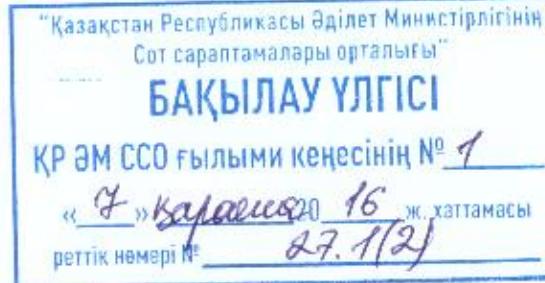


РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ КАЗЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ
«ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН»



МЕТОДИКА

ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПО
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫЕ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

(шифр специальности – 27.1)

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика проведения экспертного исследования по определению веществ, изолируемые с водяным паром
2. Шифр специальности методики	27.1(2)
3. Информация о разработчике методики	Жуматаева Г.С. - судебно-медицинский эксперт высшей категории РГКП «Центр судебной медицины МЮ РК»
4. Сущность методики	Выделение из объектов «летучих» токсических веществ основанное на перегонке с водяным паром, установление их наличия различными химическими и физико-химическими методами, идентификация токсиканта
4.1. Объекты исследования	Биологические жидкости и ткани, жидкости не биологического происхождения
4.2. Методы исследования	Перегонка химических соединений способных перегоняться с водяным паром. Газохроматографический метод с использованием пламенно-ионизационного детектора.
4.3. Краткое поэтапное описание методики	<ol style="list-style-type: none"> 1. Предварительные пробы; 2. Перегонка с водяным паром; 3. Проведение химических реакций с дистиллятами в зависимости от наименований представленных образцов их количества, с учётом фазы распределения искомого вещества; 4. Оценка результатов
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	7
4. Основная часть	7
5. Заключение	35
6. Список использованных источников	35

1. Введение

К токсикологически важным веществам данной группы относятся: синильная кислота и её соединения, метиловый и другие одноатомные спирты, формальдегид, хлороформ, углерод четырёххлористый, дихлорэтан, ацтон, этиленгликоль, фенол, толуол, бензол, ксиол.

Суррогатами алкоголя называют различные по химическому составу и назначению жидкости, которые употребляются с целью опьянения: лечебные настойки, лекарства для наружного применения, технические жидкости, препараты бытовой химии, косметические средства, пищевые и технические спирты, самогон.

Различают истинные и ложные заменители алкоголя.

Истинные суррогаты состоят из этилового спирта и различных технических добавок, к ним относятся медикаменты (настойка заманихи и чемерицы, растирки и пр.), парфюмерные косметические средства (одеколоны, лосьоны, эликсиры), гидролизный спирт, денатурат, клей БФ и др.

Ложные суррогаты алкоголя - это другие одноатомные и многоатомные спирты (метиловый спирт, этиленгликоль, изопропиловый спирт и др.), в основном это технические жидкости, в состав которых этиловый спирт не входит (они содержат этиленгликоль, ацтон, метиловый спирт, дихлорэтан). Этиленгликоль входит в состав тормозной жидкости для автомобилей. При отравлении этиленгликолем, в организме человека образуются очень токсичные продукты: гликоловая и щавелевая кислоты. В результате поражается центральная нервная система, отмечается резкое возбуждение, судороги, а затем и потеря сознания, нарушение дыхания и деятельности сердца, развивается острая почечная недостаточность.

Еще одним суррогатом является самогон. Самогон - высокотоксичный продукт, вызывающий стойкие необратимые изменения во всем организме. Наиболее вредное действие на человеческий организм оказывает сивушное масло, которое является побочным продуктом спиртового брожения. Выделенное из спирта, оно действительно представляет собой маслянистую жидкость различного цвета (от светло-желтого до буро-красного) с резким неприятным запахом.

Сивушное масло содержит различные ядовитые примеси: изопропиловый алкоголь, ацетальдегид, уксусно-этиловый эфир, пропиловый алкоголь-ацетил, ацетил, амиловый алкоголь, изобутиловый алкоголь, пиридин, бутиловый алкоголь, масляно-этиловый эфир, фурфурол.

Самогонная водка изготавливается из различных пищевых продуктов: ржаной муки, сахара, кукурузы, ячменя, картофеля и др.

При анализе самогона в каждом его виде обнаруживали высокое содержание сивушного масла. Так, в самогоне, изготовленном из ржаной муки, процент сивушного масла зависит от его крепости: при 12°- 0,30%, при 18,7°-0,32%. Самогон любой крепости, изготовленный из сахара, также содержит много сивушного масла (от 0,21 до 0,42%). Весьма высок процент его в самогонной водке, изготовленной из «хлебной» муки (до 0,63%), кукурузы (0,82%), ячменя (0,52%).

2. Область применения

Описанные методики используется при производстве химико-токсикологических экспертиз (исследований) при направленном исследовании на вещества данной группы, «суррогаты алкоголя», «технические жидкости», неизвестные вещества, в случаях смерти в очаге пожара проводится исследование на некоторые вещества данной группы относящиеся к продуктам горения. каз

Перечень искомых веществ данной группы зависит от поставленных на разрешение химико-токсикологической экспертизы (исследования) вопросов, состояния и перечня представленных образцов и их количества, обстоятельств дела.

При этом:

- исследование на наличие синильной кислоты и цианидов проводится при направленном анализе на данное вещество и её соли, неизвестного вещества, также в случаях смерти в очаге пожара (*синильная кислота может образовываться при горении целлулоида и некоторых полимерных материалов*);
- исследование на наличие бензола проводится при направленном анализе на данное вещество, «технических жидкостей», а также для исследования образцов крови в случаях смерти в очаге пожара;
- исследование на наличие формальдегида (альдегид муравьиной кислоты) проводится при направленном анализе, а также в случаях смерти в очаге пожара;
- исследование на наличие метилового спирта проводится при направленном анализе на данное вещество, с целью определения «суррогатов алкоголя», неизвестного вещества;
- исследование на наличие изоамилового спирта проводится при направленном анализе на данное вещество, «суррогатов алкоголя», неизвестного вещества;
- исследование на наличие ацетона проводится при направленном анализе, при направлении трупного материала с целью определения, «суррогатов алкоголя», неизвестного вещества, а также в случаях смерти в очаге пожара;
- исследование на наличие изопропилового спирта проводится при направленном анализе на данное вещество, на «летучие» вещества, «суррогаты алкоголя», «технические жидкости», неизвестные вещества;
- исследование на наличие хлороформа проводится при направленном анализе на данное вещество, на «летучие» вещества, «технические жидкости», неизвестные вещества, а также в случаях смерти в очаге пожара;
- исследование на наличие четыреххлористого углерода проводится при направленном анализе на данное вещество, «технические жидкости», а также в случаях смерти в очаге пожара;
- исследование на наличие дихлорэтана проводится при направленном анализе на данное вещество, а также в случаях смерти в очаге пожара;
- исследование на наличие этиленгликоля проводится при направленном анализе, при направлении трупного материала с целью определения «суррогатов алкоголя», «технических жидкостей» и неизвестного вещества;

исследование на наличие фенолов проводится при направленном анализе на фенолы и средства, содержащие фенол в своем составе, а также в случаях смерти в очаге пожара;

исследование на наличие проводится при направленном анализе на данное вещество, «летучие» вещества, «сурrogаты алкоголя», «технические жидкости», а также для исследования образцов крови в случаях смерти в очаге пожара;

исследование на наличие бензола проводится при направленном анализе на данное вещество и при направлении трупного материала с целью определения «технических жидкостей», а также для исследования образцов крови в случаях смерти в очаге пожара;

исследование на наличие ксиола проводится при направленном анализе, а также в случаях смерти в очаге пожара.

При проведении химико-токсикологического анализа эксперт может использовать любые из описанных методик исследования в зависимости от наименований представленных образцов их количества, с учётом фазы распределения искомого вещества, оснащенности лаборатории.

3. Термины и обозначения

ГЖХ-газо-жидкостная хроматография

pH – реакция среды;

т. кип. – температура кипения;

т. пл.-температура плавления;

4. Исследование

4.1. Предварительное газохроматографическое исследование на «летучие» вещества непосредственно из объектов исследования.

Обязательной является предварительная стандартизация оборудования с помощью стандартных веществ, парогазовые пробы которых протестированы в тех же условиях, что и исследуемые образцы

Стандарты Растворы, содержащие искомые соединения в минимальных токсичных концентрациях.

ВНИМАНИЕ: Раствор формальдегида. Разбавить 1 мл свободного от метанола водного раствора формальдегида (340—380 г/кг) до 1 л очищенной водой.

Условия газохроматографического исследования: Температура колонки, испарителя, расход газов-носителей гелия, воздуха, водорода, время анализа устанавливается в зависимости от типа колонки.

В пинциллиновые флаконы помещают 2мл биологической жидкости, (или 5г средней пробы гомогенизата ткани органа). Флакон закрывается тefлоновой прокладкой, металлическим колпачком под обкатку и помещается в приставку для парофазного анализа. (При отсутствии парообразователя флакон помещают в кипящую водяную баню на пять минут и предварительно нагретым до 50° С шприцем отбирают 2мл (для насадочной колонки) или 100мкл (для капиллярной колонки) парогазовой фазы и вводят в испаритель газового хроматографа). Расчет концентрации проводят по предварительно построенному в тех же условиях калибровочному графику зависимости

отношения площадей пиков искомого вещества и внутреннего стандарта. Используются не менее четырех известных растворов веществ.

Оценка результатов. При обнаружении пиков, идентичных по времени удерживания пикам указанных выше веществ, необходимо провести дальнейшее исследование.

Газохроматографическое исследование на все «лстучие вещества» за исключением синильной кислоты имеет отрицательное судебное химико-токсикологическое значение.

4.2. Предварительная проба на присутствие трихлорсодержащих соединений.

Методика используется при положительном результате газохроматографического исследования на хлорсодержащие «лстучие вещества».

Предварительная проба на присутствие трихлорсодержащих соединений. **ВНИМАНИЕ:** Предпринимается для исследования мочи (тест Fujiwara). Этот тест должен проводиться в вытяжном шкафу.

Реактивы

Водный раствор гидроксида натрия (5 моль/л, что эквивалентно 200 г/л).

Водная трихлоруксусная кислота (10 мг/л).

Ход исследования.

В отдельные пробирки объемом 10 мл внести порции по 1 мл: а) анализируемой мочи, б) очищенной воды, в) раствора трихлоруксусной кислоты.

Добавить в каждую пробирку 1 мл раствора гидроксида натрия и 1 мл пиридина, осторожно размешать и закрыть легко вынимающейся пробкой.

Нагревать в кипящей водяной бане в течение 2 мин.

Оценка результатов. Интенсивное красно-пурпурное окрашивание верхнего пиридинового слоя свидетельствует о присутствии трихлорсодержащих соединений. Анализ контроля исключает загрязнение соединениями, которые могут присутствовать в атмосфере лаборатории, например хлороформом. Такие соединения, которые активно метаболизируются с образованием трихлоруксусной кислоты, дают в этом тесте выраженные положительные результаты.

Чувствительность

Трихлорацетат, 1 мг/л.

