

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ КАЗЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ
«ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН»



МЕТОДИКА

УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ ПОТА НА ВЕЩЕСТВЕННЫХ
ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ

(шифр специальности – 25.1)

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика установления наличия пота на вещественных доказательствах
2. Шифр специальности методики	25.1(6)
3. Информация о разработчике методики	Итбаева Ж.Ж. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по г.Нур-Султан ЦСЭ МЮ РК, Зайнуллина Р.В. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по ЗКО ЦСЭ МЮ РК
4. Сущность методики	Расторвитель, проходя через пятно пота, разделяет его на компоненты, диагностическим признаком пота является аминоксилотасерин, которую выявляет раствор нингидрина
4.1. Объекты исследования	Вещественные доказательства
4.2. Методы исследования	Хроматографический
4.3. Краткое поэтапное описание методики	Вытяжки из объектов, предметов - носителей, образца пота и раствор серина помещают на пластинку силуфола. Применяют растворитель: бутанол - уксусная кислота - дистиллированная вода в соотношении 4: 1: 2. Проявление: 1 % спиртовым раствором нингидрина с прогреванием пластинок. В результате реакции наличие зоны зона сиреневого окрашивания – положительная реакция. Rf 0,23.
5. Дата одобрения методики Ученым Советом ЦСЭ МЮ РК	Протокол №1 от 18.06.2020г.
6. Информация о составителях паспорта методики	Итбаева Ж.Ж. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по г.Нур-Султан ЦСЭ МЮ РК

ОГЛАВЛЕНИЕ

МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ ПОТА

Установления наличия пота методом тонкослойной хроматографии	
Общие принципы.....	4
Подготовка исследуемого материала.	4
Нанесение подготовленного материала на сорбент.....	4
Разделение - собственно хроматографирование.....	4
Детектирование.....	4
Установление пота методом определения серина по Физелю	
(модификация Барсегянц)	
Общие принципы.....	5
Подготовка исследуемого материала.	5
Нанесение подготовленного материала на сорбент.....	5
Разделение - собственно хроматографирование.....	6
Детектирование.....	6
Установление наличия пота в пятнах смешанных с кровью	
Общие принципы.....	6
Установление наличия пота с использованием	
Введение.....	7
Принцип метода.....	8
Материалы.....	8
Реактивы.....	8
Постановка реакции	8
Учет результатов.....	8
Выводы.....	8
Перечень использованных источников.....	8

МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ ПОТА

Установление наличия пота методом тонкослойной хроматографии

При исследовании используются:

- система растворителей: н - бутанол - уксусная кислота-вода (4:1:2);

детектирующий реагент: 10%-ный раствор бензидина в этаноле с уксусной или соляной кислотой (10:1) и 3%-ный раствор перекиси водорода;

- свидетель: 0,01%-ный раствор крови в физиологическом растворе.

1. *Подготовка исследуемого материала.* Кусочек из следа или весь микрообъект экстрагируют физиологическим раствором, взятым в небольшом избытке, при 4-8°C; продолжительность экстракции зависит от степени растворимости испытуемого следа (от нескольких минут до нескольких суток): затем препарат центрифугируют (если это необходимо) и разводят небольшую часть его физиологическим раствором..

Получение бесцветного экстракта не препятствует его хроматографированию.

2. *Нанесение подготовленного материала на сорбент.* На линию старта в 5-7 мм от левого края пластиинки на сорбент, легко касаясь поверхности, чтобы его не повредить, наносят капилляром с ровным концом каплю вытяжки из испытуемого следа и подсушивают ее при комнатной температуре или в потоке нагретого воздуха (фен, вентилятор).

На образовавшееся пятно помещают вторую каплю, подсушивают до расходования вытяжки объемом 1-2 мкл.

Таким же образом на пластиинку наносят свидетель. На одну пластиинку могут быть помещены вытяжки из ряда следов: расстояние между ними, включая и свидетель, должно быть не менее 5 мм.

Пластиинку с подсушеными на ней вытяжками помещают на 15 минут в сушильный шкаф при 100 для инактивации возможно имеющейся в вытяжках пероксидазы растительного происхождения.

3. *Разделение - собственно хроматографирование.* В чашку Петри наливают растворитель, высота слоя которого не должна превышать 1 мм. На дно чашки помещают подставку (кусочек пластиинки Силуфол Г-образной формы или кусочек стекла) высотой равную фитилю.

Пластиинку в строго горизонтальном положении кладут на подставку так, чтобы нижний край фитиля достиг дна чашки. Чашку накрывают крышкой. Разделение ведут до достижения растворителем линии фронта, на что требуется обычно 7-10 мин.

4. *Детектирование.* Пластиинку вынимают из камеры и высушивают при 60°C в течение 5-10 мин., либо при комнатной температуре до устранения запаха уксусной кислоты.

Проявление: 1 % спиртовым раствором нингидрина с прогреванием пластиинок.

В результате реакции наличие зоны зона сиреневого окрашивания — положительная реакция. R_f - 0,23 .

