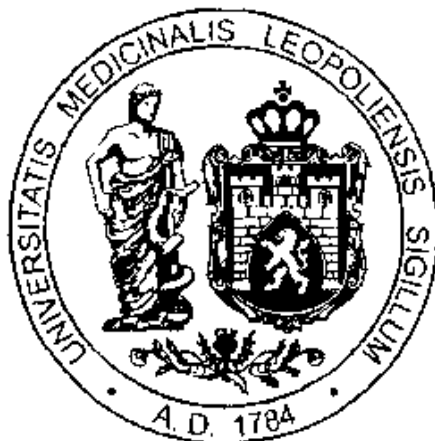


**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького**

Кафедра токсикологічної та аналітичної хімії



**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ
З ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ**

(Модуль 1)

для студентів IV курсу фармацевтичного факультету
зі спеціальності „Фармація” IV рівня акредитації

Львів – 2013

Методичні рекомендації розроблені згідно до програми з токсикологічної хімії, затвердженої МОЗ України 05.04.2012 р.

Опрацьовані методичні вказівки призначені для здійснення навчального процесу за кредитно-модульною системою організації навчального процесу (КМСОНП).

Методичні вказівки уклали: доц. Кучер М.М., доц. Галькевич І.Й., доц. Федущак Н.К., доц. Бідниченко Ю.Й., доц. Вельчинська О.В., ст. викл. Костишин Л.П., ст.викл. Крамаренко С.Ю., ас. Кубрак З.В.

Рецензенти:

Завідувач кафедри фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького проф. О.Р. Піняжко.

Завідувач кафедри загальної, біонеорганічної та фізикоїдної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького доц. В.В. Огурцов.

Методичні вказівки обговорені на засіданні кафедри токсикологічної та аналітичної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і рекомендовані до розгляду профільною методичною комісією з фармацевтичних дисциплін (Протокол № 8 від 17 січня 2013 року)

Методичні вказівки затверджені профільною методичною комісією з фармацевтичних дисциплін (Протокол № 1 від 29 січня 2013 р.) і рекомендовані до розгляду на ЦМК ЦМК Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Відповідальний за випуск:
проректор з навчальної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького професор М.Р. Гжегоцький

ВСТУП

Людство в даний час живе в умовах токсикологічної напруженості, яка зумовлена глобальними екологічними і техногенними катастрофами, шкідливими умовами праці (професійні хвороби), забрудненням навколишнього середовища (повітря, вода, ґрунт, продукти харчування), нещасними випадками у побуті та роботі, а також різними захворюваннями хімічної етіології, які виникають з кримінальних чи суїцидальних причин. У зв'язку з цим виникає необхідність своєчасного виявлення і попередження даного виду патології.

Токсикологічна хімія, як наука, виникла з потреб токсикології і є однією з її складових частин. Основним змістом токсикологічної хімії є профілактика і діагностика отруєнь хімічної етіології.

Важливою особливістю токсикологічної хімії є зростання номенклатури токсичних речовин внаслідок впровадження у всі сфери життєдіяльності людини нових хімічних сполук і матеріалів.

Токсикологічна хімія складається із 2 розділів: біохімічної токсикології та токсикології. *Біохімічна токсикологія* вивчає механізми токсичної дії речовин на організм: кінетика всмоктування, розподілу, виділення, механізми метаболічних реакцій, шляхи і механізми транспорту речовин та їх елімінації. *Аналітична токсикологія* вивчає способи і методи виділення (ізолювання), ідентифікації та кількісного визначення токсичних речовин.

Клінічна токсикологія вивчає гострі і хронічні захворювання, викликані токсичними хімічними речовинами, з метою наукового обґрунтування методів діагностики, профілактики і терапії отруєнь. У зв'язку з цим завдання в клінічній токсикології поділяють на діагностичні, лікувальні та профілактичні.

Методи аналізу, опрацьовані токсикологічною хімією, використовуються для проведення **хіміко-токсикологічного (судово-токсикологічного) аналізу** в теоретичній, клінічній, профілактичній і судовій токсикології та у фармації.

В **теоретичній токсикології** хіміко-токсикологічний аналіз застосовується при вивченні токсичності та закономірностей токсикокінетики нових хімічних речовин та сумішей; у **клінічній токсикології** – для виявлення та визначення токсичних речовин у рідинах організму з метою діагностики отруєння хімічними сполуками і визначення ефективності детоксикаційних заходів; в **профілактичній токсикології** – при визначенні концентрації шкідливих речовин у повітрі робочої зони та атмосферному повітрі, у воді, ґрунті та в продуктах харчування рослинного й тваринного походження з метою запобігання негативного впливу на людей і тварин; в **судовій токсикології** – для дослідження тканин внутрішніх органів і рідин організму, трупів людей з метою встановлення причини смерті та для дослідження інших об'єктів, які могли містити токсичні речовини і бути причиною отруєння.

При викладанні теоретичного курсу токсикологічної хімії особлива увага приділяється системному підходу до вивчення токсичності отруйних речовин, методів прижиттєвої і посмертної лабораторної діагностики отруєнь, що дозволяє правильно інтерпретувати результати аналізу. Лабораторні заняття сприяють формуванню у студентів хіміко-експертного мислення та виробленню вмінь і навичок з лабораторних методів визначення ксенобіотиків та їх метаболітів в об'єктах біологічного походження. Важливе значення при цьому надається розв'язуванню експериментальних задач, для вирішення яких студенти складають план дослідження (вибирають оптимальні методи виділення, виявлення і визначення отрут в біологічних пробах), аналізують одержані результати, складають експертні висновки чи акти судово-токсикологічного дослідження.

Групи отруйних речовин (або окремі отрути) студенти вивчають в такій логічній послідовності:

- застосування і токсикологічне значення;
- фізичні і хімічні властивості;
- закономірності токсикокінетики: шляхи проникнення в організм, механізм всмоктування, розподіл в організмі, напрямки і закономірності біотрансформації, шляхи і закономірності елімінації, механізми токсичної дії та методи детоксикації організму;
- методи виділення з різних об'єктів дослідження;

– підготовка проб до аналізу, методи виявлення і визначення токсикологічно важливих речовин.

Виконана на занятті лабораторна робота та отримані результати оформляються у вигляді протоколу. В кінці заняття проводиться захист протоколу, який включає його перевірку, а також письмові та усні відповіді студента.

Кількість годин, відведених для лекцій і лабораторних занять є недостатньою для успішного засвоєння всього матеріалу, тому для студентів передбачена систематична самостійна робота.

ПРАВИЛА РОБОТИ В ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Загальні правила

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

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

3. Проби у пробірках нагрівають на водяному нагрівнику.

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

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

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

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

б) перед вмиканням в електромережу центрифугу необхідно закрити;

в) збільшувати швидкість обертання ротора центрифуги поступово;

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

д) центрифуга обов'язково повинна бути заземлена.

Категорично забороняється працювати із несправною центрифугою.

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

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

Категорично забороняється працювати із вказаними речовинами на робочому місці.

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

10. Газові пальники повинні бути справні. При їх несправності в приміщення лабораторії будуть попадати продукти неповного згоряння газу, які можуть бути причиною отруєння.

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

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

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

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

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

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

13. Необхідно пам'ятати:

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

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

Робота з кислотами і лугами

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

2. При розведенні концентрованої сульфатної кислоти **необхідно обережно і повільно приливати кислоту до води, а не навпаки.**

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

а) одягнути гумові рукавиці, фартух і захисні окуляри;

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

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

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

Робота зі шкідливими і токсичними речовинами

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

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

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

Робота з горючими та легкозаймистими речовинами

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

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

3. При роботі з легкозаймистими речовинами не можна доливати їх до суміші реагуючих речовин із штанглазів великого розміру. Необхідну кількість цих речовин чи їх

розчинів слід налити в чисту пробірку, а потім з неї доливати ці рідини до досліджуваного розчину.

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

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

6. Лужні метали слід обов'язково зберігати під шаром вільного від води і вологи газу. При роботі з металічним натрієм чи калієм недопустимою є їх взаємодія з водою. Після закінчення роботи залишок цих металів необхідно перенести в спеціально відведений для цього посуд. Забороняється викидати металічний натрій і калій в раковину або в склянки, що призначені для відливання інших рідин.

Робота з речовинами, що утворюють вибухонебезпечні суміші

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

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

Робота з біологічними рідинами та тканинами внутрішніх органів трупів людей

При роботі з біологічним матеріалом існує небезпека: а) проникнення в організм токсичних речовин (особливо інгаляційним та перкутанним шляхами); б) зараження збудниками інфекційних хвороб (СНІДу, вірусних гепатитів, лептоспірозу, сказу, дифтерії тощо); в) зараження птомаїнами («трупними алкалоїдами»).

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

Техніка безпеки при роботі з газовими хроматографами

1. У приміщенні, де одночасно працюють декілька газових хроматографів, обов'язково повинна бути загально-обмінна вентиляція. Крім того над кожним хроматографом бажана наявність пристрою для місцевого відсмоктування відпрацьованих газів. Вентилятор з мотором повинні розташовуватися і кріпитися таким чином, щоб їх вібрація не відбивалася на роботі приладів.

2. Балони зі стислими газами (аргон, азот, гелій, повітря і особливо водень) повинні зберігатися у залізних контейнерах (окремому для кожного балона), ззовні будівлі, із захистом від сонячних променів у вигляді дерев'яного накриття або чохла.

3. Лінії для підведення газу повинні бути виготовлені з мідних трубок, або з неіржавіючої сталі, діаметром 3–4 мм, зварених в місцях з'єднань. Лінії повинні бути перевірені на герметичність при тиску газів біля 10 атм, результати перевірки оформляються у вигляді актів. Металеві трубки для газових ліній необхідно по кілька разів промивати розчинником (бензолом, хлороформом, ефіром), після чого тривалий час продувати інертним газом. Для ліній таких газів як азот і повітря, для тиску 2-3 атм дозволяється застосування товстостінних шлангів.

4. Кабінети і лабораторії газової хроматографії рекомендується розташовувати на першому і другому поверхах.

5. Ні в якому разі не можна допускати витоків газів з балонів і ліній. При падінні тиску на манометрі потрібно виявити місця можливих витоків і негайно ліквідувати виявлену негерметичність. При сильних втратах газу необхідно повністю перекрыти вентиль на балоні з газом.

6. У приміщеннях, де проводяться роботи на газових хроматографах з водневими полум'яно-іонізаційними детекторами, суворо забороняється куріння і запалювання вогню. Не можна підпалювати сірником водневе полум'я.

7. Роботи на газових хроматографах не проводяться однією особою, оскільки у разі розриву газової лінії, особливо водневої, працюючому повинна бути надана негайна допомога.

8. Всі контакти приладів, які знаходяться під напругою понад 127 в, повинні бути надійно ізольовані.

9. Скляні посудини, в яких можуть міститися вибухонебезпечні гази і рідини (газові піпетки, судини Дьюара, пляшки і інші ємності) повинні бути обмотані ізоляційною стрічкою або вміщені в чохли з металевої сітки.

10. Такі ж запобіжні засоби потрібно приймати при переміщенні скляного посуду.

11. При приготуванні стандартних газоподібних сумішей, до складу яких входять горючі речовини, необхідно враховувати можливість утворення вибухонебезпечних сумішей з повітрям.

Перша допомога при нещасних випадках

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

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

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

3. При попаданні на шкіру фенолу, бромю чи інших подразнюючих речовин ушкоджене місце необхідно промити відповідним органічним розчинником (спиртом, бензолом, бензином, ефіром тощо).

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

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

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

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

Ліквідація пожежі

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

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

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

«Токсикологічна хімія» як навчальна дисципліна:

а) базується на знаннях, вміннях та навичках отриманих студентами при вивченні попередніх дисциплін, а саме: неорганічної, біонеорганічної, фізичної та колоїдної хімії (властивості елементів і їх сполук, основи хімічної кінетики, теорія термодинаміки фазової рівноваги, розчинів електrolітів, іонної рівноваги, поверхневих явищ, способи розрахунку хімічної рівноваги за відомими вихідними концентраціями і константами рівноваги, основи екстракційних процесів), органічної та біоорганічної хімії (властивості органічних сполук, природа хімічних зв'язків та електронні уявлення про будову органічних сполук, механізми реакцій органічних сполук в організмі та поза організмом, методи аналізу в органічній хімії), аналітичної хімії (загальні питання аналізу слідових кількостей речовин, сучасні хімічні,

фізичні та фізико-хімічні методи аналізу), біологічної хімії (основні закономірності метаболізму лікарських засобів, біохімічні основи індивідуальної варіабельності метаболізму ліків, клітинні мембрани, їх властивості, механізм транспорту ксенобіотиків), фармацевтичної хімії (властивості лікарських засобів і методи їх аналізу), ботаніки (діагностичні ознаки рослин, які використовуються при визначенні сировини, основні фізіологічні процеси, що відбуваються в рослинному організмі), фармакогнозії (отруйні лікарські рослини, лікарські рослини, що містять алкалоїди, глікозиди, токсини тваринного походження, елементи фармакогностичного аналізу), фармакології, фармакотерапії, клінічної фармації, токсикології (принципи дії лікарських засобів, їх взаємодія з рецепторами, фармакодинаміка, фармакокінетика, основи математичного моделювання фармакокінетичних процесів, побічні дії ліків, отруєння ліками, лікарська залежність і зловживання ліками), медичної і біологічної фізики (фізичні методи дослідження, основи оптики, квантової механіки, основи термодинаміки, ідеальні і реальні гази, поверхневі явища - адсорбція, десорбція, біофізика біологічних мембран і процеси переносу через мембрани), основ вищої математики, статистики та інформатики (статистичний аналіз експериментальних даних і сучасне математичне забезпечення інформатики та обчислювальної техніки), технології лікарських засобів (основи біофармації, вплив лікарських форм на біодоступність лікарських засобів, продукти вторинного метаболізму), медичного та фармацевтичного товарознавства (основні етапи товарознавчого аналізу фармацевтичних препаратів), організації та економіки фармації (основні положення законодавчих актів, урядових постанов, наказів у галузі охорони здоров'я населення та діяльності у сфері обігу лікарських засобів, принципи правового і державного регулювання відносин у сфері обігу лікарських речовин, структура та порядок функціонування державної системи контролю якості, ефективності та безпеки лікарських засобів, форми контролю за діяльністю фармацевтичних організацій), анатомії, нормальної і патологічної фізіології та інтегрується з цими дисциплінами;

б) закладає основи знань, вмінь та навиків для роботи в галузі хіміко-токсикологічних, судово-токсикологічних, санітарно-гігієнічних досліджень (прижиттєва та посмертна діагностики отруєнь, контроль якості продовольчої сировини, продуктів харчування та харчових добавок, контроль якості парфумерних та косметичних засобів, аналіз засобів побутової хімії, дослідження об'єктів навколишнього середовища (вода, повітря, ґрунт, предмети побуту тощо);

в) формує основи знань з біотрансформації ксенобіотиків, з токсикодинаміки та токсикокінетики отруйних речовин, з механізму токсичної дії отрут, з проведення диференціальної діагностики гострих отруєнь, з методів природної і штучної детоксикації організму та специфічної антидотної терапії;

г) закладає основи здорового способу життя та профілактики наркологічних захворювань, токсикоманій, алкоголізму і тютюнозалежності у процесі життєдіяльності.

Навчальний процес здійснюється за кредитно-модульною системою організації навчального процесу (КМСОНП).

МЕТА ВИВЧЕННЯ (КІНЦЕВІ ЦІЛІ) ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

Студент повинен засвоїти:

- предмет, завдання і основні розділи токсикологічної хімії, галузі її застосування;
- класифікації отрут та отруєнь;
- класифікацію отруйних речовин за методами виділення їх з об'єктів біологічного походження;
- основні нормативні документи, які регламентують судово-токсикологічний і хіміко-токсикологічний аналіз;
- техніку безпеки і правила роботи в хіміко-токсикологічній (судово-токсикологічній) лабораторії;
- теоретичні основи методів виділення отруйних речовин з біологічного матеріалу, їх виявлення, ідентифікацію та кількісне визначення за допомогою хімічних та фізико-хімічних методів;

- шляхи поступлення отрут в організм та виведення з організму, їх токсикокінетику, розподіл в організмі, зберігання в трупному матеріалі та вплив зазначених процесів на результати хіміко-токсикологічного аналізу;
- токсикодинаміку отрут в організмі, механізми токсичної дії отрут;
- методи активної та штучної детоксикації, специфічної (антидотної) терапії.

Студент повинен вміти:

- проаналізувати дані з навчальної і спеціальної літератури при вирішенні професійних завдань, пов'язаних з судово-токсикологічним аналізом та експрес-діагностикою гострих отруєнь;
 - запропонувати методи виділення і аналізу отрут, виходячи з їх природи, характеру і стану об'єкта дослідження;
 - скласти план та вибрати оптимальний хід хіміко-токсикологічного дослідження;
 - проводити виділення отруйних речовин та їх метаболітів з об'єктів біологічного походження (ізолювання, очищення, концентрування);
 - проводити виявлення і кількісне визначення виділених отрут за допомогою хімічних, біохімічних і фізико-хімічних методів дослідження;
 - оцінювати одержані результати з урахуванням обставин справи: токсикокінетика, зберігання в трупі, проведення медичних заходів при детоксикації, вікові, статеві та інші фактори;
 - аналізувати та інтерпретувати отримані при дослідженні результати;
 - робити правильні висновки при комбінованих отруєннях;
 - проводити експрес-аналіз гострих інтоксикацій з метою надання кваліфікованої медичної допомоги;
 - проводити диференціальну діагностику гострих отруєнь;
 - визначати тактику профілактичних заходів та невідкладної допомоги.
 - задокументувати проведення судово-токсикологічних досліджень (ведення робочого журналу, написання акту судово-токсикологічного дослідження).

Студент повинен оволодіти навичками:

- проведення дослідження отрут за допомогою попередніх проб (скринінг-тести).
- проведення виділення отрут із внутрішніх органів трупів, крові та сечі.
- проведення виявлення та ідентифікації отрут, виділених із об'єктів дослідження за допомогою хімічних реакцій (барвні, осадові, мікрокристалоскопічні), фізико-хімічних методів (спектрофотометричні, хроматографічні, електрофоретичні, флуоресцентні), фізіологічних проб та імуноферментних методів аналізу.
- проведення кількісного визначення отрут, виділених із об'єктів дослідження.

Структурований план дисципліни «Токсикологічна хімія»

Структура навчальної дисципліни	Кількість годин, з них				Семестр
	Всього	Аудиторних		СРС	
		Годин кредитів ESTS	Лекцій		
Весь предмет (3 модулі)	216 / 6,0	30	70	116	VIII, IX
Модуль 1 Змістових модулів - 2	72 / 2,0	10	30	32	VIII
Підсумковий модульний контроль (в т.ч.)			2	2	VIII
Модуль 2 Змістових модулів - 2	72 / 2,0	12	24	36	IX

Підсумковий модульний контроль (в т.ч.)			2	2	IX
Модуль 3 Змістових модулів - 2	72 / 2,0	8	16	48	IX
Підсумковий модульний контроль (в т.ч.)			2	2	IX

Види контролю: Поточний та підсумковий (знань, навичок, вмінь) за теоретичними, тестовими і практичними завданнями.

Модуль 1. Основи токсикологічної хімії та хіміко-токсикологічного аналізу. Групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу настоюванням досліджуваних об'єктів водою (мінеральні кислоти, луги та їх солі), дистиляцією з водяною парою (леткі речовини) та мінералізацією (метали). Основні закономірності поведінки цих груп отруйних речовин в організмі: токсикодинаміка, токсикокінетика та розподіл в тканинах організму. Методи виділення із об'єктів дослідження та методи аналізу цих отрут. Методи детоксикації при отруєннях.

Змістовий модуль 1. Основи токсикологічної хімії та хіміко-токсикологічного аналізу. Основні закономірності поведінки отруйних речовин в організмі. Складання плану судово-токсикологічного дослідження. Токсикологічна характеристика та методи хіміко-токсикологічного аналізу групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу настоюванням досліджуваних об'єктів водою (мінеральні кислоти, луги та їх солі) та отрут, які ізолюються з біологічного матеріалу дистиляцією з водяною парою (леткі речовини).

Конкретні цілі змістового модуля 1:

- Засвоїти правила безпечної праці з легкозаймистими, вибухонебезпечними і отруйними речовинами в хіміко-токсикологічній лабораторії та способи надання першої медичної допомоги;
- Знати основи токсикології, токсикодинаміки, токсикокінетики, токсикометрії.
- Знати види токсичної дії та визначення токсичних доз.
- Визначити предмет токсикологічної хімії, засвоїти основні розділи токсикологічної хімії, особливості хіміко-токсикологічного аналізу, порядок проведення та документацію судово-токсикологічних (хіміко-токсикологічних) експертиз;
- Засвоїти визначення понять «отрута», «отруєння», класифікації отрут та отруєнь;
- Засвоїти загальні закономірності поведінки отруйних речовин різних груп в організмі (шляхи надходження, розподіл, кумуляція, виведення, метаболізм);
- Засвоїти перелік, характеристики та засоби консервування об'єктів дослідження;
- Продемонструвати опис, проведення зовнішнього огляду та попередніх випробувань об'єктів аналізу (на прикладі модельних задач);
- Провести попередні проби на наявність окремих токсичних летких речовин в об'єктах дослідження;
- Скласти план судово-токсикологічного аналізу;
- Засвоїти метод виділення мінеральних кислот, лугів та деяких солей (нітратів та нітритів) з біологічного матеріалу та виявлення вказаних речовин в діалізатах;
- Засвоїти методи детоксикації при отруєннях леткими речовинами, мінеральними кислотами, лугами та їх солями.
- Засвоїти загальну характеристику груп летких речовин, використання в народному господарстві та медицині, основні закономірності поведінки в організмі (шляхи надходження, розподіл, кумуляція, виведення, метаболізм, токсичність), специфічні антидоти при отруєннях зазначеними речовинами;

- Засвоїти особливості проведення виділення летких речовин методом дистиляції з водяною парою;
- Продемонструвати виявлення, ідентифікацію та кількісне визначення летких речовин в дистилятах хімічними реакціями та методом газорідинної хроматографії;
- Засвоїти особливості газохроматографічного аналізу летких речовин, зокрема спиртів (включно «сивушних» олій) в сечі та крові методом парофазного аналізу (газової екстракції);
- Засвоїти загальні принципи інтерпретації результатів судово-токсикологічних досліджень;
- Вміти написати Акт (Висновок) судово-токсикологічного дослідження.

Тема 1. *Техніка безпеки, правила та порядок роботи в лабораторії токсикологічної хімії. Зміст і завдання хіміко-токсикологічного аналізу. Зовнішній огляд і попередні випробування об'єкта дослідження.*

Зміст навчального матеріалу Темі 1.

Основи токсикології, її мета, завдання, місце серед інших фармацевтичних дисциплін. Поняття про токсикодинаміку, токсикокінетику. Види токсичної дії. Токсичні дози. Аналітична та прикладна токсикології. Аналітична діагностика гострих отруєнь. Аналітична діагностика професійних захворювань.

Основи клінічної токсикології, її мета, завдання, місце серед інших фармацевтичних дисциплін. Предмет вивчення екологічної токсикології. Токсикометрія, її завдання та основні параметри.

Токсикологічна хімія, її розділи, зміст та завдання. Судово-токсикологічний та хіміко-токсикологічний аналіз. Взаємозв'язок токсикології з токсикологічною хімією та судовою хімією. Напрями, цілі та завдання хіміко-токсикологічного аналізу. Основні етапи хіміко-токсикологічного аналізу. Використання хіміко-токсикологічного аналізу у теоретичній токсикології, клінічній токсикології, профілактичній токсикології та у судовій токсикології.

Етапи становлення та розвитку токсикологічної хімії. Токсикологічна хімія в Україні. Законодавчі акти та організація судово-медичної експертизи в Україні. Значення токсикологічної хімії у підготовці провізора. Етика і деонтологія в токсикологічній хімії.

Визначення понять "отруєння" і "отрута". Загальні принципи класифікації отрут: за хімічною будовою, метою застосування, за ступенем токсичності (гігієнічна), видом токсичної дії (токсикологічна), вибірковою токсичністю, за способами виділення з об'єктів біологічного походження.

Класифікація отруєнь за причиною виникнення, за умовами (місцем) розвитку, за клінічним принципом (гострі, хронічні, підгострі отруєння), за шляхами проникнення в організм; нозологічна класифікація.

Шляхи проникнення отрут в організм, транспортні механізми всмоктування, взаємозв'язок між фізичними і хімічними властивостями отрут та їх розподілом в органах, виведення з організму, кумуляція. Метаболізм (біотрансформація) отрут. Перша і друга фази метаболізму. Летальний синтез.

Порядок виконання і документація судово-токсикологічних (хіміко-токсикологічних) експертиз. Складання плану хіміко-токсикологічного аналізу. Попередні випробування (скринінгові дослідження) у хіміко-токсикологічному аналізі та їх роль у складанні плану хіміко-токсикологічного аналізу.

Особливості хіміко-токсикологічного аналізу. Аналіз речових доказів. Об'єкти хіміко-токсикологічного дослідження, їх характеристика, засоби консервування. Правила відбору, направлення і прийому об'єктів на судово-токсикологічне дослідження та зберігання проб.

Загальні принципи інтерпретації результатів судово-токсикологічних досліджень.

Теоретична база

З розвитком науково-технічного прогресу збільшилася кількість речовин, які використовуються в народному господарстві. Ці речовини токсично впливають на організм людей і можуть викликати гострі та хронічні отруєння. Причиною отруєння можуть бути різні технічні рідини, отрутохімікати, засоби для миття, отруйні гази, луги, кислоти, метали,

отрути рослинного та тваринного походження, предмети косметики, дезінфікуючі засоби, лікарські препарати, промислові відходи, сурогатні алкогольні напої тощо. Для встановлення причини отруєння необхідно проводити хіміко-токсикологічне дослідження об'єктів аналізу.

Клінічна токсикологія вивчає гострі і хронічні захворювання, викликані токсичними хімічними речовинами, з метою наукового обґрунтування методів діагностики, профілактики і терапії отруєнь. У зв'язку з цим завдання в клінічній токсикології поділяють на діагностичні, лікувальні та профілактичні.

Основні параметри токсикометрії (Lim_{ac} — поріг одноразової (гострої) дії токсичної речовини; DL_{50} (DL_{100}) — середньосмертельна (смертельна) доза, яка викликає загибель 50% (100%) піддослідних тварин при засобах введення (під шкіру, у м'язи, у вену тощо, окрім інгаляційного введення) з подальшим спостереженням за станом тварини протягом 2 тижні; CL_{50} (CL_{100}) середньосмертельна (смертельна) концентрація (доза), яка викликає загибель 50% (100%) піддослідних тварин при інгаляційному введенні з подальшим спостереженням за станом тварини протягом 2 тижні; ГДК - гранично допустима концентрація; DL_{50}/Lim_{ac}) — зона гострої токсичної дії, яка характеризує токсичну небезпеку хімічної речовини (чим вищий її показник, тим безпечніша досліджувана речовина).

Токсикологічна хімія поділяється на 2 розділи: біохімічну токсикологію та аналітичну токсикологію.

Предмет вивчення біохімічної токсикології (механізми токсичної дії речовин на організм: кінетика всмоктування, розподілу, виділення, механізми метаболічних реакцій, шляхи та механізми транспорту речовин і елімінації)

Предмет вивчення аналітичної токсикології (способи і методи ізолювання, ідентифікації та кількісного визначення токсичних речовин). Аналітична та прикладна токсикології. Аналітична діагностика гострих отруєнь. Аналітична діагностика професійних захворювань.

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

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

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

Попередні випробування. Їх існує два види:

- до ізолювання речовин із біологічних об'єктів дослідження;
- після ізолювання речовин із біологічних об'єктів дослідження.

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

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

Виділення отрут із об'єктів дослідження.

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

Виявлення та визначення отрут у витяжках.

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

Виконання лабораторної роботи

Проведення зовнішнього огляду об'єктів дослідження та попередніх випробувань

Встановлення наявності сторонніх включень. При огляді вмісту шлунка можуть бути виявлені сторонні включення, які необхідно досліджувати окремо.

Визначення забарвлення та запаху об'єктів дослідження.

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

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

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

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

Невелику кількість досліджуваної біологічної проби (внутрішні органи, вміст шлунка) поміщають в пробірку, заливають водою та перемішують. Частину водної витяжки наносять скляною паличкою на універсальний індикаторний папір, лакмусовий папірець (інтервал рН переходу червоного забарвлення в синє – 5,0-8,0), а також на папірці, оброблені розчинами індикатора конго червоного (інтервал рН переходу синьо-фіолетового забарвлення у червоне – 3,0-5,2) та фенолфталеїну (інтервал рН переходу безбарвного розчину в червоний – 8,2-10,0). Попліч проводять контрольні досліди з дистильованою водою.

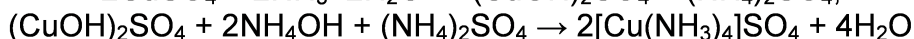
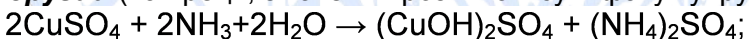
Кисле середовище дає змогу виключити з кола досліджень речовини основного характеру (гідроксиди та карбонати лужних металів, амонію гідроксид), солей, що гідролізують за катіоном сильної основи (великі кількості калію ціаніду, натрію або калію нітритів тощо).

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

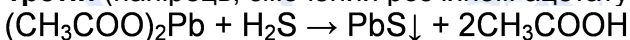
Лужне середовище вказує на відсутність мінеральних і органічних кислот, орієнтує на пошуки отрут основного характеру.

Виявлення аміаку і сірководню. Частину біологічної проби вносять в невелику конічну колбу і закривають корком, до якого знизу прикріплено **три індикаторні папірці:**
перший (червоний лакмусовий папірець, змочений водою) – для визначення рН середовища;

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



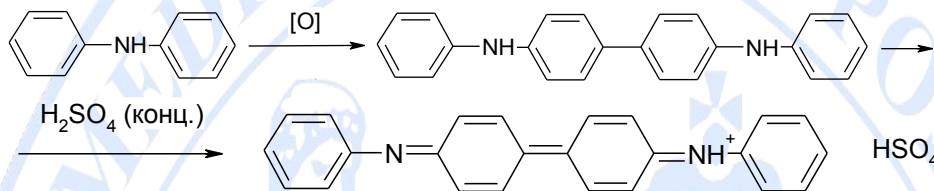
третій (папірець, змочений розчином ацетату п्लюмбуму) – виявлення сірководню:



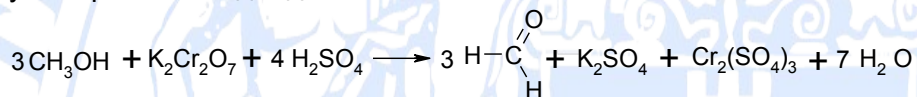
Колби залишають на 30 хв, а потім спостерігають за результатом: 1) При наявності **аміаку** спостерігається посиніння **першого** та **другого** папірців. 2) При наявності **сірководню** спостерігається почорніння **третього** папірця.

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

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



Виявлення летких відновників (метанолу, етанолу тощо). В пробірку вносять 1 мл сечі і накривають склом з висячою краплею 2,5% розчину калію дихромату в 50% розчині сульфатної кислоти. Вміст пробірки нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 2 хв. і спостерігають за зміною забарвлення висячої краплі. Поява зеленого забарвлення орієнтує на пошук спиртів та альдегідів:



Оформлення та захист протоколу заняття № 1. Виконана на занятті лабораторна робота та отримані результати оформляються у вигляді протоколу. В кінці заняття проводиться захист протоколу, який включає його перевірку, а також письмові та усні відповіді студента.

Питання до заняття № 1

1. Токсикологічна хімія її зміст, завдання та основні розділи (біохімічна токсикологія та аналітична токсикологія).
2. Предмет вивчення та завдання біохімічної токсикології.
3. Предмет вивчення та завдання аналітичної токсикології.
4. Основи токсикологічної хімії та хіміко-токсикологічного аналізу.
5. Судова хімія та судово-токсикологічний аналіз.
6. Галузі використання методів хіміко-токсикологічного аналізу. Використання хіміко-токсикологічного аналізу у теоретичній токсикології, клінічній токсикології, профілактичній токсикології та у судовій токсикології.
7. Законодавчі акти та організація судово-медичної експертизи в Україні.
8. Основна документація, яка ведеться при проведенні хіміко-токсикологічного аналізу.
9. Клінічна токсикологія її зміст, предмет вивчення та завдання.
10. Токсикометрія та її основні параметри.
11. Визначення понять "отруєння" і "отрута". Загальні принципи класифікації отрут: за хімічною будовою, метою застосування, за ступенем токсичності (гігієнічна), видом токсичної дії (токсикологічна), вибірковою токсичністю, за способами виділення з об'єктів біологічного походження, за причиною виникнення, за умовами (місцем) розвитку, за клінічним принципом (гострі, хронічні, підгострі отруєння), за шляхами проникнення в організм; нозологічна класифікація.
12. Шляхи проникнення отрут в організм, транспортні механізми всмоктування і взаємозв'язок їх з фізичними і хімічними властивостями речовин. Розподіл отрут в органах, виведення їх з організму та кумуляція. Залежність токсичності речовин від шляху проникнення.
13. Основні закономірності поведінки отруйних речовин в організмі. Метаболізм (біотрансформація) отрут. Перша і друга фази метаболізму. Летальний синтез. Навести приклади.
14. Загальний та скерований (цілеспрямований) хіміко-токсикологічний аналіз.

15. Особливості аналізу окремих об'єктів у залежності від їх природи, стану, хімічних властивостей отруйних речовин.
16. Розкладання біологічного матеріалу, його види та основні хімічні процеси, що при цьому відбуваються.
17. План проведення хіміко-токсикологічного аналізу. Порядок складання плану хіміко-токсикологічного аналізу та основні фактори, які при цьому слід брати до уваги.
18. Проведення зовнішнього огляду об'єктів дослідження. Його вплив на схему хіміко-токсикологічного аналізу. Навести приклади
19. Попередні проби, мета їх проведення та вплив на складання плану хіміко-токсикологічного аналізу.
20. Скрінінгові дослідження у токсикологічній хімії, їх завдання. Методи, що використовуються у скрінінгових дослідженнях.
21. Виявлення аміаку, сірководню, кислот, лугів, окисників, відновників та консервантів у пробах. Трамбування одержаних результатів

Тема 2. Токсикологічна характеристика та аналіз групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу настоюванням досліджуваних об'єктів водою (мінеральні кислоти, луги та їх солі). Виділення з біологічного матеріалу та виявлення і кількісне визначення сульфатної та нітратної кислот, нітратів і нітритів.

Зміст навчального матеріалу Тема 2.

Група отруйних речовин, які ізолюються настоюванням з водою (неорганічні кислоти, луги, солі). Загальна характеристика групи. Фізико-хімічні властивості. Застосування. Токсична дія азотної (нітратної), сірчаної (сульфатної), соляної (хлоридної) кислот, солей нітратної та нітритної кислот (нітратів, нітритів), їдких лугів (гідроксиди натрію, калію, амонію, кальцію). Особливості виділення кислот, лугів, солей з об'єктів біологічного походження. Методи очищення і розділення з використанням явищ діалізу, електродіалізу та осмосу. Методи виявлення і кількісного визначення кислот, їдких лугів, солей нітратної та нітритної кислот. Зберігання сполук даної групи в біологічному матеріалі. Оцінка результатів аналізу.

Теоретична база

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

Виділення мінеральних кислот, лугів та солей з біологічного матеріалу

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

МІНЕРАЛЬНІ КИСЛОТИ

Доказом вмісту у діалізатах мінеральних кислот є: 1) кислотність цих діалізатів та 2) наявність у діалізатах аніонів відповідних кислот.

Попередні проби на кислоти.

Визначення кислотності діалізатів проводять за допомогою універсальних індикаторних папірців та кислотно-основних індикаторів, які змінюють забарвлення в кислому середовищі (метилового фіолетового, метилового оранжевого і конго червоного).

Реакції виявлення аніонів кислот.

Після встановлення кислотності витяжок (діалізатів) проводять дослідження цих рідин на наявність аніонів сульфатної, нітратної, хлоридної та інших кислот.

Однак слід зауважити, що **наявність аніонів сульфатної, нітратної або хлоридної кислоти у витяжках чи діалізатах ще не є доказом отруєння цими кислотами.** Аніони сульфатної, нітратної або хлоридної кислоти можуть входити до складу

тканин та біологічних рідин організму. Тому ці аніони завжди можуть міститися у витяжках з біологічного матеріалу.

Для доказу отруєнь мінеральними кислотами необхідно провести перегонку цих кислот з одержаних витяжок (діалізатів), оскільки переганяться можуть тільки кислоти, а не їхні солі (які перейшли у витяжки з біологічного матеріалу).

Враховуючи, що сульфатна і нітратна кислоти переганяються при відносно високій температурі, ці кислоти переводять у відповідні оксиди (SO₂, NO), які є леткішими. Одержані оксиди, після відгонки, переводять у відповідні кислоти. Ці кислоти виявляють за допомогою хімічних реакцій.

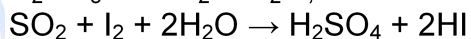
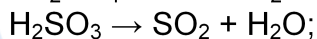
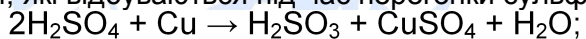
Сульфатна кислота (сірчана кислота) H₂SO₄ – сильна двоосновна кислота, що відповідає вищому ступеню окиснення сірки (+6). При звичайних умовах концентрована сірчана кислота - важка масляниста рідина без кольору і запаху, в розведеному розчині має гострий запах та кислий смак, кипить при 330°C. При змішуванні з водою виділяє велику кількість тепла, належить до сильних кислот. При температурі 30 °C виділяє пари. Широко використовується в промисловості (синтетичній, фармацевтичній, машинобудівній), як хімічний реагент в лабораторіях тощо.

Сірчана кислота і олеум (суміш з сірчанним ангідридом SO₃) - надзвичайно агресивні речовини, вражають дихальні шляхи, шкіру, слизові оболонки, викликають утруднення дихання, кашель, нерідко - ларингіт, трахеїт, бронхіт тощо. Аерозоль сірчаної кислоти може утворюватися в атмосфері в результаті викидів хімічних і металургійних виробництв, що містять оксиди S, і випадати у вигляді кислотних дощів.

Виділення сульфатної кислоти з біологічного матеріалу. Досліджувані органи трупів подрібнюють, заливають водою до одержання густої маси, яку залишають на 1-2 год. Одержану витяжку фільтрують, а фільтрат діалізують, після чого з діалізату відганяють сульфатну кислоту.

При хіміко-токсикологічному дослідженні сульфатної кислоти на одязі або інших предметах цю кислоту ізолюють етиловим спиртом, в якому розчиняється сульфатна кислота і не розчиняються її солі. Досліджуваний матеріал подрібнюють і заливають етиловим спиртом. Суміш досліджуваного об'єкта і етилового спирту настоюють протягом 1-2 год при періодичному перемішуванні, а потім відфільтровують спиртову витяжку. Фільтрат на водяному нагрівнику випарюють досуха. До сухого залишку додають 10 мл води, одержану рідину кип'ятять протягом кількох хвилин і охолоджують до кімнатної температури. З одержаної рідини відганяють сульфатну кислоту, яку досліджують у дистилаті.

Відгонка сульфатної кислоти з діалізатів. Відгонку сульфатної кислоти проводять за допомогою апарата, який складається з колби, холодильника Лібіха і прилаштованого до цього форштоса. Дистилат збирають у приймач, в якому знаходиться розчин йоду. В колбу апарата вносять діалізат і додають мідні ошурки. При взаємодії мідних ошурків з сульфатною кислотою, яка знаходиться в діалізаті, виділяється ангідрид сульфатної кислоти SO₂, який відганяється в приймач, що містить розчин йоду. При дії йоду на ангідрид сульфатної кислоти утворюється сульфатна кислота, яку і досліджують у цьому розчині. Реакції, які відбуваються під час перегонки сульфатної кислоти, наведені нижче:

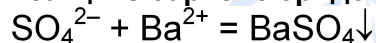


Щоб відігнати сульфатну кислоту з діалізату, його вносять у колбу апарата для відгонки рідин, додають мідні ошурки і встановлюють колбу на пісочний або масляний нагрівник. Кінець форштоса занурюють у приймач у розчин йоду і нагрівають колбу до закінчення виділення бульбашок ангідриду сульфатної кислоти з поверхні мідних ошурок. Якщо під час перегонки відбувається знебарвлення розчину йоду в приймачі, у нього додають ще 2-3 мл розчину йоду.

У разі, коли відігналась майже третина діалізату, бульбашки газу навколо мідних ошурок не утворюються і зміна кольору розчину йоду в приймачі не відбувається, перегонку діалізату закінчують. До рідини, яка знаходиться в приймачі, додають 2-3 мл розбавленої хлоридної кислоти і нагрівають до повного зникнення забарвлення йоду, який не вступив у реакцію з ангідридом сульфатної кислоти. Рідину, яка залишилась після звільнення вмісту

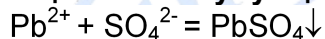
приймача від йоду, використовують для виявлення в ній сульфатної кислоти за допомогою таких реакцій.

Реакція з барію хлоридом.

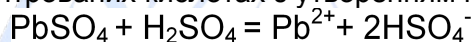


Поява білого осаду барій сульфату свідчить про наявність сульфатної кислоти в діалізаті. Осад барію сульфату не розчиняється в кислотах і лугах.

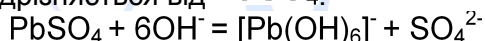
Реакція з плюмбуму ацетатом. Випадає білий осад плюмбуму сульфату:



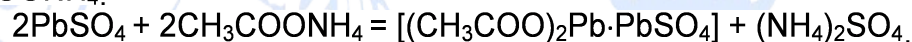
PbSO_4 нерозчинний у розведених кислотах, але помітно розчиняється в концентрованих кислотах з утворенням гідросульфату:



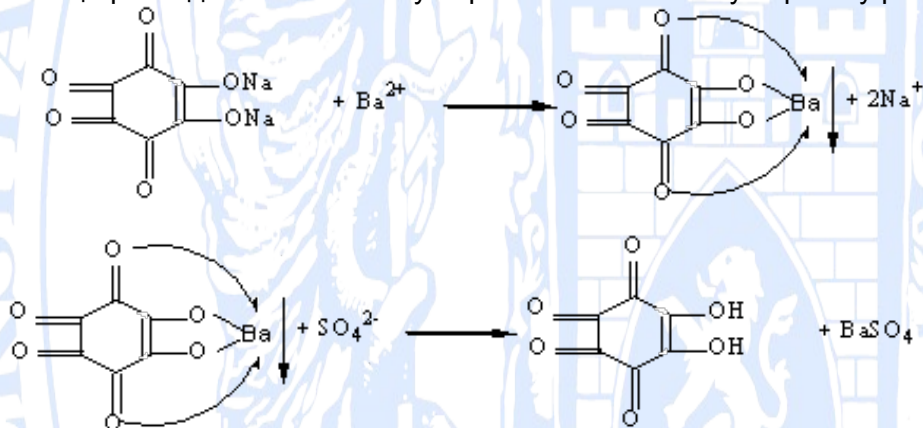
PbSO_4 розчиняється також у надлишку лугу з утворенням тетрагідроксоплюмбату, чим відрізняється від BaSO_4 :



Характерна ознака PbSO_4 – його розчинність в 30 % розчині амонію ацетату $\text{CH}_3\text{COONH}_4$:



Реакція з натрію родизонатом При цьому на папері пляма нанесених розчинів забарвлюється в червоний або червоно-коричневий колір. На цю пляму наносять 1-2 краплі дистилляту. При наявності сульфатної кислоти в дистилляті забарвлення плями зникає. Ця реакція специфічна для виявлення сульфатної кислоти та сульфатів у розчинах.



Нітратна кислота (азотна кислота) HNO_3 - прозора, безбарвна або трохи жовтувата рідина з характерним задушливим запахом. Змішується з водою у будь-якій пропорції, виділяє при цьому тепло.

Азотна кислота є сильним окислювачем, концентрована азотна кислота окислює сірку до сірчаної, а фосфор - до фосфорної кислот.

Конц. HNO_3 використовується при отриманні вибухових речовин, H_2SO_4 , H_3PO_4 , ароматичних нітросполук, барвників, входить до складу ракетного палива. Розведена HNO_3 використовується у виробництві NH_4NO_3 і складних мінеральних добрив, нітратів (Na, K, Ca тощо), в гідрометалургії.

При отруєнні концентрованою нітратною кислотою пошкоджуються тканини язика, стравоходу, стінок шлунка, а іноді й тканини обличчя. Під впливом концентрованої нітратної кислоти тканини тіла набувають жовтого забарвлення. Якщо відбулося отруєння нітратною кислотою, концентрація якої менша за 20 %, то жовте забарвлення шкіри та інших тканин може і не з'явитись.

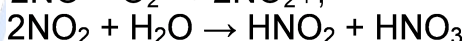
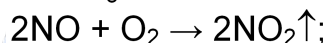
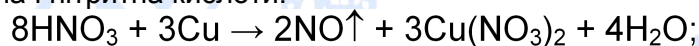
Виділення нітратної кислоти з об'єктів аналізу біологічного походження

Органи трупів, які підлягають дослідженню на наявність нітратної кислоти, подрібнюють і заливають водою. Суміш залишають на 1-2 години при періодичному збовтуванні. Після настоювання органів трупів з водою відділяють одержану витяжку, яку фільтрують, а потім очищають методом діалізу. Діалізат досліджують на наявність нітратної кислоти. Виявлення нітрат іонів у діалізаті ще не є доказом отруєння нітратною кислотою.

Вони можуть міститися в діалізаті за рахунок солей цієї кислоти. Тому необхідно відігнати нітратну кислоту з діалізату. Солі цієї кислоти не переганяються.

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

Щоб знизити температуру, необхідну для перегонки нітратної кислоти, її переводять при наявності мідних ошурок в оксиди нітрогену. При взаємодії нітратної кислоти з ошурками міді утворюється оксид нітрогену (II), який взаємодіє з киснем повітря з утворенням оксиду нітрогену (IV). Під час реакції оксиду нітрогену (IV) з водою утворюються нітратна і нітритна кислоти:



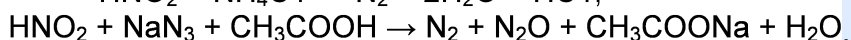
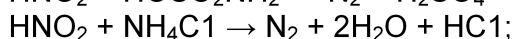
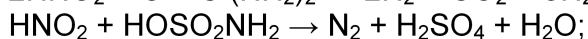
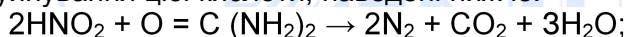
Для відгонки нітратної кислоти з діалізату використовують той самий апарат, що й для відгонки сульфатної кислоти. Однак при відгонці сульфатної кислоти у приймач вносять розчин йоду, а при перегонці нітратної кислоти - воду.

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

Звільнення досліджуваного розчину від нітритів. Кількість реакцій на нітратну кислоту не обмежується наведеними вище реакціями. Майже всі реакції, які дає нітратна кислота та її солі (нітрати), дає і нітритна кислота та її солі (нітрити). Проте для виявлення нітритів є ряд реакцій, яких не дає нітратна кислота і нітрати. До таких реакцій належать реакція з сульфаніловою кислотою і β -нафтолом, реакція Грісса та деякі інші. Тому перш ніж приступити до виявлення нітратної кислоти в досліджуваному розчині, слід виконати реакції на нітритну кислоту.

Якщо в досліджуваному розчині є нітритна кислота або її солі, їх необхідно зруйнувати за допомогою відповідних реактивів. Лише після руйнування нітритної кислоти можна приступати до виявлення нітратної кислоти. Для руйнування нітритної кислоти використовують сечовину, сульфамінову (амідосульфонову) кислоту або її солі, натрію азид, деякі солі амонію.

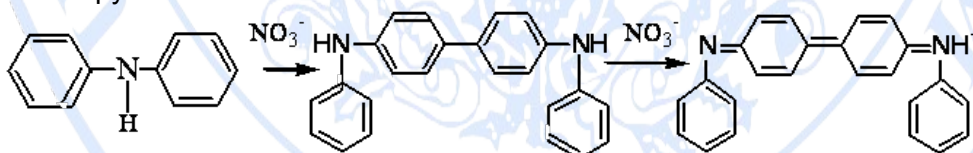
Рівняння хімічних реакцій між нітритною кислотою і речовинами, які застосовують для руйнування цієї кислоти, наведені нижче:



Для розкладання нітритів у хіміко-токсикологічному аналізі часто застосовують сульфамінову кислоту HOSO_2NH_2 .

Виявлення нітратної кислоти

Реакція з дифеніламіном. Під час взаємодії нітратної кислоти з дифеніламіном утворюється безбарвний дифенілбензидин, який при окисненні перетворюється на сполуку синього кольору.



Фарбування шерсті. Під час нагрівання білих шерстяних ниток з нітратною кислотою нитки забарвлюються в жовтий колір. При додаванні аміаку жовтий колір ниток переходить в оранжевий.

Хлоридна кислота (соляна кислота) HCl — безбарвний розчин хлороводню у воді. Належить до сильних кислот. Рідина, що парує (димить) на повітрі зі специфічним гострим запахом. Концентрована хлоридна кислота змішується в будь-якій пропорції з водою, спиртом і етиловим ефіром.

Вільна кислота в невеликих кількостях міститься в шлунковому соці, а її солі - в тканинах організму.

Застосовується в побуті, в медицині, у харчовій промисловості, в гідрометалургії і гальванопластиці.

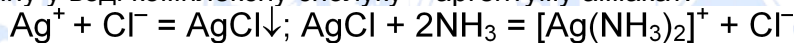
Соляна кислота - їдка речовина, при попаданні на шкіру викликає сильні опіки, утворює пари хлороводню, який роз'їдає слизові оболонки і дихальні шляхи, зуби.

Виділення хлоридної кислоти з біологічного матеріалу. Ізолюють хлоридну кислоту методом настоювання з водою з наступною очисткою витяжки методом діалізу. З дуже розбавлених розчинів не відганяється і вільна хлоридна кислота. В багатьох випадках такими розбавленими розчинами і є діалізати. З розбавлених розчинів спочатку відганяється вода. Коли концентрація хлоридної кислоти в розчині становитиме приблизно 10 %, тоді почне переганятись і хлоридна кислота. Тому досліджуваний діалізат, який містить хлоридну кислоту, переганяють майже до сухого залишку.

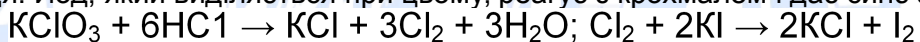
Хлоридна кислота може переганятись з діалізіатів і в тих випадках, коли отруєння спричинила не хлоридна, а сульфатна кислота. Під час взаємодії сульфатної кислоти з хлоридами, яких є багато в організмі, виділяється вільна хлоридна кислота, яка і переганяється в ході аналізу. *Тому перед виконанням реакцій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

Виявлення хлоридної кислоти

Реакція з аргентуму нітратом, який осаджує білий осад AgCl, який не розчиняється в розведених кислотах, але добре розчиняється у водному розчині NH₃, утворюючи добре розчинну у воді комплексну сполуку – аргентуму аміакат:



Реакція з калію хлоратом. При наявності хлоридної кислоти в дистилляті виділяється вільний хлор, який можна ідентифікувати за посинінням йодкрохмального папірця. Йод, який виділяється при цьому, реагує з крохмалем і дає синє забарвлення.



ЛУГИ І АМІАК

Токсикологічне значення мають **NaOH**, **KOH** та **NH₄OH** (калію і натрію гідроксиди та аміак).

Під дією їдких лугів спостерігається глибоке руйнування шкіри - утворюються струпи сірого та білого кольору, які залишають виразки. Кров перетворюється у драгледоподібну масу бурого кольору. Спостерігається затримка сечовиділення. Сеча стає лужною, містить білок та фосфати.

Виділення лугів з біологічного матеріалу. Досліджуваний біологічний матеріал подрібнюють, заливають водою і настоюють протягом 2-3 год. Одержані водні витяжки зливають з біологічного матеріалу, фільтрують, а потім очищають методом діалізу.

Доказом вмісту лугів у діалізатах є: 1) яскраво виражена лужна реакція водних витяжок (рН = 8... 10) та 2) наявність у водних витяжках катіонів відповідних металів.

Попередні проби на луги.

Визначення кислотності діалізіатів проводять за допомогою універсальних індикаторних папірців та кислотно-основних індикаторів, які змінюють забарвлення в лужному середовищі.

Реакції виявлення лугів.

Лужна реакція водних витяжок може також створюватися під впливом карбонатів лужних металів. Тому після перевірки рН середовища, перед виявленням лугів, витяжки необхідно дослідити на наявність карбонатів лужних металів.

Виявлення карбонатів лужних металів. Для виявлення карбонатів лужних металів у витяжках або діалізатах, беруть 2-3 мл цих рідин, до яких додають 3- 4 краплі 5 %-го розчину барій хлориду і 2-3 краплі спиртового розчину фенолфталеїну. Можливі такі результати:

1) При наявності карбонатів лужних металів у цих рідинах випадає білий осад BaCO_3 і зникає рожеве або червоне забарвлення (забарвлення фенолфталеїну).

2) Якщо у витяжках або діалізатах містяться луги і немає карбонатів лужних металів, то після додавання до цих рідин розчинів барій хлориду і фенолфталеїну осад не випадає, але зберігається червоне забарвлення рідини.

3) У випадку, коли у водній витяжці з біологічного матеріалу або в діалізаті знаходиться суміш лугів і карбонатів лужних металів, після додавання до цих рідин розчинів барій хлориду й фенолфталеїну утворюється білий осад барій карбонату і зберігається червоне забарвлення індикатора.

Виявлення лугів. Якщо пробами з барію хлоридом і фенолфталеїном у діалізаті встановлена наявність лугів, проводять дослідження цієї рідини на наявність калію, натрію і амонію гідроксидів, користуючись наведеними нижче реакціями.

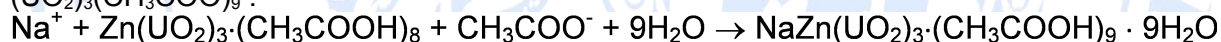
Натрію гідроксид (їдкий натр, каустична сода) NaOH

При отруєнні натрію гідроксидом водні витяжки з біологічного матеріалу мають виражену лужну реакцію.

Реакція з калію гідроксистибіатом. Цей реактив у нейтральному або слабо лужному середовищі утворює з іонами натрію білий кристалічний осад $\text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$, який розчиняється у воді (при нагріванні) і в лугах. У кислому розчині відбувається розкладання реактиву з утворенням аморфного осаду метастибіатної кислоти HSbO_3 . Випадання в осад цієї кислоти може призвести до помилкового висновку, оскільки осад HSbO_3 може бути помилково сприйнятий за осад $\text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$. Тому реакцію на іони натрію з калію гідроксистибіатом слід проводити в нейтральному середовищі. При дослідженні лужних розчинів їх потрібно нейтралізувати ацетатною кислотою. Лише після цього можна виконувати реакцію на іони натрію з калію гідроксистибіатом. Потирання стінок пробірки скляною паличкою прискорює процес утворення осаду натрію гідроксистибіату.



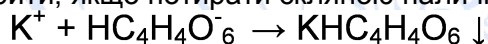
Реакція з цинк-ураніацетатом. Ураніацетат $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$ в нейтральних або ацетатнокислих розчинах утворює з солями натрію зеленувато-жовтий кристалічний осад $\text{NaUO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_3$. Чутливість цієї реакції значно зростає при наявності іонів цинку або магнію. Тому для виявлення іонів натрію застосовують не ураніацетат, а цинк-ураніацетат. З цинк-ураніацетатом іони натрію утворюють зеленувато-жовтий кристалічний осад - $\text{NaZn}(\text{UO}_2)_3(\text{CH}_3\text{COO})_9$:



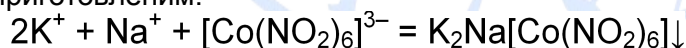
Калію гідроксид (їдке калі, каустичний поташ) KOH .

Яскраво виражена лужна реакція водних витяжок з біологічного матеріалу або діалізатів, відсутність карбонатів і наявність у витяжках іонів калію свідчать про наявність калію гідроксиду в біологічному матеріалі.

Реакція з натрію гідротартратом. Натрію гідротартрат в нейтральних або ацетатнокислих розчинах утворює з іонами калію білий кристалічний осад $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$, який розчиняється в гарячій воді, мінеральних кислотах і лугах. Випадання осаду можна прискорити, якщо потирати скляною паличкою стінки пробірки.



Реакція з натрію гексанітрокобальтатом (III). Натрію гексанітрокобальтат (III) осаджує з нейтральних або слабокислих розчинів іони калію у вигляді жовтого кристалічного осаду $\text{K}_2\text{Na}[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$. У сильнокислому середовищі відбувається розкладання реактиву з утворенням нестабільної кислоти $\text{H}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$, а в лужному середовищі цей реактив розкладається з утворенням осаду $\text{Co}(\text{OH})_3$. Потирання стінок пробірки скляною паличкою прискорює випадання осаду. Реактив повинен бути свіжоприготовленим.



Амонію гідроксид (їдкий амоній, нашатирний спирт) NH_4OH - це розчин аміаку у воді, концентрація якого коливається від 5 до 54 %, змішується з водою, має різкий запах.

Амонію гідроксид є дуже нестійкою речовиною і може існувати лише в розчині. У розчині в рівновазі одночасно існують молекули аміаку, води та амонію гідроксиду, а також іони амонію і гідроксилу: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{NH}_4\text{OH}$

Використовується для виробництва азотних добрив (амонію нітрат і сульфат, сечовина), вибухових речовин і полімерів, азотної кислоти, соди та інших продуктів хімічної промисловості. Рідкий аміак використовують як розчинник. Застосовується в медицині, при переробці вовни для знежирення, для дезінфекції великих ємностей, в лабораторіях та побуті для чищення і відбілювання.

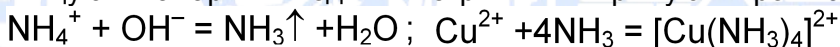
Пари аміаку сильно подразнюють слизові оболонки очей та органів дихання, а також шкірні покриви, викликають сльозотечу, біль в очах, хімічний опік кон'юнктиви і рогики, втрату зору, напади кашлю, почервоніння і свербіння шкіри. При зіткненні зрідженого аміаку і його розчинів з шкірою виникає печіння, можливий хімічний опік з пухирями, виразками. Крім того, скраплений аміак при випаровуванні поглинає тепло, і при зіткненні зі шкірою виникає обмороження різного ступеня. Амонію гідроксид викликає опіки стравоходу та шлунку, рефлекторну зупинку дихання. Кров під дією аміаку набуває яскраво-червоного кольору, блювота при отруєнні супроводжується нападами задухи, може розвинутихся крупозне запалення легенів. ГДК - 30 мг/м³.

Досліджувати наявність аміаку можна лише об'єкти дослідження, які не містять сірководню.

Виявлення аміаку (амоніаку) NH_3

Реакція з купрум сульфатом і лакмусом.

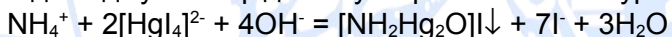
У колбу місткістю 50 мл вносять 10-15 мл водної витяжки з біологічного матеріалу або діалізату. Колбу закривають корком з двома прорізами знизу, в які вставляють 2 індикаторні папірці. Один з цих папірців є червоним лакмусовим папірцем, змоченим водою, другий - смужкою фільтрувального паперу, змоченого 10 %-м розчином купрум сульфату. Колбу вміщують на гарячий водяний нагрівник і витримують протягом 5-10 хв.



Якщо у водній витяжці або діалізаті міститься аміак, то обидва папірці посиніють. Під впливом аміаку червоне забарвлення лакмусу зміниться на синє, а на папері, змоченому купрум сульфатом, утвориться комплексна сполука $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4$, забарвлена в інтенсивний синій колір.

Реакція з реактивом Несслера.

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



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

СОЛІ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ

Важливе токсикологічне значення мають солі лужних металів, до складу яких входять аніони нітритної і нітратної кислот. Потрапляння надмірних кількостей зазначених солей в організм може бути причиною отруєнь або тяжких захворювань.

Нітрати - солі і ефіри нітратної (азотної) кислоти HNO_3 , які утворюються при взаємодії кислоти з відповідними металами, або їх оксидами та гідроксидами. Нітрати - безбарвні кристалічні речовини, добре розчиняються у воді. Застосовують як добрива, протрави при фарбуванні, компоненти вибухових речовин. Нітрати амонію, лужних та лужноземельних металів називають селітрами.

До нітратів належать і деякі органічні сполуки, наприклад нітроглицерин, який використовується як вибухова речовина і як лікарський засіб.

Дія нітратів на організм. Нітрати характеризуються досить широким спектром токсичної дії. Токсична дія нітратів полягає у тому, що в травному тракті вони частково

відновлюються до нітритів (більш токсичних), і останні при надходженні в кров можуть викликати метгемоглобінемію, а також пригнічення активності ферментних систем, що беруть участь у процесах тканинного дихання. Крім того, встановлено, що з нітритів у присутності амінів можуть утворюватись N-нітрозаміни, які виявляють канцерогенну активність. При вживанні високих доз нітратів з питною водою, чи продуктами харчування через 4-6 годин проявляються характерні симптоми нітратного отруєння: нудота, задуха, посиніння шкірних покривів і слизових оболонок, діарея. Це часто супроводжується загальною слабкістю, головокружінням, запамороченням, болями у потиличній частині, тахікардією.

Нітрити - солі нітритної (азотистої) кислоти HNO_2 . Менш стійкі, ніж нітрати. