

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



МЕТОДИКА

**ЭКСПЕРТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ВЕЩЕСТВ,
ИЗОЛИРУЕМЫХ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДИАЛИЗОМ
(НАСТАИВАНИЕМ С ВОДОЙ)**

(шифр специальности – 27.1)

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика экспертного исследования по определению веществ, изолируемых из биологического материала диализом (настаиванием с водой)
2. Шифр специальности методики	27.1(12)
3. Информация о разработчике методики	Жуматаева Г.С. - судебно-медицинский эксперт высшей категории РГКП «Центр судебной медицины МЮ РК»
4. Сущность методики	Химико-токсикологическое исследование соответствующих объектов на наличие минеральных кислот, щелочей и некоторых солей проводится тогда, когда материалы дела указывают на возможность отравления этими веществами, а также в случае положительных результатов предварительных проб на кислоты, щелочи и другие соединения в исследуемых объектах
4.1. Объекты исследования	Биологические жидкости и ткани внутренних органов, объекты не биологического происхождения (остатки жидкостей, одежда и т.п.)
4.2. Методы исследования	Химические реакции на соответствующие катионы и анионы. Газохроматографический метод по определению нитритов
4.3. Краткое поэтапное описание методики	Методика выделения серной кислоты из биологического материала. Отгонка серной кислоты. Качественный анализ. Удаление нитритов из исследуемых растворов. Выделение азотной кислоты из биологического материала. Проведение предварительной пробы. Оценка результатов. Отгонка азотной кислоты из диализатов. Качественный анализ. Исследование биологического материала на наличие соляной кислоты Отгонка соляной кислоты из диализатов. Качественный анализ. Исследование на едкие щелочи и аммиак

	<p>Обнаружение аммиака в биологическом материале.</p> <p>Предварительное исследование на присутствие сероводорода как одного из продуктов гниения белковых веществ.</p> <p>Качественный анализ.</p> <p>Количественное определение нитритов в биологических объектах методом газовой хроматографии</p>
5. Дата одобрения методики Ученым Советом Центра судебной медицины МЮ РК	Протокол № 1 от 07.11.2016г.
6. Информация о составителях паспорта методики	Жуматаева Г.С. - судебно-медицинский эксперт высшей категории РГКП «Центр судебной медицины МЮ РК»

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение	5
2. Область применения	6
3. Термины и обозначения	6
4. Основная часть	7
5. Заключение	19
6. Список использованных источников	19

1. Введение.

В данной методике приведены операционные процедуры для проведения химико-токсикологического анализа веществ, изолируемых экстракцией водой в сочетании с диализом.

Определены особенности химико-токсикологического анализа кислот (серной, азотной, соляной), щелочей (гидроксиды натрия, калия и аммония), нитратов и нитритов.

К группе веществ, изолируемых экстракцией водой (с помощью диализа), относятся минеральные кислоты: серная, азотная и хлористоводородная; щелочи (гидроксиды калия, натрия), гидроксид аммония; и некоторые соли, имеющие токсикологическое значение: нитрит натрия (реже калия), нитраты натрия и аммония (реже калия).

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

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

Объектами исследования являются содержимое желудка, рвотные массы, остатки пищи, части одежды, а при исследовании на соли ещё печень.

Внешний вид объектов исследования может указывать на отравление той или иной кислотой. При отравлении концентрированной кислотой серной происходит сильное повреждение тканей губ, языка, пищевода, желудка, одежды. Характерным признаком концентрированной кислоты серной является обугливание углеводов.

Концентрированная кислота азотная поражает ткани языка, пищевода, слизистой желудка. Кожа лица становится желтушной. Если концентрация кислоты азотной менее 20% жёлтой окраски может не быть. Свободная кислота азотная при достаточной концентрации фиксируется на белковых объектах, окрашивая их в жёлтый цвет, переходящий от аммиака в оранжевый (ксантопротеиновая реакция). Открытие иона хлора серебром азотнокислым (обильное выпадение осадка) при наличии свободной минеральной кислоты делает необходимым испытание на свободную соляную кислоту.

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

Для доказательства минеральных кислот используют кислотно-основные индикаторы: лакмус, метиловый оранжевый, метиловый фиолетовый, конго красный и другие. Кислая реакция на лакмус может обуславливаться наличием свободных кислот, кислых солей сильных кислот и солей тяжёлых металлов. Кислая реакция содержимого желудка уже исключает возможность открытия введенных в организм едких щелочей. Содержимое желудка и ткани внутренних органов имеют кислую реакцию на лакмус не вследствие их первоначальной кислотности (соляная кислота желудочного сока уже не открывается в трупе), а как результат кислотного брожения, вызываемого бактериями. С переменой бактериальной флоры начинается щелочное брожение, образуются аммиак и сероводород, содержимое желудка приобретает щелочную реакцию на лакмус. При этом часто успевают нейтрализоваться до исследования даже введенные внутрь кислоты, что делает невозможным их открытие.