Установление пота методом определения серина по физелю (модификация Барсегянц)

Измельченные ножницами кусочки материала из участка, где подозревается присутствие пота, и из расположенного вблизи него участка предмета-носителя, для контроля, помещают в отдельные пробирки и добавляют толуол в таком объеме, чтобы объекты были полностью погружены в него. Спустя 10 минут толуол удаляют отсасыванием пастеровскими пипетками.

После этой предварительной обработки объектов, предотвращающей переход в раствор красителей материалов вещественных доказательств, проводят реакцию на серии по следующей схеме.

1. Объекты исследования (как пятно, так и контрольный участок материала предмета-носителя) +20% раствор трихлоруксусной кислоты (кислота должна смочить объект и оставаться в незначительном избытке) 20 часов при комнатной температуре.

2. Отделенная от объекта (отсасывание пастеровскими пипетками) и помещенная в стаканчик из стекла жидкость +0,5 мл водного раствора тиомочевины +1 капля ра-ра метилового красного в 0,05 н. растворе соляной кислоты; подщелачивание жидкости 5 н. раствором едкого натра до $pH = 10-11$ (по универсальному индикатору). Далее реакцию проводят в том же стаканчике.

3. Весь объем предыдущей смеси + 3 мл раствора периодата натрия. 5 минут при комнатной температуре.

4. Весь объем смеси с периодатом натрия + 10% раствор трихлоруксусной кислоты до коричневого окрашивания жидкости + 1 мл 10% раствора бисульфита натрия (жидкость становится молочно-белой) + 10 мл хромотроповой кислоты в 12,5 М растворе серной кислоты. После добавления хромотроповой кислоты — нагревание над пламенем горелки (не доводя до кипения!) в течение 10 минутное небольшими перерывами при постоянном вращении стаканчика для перемешивания жидкости. При наличии серина жидкость приобретает более или менее интенсивный красновато-фиолетовый цвет, а в случае отсутствия серина — красный или красновато-желтоватый цвет.

5. Весь объем охлажденной до комнатной температуры жидкости +2 мл водного раствора тиомочевины.

Тиомочевина обесцвечивает красный или красноватый оттенок жидкости, зависящий от реагентов, и при наличии пота в пятне жидкость приобретает фиолетовый цвет различной интенсивности, а в случае отрицательного результата реакции (необнаружение пота) — становится бесцветной или желтоватой (такой же должна быть жидкость, полученная при исследовании контрольного участка предмета-носителя).

В процессе всех фаз реакции после добавления каждого реагента жидкость следует смешивать путем взбалтывания.

Как показали эксперименты, реакция весьма чувствительна, так как позволила обнаруживать серин в 0,002 мл пота (мы располагали только двумя образцами пота в жидком состоянии). Положительный результат реакции на серин может быть получен с кусочками материала весом от 1 до 12 мг из пятен пота давностью от 1 до 4 дней. При увеличении давности пятен до 4 месяцев потребовалось чрезвычайно незначительное увеличение навесок материала (не более, чем до 15 мг).

Хотя серии, помимо пота, содержится лишь в крови, специфичность реакции была проверена путем исследования не только крови, но и различных выделений (слюна, моча, выделения из влагалища, сперма, выделения из носа). Образование формальдегида не происходило даже при исследовании навесок, равных 300 мг.

Учитывая, что исход реакции на серии зависит не только от давности следов пота, но и от количества последнего в исследуемом материале, судебно-медицинский эксперт в процессе каждой соответствующей экспертизы должен варьировать величину навесок материала.

Установление присутствия пота на вещественном доказательстве всегда должно сопровождаться соответствующим исследованием таких же по весу кусочков не только предмета-носителя из участка, расположенного в непосредственной близости от того, где подозревается наличие пота, но и заведомого пятна пота.

Установление наличия пота в пятнах смешанных с кровью

Присутствие пота может быть доказано реакцией на серии и в случаях, когда пот попал на пятно крови или когда последняя находится на материале вещественного доказательства, пропитанном потом.

Приготовление реагентов

1. Раствор тиомочевины. 4,5 г кристаллической тиомочевины растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2. Раствор метилового красного в 0,05 н. растворе соляной кислоты. Для получения 0,05 н. раствора соляной кислоты к 4,12 мл ее (уд. вес 1,19), налитым в мерную колбу, добавляют дистиллированную воду до объема 1 литра. 4 г метилового красного помещают в (мерную колбу, куда приливают 0,05 н. раствор соляной кислоты до общего объема жидкости 100 мл. Полученный раствор метилового красного разводят равным объемом указанной соляной кислоты.

3. Раствор едкого натра 5 н. К 200 г едкого натра добавляют дистиллированную воду до 1 литра.

1. Раствор периодата натрия. 22 г периода натрия растворяют в мерной колбе дистиллированной водой. Если периодат натрия полностью не растворяется, приливают 25 мл 20% раствора серной кислоты (4 части дистиллированной воды + 1 часть серной кислоты). Общий объем жидкости должен быть равен 1 литру.