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

Калиевые и натриевые соли железистосинеродистой кислот (желтая и красная кровяные соли), не разлагаясь в организме, но при перегонке с разведенными

кислотами (даже с виннокаменной) дают синильную кислоту и тем могут ввести в заблуждение судебного химика.

Для испытания на желтую ($K4Fe(CN)6$) и красную кровяные соли ($K3Fe(CN)6$) несколько капель желудочного содержимого размазывают по фарфоровой чашке, подкисляют и испытывают хлорным железом ($FeCl3$), а затем сернокислой закисью железа ($FeSO4$). Посинение от хлорного железа (образование берлинской лазури) укажет на присутствие желтой кровяной соли, посинение от сернокислой закиси железа (образование турбулевой сини) – на присутствие красной кровяной соли.

4.4. Предварительная проба на метиловый спирт в моче и крови.

Предварительная проба на метиловый спирт в моче и крови. В моче и крови метиловый спирт можно обнаружить при помощи описанной ниже предварительной пробы. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл 10 % раствора дихромата калия в 50% растворе серной кислоты. Появление зеленой окраски указывает на наличие метилового и этилового спиртов в крови и моче. При наличии 150 мг % этих спиртов в моче окраска появляется в течение 10 сек. а при количествах, превышающих 75 мг %, – в течение 45 сек.

Поскольку такую реакцию дают некоторые другие спирты (в том числе и этиловый) и их соединения, способные окисляться дихроматом калия, положительные результаты этой реакции необходимо подтвердить другими предварительными пробами.

4.3. Перегонка с водяным паром

В колбу аппарата для перегонки с водяным паром вносят 100 г (50 или 20 г) измельченных тканей внутренних органов трупов или других объектов биологического происхождения, прибавляют воду до получения кашицеобразной массы и 3–5 мл насыщенного водного раствора щавелевой или винной кислоты до значения pH 2,0 – 3,0 по универсальному индикатору. Колбу для перегонки сразу же помещают на кипящую водяную баню и соединяют с нагретым до кипения парообразователем и с холодильником Либиха, охлаждаемым проточной водой. На конец холодильника присоединяют аллонж и производят перегонку летучих ядовитых веществ с водяным паром. Первые 2–3 мл дистиллята собирают в колбу, содержащую 2–3 мл 2 % раствора гидроксида натрия. При этом конец аллонжа должен быть погружен в раствор щелочи. Последующие 2 порции дистиллята (по 25 мл каждый) собирают в колбы вместимостью 50 мл. Затем прекращают перегонку, разъединяют парообразователь и колбу для перегонки.

Полученные дистилляты исследуют на наличие представителей отдельных веществ этой группы ядов. Учитывая незначительную растворимость в воде некоторых из них (изоамиловый спирт), их концентрируют экстрагированием из дистиллятов органическими растворителями (диэтиловым эфиром или хлороформом).

ВНИМАНИЕ: Для количественного определения обнаруженного вещества берут новую порцию биообъекта.

Полученные дистилляты используют для обнаружения летучих ядов, перегоняемых с водяным паром из кислой среды. В первой порции дистиллята,

собранного в раствор гидроксида натрия, определяют наличие синильной кислоты (цианидов). В последующих дистиллятах, собранных в колбы вместимостью 50 мл, определяют наличие ядовитых веществ, которые перегоняются с водяным паром из кислых растворов. Эти вещества перегоняются примерно в такой последовательности: синильная кислота, хлороформ, ацетон, спирты алифатического ряда, формальдегид и др.

5. Синильная кислота (цианистоводородная кислота) — газ или бесцветная жидкость (т. кип. 25,6 °С, т. пл. — 13,3 °С, плотность 0,699), имеет запах горького миндаля, легко смешивается с водой и с рядом органических растворителей. При — 13,3 °С синильная кислота затвердевает, образуя волокнистую кристаллическую массу. Синильная кислота является слабой кислотой. Ее вытесняют из солей даже углекислота и слабые органические кислоты.

В свободном состоянии в природе синильная кислота не встречается. Она встречается в виде химических соединений, к числу которых относятся гликозиды амигдалин, пруназин, дуррин и др. Амигдалин содержится в семенах горького миндаля, косточках персиков, абрикосов, слив, вишен, в листьях лавровиши и др. Этот гликозид под влиянием фермента эмульсина, а также под влиянием кислот разлагается на глюкозу, бензальдегид и синильную кислоту. Пруназин содержится в пенсильванской вишне. Синильная кислота может образовываться при горении целлULOида и некоторых полимерных материалов. Следы этой кислоты содержатся в табачном дыме.

Соли синильной кислоты (цианиды) легко гидролизуются в воде. При хранении водных растворов цианидов при доступе диоксида углерода они разлагаются. В водных растворах разлагаются не только цианиды, но и сама синильная кислота:

Применение. Действие на организм. Синильная кислота и ее соли применяются для синтеза ряда органических соединений, при добыче золота, для дезинфекции и дезинсекции, для борьбы с вредителями растений и т. д. Из соединений синильной кислоты, применяемых в народном хозяйстве, большое значение имеют цианиды натрия и калия.

Синильная кислота и ее соли очень ядовиты. По токсичности синильная кислота превосходит многие известные яды. Поэтому с синильной кислотой и ее солями следует обращаться очень осторожно. Следует помнить, что от прибавления сильных кислот к цианидам сразу же выделяется синильная кислота, которая может быть причиной тяжелых, а иногда и смертельных отравлений. Отравления могут давать и различные соединения синильной кислоты (хлорциан, бромциан и др.). Отмечены случаи отравления людей семенами миндаля. По данным М. Д. Швайковой (1975), смерть у взрослых может наступить при поедании 40–60 штук, а у детей — 10–12 штук семян миндаля. При вдыхании больших концентраций синильной кислоты смерть может наступить мгновенно от остановки дыхания и сердца. Учитывая высокую токсичность синильной кислоты и ее солей, работать с ними в лаборатории можно только в вытяжном шкафу с хорошей вентиляцией.

Синильная кислота угнетает внутриклеточные железосодержащие дыхательные ферменты. При угнетении цитохромоксидазы синильной кислотой клетки организма не усваивают кислород, поступающий с кровью. В результате этого наступает клеточное кислородное голодание, несмотря на то, что кровь насыщена кислородом. Цианиды также могут блокировать гемоглобин крови, нарушая его функции.

Синильная кислота может поступать в организм с вдыхаемым воздухом и частично через неповрежденную кожу, а цианиды -- через пищевой канал.

Метаболизм. Метаболитом синильной кислоты является тиоцианат (роданид), который образуется в организме при конъюгации цианидов с серой под влиянием фермента роданазы.

Ввиду быстрого разложения синильной кислоты и цианидов в тканях организма эти яды можно обнаружить в содержимом желудка и не обнаружить в паренхиматозных органах.

Изолирование синильной кислоты и цианидов из биологического материала производят перегонкой с водяным паром. Для этой цели собирают 3--5 мл первого дистиллята в пробирку, содержащую 2 мл 2 %-го раствора гидроксида натрия. Поскольку синильная кислота быстро разлагается в организме, исследование биологического материала на наличие этой кислоты и ее солей желательно проводить сразу же после вскрытия трупов.

5.1. Обнаружение синильной кислоты и цианидов. *Реакции на синильную кислоту и ее соли выполняют под тягой.*

Для обнаружения синильной кислоты в дистиллятах применяют несколько реакций, из которых наиболее доказательной является реакция образования берлинской лазури. Другие описанные ниже реакции используют как вспомогательные, а также для обнаружения цианидов в порошках, жидкостях и в других объектах.

5.1.1. Реакция образования берлинской лазури. От прибавления сульфата железа (II) к щелочному раствору цианидов, образуется цианид железа (II), который при взаимодействии с избытком цианидов, а затем с сульфатом или хлоридом железа (III) образует берлинскую лазурь:

При образовании берлинской лазури происходят и побочные реакции между солями железа и щелочью (образуются гидроксиды железа).

Для растворения гидроксидов железа и нейтрализации избытка щелочи прибавляют кислоту до кислой реакции. Большой избыток прибавленной кислоты может замедлить процесс образования берлинской лазури.

Выполнение реакции. К нескольким миллиграммам дистиллята, собранного в раствор щелочи, прибавляют 1--4 капли разбавленного раствора сульфата железа (II) и такой же объем разбавленного раствора хлорида железа (III). Смесь хорошо взбалтывают и нагревают на пламени газовой горелки почти до кипения, а затем охлаждают до комнатной температуры и прибавляют 10 %-й раствор соляной кислоты до слабокислой реакции на лакмус. Появление синего осадка или синей окраски указывает на наличие синильной кислоты (цианидов) в дистилляте.

Предел обнаружения: 20 мкг синильной кислоты в 1 мл раствора. Предельная концентрация 1 : 100000. При количествах синильной кислоты, превышающих 30 мкг в 1 мл, образуется синий осадок. При наличии 20--30 мкг синильной кислоты в 1 мл появляется зеленая или голубоватая окраска. При малых количествах синильной кислоты в растворах синяя окраска появляется только через 24--48 ч. При длительном отсутствии синего осадка или синей окраски к смеси прибавляют 5 %-ый раствор хлорида бария. При этом выпадает осадок сульфата бария и происходит с осаждение берлинской лазури.

Осадок берлинской лазури может быть представлен судебно-следственным органам как доказательство наличия синильной кислоты или цианидов в исследуемых объектах.

5.1.2. Реакция образования роданида железа.

Эта реакция основана на том, что при нагревании цианидов с раствором полисульфида аммония образуется роданид, от прибавления к которому раствора хлорида железа(III) появляется кроваво-красная окраска:

Выполнение реакции. К 2--3 мл исследуемого раствора прибавляют 3--5 капель 10--20 %-го раствора полисульфида аммония и смесь упаривают на водяной бане до небольшого объема. К упаренной жидкости по каплям прибавляют 8 %-й раствор соляной кислоты до кислой реакции (по лакмусу), а затем прибавляют 1 каплю 10 %-го раствора хлорида железа (III). Появление кроваво-красной окраски указывает на наличие цианидов в растворе. При взбалтывании окрашенного раствора с диэтиловым эфиром окраска переходит в эфирный слой.

Предел обнаружения: 10 мкг синильной кислоты в 1 мл.

5.1.3. Реакция образования бензидиновой сини. Соли меди (II) с цианидами образуют дициан (CN)₂, при взаимодействии которого с водой выделяется кислород, окисляющий бензидин. Продуктом окисления бензидина является бензидиновая синь:

Выполнение реакции. Для выполнения этой реакции пользуются индикаторной бумагой, смоченной смесью растворов ацетата меди и бензидина.

В колбу вносят 2 - 3 мл исследуемого дистиллята, прибавляют 1 мл 10 % раствора винной кислоты. Колбу сразу же закрывают пробкой, к которой прикреплена влажная индикаторная бумага. Затем колбу нагревают несколько минут на водяной бане. При наличии в пробе синильной кислоты или ее солей бумага синеет.