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

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

2. Область применения.

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

При направлении трупного материала на неизвестные вещества исследование в обязательном порядке проводится на наличие нитритов, нитратов. На остальные вещества исследование проводится для решения вопросов по наличию едких ядов.

3. Термины и обозначения.

Диализ — очистка коллоидных растворов и субстанций высокомолекулярных веществ от растворённых в них низкомолекулярных соединений при помощи полупроницаемой мембраны. При диализе молекулы растворенного низкомолекулярного вещества проходят через мембрану, а неспособные диффундировать (проходить через мембрану) коллоидные частицы остаются за ней. Постепенно концентрация диализирующего вещества в диализируемой жидкости и в растворителе становится одинаковой. Меняя растворитель, можно добиться практически полной очистки от нежелательных примесей. Ускоряют процесс диализа, увеличивая площадь мембраны и температуру,

непрерывно меняя растворитель. Процесс диализа основан на процессах осмоса и диффузии, что объясняет способы его ускорения.

Диализат — жидкость содержащая совокупность веществ, прошедших при диализе через диализирующую мембрану.

Минеральные кислоты — кислоты, не содержащие углерода неорганического происхождения, например: азотная, серная, соляная и мн. др.

Неорганические (минеральные) кислоты — неорганические вещества, обладающие комплексом физико-химических свойств, которые присущи кислотам. Вещества кислотной природы известны для большинства химических элементов за исключением щелочных и щелочноземельных металлов.

Щелочи — гидроксиды щелочных, щелочноземельных металлов. К щелочам относят хорошо растворимые в воде основания. При диссоциации щелочи образуют анионы OH^- и катион металла.

Интервал перехода окраски у различных индикаторов находится при разных концентрациях ионов водорода.

Кислотно-основные индикаторы — органические соединения, способные изменять цвет в растворе при изменении кислотности (pH).

Отгонка — отделение чего-нибудь путем перегонки, химического очищения и разложения жидких составов.

Центрифугирование — разделение неоднородных систем (напр., жидкость — твердые частицы) на фракции по плотности при помощи центробежных сил. Центрифугирование осуществляется в аппаратах, называемых центрифугами. Центрифугирование применяется для отделения осадка от раствора, для отделения загрязненных жидкостей, производится также центрифугирование эмульсий.

4. Применяемые операционные процедуры.

4.1. Изолирование минеральных кислот, щелочей и солей из биологического материала.

Подлежащие исследованию объекты измельчают и прибавляют к ним дистиллированную воду до получения кашицеобразной массы, которую оставляют на 1—2 ч, а затем фильтруют. Для ускорения фильтрования применяют воронки или стаканчики с пористым дном, которые через соответствующие приспособления присоединяют к водоструйному насосу. Вместо фильтрования можно применять центрифугирование.

Для более полного освобождения вытяжек из биологического материала от белковых веществ и некоторых других примесей применяют метод диализа. С этой целью полученные водные вытяжки 3 раза подвергают диализу (по 6 ч). Диализаты соединяют и упаривают на водяной бане до небольшого объема (5—10 мл). Упаренные диализаты исследуют на наличие кислот, щелочей и солей.

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

4.2. Реакции идентификации.

При проведении качественных реакций обязательным является проведение контрольной пробы с учётом чувствительности реакции, приближенной к минимальной токсичной концентрации искомого вещества, а также «холостого» опыта с использованными реактивами.

4.2.1. МИНЕРАЛЬНЫЕ КИСЛОТЫ И ЩЕЛОЧИ

Сущность метода. Для доказательства присутствия минеральных кислот в диализатах определяют кислотность этих жидкостей и наличие в них анионов соответствующих кислот.

Определение кислотности диализатов проводится с помощью кислотно-основных индикаторов, которые изменяют свою окраску в кислой среде (метиловый фиолетовый, метиловый оранжевый, конго красный и др.) или при помощи pH-метра.

4.2.1.1. Методика исследования. К небольшому объёму диализата прибавляют несколько капель раствора индикатора, изменение окраски которого указывает на наличие кислот в исследуемых жидкостях. От прибавления раствора метилового фиолетового (интервал pH перехода окраски 0,1—1,5 и 1,5—3,2) к исследуемой жидкости с pH = 1,5...3,2 зеленая окраска индикатора переходит в фиолетовую. Красная окраска метилового оранжевого при pH = 3,0 - 4,4 переходит в желтую. Сине-фиолетовая окраска конго красного при pH = 3,0 - 5,2 переходит в красную. Для проверки кислотности вытяжек (диализатов) и для ориентировочного определения pH среды может быть использована бумага, пропитанная универсальным индикатором.