Раствор бисульфита натрия 10%. Бисульфит натрия обычно имеется в продаже в виде 36% раствора. Для получения 10% раствора, к 27,8 мл 36% раствора добавляют (в мерной колбе) дистиллированную воду до 100 мл. Поскольку бисульфит легко окисляется до бисульфата натрия, что делает реактив непригодным, во-первых, исходный (36%) раствор предохраняют от соприкосновения с воздухом, для чего пробку склянки каждый раз заливают парафином. Во-вторых, проверяют 10% раствор на наличие сульфат-ионов. К 0,25 мл 10% раствора добавляют 10 мл 20% раствора соляной кислоты, кипятят в течение 5 минут и приливают 5 капель 5% раствора нитрата или хлорида бария. Немедленное выпадение нерастворимого кристаллического осадка белого цвета свидетельствует о непригодности бисульфита натрия; слабое помутнение жидкости допустимо. 10% раствор бисульфита натрия готовят перед применением (хранению не подлежит!).

5. Раствор хромотроповой кислоты в 12,5M растворе серной кислоты. Для получения 12,5 M раствора серной кислоты к 300 мл дистиллированной воды, налитой в химический стакан или колбу, постепенно, при постоянном перемешивании, приливают 665,9 мл серной кислоты (уд.вес 1,84). По охлаждении до комнатной температуры объем жидкости доводят дистиллированной водой до 1 литра. С целью изготовления раствора хромотроповой кислоты 500 мг ее растворяют в смеси, состоящей из 50 мл дистиллированной воды и 200 мл 12,5 M раствора серной кислоты.

Тиомочевину, периоды натрия, хромотроповую кислоту и их растворы сохраняют в склянках из темного стекла.

Установление наличия пота с использованием

Введение

При раскрытии и расследовании преступлений объектом судебно-медицинского исследования бывает пото-жировое вещество, находящееся на одежде. Одним из компонентов пото-жирового вещества, выделяемого кожными покровами человека, является пот. Пот представляет собой раствор органических и неорганических веществ в воде. В нем содержится в большом количестве аминокислота - серии. При обнаружении в пятне неизвестного происхождения большого количества серина делают вывод о том, что это пятно образовано потом.

Серин хорошо сохраняется в пятнах даже при значительных внешних воздействиях на них. В поте возможно установление антигенов системы АВО для дифференцирования его происхождения. При проведении такого исследования учитывается категория выделительства.

Пото-жировое вещество часто является следообразующим веществом в следах-наложениях пальцев и ладоней рук человека. По пото-жировому веществу этих следов можно устанавливать групповую принадлежность вещества следа по системе АВО. С позиций раскрытия и расследования

конкретного преступления это целесообразно делать в тех случаях, когда следы непригодны для дактилоскопической идентификации.

Принцип метода

Нингидрин так же, вступая в реакцию с серином, окрашивает участки с потожировыми выделениями в фиолетовый цвет и отчетливо проявляет папиллярный узор отпечатка.

Материалы

В этой процедуре используются следующие принадлежности:

- фильтровальная бумага
- ватные палочки
- стеклянные пластины

Реактивы

следующие реагенты для определения наличия пота:

1. Нингидрин
2. Спирт этиловый
3. Приготовить 5% раствор нингидрина, который хранится в холодильнике при Т+4С.

Постановка реакции для пота:

Для этого 5% раствором- нингидриновым спреем на расстоянии 15-20 см опрыскивают поверхность бумаги. Желательно проводить эту процедуру под вытяжным шкафом, так как нингидрин имеет специфический запах и раздражает слизистую дыхательных путей. Объекты-носители оставляют на ночь для проявления отпечатков при комнатной температуре.

Учет результатов для серина:

Развитие фиолетового цвета в течение 10 минут является положительным (+) результатом для присутствия серина (при определении пота).

Отсутствие цветовой реакции в течение 18 часов является отрицательным (-) результатом для наличия серина (при определении пота).

Вывод

Реакция на серин является недорогой и быстрым методом для скрининга подозрительных на пот пятен.

Перечень использованных источников:

1. Сборник материалов по судебно-медицинской экспертизе. - М.,1960.
2. «Инструкция по организации и производству судебно-медицинской экспертизы» (Приказ МЗ РК от 20 мая 2010г. № 368) – Астана, 2010
3. Информационное письмо Главного судебно-медицинского эксперта Минздрава СССР. О методах установления наличия выделений при исследовании вещественных доказательств. Алматы 1982г.

4. Gaenslen RE. Справочник по судебной серологии, иммунологии и биохимии , Исследовательский фонд Городского университета Нью-Йорка, 1983.
5. Babson AL, Read P и Phillips G. Важность субстрата в анализах кислотная фосфатаза в сыворотке, Американский журнал клинической патологии, 32 (1), июль 1959, стр. 1-5.
6. Sensabaugh GF. Количественный тест на кислотную фосфатазу. Статистический анализ эндогенных и посткоитальных кислот фосфатазы во влагалище, журнал Судебные науки, 24 (2), апрель 1979 г., стр. 346-365
7. Шифф AF. Надежность теста кислотной фосфатазы для идентификации семенной жидкости, Journal of Forensic Sciences, 23 (4), October 1978, pp. 833-843.