього розчину крові, додають 15 мл 3 %-го водного розчину таніну і добре збовтують. З крові, що містить карбоксигемоглобін, випадає світлий карміново-червоний осад, а з крові без карбоксигемоглобіну випадає сіро-коричневий осад.

9. Реакція з формальдегідом (проба Лібмана)

До 5 мл нерозбавленої крові додають 5 мл формаліну (40 %-й розчин формальдегіду) і сильно збовтують. Кров, що містить карбоксигемоглобін, залишається червоного кольору, а кров без карбоксигемоглобіну через декілька хвилин набуває коричнево-чорного забарвлення.

10. Реакція з ацетатом свинцю (проба Рубнера)

До 5 мл неразбавленої крові додають 20 мл 5 %-го розчину основного ацетата свинцю і сильно збовтують впродовж 1 хв. Кров, що містить карбоксигемоглобін, не змінює свого червоного кольору, а кров без карбоксигемоглобіну набуває коричневого забарвлення.

11. Реакція з сульфатом міді (проба Залеського)

До 1 мл крові додають воду до 100 мл і добре збовтують. До 5 мл одержаного розчину крові додають 5 крапель 10 %-го розчину сульфату міді і знову добре збовтують. Кров, що містить карбоксигемоглобін, змінює колір на пурпурно-червоний, а кров без карбоксигемоглобіну набуває зеленуватого забарвлення.

Слід мати на увазі, що кров, яка містить карбоксигемоглобін, практично не змінюється під дією перелічених реактивів. Тому висновок про наявність карбоксигемоглобіну в крові не може ґрунтуватися на позитивному результаті лише однієї реакції з перелічених.

Крім того, у крові осіб, що палять, а також у крові мешканців великих міст завжди міститься невелика кількість карбоксигемоглобіну (до 5 %). Тому при невеликому вмісті монооксиду вуглецю кров також буде давати такий самий результат, як і кров, що не містить карбоксигемоглобін.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Механізм токсичної дії монооксиду вуглецю.
2. Що таке дезоксигемоглобін, оксигемоглобін і метгемоглобін і як вони взаємодіють з монооксидом вуглецю.
3. Симптоми отруєння монооксидом вуглецю та перша допомога при отруєнні.
4. Спектральний та хімічні методи виявлення карбоксигемоглобіну в крові.
5. Особливості спектрофотометричного методу визначення карбоксигемоглобіну в крові.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Вельчинська О. В., Ніженковська І. В., Головченко О. І. Токсикологічна та судова хімія: тестові завдання з поясненнями для студентів : навч.-метод. посіб. / Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця. – Київ : Лопатіна О. О., 2023. – 250 с.
2. Фармакологія та лікарська токсикологія : наук.-практ. вид. : журнал / Засн.: ДУ «Ін-т фармакології та токсикології НАМН України», ДП «Держ. експертний центр МОЗ України», ВГО «Асоціація фармакологів України». – Київ : Авіцена, 2020–2023.
3. Кучер М. М., Сметаніна К. І. Методичні рекомендації до лабораторних занять з токсикологічної та судової хімії (Модуль 1). – Луцьк : ВНУ ім. Лесі Українки, 2022. – 129 с.
4. Кучер М. М., Сметаніна К. І. Методичні рекомендації до лабораторних занять з токсикологічної та судової хімії (Модуль 2). – Луцьк : ВНУ ім. Лесі Українки, 2022. – 106 с.
5. Мільович С. С., Стерчо І. П. Методичні вказівки до виконання лабораторного практикуму з курсу «Токсикологічна та судова хімія» для студентів спеціальності «Фармація». – Ужгород : УжНУ, 2022. – 45 с.
6. Бевзо В. В., Тураш М. М. Токсикологічна і судова хімія : навч.-метод. матеріали до практ. занять для студентів спец. «Фармація, промислова фармація». Ч. 2 / МОЗ України, Буковин. держ. мед. ун-т. – Чернівці, 2021. – 210 с.
7. Бевзо В. В., Тураш М. М. Токсикологічна та судова хімія : навч.-метод. матеріали до практ. занять для студентів спец. «Фармація, промислова фармація». Ч. 1 / Буковин. держ. мед. ун-т. – Чернівці : Букрек, 2021. – 350 с.
8. Дунаєв О. В., Козлов С. В., Олійник І. Ю., Братенко М. К. Сучасні можливості судово-медичної оцінки та диференціації гострих інтоксикацій // *Судово-медична експертиза*. – 2021. – С. 11–17.
9. Flanagan R. J., Cuypers E., Maurer H. H., Whelpton R. *Fundamentals of Analytical Toxicology: Clinical and Forensic*. – Hoboken (NJ) : John Wiley & Sons, 2020. – 598 p.
10. Ніженковська І. В., Вельчинська О. В., Кучер М. М. Токсикологічна хімія. – Київ : Вища школа, 2020. – 406 с.
11. Шевряков М. В. Основи токсикологічної хімії : навч. посіб. для студентів ЗВО (хім., фармац., біол., екол. спец.). – Херсон : Олді-Плюс, 2020. – 223 с.
12. Кучер М. М., Галькевич І. Й., Бідніченко Ю. І. Методичні рекомендації до лабораторних занять з токсикологічної хімії (Частина 1) для студентів V курсу фармацевтичного факультету (спеціальність «Фармація»). – Львів, 2018. – 216 с.

13. Баюрка С. В., Бондар В. С., Мерзлікін С. І. та ін. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студентів ВНЗ. – Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. – 384 с.
14. Кучер М. М., Галькевич І. Й. Газорідинна хроматографія в аналізі ліків та отрут. Том 1. Теоретичні основи методу. – Львів : ЛНМУ, 2015. – 236 с.
15. Державна Фармакопея України / ДП «Український наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-ге вид. – Харків : ДП «Український наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1 – 1128 с.; Т. 2 – 724 с.; Т. 3 – 732 с.
16. Вельчинська О. В., Ніженковська І. В. Токсикологічна хімія. Отруйні речовини і їх біотрансформація. – Київ : АДЕФ-Україна, 2015. – 320 с.
17. Панасенко О. І., Каплаушенко А. Г., Самура Б. А. та ін. Токсикологічна хімія: навч.-метод. посіб. для студентів фармац. ф-ту заочної форми навчання. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. – 235 с.
18. Токсикологічна хімія в схемах і таблицях : навч. посіб. для студ. ВНЗ / Бондар В. С., Карпушина С. А., Погосян О. Г. та ін. – Харків : Вид-во НФаУ ; Золоті сторінки, 2015. – 128 с.
19. Панасенко О. І., Каплаушенко А. Г., Самура Б. А. та ін. Загальна характеристика токсичних речовин, діагностика і лікування за гострих отруєнь. – Запоріжжя : Карат, 2011. – 432 с.
20. Галькевич І. Й., Кучер М. М., Туркевич О. Д. Токсикологічна хімія : метод. вказівки до лабораторних занять та контрольних робіт. – Львів : ЛНМУ, 2006. – 128 с.
21. Токсикологічна хімія в схемах і таблицях : навч. посіб. для студ. ВНЗ / Бондар В. С., Карпушина С. А., Погосян О. Г. та ін. – Харків : Вид-во НФаУ ; Золоті сторінки, 2005. – 128 с.
22. Військова токсикологія, радіологія та медичний захист : підруч. / за ред. Ю. М. Скалецького, І. Р. Мисули. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2003. – 362 с.
23. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. Фармацевтична хімія. – Вінниця, 2003. – 464 с.
24. Токсикологічна хімія : конспект лекцій / Бондар В. С., Маміна О. О., Карпушина С. А. та ін. – Харків : Вид-во НФаУ ; Золоті сторінки, 2002. – 160 с.

**Цісар Оксана Володимирівна
Сливка Наталія Юріївна
Кучер Михайло Михайлович**

ТОКСИКОЛОГІЧНА ТА СУДОВА ХІМІЯ

*методичні рекомендації до лабораторного практикуму
для студентів спеціальності 226 Фармація, промислова фармація*

Друкується в авторській редакції

Підписано до друку 20.11.2025. Формат 60×84 1 /16

Ум. друк. арк. 5.5. Зам. № 266. Тираж 50

Папір офсетний. Гарнітура Times. Друк офсетний

Друк ФОП Гетьманчук В.Г.

Реєстраційний номер облікової картки

платника податків 1985703912

43000, м. Луцьк, вул. Бенделіані, 1А/85

Виписка з Єдиного державного реєстру юридичних осіб,
фізичних осіб – підприємців та громадських формувань

№ 220579230339 від 09.03.2023 р.