Оценка результатов. После того как установлена ярко выраженная кислая реакция вытяжек из биологического материала или диализатов, проводят исследование этих жидкостей на наличие анионов серной, азотной, соляной и других кислот.

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

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

1.2. СЕРНАЯ КИСЛОТА

Общие указания. На отравление серной кислотой может указывать внешний вид объектов исследования: повреждения тканей губ, языка, пищевода, желудка и т. д. Одежда, на которую попала серная кислота, могут быть повреждения в виде дыр, расплавленных и обугленных участков тканей и т. д.

Доказательством отравления серной кислотой является обнаружение ее в дистиллятах, полученных после перегонки из диализатов.

4.2.2. Методика выделения серной кислоты из биологического материала. Подлежащие исследованию органы трупов в количестве 100 грамм измельчают, заливают водой до получения кашицеобразной массы, которую оставляют на 1—2 ч. Полученную вытяжку отфильтровывают, подвергают диализу, а затем из диализата отгоняют серную кислоту.

4.2.3. Методика выделения серной кислоты из одежды и других вещественных доказательств не биологического происхождения. При химико-токсикологическом исследовании серной кислоты на одежде или на других объектах эту кислоту можно извлечь этиловым спиртом, в котором растворяется эта кислота и не растворяются ее соли. С этой целью исследуемый материал измельчают и прибавляют к нему этиловый спирт. Через некоторое время жидкость отфильтровывают от твердых частиц исследуемого материала. Фильтрат на водяной бане выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 10 мл воды, кипятят несколько минут, а затем охлаждают жидкость до комнатной температуры. Из полученной жидкости отгоняют серную кислоту и исследуют ее в дистилляте.

4.2.4. Отгонка серной кислоты. К диализатам прибавляют медные опилки и нагревают. При этом образуется ангидрид сернистой кислоты SO_2 , который отгоняют и собирают в приемник, содержащий раствор йода.

Методика отгонки: в колбу аппарата для отгонки жидкостей, состоящего из колбы, холодильника с форштосом и приемника, вносят диализат и медные опилки. Концы форштоса опускают в приемник, содержащий раствор йода. Колбу устанавливают на масляную или песочную баню и нагревают. Если во время перегонки происходит быстрое обесцвечивание йода, то его раствор небольшими порциями дополнительно вносят в приемник. После окончания отгонки серной кислоты в приемник прибавляют 2—3 мл разбавленной соляной кислоты и нагревают жидкость до полного исчезновения йода, не вступившего в реакцию с ангидридом сернистой кислоты. Освобожденный от йода дистиллят используют для обнаружения в нем серной кислоты.

4.2.5. Качественный анализ.

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

Реакция с хлоридом бария. Выполнение реакции. К 3—5 каплям дистиллята прибавляют 1—2 капли 5 %-го раствора хлорида бария. Появление белого осадка сульфата бария указывает на наличие серной кислоты в дистилляте. Образовавшийся осадок не растворяется в азотной и соляной кислотах, а также в щелочах.

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

Реакция с родизонатом натрия. Выполнение реакции. На фильтровальную бумагу наносят каплю 1 %-го раствора хлорида бария и каплю свежеприготовленного 0,2 %-го раствора родизоната натрия. При этом на бумаге пятно приобретает красную окраску. На это пятно наносят 1—2 капли дистиллята. В присутствии серной кислоты окраска пятна исчезает. Эта реакция является специфичной на сульфаты и серную кислоту.

4.3. АЗОТНАЯ КИСЛОТА

Общие указания. При отравлениях концентрированной азотной кислотой поражаются ткани языка, пищевода, слизистая желудка, а иногда и кожа лица, которые приобретают желтую окраску. Если произошло отравление азотной кислотой, концентрация которой ниже 20 %, то желтая окраска кожи и других тканей может не появиться.

4.3.1. Подготовка материала. Удаление нитритов из исследуемых растворов.

Общие указания. Перечисленные ниже реакции с дифениламином и бруцином на азотную кислоту дает и азотистая кислота. Поэтому перед выполнением реакций на азотную кислоту исследуемый раствор проверяют на наличие азотистой кислоты и ее солей. При наличии азотистой кислоты ее удаляют из раствора, а затем выполняют реакции на азотную кислоту.

4.3.2. Выделение азотной кислоты из биологического материала. Для выделения азотной кислоты из органов и тканей трупов их измельчают, заливают дистиллированной водой. Полученную смесь настаивают в течение 1—2 ч, затем отфильтровывают вытяжку, которую подвергают диализу.

Оценка результатов. При наличии азотной кислоты полученный диализат должен иметь кислую реакцию и давать положительные реакции на нитрат-ионы. Обнаружение нитрат-ионов в диализатах еще не является доказательством отравления азотной кислотой, так как эти ионы содержит не только азотная кислота, но и ее соли. Поэтому азотную кислоту отгоняют из диализатов, а затем определяют ее в дистиллятах. Соли азотной кислоты не перегоняются, и поэтому не могут быть в дистиллятах.

4.3.3. Отгонка азотной кислоты из диализатов. Отгонка ведется по методике описанной для серной кислоты.

Общие указания. Азотная сразу не перегоняется из разбавленных растворов. Вначале отгоняется вода, а под конец отгоняется и азотная кислота. Поэтому диализаты, содержащие азотную кислоту, отгоняют почти досуха. Прибавление медных опилок к диализатам способствует перегонке азотной кислоты. При взаимодействии азотной кислоты с медными опилками образуется оксид азота (II), который кислородом воздуха окисляется до оксида азота (IV). Оксид азота (IV) в приемнике реагирует с водой. В результате этого образуется смесь азотной и азотистой кислот:

4.3.4. Методика проведения пробы на наличие нитритов. На иод-крахмальную бумажку наносят каплю 1 %-го раствора соляной кислоты и 3—4 капли нейтрализованного дистиллята. При наличии нитритов в дистилляте иод-крахмальная бумажка синеет.

Приготовление иодкрахмальной бумаги. Небольшое количество рисового или картофельного крахмала тщательно перемешивают с небольшим количеством воды. Полученную суспензию малыми порциями вливают в кипящую воду, перемешивают стеклянной палочкой и продолжают кипятить до получения прозрачного раствора. К охлажденному раствору крахмала прибавляют немного чистого иодида калия. Этим раствором пропитывают полоски фильтровальной бумаги, которые затем высушивают.

4.3.5. Методика разложения азотистой кислоты. Выполнение реакции. К 1—2 каплям дистиллята прибавляют 0,5 мл 2 н. раствора уксусной кислоты и несколько кристалликов сульфаминовой кислоты. При наличии азотистой кислоты в растворе сразу же или через несколько минут происходит бурное выделение азота. Когда выделение азота закончится, прибавляют еще 1—2 кристаллика сульфаминовой кислоты. Прекращение выделения газа свидетельствует о полном разложении азотистой кислоты.

В полученном растворе, не содержащем азотистой кислоты, открывают азотную кислоту.

4.3.6. Качественный анализ.

Реакция с дифениламином. Выполнение реакции. На тщательно вымытое, а затем высушенное часовое стекло или капельную пластинку наносят 4—5 капель свежеприготовленного 1 %-го раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте и прибавляют каплю дистиллята.

Оценка результатов. При наличии азотной кислоты появляется интенсивно-синяя окраска. Кроме азотной кислоты эту реакцию дают нитраты, нитриты, хроматы и некоторые другие окислители.

Реакция с бруцином. Выполнение реакции. На часовое стекло или капельную пластинку наносят несколько капель дистиллята и прибавляют 2—3 капли 0,02 %-го свежеприготовленного раствора бруцина в концентрированной серной кислоте.

Оценка результатов. При наличии азотной кислоты в исследуемом растворе появляется красная окраска. Такую же окраску с бруцином дают нитриты, перхлораты и некоторые другие окислители.

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

4.4. СОЛЯНАЯ КИСЛОТА.

4.4.1. Общие указания. Свободная соляная кислота в небольших количествах содержится в желудочном соке, а ее соли — в тканях организма.

4.4.2. Методика изолирования. При исследовании биологического материала на наличие соляной кислоты исследуемые объекты измельчают, заливают дистиллированной водой, настаивают 1—2 часа и фильтруют, полученный фильтрат подвергают диализу.

Соляная кислота может перегоняться из диализатов и в тех случаях, когда отравление произошло не только соляной, но и серной кислотой, которая при взаимодействии с хлоридами, содержащимися в биологическом материале,

дает соляную кислоту. Поэтому перед выполнением реакций на соляную кислоту определяют наличие серной кислоты в диализатах (см. п. 1.2.5.). При отсутствии серной кислоты в диализатах их исследуют на наличие соляной кислоты.

4.4.3. Отгонка соляной кислоты из диализатов. Отгонка ведется по методике описанной для серной кислоты.

4.4.4. Качественный анализ.

Реакция с нитратом серебра. Выполнение реакции. К 1—2 мл дистиллята прибавляют 1—2 капли 5 % раствора нитрата серебра и 1 мл разбавленной азотной кислоты. Появление белого осадка хлорида серебра, растворимого в аммиаке, указывает на наличие соляной кислоты в дистилляте.

Оценка результатов. Появление белого осадка хлорида серебра, растворимого в аммиаке, указывает на наличие соляной кислоты в дистилляте.

Реакция с хлоратом калия. Выполнение реакции. К 1 мл дистиллята прибавляют несколько кристалликов хлората калия ($KClO_3$) и нагревают. При наличии соляной кислоты в дистилляте выделяется свободный хлор, который можно обнаружить по посинению йод-крахмальной бумаги. Приготовление йод-крахмальной бумаги см. Приложение 1.

4.5. Едкие щелочи и аммиак

4.5.1. Общие указания. Из щелочей токсикологическое значение имеют гидроксид калия, гидроксид натрия и аммиак. Отравления другими щелочами встречаются относительно редко.

Доказательством отравлений едкими щелочами является ярко выраженная щелочная реакция водных вытяжек из биологического материала и наличие в них катионов соответствующих металлов. Щелочность среды определяют при помощи фенолфталеина, который изменяет окраску при $pH = 8 - 10$. Изменение окраски фенолфталеина происходит не только под влиянием едких щелочей, но и под влиянием карбонатов щелочных металлов, при гидролизе которых образуются едкие щелочи. Поэтому при исследовании вытяжек на наличие едких щелочей в них проверяют pH и присутствие карбонатов щелочных металлов.

4.5.2. Выделение едких щелочей из биологического материала. Исследуемые объекты измельчают, заливают дистиллированной водой и настаивают 2—3 часа. Затем смесь воды и измельченного объекта фильтруют. К фильтрату прибавляют 2—3 капли спиртового раствора фенолфталеина.

Оценка результатов. Появление розовой или красной окраски указывает на наличие едких щелочей или карбонатов щелочных металлов в вытяжках. После этого исследуют вытяжки на наличие карбонатов щелочных металлов (реакция с хлоридом бария) и на присутствие в них катионов калия, натрия и аммония.

4.5.2.1. ГИДРОКСИД КАЛИЯ

Общие указания. На наличие гидроксида калия в биологическом материале указывают: ярко выраженная щелочная реакция водных вытяжек из биологического материала или диализатов, отсутствие карбонатов и присутствие в вытяжках ионов калия.

4.5.2.2. Качественный анализ. Поскольку оба реактива с ионами калия дают осадки в нейтральной или слабокислой среде, диализаты, имеющие щелочную реакцию, нейтрализуют или доводят до слабокислой реакции ($\text{pH} = 3 - 4$) раствором уксусной кислоты. После этого приступают к обнаружению ионов калия в диализатах.

Реакция с гидротартратом натрия. Выполнение реакции. В маленькую пробирку вносят 3—5 капель исследуемого диализата, прибавляют 3—4 капли 1 н. раствора гидротартрата натрия или такой же объем смеси равных количеств 2 н. раствора винной кислоты и 2 н. раствора ацетата натрия. Для ускорения образования осадка стенки пробирки осторожно протирают стеклянной палочкой.

Оценка результатов. В присутствии ионов калия выпадает белый кристаллический осадок. Реакции мешают ионы аммония, которые с гидротартратом натрия тоже дают осадок.

Реакция с кобальтинитритом натрия. Выполнение реакции. 3—5 капель исследуемого диализата вносят в маленькую пробирку и прибавляют 2—3 капли раствора кобальтинитрита натрия.

Оценка результатов. Выпадение желтого осадка указывает на наличие ионов калия в диализате. Реакции мешают ионы аммония, йодиды и некоторые восстановители.

Приготовление реактива. Кобальтинитрит натрия (раствор). В 50 мл воды растворяют 23 г нитрита натрия. К этому раствору прибавляют 3 г нитрата кобальта (III), 20 мл 5 н. раствора уксусной кислоты, а затем воду до 100 мл. Полученный раствор оставляют на сутки, затем фильтруют. Реактив используют свежеприготовленным.

Реакция окрашивания пламени. Выполнение реакции. При внесении в бесцветное пламя горелки графитового стержня или платиновой проволоки, смоченной диализатом, наблюдают окрашивание пламени.

Оценка результатов. Окрашивание пламени в фиолетовый цвет указывает на наличие ионов калия в диализате.

4.5.3. ГИДРОКСИД НАТРИЯ

Общие указания. При отравлении гидроксидом натрия водные вытяжки из биологического материала или диализаты имеют ярко выраженную щелочную реакцию и в них содержатся ионы натрия.

4.5.3.1. Качественные реакции.

Реакция с гидроксистибиатом калия. Выполнение реакции. К 3—5 каплям диализата, нейтрализованного уксусной кислотой, прибавляют 2—3 капли раствора гидроксистибиата калия. Ст Для ускорения образования осадка стенки пробирки осторожно протирают стеклянной палочкой.

Оценка результатов. Выпадение белого кристаллического осадка указывает на наличие ионов натрия в вытяжке.

При малой концентрации ионов натрия осадок может появиться только через некоторое время. Поэтому растворы, содержащие малые количества ионов натрия, предварительно концентрируют упариванием. Реакции мешают ионы аммония, магния, лития и др. В присутствии ионов аммония выпадает осадок HSbO_3 , а в присутствии ионов магния и лития — белые осадки антимоноватов этих ионов.

Приготовление реактива. Гидроксостибиат калия (раствор). В 100 мл горячей воды растворяют 2,2 г гидроксостибиата калия. Полученный раствор кипятят в течение 2 мин. После охлаждения к раствору прибавляют 3,5 мл 6 н. раствора гидроксида калия. Жидкость оставляют на сутки, а затем фильтруют.

Реакция с цинк-уранилацетатом. Выполнение реакции. Реакцию на ионы натрия можно выполнять в пробирке и на предметном стекле. Для выполнения этой реакции применяют диализат, нейтрализованный уксусной кислотой.

3—4 капли диализата вносят в пробирку, прибавляют 8—10 капель раствора цинк-уранилацетата.

Оценка результатов. Появление зеленовато-желтого осадка указывает на наличие ионов натрия в диализате.

На предметное стекло наносят каплю диализата, который выпаривают досуха. После охлаждения стекла рядом с сухим остатком наносят 1—2 капли раствора цинк-уранилацетата. Концом заостренной стеклянной палочки реактив надвигают на сухой остаток.

Оценка результатов. При наличии ионов натрия образуются светло-желтые или зеленовато-желтые кристаллы, имеющие форму тетраэдров или октаэдров.

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

Приготовление реактива. Цинк-уранилацетат (раствор). К 55 мл воды прибавляют 10 г ацетата уранила, 30 г ацетата цинка и 9 мл 6 н. раствора уксусной кислоты. Эту смесь нагревают до растворения реактива, а затем прибавляют воду до 100 мл. Через 24 часа полученный раствор фильтруют и применяют его в качестве реактива.

Реакция окрашивания пламени. Выполнение реакции. При внесении в бесцветное пламя горелки графитового стержня или платиновой проволоки, смоченной диализатом, наблюдают окрашивание пламени.

Оценка результатов. Окрашивание пламени в желтый цвет указывает на наличие ионов калия в диализате.

4.6. АММИАК

Общие указания. Основанием для заключения об отравлении аммиаком является ярко выраженная щелочная реакция (по фенолфталеину) водной вытяжки из органов трупа и наличие в этой вытяжке ионов аммония.

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

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

4.6.1. Обнаружение сероводорода.

Обнаружение сероводорода. 3—5 мл диализата или 5 г измельченного биологического материала вносят в колбу вместимостью 50 мл, в которую прибавляют 10% раствор соляной кислоты до кислой реакции на лакмус. Колбу сразу же закрывают пробкой, в прорезы на нижней поверхности которой вставлена полоска фильтровальной бумаги, смоченная раствором ацетата свинца.

Оценка результатов. При наличии сероводорода образуется сульфид свинца, в результате чего бумага чернеет.

Приготовление бумаги, смоченной ацетатом свинца. К 5%-му раствору ацетата свинца прибавляют 5%-й раствор гидроксида натрия до растворения образующегося осадка. В полученный раствор на 1—2 мин погружают полоски фильтровальной бумаги, которые затем высушивают на воздухе.

4.6.2. Предварительная проба на аммиак.

4.6.2.1. Для испытания на аммиак часть желудочного содержимого или рвотных масс (при щелочной реакции их, наличии едкой щелочи) помещают в коническую колбочку: отверстие колбочки закрывают пробкой, к нижней поверхности которой прикреплены красная лакмусовая бумажка и бумажка, смоченная ацетатом свинца. Посинение красной лакмусовой бумажки указывает на присутствие аммиака. Для проверки посиневшую бумажку оставляют на воздухе, причем первоначальный красный цвет восстанавливается вследствие разложения синей аммонийной соли лакмусовой кислоты с образованием свободной (красной) кислоты. Реакция имеет значение только при свежих внутренних органах трупов, где нет щелочного брожения, дающего аммиак и сероводород. Поэтому при наличии только аммиака, поступившего в организм извне, а не образовавшегося вследствие гниения (брожения) белков, вторая «свинцовая» бумажка будет оставаться бесцветной (отсутствие сероводорода).

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

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

4.6.2.2. Испытание на аммиак без пробы на сероводород также может быть осуществлено. Такая проба основана на предварительном осаждении карбоната аммония хлоридом бария. Карбонат аммония — продукт гниения. Для испытания содержимое желудка или части органов смешиваются в колбочке с дистиллированной водой и равным объемом насыщенного раствора хлорида бария. Через 10-15 минут отверстие пробирки или колбы тщательно протирают и закрывают влажной лакмусовой бумагой; через 15-20 минут в присутствии свободного аммиака наблюдается посинение красной лакмусовой бумаги. Чувствительность реакции — 1 мг аммиака в пробе.

4.6.3. Реакция с сульфатом меди и лакмусом. В колбу вместимостью 50 мл вносят 10—15 мл водной вытяжки из биологического материала или диализата. Колбу закрывают пробкой, на нижней поверхности которой в прорезы вставляют две индикаторные бумажки (влажная красная лакмусовая бумажка и бумажка, смоченная раствором сульфата меди).

Оценка результатов. Посинение лакмусовой бумажки и бумажки, смоченной раствором сульфата меди, образуется сульфат тетраамминмеди (II) ($[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4$), указывает на наличие аммиака в вытяжке из биологического материала. Нагревание колбы на водяной бане ускоряет изменение окраски индикаторных бумажек.

4.6.4. Реакция с реактивом Несслера. Выполнение реакции. В пробирку вносят 1—2 капли исследуемой вытяжки или диализата, прибавляют 3—5 капель воды и 3—4 капли реактива Несслера.

Оценка результатов. В присутствии аммиака выпадает желто-бурый или оранжево-коричневый осадок. Реакции мешают ионы железа (III) и другие ионы, которые со щелочами дают осадки, а также ионы ртути (II), сурьмы (III), олова (II), которые реагируют с ионами йода и разрушают реактив Несслера.

Приготовление реактива Несслера В 50 мл воды растворяют 50 г йодида калия. К этому раствору при постоянном перемешивании прибавляют насыщенный раствор хлорида ртути (II) (6 г хлорида ртути (II) в 100 мл воды) до появления устойчивого осадка йодида ртути. Затем прибавляют 200 мл 6 н. раствора гидроксида калия и воду до 500 мл. Реактив сохраняют в темном месте.

4.7. Соли щелочных металлов

Общие указания. В химико-токсикологические лаборатории на исследование могут поступать объекты биологического происхождения, содержащие соли щелочных металлов. Для выделения этих солей применяют метод, основанный на изолировании токсикологически важных веществ водой. К числу таких веществ относятся нитриты и ряд других веществ.

4.7.1. Методика исследования на наличие карбонатов щелочных металлов (реакция с хлоридом бария) и на присутствие в них катионов калия, натрия и аммония.

Выполнение пробы. К смеси водной вытяжки из биологического материала прибавляют несколько капель 5 %-го раствора хлорида бария и 2—3 капли спиртового раствора фенолфталеина.

Оценка результата. При наличии карбонатов щелочных металлов в вытяжках выпадает белый осадок $BaCO_3$ и исчезает розовое или красное окрашивание раствора (окраска фенолфталеина). Если в вытяжках содержатся едкие щелочи и отсутствуют карбонаты, то после прибавления раствора хлорида бария не появляется осадок, но сохраняется красная или розовая окраска вытяжек. При наличии в водных вытяжках смеси карбонатов щелочных металлов и едких щелочей после прибавления раствора хлорида бария образуется белый осадок $BaCO_3$ и сохраняется розовая или красная окраска вытяжек.

4.8. НИТРИТЫ

Для выделения нитритов из биологического материала применяют метод настаивания исследуемых объектов с водой, который используется для выделения минеральных кислот и щелочей.

Водные вытяжки, полученные при настаивании биологического материала с водой, фильтруют. Полученные фильтраты подвергают диализу. Диализаты доводят до нейтральной реакции, а затем определяют наличие нитритов.

4.8.1. Качественный анализ.

Реакция с сульфаниловой кислотой и β -нафтолом. Выполнение реакции. В углублении на капельной пластинке или в маленькую пробирку вносят 1—2 капли нейтрализованного диализата, прибавляют 2—3 капли 0,5 %-го раствора сульфаниловой кислоты в 2 %-й соляной кислоте. После перемешивания этих жидкостей через 3—5 мин прибавляют каплю щелочного раствора β -нафтола.

Оценка результатов. При наличии нитритов в исследуемом растворе появляется интенсивная оранжево-красная окраска. Интенсивность окраски зависит от содержания нитритов в пробе.

Приготовление щелочного раствора β -Нафтола (раствор). В 40 мл 10 %-го раствора гидроксида натрия растворяют 2 г β -нафтола и прибавляют воду до 100 мл. Этот раствор используют свежеприготовленным.

Реакция с реактивом Грисса. Выполнение реакции. В углубление на капельной пластинке или в маленькую пробирку вносят несколько капель нейтрализованного диализата, а затем прибавляют 3—4 капли реактива Грисса.

Оценка результатов. При наличии нитритов в водной вытяжке сразу или спустя некоторое время появляется интенсивная красная окраска. Интенсивность окраски зависит от количества нитритов в пробе.

Приготовление реактива Грисса. Для получения этого реактива готовят 2 раствора: 1 % раствор сульфаниловой кислоты в 30 % растворе уксусной кислоты (раствор А) и 0,1 % раствор α -нафтиламина в 30 % растворе

уксусной кислоты (раствор Б). Перед употреблением смешивают равные объемы растворов А и Б.

Примечание. Если при реакции с сульфаниловой кислотой и с реактивом Грисса появляется слабоинтенсивная окраска, то возникает вопрос о возможном появлении окрасок не за счет нитритов, вызвавших отравление, а за счет наличия их в окружающей среде. В этих случаях проводят отгонку нитритов из диализатов в токе оксида углерода (IV).

Часть подлежащего исследованию диализата вносят в колбу вместимостью 50 мл и подкисляют уксусной кислотой, которая из нитритов вытесняет азотистую кислоту и не вытесняет азотную кислоту из нитратов. После подкисления диализата из аппарата Киппа через колбу пропускают ток оксида углерода (IV), который переносит азотистую кислоту или ее ангидрид в приемник, содержащий 1 % раствор гидроксида натрия.

После отгонки азотистой кислоты содержимое приемника нейтрализуют 10 %-м раствором соляной или уксусной кислоты (не допуская избытка этих кислот), а затем в нейтрализованном дистилляте определяют наличие нитритов при помощи описанных выше реакций с реактивом Грисса, с сульфаниловой кислотой и β -нафтолом, а также с помощью реакции окрашивания йод-крахмальной бумажки.

Обнаружение нитритов с помощью йод-крахмальной бумажки. На йод-крахмальную бумажку наносят каплю 1 %-го раствора соляной кислоты и 3—4 капли нейтрализованного дистиллята. При наличии нитритов в дистилляте йод-крахмальная бумажка синееет.

Приготовление йод-крахмальной бумажки (см. выше).

Оценка результатов. При положительных реакциях дистиллята с сульфаниловой кислотой, реактивом Грисса и йод-крахмальной бумажкой делают вывод о наличии нитритов в биологическом материале.

Для решения вопроса о составе нитритов, обнаруженных при помощи указанных выше реакций, производят реакции на катионы натрия и калия. С этой целью берут диализат и поступают так, как указано выше.

4.8.2. Количественное определение нитритов в биологических объектах методом капиллярной газовой хроматографии.

В пенициллиновый флакон вместимостью 15 мл помещают (раздельно) по 2,0г крови, или средней пробы измельченных тканей органов (печени, желудка, легких, почки, головного мозга, тонкого кишечника), добавляют по 0,5 мл 6% раствора этилового спирта, закрывают герметично пробкой (фиксируют к горловине), добавляют по 0,5 мл насыщенного раствора щавелевой кислоты и выдерживают 2 минуты на кипящей водяной бане. Газовую пробу из флакона микрошприцем, предварительно проверенным на отсутствие фонового газоразделения и предварительно подогретым до 40—50°C, отбирают для анализа по 100мкл.

Условия газохроматографического разделения: газовый хроматограф с ПИД, колонка капиллярная кварцевая HP-1(ZB-1) с метилсилоксаном, размером 30,0м x 0,32мм. Температура колонки программируемая: 40°C 6 минут, градиент 10град/мин, 100°C, 1 мин., 15 град/мин, 180°C, 3 мин., затем

кондиционирование и регенерация колонки 1 мин. при температуре 250°C. Газ-носитель - водород, скорость газа-носителя 6,8 мл/мин., поддувочный газ - азот (гелий). Режим с делением потока, отношение потоков 1:15, температура инжектора -200°C. Детектор - пламенно-ионизационный, 250°C. Расход водорода - 30 мл/мин, воздуха - 300мл/мин. Сигнал регистрируется и обрабатывается компьютерной системой (Данная методика разработана с использованием программного обеспечения "Chem Station Version A10.02") и наработанным ранее методом. Параллельно вводят стандартную смесь спиртов, и, отдельно, калибровочную смесь этилнитрита (с концентрацией стандартного раствора нитрита натрия 1мг/мл. *Исследование на «чистых растворах» показало, что по приведенной методике обнаруживается 3,6 мкг нитрита натрия в пробе (предел обнаружения), предел определения составляет 7,5 мкг.*

5. Заключение.

Схема проведения исследования включает следующие стадии:

- 1) Представительные пробы;
- 2) проведение исследования теми методами, которые требуются для решения поставленного вопроса, в зависимости от оборудования, имеющегося в распоряжении эксперта;
- 3) в случае необходимости проведение исследования по определению количественного содержания нитритов;
- 4) формулирование выводов.

6.Список использованных источников.

1. Крамаренко В. Ф. Химико-токсикологический анализ.— К: Вища шк. Головное изд-во. 1982 г.;