Приготовление индикаторной бумаги. Готовят раствор, содержащий 0,286 г ацетата меди в 100 мл воды (раствор А) и насыщенный раствор ацетата бензидина. К 47,5 мл насыщенного раствора ацетата бензидина прибавляют 52,5 мл воды (раствор Б). Затем смешивают равные объемы растворов А и Б. В этой жидкости смачивают полоски фильтровальной бумаги, которые высушивают на воздухе.

5.1.4. Реакция с пикриновой кислотой. От прибавления пикриновой кислоты и щелочи к цианидам образуется соль изопурпуровой кислоты, имеющая красную окраску:

Выполнение реакции. К 1 мл щелочного дистиллята прибавляют 1 мл 0,5 %-го раствора пикриновой кислоты и слегка нагревают на водяной бане. При наличии цианидов раствор приобретает красную окраску. Подобную окраску с пикриновой кислотой дают и некоторые другие вещества (альдегиды, ацетон, сульфиты и др.).

Поэтому реакция с пикриновой кислотой на цианиды имеет значение только при отсутствии цианидов в дистилляте.

5.1.6. Реакция образования полиметинового красителя

Выполнение реакции. 1 мл первого дистиллята помещают в пробирку, добавляют 1 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают, прибавляют 0,5 мл бромной воды, вновь перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 5 мин. Затем добавляют 0,3 мл пиридин-бензидинового реактива, тщательно перемешивают. При наличии циат-иона образуется полиметиновый краситель с переходом окраски от оранжевой к красно-фиолетовой.

Чувствительность реакции 0,2 мкг в пробе.

Приготовление бензидин-пиридинового реактива. Реактив состоит из смеси 2-х растворов А и Б в соотношении 4:1. Раствор А - 60% раствор пиридина (к 60 мл свежеперегнанного пиридина с температурой кипения 114-116° С смешивают с 40 мл дистиллированной воды, и добавляют 10 мл концентрированной соляной кислоты). Раствор Б – 2% раствор бензидина в растворе соляной кислоты (1,0 г бензидина солянокислого растворят в 40 мл дистиллированной воды, добавляют 10 мл 10% раствора соляной кислоты)

5.1.7. Обнаружение цианидов методом микродиффузии в крови. Синильную кислоту и ее соли можно обнаружить методом микродиффузии, который основан на реакции с пиридином и барбитуровой кислотой.

В стеклянный бюкс с притертой крышкой помещается фарфоровый тигель с 2мл (V_1) 0,1н раствора гидроксида натрия. На дно бюкса помещается 4г (m) крови, добавляется 2мл 10% раствора серной кислоты. Бюкс закрывается, выдерживается 1 час при 50°С и охлаждается до комнатной температуры.

1мл (V_2) жидкости из тигля исследуется следующим образом:

К 10мкл (V_2) дистиллята прибавляется 0,99мл 0,1н раствора гидроксида натрия, добавляется 1мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты и несколько капель (до появления неисчезающего желтого окрашивания) бромной воды. Смесь оставляется на 5мин, затем прибавляется 0,5% раствор гидразина сульфата до исчезновения желтой окраски и 2,5мл пиридин-бензидинового реактива. При наличии синильной кислоты наблюдается оранжевое окрашивание.

Снимается оптический спектр полученного раствора относительно воды. При наличии цианидов наблюдается максимум поглощения при 495нм. Через 15мин определяется оптическая плотность раствора при 530нм в кювете 1см относительно воды. Построение калибровочного графика. Калибровочный график строится в интервале 0 – 20мкг/мл цианида калия (0-8мкг/мл циат-иона).

Концентрация цианида калия, определенная по градуировочному графику в мкг/мл. Концентрацию цианид-иона в 100 г образца рассчитывают по формуле: $C = 100 \times 0,4 \times V_1 / V_2 \times t$

При заключении об отравлении синильной кислотой и цианидами (на основании результатов химико-токсикологического анализа биологического материала) следует учитывать то, что цианиды в небольших количествах (около 6 мкг %) могут быть в моче лиц, не подвергавшихся воздействию этих соединений. В моче курящих количество цианидов может быть почти в 3 раза больше, чем в крови некурящих. В крови цианиды могут образовываться и посмертно.

Исследование содержимого желудка и жидкостей с места происшествия 5.1.8..К 10мкл исследуемой жидкости прибавить 1мл дистиллированной воды, и несколько капель 5% раствора нитрата серебра. Параллельно провести исследование с дистиллированной водой, 1мл раствора цианида калия (100мкг/мл), 1мл 0,1н раствора соляной кислоты. При наличии цианида калия, соляной кислоты, наблюдается выпадение белого хлопьевидного осадка, растворимого в 25% растворе аммиака.

5.1.9. 20мкл исследуемой жидкости помещается в пробирку. Пробирку закрывают пробкой, к нижней части которой прикрепляется полоска фильтровальной бумагки, предварительно смоченной раствором сульфата меди и высушенной. Отсутствие посинения бумаги в течение 2 часов указывает на отрицательный результат

5.1.10.К 10мкл исследуемой жидкости прибавляется 1мл 0,1н раствора гидроксида натрия, добавляется 1мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты и несколько капель (до появления неисчезающего желтого окрашивания) бромной воды. Смесь оставляется на 5мин, затем прибавляется 0,5% раствор гидразина сульфата до исчезновения желтой окраски и 2,5мл пиридин-бензидинового реактива]. Параллельно проводится исследование с дистиллированной водой и 1мл раствора цианида калия (10мкг/мл). При наличии цианида калия наблюдается оранжевое окрашивание.

5.1.11.К 10мкл исследуемой жидкости прибавляется 1мл 0,1н раствора гидроксида натрия, 2 капли 10% раствора м-нитробензальдегида в 2,5% спиртовом растворе гидроксида натрия. Смесь нагревается на кипящей водяной бане 5мин, затем прибавляется 5 капель 0,5% раствора м-динитробензола в бензоле и снова нагревается на кипящей водяной бане. Параллельно проводятся исследования с дистиллированной водой и 1мл раствора цианида калия (100мкг/мл). При наличии цианида калия через 5мин наблюдается красно-оранжевое окрашивание.

6. Формальдегид (альдегид муравьиной кислоты) - газ, хорошо растворимый в воде, обладающий острым специфическим запахом. Водный раствор, содержащий 36,5—37,5 % формальдегида, называется формалином. Формальдегид образуется при неполном сгорании метана, при окислении метилового спирта и т. д. Газообразный формальдегид при комнатной температуре легко полимеризуется с образованием параформальдегида.

При вдыхании небольших количеств формальдегида раздражает верхние дыхательные пути. При вдыхании больших концентраций формальдегида может наступить внезапная смерть в результате отека и спазма голосовой щели. При попадании формальдегида в организм через рот могут наступить некротические поражения слизистой оболочки рта, пищевого канала, появляется слюнотечение, тошнота, рвота, понос. Формальдегид угнетает центральную нервную систему, в результате этого может произойти потеря сознания, появляются судороги. Под влиянием формальдегида развиваются дегенеративные поражения печени, почек, сердца и головного мозга. Формальдегид оказывает влияние на некоторые ферменты. Принятые внутрь 60—90 мл формалина являются смертельной дозой.

Метаболизм. Метаболитами формальдегида являются метиловый спирт и муравьиная кислота, которые, в свою очередь, подвергаются дальнейшему метаболизму.

Формальдегид изолируют из биологического материала путем перегонки с водяным паром. Однако этим методом перегоняется только незначительная часть формальдегида.

Обнаружение формальдегида

6.1. Реакция с хромотроповой кислотой. *ВНИМАНИЕ: Для успешного протекания указанной ниже реакции требуется серная кислота, концентрация которой должна быть не ниже 72 %.*

Выполнение реакции. В пробирку вносят 3—5 капель исследуемого дистиллята, 4 мл 12 н. раствора серной кислоты и несколько кристалликов хромотроповой кислоты, затем пробирку нагревают в течение 10 мин на водяной бане до 60 °С. При наличии формальдегида появляется фиолетовая окраска.

Второй вариант реакции. В пробирку вносят 1 мл исследуемого дистиллята, 0,2 мл 10 % раствора хромотроповой кислоты в концентрированной серной кислоте, затем прибавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и взбалтывают. Появление фиолетовой или красно-фиолетовой окраски указывает на наличие формальдегида.

Предел обнаружения: 1 мкг формальдегида в пробе.

Эту реакцию дают вещества, которые при гидролизе, дегидратации или окислении образуют формальдегид.

При отсутствии окраски дается заключение о не обнаружении формальдегида.

6.2. Реакция с фуксинсернистой кислотой.

Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл исследуемого раствора и 2—3 капли концентрированной серной кислоты. Содержимое пробирки взбалтывают и охлаждают проточной водой, затем прибавляют 1 мл раствора фуксинсернистой кислоты. Появление сине-фиолетовой или красно-фиолетовой окраски указывает на наличие формальдегида.

Окрашивание иногда появляется не сразу, а через 10-15 минут. Окраска может появляться не только под влиянием формальдегида, но и под действием окислителей (хлор, оксиды азота, кислород воздуха и др.), поэтому появление

окраски через 30 минут после прибавления реагентов не должно рассматриваться как положительный результат реакции на формальдегид.

Эта реакция не специфична для обнаружения формальдегида, ее дают ацетальдегид, нитробензальдегид и др.

Приготовление реагента. Фуксинсернистая кислота (раствор): а) 0,2 г химически чистого основного фуксина растворяют в 120 мл горячей воды. После охлаждения к раствору прибавляют 6 г безводного сульфита натрия, растворенного в 20 мл воды, и 4 мл соляной кислоты (ил. 1,18). Затем жидкость доводят водой до 200 мл и фильтруют. Профильтрованную жидкость переносят в склянку из темного стекла с притертой пробкой. Реактив должен быть бесцветным или слабо желтоватого цвета;

6.3. Реакция с метиловым фиолетовым. Метиловый фиолетовый, который аналогично фуксину предварительно обесцвечен сульфитом натрия, с формальдегидом дает сине-фиолетовую окраску.

Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл исследуемого дистиллята и 0,5 мл 10 %-го раствора серной кислоты, затем прибавляют такой же объем раствора метилового фиолетового, обесцвеченного сульфитом или гидросульфитом натрия. При наличии формальдегида появляется сине-фиолетовая окраска. Эта реакция не специфична для обнаружения формальдегида. Ее дают и некоторые другие альдегиды.

Приготовление реагента. Метиловый фиолетовый (раствор). В 400 мл воды растворяют 0,5 г метилового фиолетового, прибавляют 5 мл концентрированной соляной кислоты, 12,1 г сульфата натрия и еще 5 мл концентрированной соляной кислоты. Жидкость оставляют на 8 часов, затем прибавляют 5 г активированного угля, хорошо взбалтывают и фильтруют. Фильтрат разбавляют водой до 500 мл. Этот реагент пригоден к употреблению в течение двух месяцев после приготовления.

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

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

Предел обнаружения: 0,02 мкг формальдегида.

6.5. Реакция с резорцином.

Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл исследуемого дистиллята и 1 мл 1 % раствора резорцина в 10 % растворе гидроксида натрия. Смесь нагревают в течение 3—5 мин на водяной бане. Появление розовой или малиновой окраски указывает на наличие формальдегида. Эту реакцию дают уксусный альдегид, акролеин, фурфурол и др.

6.6. Реакция восстановления ионов серебра. Выполнение реакции. В хорошо очищенную от жира пробирку вносят 5 капель 1 %-го раствора нитрата серебра и по каплям прибавляют 10%-й раствор аммиака до растворения образовавшегося осадка гидроксида серебра. К полученному раствору прибавляют 1 мл исследуемого раствора, затем смесь осторожно нагревают на пламени горелки. При наличии формальдегида происходит реакция образования «серебряного зеркала». Эта реакция успешно протекает при pH = 8...9. Нагревание пробирки должно быть умеренным. При высокой температуре «серебряное зеркало» не образуется, а выпадает бурый осадок серебра.

Кроме формальдегида эту реакцию дают и некоторые другие восстанавливающие вещества.

6.6. Реакция с реагентом Фелинга.

Выполнение реакции. 1 мл исследуемого дистиллята вносят в пробирку, прибавляют 1—2 капли 10 % раствора гидроксида натрия до щелочной реакции по лакмусу, затем прибавляют 2—3 капли реагента Фелинга. Жидкость интенсивно взбалтывают и нагревают на пламени газовой горелки. Образование желтого или красного осадка указывает на наличие формальдегида в исследуемом растворе.

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

Приготовление реагента. Реактив Фелинга: а) 34,66 г перекристаллизованного сульфата меди растворяют в воде, подкисленной 2—3 каплями разбавленной серной кислоты, прибавляют воду до 500 мл (раствор А). Затем к 173 г сегнетовой соли прибавляют 50 г гидроксида натрия и растворяют в 400 мл воды. Этот раствор доводят водой до 500 мл (раствор Б). Перед употреблением смешивают равные объемы растворов А и Б;

б) 7 г сульфата меди растворяют в 100 мл воды. К этому раствору прибавляют раствор, содержащий 14 г гидроксида натрия и 36 г сегнетовой соли в 100 мл воды.

6.7. Газохроматографическое определение формальдегида по продукту взаимодействия с 2,4-ДНФГ (2,4-динитрофенилгидразином).

Контрольный опыт: 1 мл 0,02% раствора 2,4-ДНФГ (в 10% серной кислоте) смешивают в пробирке с 1 мл дистиллированной воды, встряхивают в течении 2 минут, прибавляют 1 мл толуола, экстрагируют 5 минут. Органическую фазу отбирают пипеткой в виалу, выпаривают в токе воздуха досуха. Сухой остаток растворяют в 50 мкл толуола. 2 мкл полученного раствора анализируют на газовом хроматографе при следующих параметрах: температура испарителя — 250⁰С, температура колонки — 180⁰С, температура детектора — 250⁰С, газ-носитель — азот, расход газа-носителя 25 см³/мин, расход водорода — 25 см³/мин, расход воздуха — 250 см³/мин.

Исследуемый опыт. 1 мл 0,02% раствора 2,4-динитрофенилгидразина в 10% растворе серной кислоты смешивают с 1 мл крови, встряхивают 2 мин, прибавляют 1 мл толуола и экстрагируют 5 мин. 1 мкл органической фазы вводится в колонку газового хроматографа. Условия хроматографирования: колонка кварцевая капиллярная «CP sil 5CB» 30мх0,25мм, Df=0,25мкм.

Термостат колонки: 150⁰С, 1 мин, 250⁰С, 10град/мин, 10мин. Газ-носитель – гелий, скорость гелия 1мл/мин. Инжектор 1177, split/splitless, 0,01-0,71- splitless, температура инжектора 250⁰С. Детектор – термоионный, 250⁰С, ток 3,4А, расход гелия (Make-up) - 30мл/мин, водорода – 4мл/мин, воздуха – 175мл/мин. Аналогично исследуется кровь без формальдегида и кровь с содержанием формальдегида 25 мкг/мл

7. Метиловый спирт (метанол) — бесцветная жидкость (т. кип. 64,5 °С, плотность 0,79), смешивающаяся во всех соотношениях с водой и многими органическими растворителями. Метиловый спирт ядовит, он горит бледно-голубым некоптящим пламенем, с хлоридом кальция дает соединение $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{CH}_3\text{OH}$, а с оксидом бария образует кристаллы $\text{BaO} \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$. Метиловый спирт по запаху и вкусу почти не отличается от этилового. Известны случаи отравления метиловым спиртом, ошибочно принятным вместо этилового.

В природе метиловый спирт в свободном состоянии почти не встречается. Распространены его производные — эфирные масла, сложные эфиры и др. Раньше метиловый спирт получали путем сухой перегонки дерева. Поэтому и до сих пор неочищенный метиловый спирт, полученный сухой перегонкой дерева, называют древесным спиртом. В настоящее время используется несколько промышленных синтетических способов получения метилового спирта.

Применение. Действие на организм. Метиловый спирт используется как растворитель лаков, красок, как исходное вещество для получения хлористого метила, диметилсульфата, формальдегида и ряда других химических соединений. Он применяется для денатурации этилового спирта, входит в состав некоторых марок антифриза, гидролизного, технического спирта.

Метиловый спирт может поступать в организм через пищевой канал, а также с вдыхаемым воздухом, содержащим пары этого спирта. В незначительных количествах метиловый спирт может проникать в организм и через кожу. Токсичность метилового спирта зависит от обстоятельств отравления и индивидуальной восприимчивости. Под влиянием метилового спирта происходит поражение сетчатки глаза и зрительного нерва, а иногда наступает неизлечимая слепота. Появление слепоты ряд авторов объясняют не действием метилового спирта, а действием его метаболитов (формальдегида и муравьиной кислоты). Метиловый спирт нарушает окислительные процессы и кислотно-щелочное равновесие в клетках и тканях. В результате этого наступает ацидоз. Отравление метиловым спиртом в ряде случаев заканчивается смертью. Опасность появления слепоты возникает уже после приема 4—15 мл метилового спирта. Смертельная доза принятого внутрь метилового спирта составляет 30—100 мл. Смерть наступает в результате остановки дыхания, отека головного мозга и легких, коллапса или уремии. Местное действие метилового спирта на слизистые оболочки проявляется сильнее, а наркотическое действие — слабее, чем у этилового спирта.

Одновременное поступление метилового и этилового спиртов в организм уменьшает токсичность метилового спирта. Это объясняется тем, что этиловый

спирт уменьшает скорость окисления метилового спирта почти на 50 %, и, следовательно, уменьшает его токсичность.

Метаболизм. Метиловый спирт, поступивший в организм, распределяется между органами и тканями. Наибольшее количество его накапливается в печени, а затем в почках. Меньшие количества этого спирта накапливаются в мышцах, жире и головном мозге. Метаболитом метилового спирта является формальдегид, который окисляется до муравьиной кислоты. Часть этой кислоты разлагается на оксид углерода (IV) и воду. Некоторое количество метилового спирта, не подвергшееся метаболизму, выделяется с выдыхаемым воздухом. Он может выделяться с мочой в виде глюкуронида. Однако с мочой могут выделяться и небольшие количества неизмененного метилового спирта. Метиловый спирт окисляется в организме медленнее, чем этиловый спирт.

При даче заключения об отравлении метиловым спиртом следует иметь в виду, что в организме (в норме) может содержаться 0,0001—0,003 г/л метилового спирта и около 0,004 г/л муравьиной кислоты.

Обнаружение метилового спирта

7.1. Реакция образования метилового эфира салициловой кислоты. В пробирку вносят 1 мл дистиллята, прибавляют 0,03—0,05 г салициловой кислоты и 2 мл концентрированной серной кислоты, затем смесь осторожно нагревают на пламени горелки. При наличии метилового спирта ощущается характерный запах метилового эфира салициловой кислоты:

При помощи этой реакции можно обнаружить 0,3 мг метилового спирта в пробе.

При отсутствии запаха метилсалицилата даётся заключение о не обнаружении метилового спирта.

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

7.2. Окисление метилового спирта.

Описано несколько вариантов реакции окисления метилового спирта. Выбор этих вариантов зависит от содержания метилового спирта в пробе и от объема исследуемого раствора.

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

7.2.2. В микропробирку вносят каплю исследуемого дистиллята, прибавляют каплю 5 % раствора фосфорной кислоты и каплю 5 % раствора перманганата калия. Жидкость тщательно перемешивают в течение 1 минуты, прибавляют небольшое количество твердого гидросульфита натрия, затем содержимое пробирки взбалтывают до обесцвечивания. Если в пробирке появится

нерасторимый бурый осадок оксида марганца (IV), то еще прибавляют каплю раствора фосфорной кислоты и немного гидросульфита натрия.

Обнаружение метилового спирта после его окисления. После окисления метилового спирта до формальдегида последний определяют при помощи реакций с хромотроповой кислотой, фуксин-сернистой кислотой и с резорцином. Эти реакции описаны выше (п.п.6.1, 6.2, 6.5).

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

8. Изоамиловый спирт (2-метилбутанол-4) является главной составной частью сивушных масел. В состав сивушных масел входят также оптически активный изоамиловый спирт $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{CH}_2 - \text{OH}$ (2-метилбутанол-1), изобутиловый спирт и нормальный пропиловый спирт. Кроме этих спиртов в сивушных маслах в незначительных количествах содержатся жирные кислоты, их эфиры и фурфурол. Наличием 2-метилбутанола-4 в сивушных маслах объясняется его резкий неприятный запах и высокая токсичность. Изоамиловый спирт (2-метилбутанол-4) является побочным продуктом спиртового брожения углеводов, содержащихся в свекле, картофеле, фруктах, зернах пшеницы, ржи, ячменя и других сельскохозяйственных культурах.

Изоамиловый спирт в 10—12 раз токсичнее, чем этиловый. Он действует на центральную нервную систему, обладает наркотическими свойствами. При приеме изоамилового спирта появляется головная боль, тошнота, рвота. Симптомы отравления проявляются уже после приема внутрь 0,5 г изоамилового спирта. Смерть может наступить после приема внутрь 10—15 г этого спирта. Отмечены случаи смертельных отравлений самогоном и другими спиртоводочными изделиями кустарного производства, которые содержат изоамиловый спирт и другие компоненты сивушных масел.

Метаболизм. Часть дозы изоамилового спирта, поступившего в организм, превращается в альдегид изовалериановой кислоты, а затем в изовалериановую кислоту. Некоторое количество неизмененного изоамилового спирта и указанных выше метаболитов выделяются из организма с мочой и с выдыхаемым воздухом.

Обнаружение изоамилового спирта

Все указанные реакции дают положительный эффект только при отсутствии воды или при наличии небольших ее количеств в смеси реагирующих веществ. Поэтому перед выполнением перечисленных реакций из дистиллята изоамиловый спирт экстрагируют диэтиловым эфиром. Эфирную вытяжку разделяют на четыре части, каждую из которых помещают в фарфоровую чашку, а затем выпаривают. В полученных остатках определяют наличие изоамилового спирта.

8.1. Реакция с салициловым альдегидом (реакция Комаровского). Выполнение реакции. В фарфоровую чашку к остатку после выпаривания диэтилового эфира прибавляют 1 мл 1 % спиртового раствора салицилового альдегида и 3

мл концентрированной серной кислоты. После охлаждения содержимого фарфоровой чашки ее помещают на 3 минуты на кипящую водяную баню. Появление розово-красной окраски указывает на наличие изоамилового спирта в пробе. При больших количествах изоамилового спирта окраска жидкости появляется без нагревания.

Эту реакцию дают спирты, содержащие более трех атомов углерода в молекуле. Не дают этой реакции метиловый и этиловый спирты.

8.2.Реакция с п - диметиламинобензальдегидом (реакция Комаровского). Выполнение реакции. В фарфоровую чашку к остатку после испарения эфира вносят 5—10 капель 5 % раствора п -диметиламинобензальдегида в концентрированной серной кислоте. Появление темно-красной окраски указывает на наличие изоамилового спирта в пробе. При разбавлении жидкости водой окраска переходит в фиолетовую.

Эту реакцию не дают метиловый и этиловый спирты. Ее дают высшие спирты.

8.3.Реакция образования изоамилацетата. Выполнение реакции. К остатку, находящемуся в фарфоровой чашке после испарения эфира, прибавляют 2 капли концентрированной серной кислоты и около 0,03 г высушенного ацетата натрия. При слабом нагревании фарфоровой чашки ощущается запах изоамилацетата (запах грушевой эссенции). Этот запах становится более выраженным, если к смеси реагирующих веществ прибавить 20—25-кратный объем воды.

8.4.Реакция окисления изоамилового спирта. Выполнение реакции. Остаток, находящийся в фарфоровой чашке, смывают в пробирку с помощью диэтилового эфира, который затем выпаривают досуха. К остатку в пробирке прибавляют 3—5 капель 10% раствора перманганата калия и такой же объем концентрированной серной кислоты. Пробирку нагревают на кипящей водяной бане в течение 1—2 мин. После этого появляется слабый запах альдегида изовалериановой кислоты, а затем — запах изовалериановой кислоты.

Для обнаружения и количественного определения высших спиртов (пропилового, изопропилового, бутилового, изобутилового, амиловых спиртов) в крови и моче, а также в тканях мышцы, внутренних органов и дистиллятах также применяют метод газожидкостной хроматографии.

9.Ацетон $\text{CH}_3\text{—CO—CH}_3$ (диметилкетон, пропанон) — бесцветная подвижная жидкость (т. кип. 56,3 °C) с характерным запахом. Он смешивается с водой, этиловым спиртом и диэтиловым эфиром во всех соотношениях. Из водных растворов ацетон выделяется хлоридом натрия, хлоридом кальция, карбонатом калия (жидкость разделяется на два слоя). Ацетон хорошо растворяет соли многих неорганических кислот и ряд органических соединений. Ацетон получают при сухой перегонке дерева, каменного угля, а также путем синтеза.

Метаболизм. Незначительная часть ацетона, поступившего в организм, превращается в оксид углерода (IV), который выделяется с выдыхаемым воздухом. Некоторое количество ацетона выделяется из организма в неизменном виде с выдыхаемым воздухом и через кожу, а некоторое — с мочой.

Обнаружение ацетона

9.1. Реакция образования йодоформа.

Выполнение реакции. К 1 мл исследуемого дистиллята прибавляют 1 мл 10 % раствора аммиака и несколько капель 1% раствора иода в 2% растворе иодида калия. В присутствии ацетона ощущается характерный запах йодоформа. При значительных количествах ацетона образуется желтый кристаллический осадок с характерным запахом йодоформа, его кристаллы имеют характерную форму. Предел обнаружения: 0,1 мг ацетона в пробе.

Эту реакцию дает и этиловый спирт.

9.2. Реакция с нитропруссидом натрия.

Выполнение реакции. К 1 мл исследуемого дистиллята прибавляют 1 мл 10 % раствора гидроксида натрия и 5 капель 1 % свежеприготовленного раствора нитропруссида натрия. При наличии ацетона появляется красная или оранжево-красная окраска. При добавлении 10 % раствора уксусной кислоты до кислой реакции---- через несколько минут окраска переходит в красно-фиолетовую или вишнево-красную. Реакция не специфична.

9.3. Реакция с фурфуролом.

Выполнение реакции. К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 5 капель 1 % раствора фурфурола в этиловом спирте (96°) и 3 капли 10 % раствора гидроксида натрия. Через 3— 5 мин к этой жидкости прибавляют 10—12 капель концентрированной соляной кислоты. При наличии ацетона появляется красная окраска.

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

9.4. Реакция с о-нитробензальдегидом. *ВНИМАНИЕ: Малые количества ацетона с о-нитробензальдегидом реагируют медленно. При этом сначала появляется желтая окраска, переходящая в желто-зеленую, а затем в зелено-синюю. Образовавшееся при этой реакции индиго хорошо экстрагируется хлороформом, который приобретает синюю окраску.*

Выполнение реакции. В пробирку вносят 3-5 капель исследуемого раствора и каплю насыщенного раствора о-нитробензальдегида в 2 н. растворе гидроксида натрия. Смесь слегка нагревают на водяной бане, затем охлаждают до комнатной температуры. После этого в пробирку прибавляют 1 мл хлороформа и взбалтывают. При наличии ацетона хлороформный слой приобретает синюю окраску.

Предел обнаружения: 100 мкг ацетона в пробе.

При указанных выше условиях спиртовые растворы ацетона дают синекрасную окраску.

Для обнаружения и количественного определения ацетона в крови и моче, а также в тканях мышцы, внутренних органов и дистиллятах применяют метод газожидкостной хроматографии.

При даче заключения об отравлении ацетоном следует иметь в виду, что определенное количество его может быть в крови и в моче лиц, страдающих диабетом и некоторыми другими заболеваниями. Кроме того, ацетон является метаболитом изопропилового спирта.

10. Пропан-2-ол (изо-Пропанол) используется в составе примочек для местного применения, средств для мытья окон и защитных сеток и в качестве растворителя для туалетных принадлежностей. Он применяется также в качестве наполнителя в некоторых фармацевтических препаратах и иногда вызывает у детей тяжелые ятрогенные отравления. По оценкам, минимальная летальная доза пропан-2-ола для взрослых составляет 240 мл.

Под воздействием алкогольдегидрогеназы пропан-2-ол метаболизируется с образованием ацетона. В основе описываемого ниже качественного анализа лежит окисление пропан-2-ола до ацетона и последующее его выявление. Следует отметить, что пропан-2-ол часто используют в качестве местного антисептика перед венепункцией, поэтому, если есть подозрение на отравление этим соединением, следует принять меры во избежание загрязнения им образца крови.

10.1. Качественный анализ для исследования плазмы или сыворотки.

Реактивы

1. Раствор салицилового альдегида в метаноле (100 мл/л).
2. Водный раствор гидроксида натрия (300 г/л).
3. Реактив, содержащий перманганат калия. Смешать 3 г перманганата калия, 15 мл ортофосфорной кислоты (850 г/кг) и 85 мл очищенной воды.
4. Водный раствор трихлоруксусной кислоты (200 г/л).
5. Бисульфат натрия (твердый).

Метод

1. Добавить 1 мл плазмы или сыворотки к 2 мл раствора трихлоруксусной кислоты, перемешать вихревой мешалкой в течение 30 с и центрифугировать в течение 5 мин.
2. Перенести 1 мл супернатанта во вторую пробирку и добавить 0,3 мл реактива, содержащего перманганат калия.
3. Перемешать вихревой мешалкой в течение 5 с и оставить на 10 мин. Если розовое окрашивание исчезает, продолжать добавлять порции реактива с перманганатом калия по 0,1 мл до тех пор, пока окрашивание не станет устойчивым.
4. Обесцветить смесь, добавляя твердый бисульфат натрия (около 100мг).
5. Добавить 3 мл раствора гидроксида натрия и 0,1 мл раствора салицилового альдегида и перемешать вихревой мешалкой в течение 5 с.
6. Нагревать в кипящей водяной бане в течение 4 мин и охладить.

Результаты

Красный цвет свидетельствует о присутствии пропан-2-ола или ацетона.

Чувствительность

Пропан-2-ол, 50 мг/л.

10. Хлороформ (трихлорметан) CHCl_3 — бесцветная прозрачная летучая жидкость с характерным запахом. Смешивается с диэтиловым эфиром, этиловым спиртом и другими органическими растворителями, слабо растворяется в воде. Под влиянием света, воздуха, влаги и температуры хлороформ постепенно разлагается. При этом могут образовываться фосген, муравьиная и соляная кислоты.

Метаболизм. Хлороформ, поступивший в организм, быстро исчезает из крови. Через 15—20 мин с выдыхаемым воздухом в неизмененном виде выделяется 30—50 % хлороформа. В течение часа через легкие выделяется до 90 % хлороформа, поступившего в организм. Однако еще и через 8 часов в крови можно обнаружить незначительные количества хлороформа. Часть хлороформа подвергается биотрансформации. При этом в качестве метаболитов образуются оксид углерода (IV) и хлороводород. При химико-токсикологических исследованиях основными объектами анализа на наличие хлороформа в организме являются выдыхаемый воздух, богатые жирами ткани трупа и печень.

Обнаружение хлороформа

Хлороформ, содержащийся в дистилляте, можно обнаружить по наличию хлора в его молекуле, а также при помощи реакции Фудживара, образования изонитрила, реакций с резорцином, с реагентом Фелинга и др. Большинство этих реакций дают и некоторые другие хлорсодержащие вещества, имеющие токсикологическое значение.

10.1. Реакция отщепления хлора. ВНИМАНИЕ: Перед выполнением этой реакции необходимо убедиться в том, что в исследуемом дистилляте и в реагентах отсутствуют ионы хлора.

Выполнение реакции. В пробирку вносят 1—2 мл исследуемого дистиллята и 1 мл 10% спиртового раствора гидроксида натрия. Пробирку осторожно нагревают на пламени газовой горелки в течение 3—5 мин. После охлаждения раствор подкисляют 10% раствором азотной кислоты до кислой реакции по лакмусу и прибавляют 0,5 мл 1% раствора нитрата серебра. Появление белого, растворимого в аммиаке осадка, указывает на наличие хлороформа в исследуемом растворе.

Реакция не специфична. Ее дают хлоралгидрат, четыреххлористый углерод, дихлорэтан и др.

10.2. Реакция с резорцином. Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл исследуемого дистиллята и 1 мл 10% свежеприготовленного раствора резорцина в 10% растворе гидроксида натрия. После нагревания пробирки на кипящей водяной бане в течение 5—10 минут появляется розовая или малиновая окраска. Параллельно выполняют «холостой» опыт.

Эту реакцию кроме хлороформа дают четыреххлористый углерод, хлоралгидрат и др. Не дает этой реакции дихлорэтан.

10.3. Реакция образования изонитрила. Выполнение реакции. К 1 мл исследуемого дистиллята прибавляют 10 капель 10% спиртового раствора гидроксида натрия и одну каплю водного раствора анилина. Жидкость нагревают на водяной бане 1—2 мин. Появление неприятного запаха изонитрила указывает на наличие хлороформа. Эту реакцию дают четыреххлористый углерод, хлоралгидрат и др. Дихлорэтан не дает этой реакции.

Изонитрильную реакцию выполняют под тягой. Для разложения изонитрила в использованных для выполнения реакций пробирках их кипятят с 10% раствором серной кислоты.

10.4. Реакция с реагентом Фелинга. Выполнение реакции. В пробирку вносят 2 мл исследуемого дистиллята, 2 мл 10 % раствора гидроксида натрия и 5 капель реагента Фелинга, затем нагревают на водяной бане. При наличии хлороформа в исследуемом растворе выпадает осадок желтого цвета, переходящего в красный.

Кроме хлороформа эту реакцию дают хлоралгидрат, формальдегид, уксусный альдегид. Не дают этой реакции 1, 2-дихлорэтан, дихлорэтил, четыреххлористый углерод и др.

Приготовление реагента Фелинга. Реагент Фелинга: см.п. 6.6.1

Для обнаружения и количественного определения хлороформа в крови и моче, а также в тканях мышцы, внутренних органов и дистиллятах применяют метод газожидкостной хроматографии.

11. Четыреххлористый углерод CCl_4 — прозрачная жидкость со своеобразным запахом (т. кип. 75—77 °C). Он смешивается в любых соотношениях с ацетоном, бензолом, бензином, сероуглеродом и другими органическими растворителями. В воде при 20 °C растворяется около 0,01 % четыреххлористого углерода. Четыреххлористый углерод не огнеопасен, его пары в несколько раз тяжелее воздуха.

Четыреххлористый углерод поступает в организм при вдыхании его паров, а также может поступать через неповрежденную кожу и пищевой канал. Четыреххлористый углерод неравномерно распределяется в организме. Количество его в ткани, богатой жирами, в несколько раз больше, чем в крови. Содержание четыреххлористого углерода в печени и в костном мозге значительно выше, чем в легких. В эритроцитах крови трупов содержится четыреххлористого углерода примерно в 2,5 раза больше, чем в плазме. Он обладает наркотическим действием, поражает центральную нервную систему. Поступление в организм больших его доз вызывает тяжелые дистрофические изменения в печени, почках, сердце и в других органах. Смертельная доза четыреххлористого углерода при приеме внутрь составляет 30—60 мл.

Метаболизм. Четыреххлористый углерод быстро выделяется из организма. Уже через 48 часов после поступления в организм его нельзя обнаружить в выдыхаемом воздухе. Его метаболитами являются хлороформ и оксид углерода. Применяется как растворитель; для экстрагирования жиров и алкалоидов; при производстве фреонов; в огнетушителях; для чистки и обезжиривания одежды в быту и производственных условиях.

Обнаружение четыреххлористого углерода

В химико-токсикологическом анализе для обнаружения четыреххлористого углерода (CCl_4) в дистиллятах применяют ряд реакций, большинство которых дают и другие хлорпроизводные углеводородов.

11.1. Реакция отщепления хлора. Четыреххлористый углерод можно обнаружить по наличию в его молекуле атомов хлора. Выполнение этой реакции описано выше.

11.2. Реакция Фудживара. При нагревании CCl_4 с нитрицином в присутствии щелочи появляется красная окраска. Способ выполнения этой реакции приводится выше.

11.3.Реакция образования изонитрила. Четыреххлористый углерод при взаимодействии с анилином образует изонитрил, имеющий неприятный запах. Выполнение этой реакции описано выше.

11.4.Реакция с резорцином. При нагревании CCl_4 с резорцином в присутствии щелочи появляется розовая или малиново-красная окраска. Способ выполнения этой реакции приведен выше.

11.5.Реакция с 2,7-диоксинафталином. Выполнение реакции. Каплю исследуемой жидкости вносят в пробирку, прибавляют 2 мл циклогексанола, крупинку гидроксида натрия и несколько кристалликов 2,7-диоксинафталина. Смесь нагревают до кипения и продолжают нагревание в течение 45—60секунд. Затем раствор сливают с нерастворившегося гидроксида натрия, охлаждают, прибавляют к нему 2 мл ледяной уксусной кислоты и 4 мл этилового спирта, затем взбалтывают. При наличии CCl_4 появляется светло-бурая окраска, переходящая в зелено-желтую. При этой реакции хлороформ дает темно-красную окраску.

Для обнаружения и количественного определения четыреххлористого углерода в крови и моче, а также в тканях мышцы, внутренних органов и дистиллятах применяют метод газожидкостной хроматографии.

12.Известны два изомера дихлорэтана ($C_2H_4Cl_2$): 1,1-дихлорэтан и 1,2-дихлорэтан.

1,1-Дихлорэтан (хлористый этилиден) CH_3CHCl_2 — бесцветная жидкость (плотность 1,189 при 10 °C), кипящая при 58 °C. 1,2-Дихлорэтан (хлористый этилен) $Cl—CH_2—CH_2—Cl$ — жидкость (плотность 1,252 при 20 °C), кипящая при 83,7 °C. В промышленности 1,2-дихлорэтан более широко используется, чем 1,1-дихлорэтан.

1,2-Дихлорэтан слабо растворяется в воде, хорошо растворяется в большинстве органических растворителей. Он стоек к действию кислот и щелочей. Воспламеняется с трудом. Технический 1,2-дихлорэтан содержит примесь трихлорэтилена $Cl—CH=CCl_2$. Пары 1,2-дихлорэтана проникают в организм через дыхательные пути. Этот препарат в жидком состоянии может проникать в организм через неповрежденную кожу. Известны случаи отравления 1,2-дихлорэтаном, ошибочно принятым внутрь вместо спиртных напитков. Картина отравления 1,2-дихлорэтаном подобна картине отравления четыреххлористым углеродом. 1,2-Дихлорэтан вызывает поражения центральной нервной системы, печени, почек и сердечной мышцы.

После приема токсической дозы 1,2-дихлорэтана внутрь наблюдаются рвота, понос, боли в области печени, вздутие живота, уремия. 15—50 мл 1,2-дихлорэтана в большинстве случаев вызывают смерть. В литературе имеются сведения о том, что 1,2-дихлорэтан оказывает канцерогенное и мутагенное действие на организм (по Р. Лудевигу и К. Лосу, 1983).

12.1. Изолирование дихлорэтана из биологического материала. Изолирование дихлорэтана из биологического материала производится путем перегонки с водяным паром. На исследование берут первые порции дистиллята. **ВНИМАНИЕ: В тех случаях, когда имеются специальные указания провести исследование биологического материала на наличие 1,2-дихлорэтана,**

получают около 300 мл дистиллята, который подвергают повторной перегонке и собирают первые 200 мл дистиллята. Этот дистиллят дважды подвергают перегонке с дефлегматором. Последний дистиллят (объемом 10 мл), полученный при отгонке жидкости с дефлегматором, подвергают исследованию на наличие 1,2-дихлорэтана.

Обнаружение 1,2-дихлорэтана

12.2. Реакция Фудживара. При нагревании 1,2-дихлорэтана с пиридином в присутствии щелочи появляется красная окраска. Выполнение этой реакции производится так, как указано выше.

12.3. Реакция отщепления атомов хлора. (В. А. Назаренко и Н. Б. Лапкина (1952)) Выполнение реакции. В ампулу вместимостью 1 мл вносят 0,5 мл дистиллята (или каплю препарата) и 0,5 мл 10 % раствора карбоната натрия. Ампулу запаивают и на 1 час помещают в кипящую воду. После охлаждения ее вскрывают. Содержимое ампулы переносят в пробирку, прибавляют 10 % раствор азотной кислоты до кислой реакции на лакмус и 3—5 капель 1 % раствора нитрата серебра. Появление белого творожистого осадка хлорида серебра указывает на наличие 1,2-дихлорэтана в пробе.

Эту реакцию дают хлороформ, хлоралгидрат, четыреххлористый углерод, 1,1-дихлорэтан (хлористый этилиден $\text{CH}_3 - \text{CHCl}_2$) и др.

12.4. Реакция образования этиленгликоля и обнаружение его после переведения в формальдегид. Формальдегид. Выполнение реакции. В ампулу вместимостью 1 мл вносят 0,5 мл дистиллята (или 1 каплю препарата) и 0,5 мл 10% раствора карбоната натрия. Ампулу запаивают и в течение 1—2 ч нагревают в кипящей воде. После этого ампулу вынимают из кипящей воды, охлаждают, вскрывают и содержимое переносят в пробирку. К этой жидкости по каплям прибавляют 10 % раствор серной кислоты до кислой реакции по лакмусу, затем прибавляют 2 капли 5 % раствора периодата калия в 1 н. растворе серной кислоты. Через 5 мин наличие формальдегида определяют при помощи реакций хлороформ, хлоралгидрат, четыреххлористый углерод, 1,1-дихлорэтан и др.

12.5. Реакция образования ацетиленида меди. Выполнение реакции. В ампулу вместимостью 1 мл вносят 0,5 мл дистиллята (или каплю жидкости, подлежащей исследованию на наличие дихлорэтана) и 0,5 мл 30 % раствора гидроксида натрия. Ампулу запаивают и нагревают в кипящей воде в течение одного часа. После этого ампулу охлаждают, вскрывают и содержимое переносят в пробирку, в которую прибавляют 30% раствор уксусной кислоты до кислой реакции по лакмусу. К этой жидкости прибавляют 2 капли свежеприготовленного аммиачного раствора соли меди (I). Появление розовой или красно-фиолетовой окраски указывает на наличие 1,2-дихлорэтана в пробе. Эту реакцию также дает 1,1-дихлорэтан (хлористый этилиден).

Не дают этой реакции хлороформ, хлоралгидрат и четыреххлористый углерод. Приготовление аммиачного раствора соли меди. Нитрат меди (аммиачный раствор). В небольшом объеме воды растворяют 1 г нитрата меди (I) и 4 г гидрохлорида гидроксиамина, прибавляют 5 мл 20 % раствора аммиака. Жидкость взбалтывают до обесцвечивания, а затем прибавляют воду до 50 мл.

12.6.Реакция с хинолином. Выполнение реакции. В пробирку вносят 0,2—0,3 мл свежеперегнанного хинолина, прибавляют каплю исследуемой жидкости или каплю этой жидкости в толуоле. Смесь нагревают на пламени газовой горелки или на глицериновой бане (около 200 °C) в течение 3—4 мин. При медленном нагревании появляется бурая или буровато-красная окраска. При быстром нагревании жидкость приобретает синевато-красную окраску. Кроме 1,2-дихлорэтана при нагревании с хинолином дают окраску хлористый, бромистый и йодистый этил. Не дают окраски хлороформ, хлоралгидрат, четыреххлористый углерод, 1,1-дихлорэтан (хлористый этилиден) и др.

Для отличия 1,2-дихлорэтана от хлороформа, хлоралгидрата и четыреххлористого углерода могут быть использованы изонитрильная реакция, реакции с резорцином и реагентом Фелинга. Этих реакций не дает 1,2-дихлорэтан.

Для обнаружения и количественного определения дихлорэтана в крови и моче, а также в тканях мышцы, внутренних органов и дистиллятах применяют метод газожидкостной хроматографии.

13. Этиленгликоль (гликоль; 1,2-диоксиэтан; этиандиол-1,2), HO—CH₂—CH₂—OH — двухатомный спирт, простейший представитель полиолов (многоатомных спиртов). В очищенном виде представляет собой прозрачную бесцветную жидкость слегка маслянистой консистенции. Не имеет запаха и обладает сладковатым вкусом. Токсичен. Попадание этиленгликоля или его растворов в организм человека может привести к необратимым изменениям в организме и к летальному исходу. Исследование проводится при направленном анализе, при направлении трупного материала с целью определения «суррогатов алкоголя», «технических жидкостей» и неизвестного вещества.

13.1.Изолирование этиленгликоля из органов.

К 20г измельченной ткани органа (печень) прибавляется 20мл ацетона, смесь тщательно перемешивается и настаивается в течение 30мин при периодическом перемешивании. Спустя указанное время ацетоновое извлечение сливаются с объекта исследования, а последний вновь настаивается 30мин с новой порцией ацетона (20мл). Водно-ацетоновые извлечения фильтруются в стаканчик, куда прибавляется 0,5г активированного угля. Взвесь фильтруется в выпарительную чашку, при этом фильтр промывается двумя порциями ацетона по 5мл, которые присоединяют к основному фильтрату. Затем фильтрат упаривают под вентилятором в токе горячего воздуха (60 °C) до объема 1мл. К остатку прибавляется 15мл ацетона и после перемешивания с 15г безводного сульфата натрия. Полученную смесь тщательно растирают с пестиком и оставляют на 30мин при периодическом перемешивании. Затем ацетоновое извлечение сливают с осадка и фильтруют в выпарительную чашку, а остаток еще дважды экстрагируют ацетоном. Экстракты объединяют и упаривают приблизительно до объема 1мл.

13.2.Изолирование этиленгликоля из мочи.

К 30мл мочи прибавляют 0,6г активированного угля, перемешивают и фильтруют через увлажненный фильтр в выпарительную чашку. Фильтр

промывают ацетоном дважды по 5мл, которые присоединяют к основному фильтрату. Фильтрат упаривают на кипящей водяной бане приблизительно до объема 15мл, затем нагрев бани уменьшают (температура воды 80°C) и продолжают упаривать приблизительно до объема 1мл. К остатку прибавляют 15мл ацетона и после перемешивания с 15г безводного сульфата натрия. Полученную смесь тщательно растирают пестиком и оставляют на 30мин при периодическом перемешивании. Затем ацетоновое извлечение сливают с осадка и фильтруют в выпарительную чашку, а остаток еще дважды экстрагируют ацетоном. Экстракты объединяют и упаривают приблизительно до объема 1мл.

13.3. Изолирование этиленгликоля из крови

К 10мл крови прибавляют 15мл ацетона, смесь тщательно перемешивают стеклянной палочкой и центрифугируют 20мин при 3000об/мин. Выделившийся водно-ацетоновый слой переносят в стаканчик, куда прибавляют 0,5г активированного угля. Взвесь фильтруют в выпарительную чашку, при этом фильтр промывается 2-мя порциями по 5мл ацетона, которые присоединяют к основному фильтрату. Фильтрат упаривают под вентилятором в токе горячего воздуха (60°C) до исчезновения запаха ацетона. К остатку прибавляют 15мл ацетона и, после перемешивания, 15г безводного сульфата натрия. Полученную смесь растирают пестиком и оставляют на 30мин при периодическом перемешивании. Ацетоновое извлечение сливают с осадка и фильтруют в выпарительную чашку, а остаток вновь дважды экстрагируют ацетоном. Объединенное ацетоновое извлечение выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 5мл ацетона и 1мкл полученного раствора исследуется газохроматографическим методом.

Приготовление контрольных образцов: 10мл крови (либо 10мл мочи), не содержащей этиленгликоль, добавляют 0,10мл 2% раствора этиленгликоля, перемешивают и оставляют на 2 часа. Концентрация этиленгликоля 20мг%.

13.4. Исследование в тонком слое сорбента.

Подвижная фаза ацетон. Время насыщения камеры 20 минут. Длина пробега фронта растворителей 10см. Время хроматографирования 35 минут. После высушивания при комнатной температуре пластиинки обрабатываются реактивами: 0,1% раствором метапериодата натрия до увлажнения, раствором бензидина в смеси растворителей этанол, вода, ацетон, 3,5% раствор хлористоводородной кислоты (0,2г бензидина растворяют в 6мл этанола, после чего прибавляют 5мл дистиллированной воды, 2мл ацетона и 0,15мл 3,5% хлористоводородной кислоты). При наличии этиленгликоля наблюдаются пятна бежевого цвета на синем фоне.

Вторая подвижная фаза: хлороформ – метанол (4:1). Время насыщения камеры 20 минут. Длина пробега фронта растворителей 10см. Время хроматографирования 45 минут. После высушивания при комнатной температуре пластиинку обрабатывают смесью 1% раствора перманганата калия и 2% раствора карбоната натрия (1:1). При наличии этиленгликоля наблюдаются пятна бежевого цвета на красно-фиолетовом фоне

13.5. Газохроматографический метод исследования.

К 0,25мл крови прибавляется 0,5мл раствора внутреннего стандарта (раствор в ацетонитриле 5,5мМ бутандиол-1,2, 35мМ уксусная кислота), центрифугируют 5мин при 8000об/мин. К 0,5мл надосадочного раствора прибавляют 0,25мл дериватизирующего агента (раствор в 2,2-диметоксипропане 80мМ бутилборная кислота, 36мМ соляная кислота), перемешивают, через 1мин прибавляют 50мкл раствора аммиака в ацетонитриле (175мМ). Через 15мин 1мкл полученного раствора исследуется методом ГЖХ.

Параллельно исследуется контрольную кровь, не содержащую этиленгликоль, и кровь, содержащую этиленгликоль в концентрации 100мкг/мл.

Условия хроматографирования: колонка - кварцевая капиллярная «CP Sil 5CB» 30м x 0,25мм, Df=0,25мкм; Термостат колонок: 100⁰С, 3мин, 20⁰С/мин, 150⁰С, 40⁰С/мин, 220⁰С, 2мин; Газ-носитель – гелий, давление газа на входе – 15psi; Инжектор 1177, деление потока 1:30, температура инжектора 280⁰С; Детектор – пламенно-ионизационный, 275⁰С, расход гелия - 30мл/мин, водорода – 30мл/мин, воздуха – 300мл/мин, Range – 12. раствора внутреннего стандарта (раствор в ацетонитриле 5,5мМ бутандиол-1,2, 35мМ уксусная кислота)

Бутандиол-1,2 (или бутандиол-2,3) – 0,495мг/мл 4,95мг/10мл- 5мкл/10мл

Уксусная кислота -2,1мг/мл 21мг/10мл 21мкл/10мл

Растворитель-ацетонитрил

дериватизирующий агент (раствор в 2,2-диметоксипропане 80мМ бутилборная кислота, 36мМ соляная кислота)

Бутилборная кислота- 8,16мг/мл 81,6мг/10мл

Соляная кислота- 30мкл концентрированной в 10мл растворителя

Растворитель- 2,2-диметоксипропан

раствора аммиака в ацетонитриле (175мМ)

Аммиак-30мкл концентрированного в 10мл растворителя

Растворитель - ацетонитрил

Растворы хранить в холодильнике, укупоренными пробками с тефлоновой нижней стороной. Все растворы бесцветные, прозрачные. Из-за не-тефлонового материала пробки дериватизирующий агент может изменить цвет и прийти в негодность.

14. Фенол (гидроксибензол; карболовая кислота; C₆H₅OH; относительная молекулярная масса 94) и крезол (крезиловая кислота; CH₃·C₆H₄OH; относительная молекулярная масса 108) применяются в качестве дезинфицирующих и в производстве пластмасс. Коммерческий крезол представляет смесь орто-, мета- и пара-крезолов, в которой преобладает мета-изомер. По оценкам, минимальная летальная доза фенола или крезола для взрослых составляет 1—2 г.

Как фенол, так и крезол легко всасываются через кожу и желудочно-кишечный тракт при проглатывании. Они выводятся с мочой главным образом в виде глюкуронидных или сульфатных конъюгатов.

Клиническая интерпретация

Фенолы вызывают ожоги и депигментацию кожи, а при проглатывании оказывают разъедающее действие на губы и полость, рта. При тяжелых отравлениях могут отмечаться тошнота, рвота, боли в брюшной полости,

желудочное кровотечение или перфорация, метаболический ацидоз, кома, гипотензия и шок. Возможно наступление смерти в результате угнетения дыхания. Дополнительным осложнением является печеночно-почечная недостаточность, а моча может приобрести темный цвет, обусловленный присутствием свободного гемоглобина.

14.1. Качественный анализ мочи.

Реактивы

1. Реактив Фолина—Чокалтеу. Растворить 100 г вольфрамата натрия и 25 г молибдата натрия в 800 мл очищенной воды в колбе объемом 1,5 л. Добавить 50 мл концентрированной ортофосфорной кислоты (840—900 г/кг) и 100 мл концентрированной соляной кислоты (относительная плотность 1,18) и нагревать с обратным холодильником в течение 10 ч. Охладить, добавить 150 г сульфата лития, 50 мл очищенной воды и 0,5 мл элементарного брома и оставить на 2 ч. Кипятить в течение 15 мин для удаления избытка брома, охладить, отфильтровать (в случае необходимости) и разбавить до 1 л очищенной водой. Это раствор желтого цвета, который не теряет устойчивости в течение 4 мес, если хранится при 4°C. Можно также приобрести готовый реактив Фолина—Чокалтеу.

2. Водный раствор гидроксида натрия (2 моль/л).

Метод

1. Разбавить 1 мл реактива Фолина—Чокалтеу, добавляя 2 мл очищенной воды, и затем добавить 1 мл мочи.
2. Добавить 1 мл раствора гидроксида натрия и перемешивать вихревой мешалкой в течение 5 с.

Результаты

Синий цвет свидетельствует о присутствии фенольного соединения.

Галогенированные фенолы, такие как 2,4,6-трихлорфенол, дают менее интенсивную реакцию, чем негалогенированные.

Чувствительность

Фенол, 10 мг/л.

15.2. Исследование тканей органов.

100 г печени измельчают, смешивают с дистиллированной водой до кашицеобразной массы, подкисляют 10% раствором щавелевой кислоты до кислой реакции и перегоняют с водяным паром.

Полученные дистилляты объединяют, подщелачивают 8% раствором гидрокарбоната натрия до pH около 7 и извлекают эфиром порциями по 50 мл трижды. Эфирные извлечения объединяют и выпаривают при комнатной температуре до сухого остатка.

Чашку тщательно обрабатывают 3 мл дистиллированной воды, полученный раствор переносят в пробирку и делят на две части. К первой части прибавляют по каплям бромную воду до сохраняющегося светло-желтого цвета раствора. Образование белого или желтого осадка или мути указывает на наличие фенолов.

Ко второй части раствора прибавляют 2 капли 5% раствора хлорида железа (III). При наличии в пробе лизола наблюдается образование зеленовато-серого

окрашивания, при наличии орто - крезола наблюдается синее окрашивание, при наличии фенола наблюдается сине-фиолетовое окрашивание.

Затем чашку обрабатывают 0,1 % раствором гидроксида натрия, полученный раствор делят на две части. К первой части прибавляют по каплям бромную воду до сохраняющегося желтого окрашивания. При наличии орто - крезола наблюдается образование ярко-желтого осадка. Ко второй части раствора прибавляется 2 капли свежеприготовленного 5% раствора хлорида железа (III). В присутствии орто - крезола наблюдается образование грязно-зеленого окрашивания.

15. Метилбензол; толуол применяется в качестве растворителя в составе клеев, красок и смывок (которые часто содержат также дихлорметан или метанол) и в промышленных целях. Острое отравление толуолом обычно наступает в результате случайного массивного воздействия этого соединения или его намеренного вдыхания (вдыхание носом запаха клея, злоупотребление растворителями). Около 80 % дозы толуола метаболизируется до бензойной кислоты, которая, конъюгируясь с глицином, образует гиппуровую кислоту. Метаболизм. Толуол попадает в организм главным образом через дыхательные пути и, в меньшей степени, через кожу. Он проникает через альвеолярный барьер при смеси кровь/воздух в соотношении от 11,2 до 15,6 в , а затем распределяется по различным тканям в количествах, зависящих от их перфузии и растворимости.

Соотношение содержания толуола в тканях и крови составляет 1:3, за исключением богатых жиром тканей, где пропорция имеет вид 80:100. Затем в микросомах печени происходит окисление боковых цепочек толуола (микросомнаяmonoоксигенация). Наиболее важным продуктом этого преобразования, которому подвергается приблизительно 68% поглощенного толуола, является гиппуровая кислота (ГК), которая выделяется почками в мочу главным образом в проксимальных канальцах. Период полувыделения из организма ГК очень короток и составляет от 1 до 2 часов.

Острое и хроническое отравление. Непосредственная токсичность толуола несколько выше, чем у бензола. При концентрации около 200 - 240 через 3 - 7 часов появляется головокружение, слабость, нарушение чувства равновесия и головные боли. Более высокие концентрации могут вызвать наркотическую кому.

Признаки хронического отравления обычно связаны с воздействием распространенных растворителей и включают в себя раздражение слизистой оболочки, эйфорию, головные боли, головокружение, тошноту, потерю аппетита и непереносимость алкоголя. Эти симптомы появляются обычно в конце дня, становятся более интенсивными к концу недели и ослабевают или исчезают совсем после выходных или праздников.

Внезапная смерть, особенно среди детей и подростков, может наступить при вдыхании клея (содержавшие, помимо других растворителей, толуол) в результате остановки сердца из-за фибрилляции желудочков и потери катехоламинов.

Определение количества выводимого с мочой гиппурата можно использовать как показатель хронического воздействия толуола, однако гиппурат образуется также в результате метаболизма бензоата натрия и бензойной кислоты, применяемых в качестве пищевых консервантов, поэтому результаты анализа следует интерпретировать с осторожностью.

15.1. Газохроматографическое исследование. Условия хроматографического анализа: температура колонки 150°C, газ-носитель азот, детектор - ионизационно-пламенный. Объем вводимой пробы — 10 мкл. парогазовой фазы.

Приготовление пробы: 2,0 г. ткани органа поместить во флакон, добавить 700 мг хлорида натрия, плотно закрыть, нагревать при 100°C в течение 20 минут. Для подтверждения результата исследования использовать метод «добавок», либо провести дополнительное исследование с изменением условий газохроматографического исследования (температуры условия, смена хроматографической колонки и т.п.).

15.2. Количественный анализ мочи.

Реактивы

1. Водная соляная кислота (0,05 моль/л).
2. Реактив, содержащий **диметиламинобензальдегид** (*пара*-диметиламинобензальдегид (40 г/л) в уксусном ангидриде, содержащем несколько кристаллов (около 0,5 г) безводного ацетата натрия).
3. Хлорид натрия (твердый).
4. Осажденный кремнезем.

Стандарты

Контрольная моча плюс моча с добавленной в нее гиппуровой кислотой в концентрациях 0,2, 6,5, 1,0 и 2,0 г/л. Все пробы должны быть приготовлены из одного образца мочи. Эти растворы сохраняют стабильность в течение 1 мес, если хранятся в темноте при 4°C.

Метод

1. Довести pH образца или стандарта объемом 1,0 мл до 2, разбавляя соляной кислотой, и добавлять хлорид натрия до насыщения раствора.
2. Добавить 2 мл смеси диэтиловый эфир:метанол (9:1), перемешивать вихревой мешалкой в течение 1 мин и центрифугировать в течение 5 мин.
3. Перенести с помощью аспиратора верхний эфирный слой в чистую пробирку и повторно экстрагировать водную фазу, добавив еще 2 мл смеси диэтиловый эфир:метанол (9:1).
4. Объединить эфирные экстракты и добавить 1 мл смеси к осажденному диоксиду кремния (кремнезём, SiO_2)—оксид кремния(IV) (около 0,5 г) в чистой пробирке.
5. Удалить растворитель под струей сжатого воздуха или азота, добавить 3 мл реактива, содержащего диметиламинобензальдегид, и нагревать на нагревательном блоке при 135°C в течение 5 мин.
6. Охладить, добавить 4 мл метанола, перемешивать вихревой мешалкой в течение 1 мин и центрифугировать в течение 5 мин.

7. Перенести аспиратором метаноловый экстракт в чистую пробирку и повторно экстрагировать кремнеземом, добавив еще 4 мл метанола.

8. Объединить метанольные экстракты и измерить величину поглощающей способности при 460 нм относительно экстракта контрольной мочи

Результаты

Построить калибровочную кривую по данным анализа стандартных растворов гиппуровой кислоты и рассчитать концентрацию гиппуровой кислоты в образце. В анализе важно использовать порцию той же мочи, из которой готовили стандарты в целях контроля, поскольку, как отмечалось выше, выведение гиппурата варьируется в зависимости от количества поглощенного с пищей бензоата.

Чувствительность

Гиппурат, 0,1 г/л.

В норме концентрации гиппуровой кислоты в моче составляют 0,1—0,2 г/л; концентрации, превышающие 1 г/л, свидетельствуют о воздействии толуола, если при этом можно исключить другие возможные источники бензоата. При остром отравлении толуолом смерть может наступить до того, как повысится уровень экстракции гиппурата.

16. Бензол (C_6H_6) — органическое химическое соединение, бесцветная жидкость со специфическим сладковатым запахом. Простейший ароматический углеводород. Бензол входит в состав бензина, широко применяется в промышленности, является исходным сырьем для производства лекарств, различных пластмасс, синтетической резины, красителей. Токсичен, канцерогенен. Механизм действия. Бензол обычно попадает в организм через легкие и желудочно-кишечный тракт. Бензол распределяется по всему телу и метаболизируется, в основном, в фенол, который после конъюгации выделяется с мочой. После прекращения воздействия содержание бензола в тканях быстро снижается.

16.1. Исследование дистиллята. 20 мл второго дистиллята и 40 мл третьего объединяют и 3 x 10 мл x 5 мин экстрагировали хлороформом. Хлороформные извлечения объединяют, добавляют 10-12 гранул безводного хлорида кальция и через 10 мин фильтруют через бумажный фильтр. После этого хлороформный раствор 1 час интенсивно взбалтывают с 5 мл 10% раствора нитрата аммония в концентрированной серной кислоте. После охлаждения смесь выливают в 30 мл дистиллированной воды, хлороформный слой удаляют, водный слой нейтрализуют 25% раствором амиака до pH 5, и 2 x 10 мл x 5 мин экстрагируют хлороформом. Хлороформные слои отделяют, фильтруют через фильтр с безводным сульфатом натрия и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 2 мл ацетона и 3 капли 5% раствора гидроксида натрия. Параллельно проводят реакцию с дистиллированной водой и с раствором бензола (200 мкг/мл). При наличии бензола наблюдается красно-фиолетовое окрашивание.

17. Ксилол — бесцветная жидкость со своеобразным запахом. Содержится в продуктах нефтепереработки. Применяется как растворитель лаков и красок, а также как высокооктановая добавка к авиационным бензинам.

Смертельная доза ксилола при приеме внутрь — около 50–70 мл, острое ингаляционное отравление с быстрой потерей сознания и смертью через 5 часов наступает при вдыхании паров с концентрацией 5 мг/л. Ксилол может проникать в организм через неповрежденную кожу. При длительном воздействии даже на небольшой участок кожи возможны тяжелые отравления. По общему характеру действия на организм ксилол относится к наркотически-судорожным ядам, а при длительном воздействии небольших доз (хроническое отравление) он является типичным кровяным ядом.

Объектами исследования являются стенка желудка и содержимое желудка. Газохроматографическое исследование. Условия хроматографического анализа: температура колонки 150 С, газ-носитель азот, детектор - ионизационно-пламенный. Объем вводимой ягоды — 10 мкл. парогазовой фазы.

Приготовление пробы: 2,0 г. стенки желудка и 0,5 мл. содержимого желудка поместить во флакон, добавить по 700 мг хлорида натрия, плотно закрыть, нагревать при 100°C в течение 20 минут.

Для подтверждения результата исследования использовать метод «добавок», либо провести дополнительное исследование с изменением условий газохроматографического исследования (температуры условия, смена хроматографической колонки и т.п.).

5. Заключение

С помощью метода перегонки с водяным паром производится изолирование большой группы ядовитых и сильнодействующих веществ из биологического материала. К этой группе веществ относятся представители различных классов химических соединений: синильная кислота, некоторые спирты алифатического ряда, альдегиды, кетоны, карболовые кислоты, галогенопроизводные углеводородов алифатического ряда, бензол, фенолы, амино- и нитроизвестные ароматического ряда и некоторые другие вещества.

Технология химико-токсикологического исследования должна базироваться на использовании комплекса методов, включающего последовательно выполняемые этапы химико-токсикологического анализа от проведения предварительного скрининга до идентификации и количественного определения веществ с применением специфичных методов.

Выбор того или иного метода при проведении химико-токсикологического анализа зависит от задач исследования, экономических возможностей и оснащенности лаборатории.

Описанная процедура является сводом методик используемых в химико-токсикологическом исследовании на данную группу веществ и предназначена для идентификации и количественного определения «летучих» веществ в биологических объектах и объектов не биологического происхождения .

6. Список использованных источников

1. М.Д.Швайкова./ Токсикологическая химия. / М., Медицина, 1975
2. Крамаренко В.Ф./ Токсикологическая химия./ Киев, «Выща школа», 1989
3. Основы аналитической токсикологии./ Р. Дж. Фланаган и соавт./ ВОЗ, Женева, 1997

4. Об определении синильной кислоты при судебно-химическом исследовании биологического материала. Методические указания./ МЗ СССР, М., 1980
5. Вредные вещества в промышленности. Справочник./ под общей ред. проф. Н.В. Лазаарева./ «Химия», Ленинградское отделение, 1977, т.III
6. Г.И. Оксентгендер/ Яды и противоядия./ Л., Наука, 1982, с138.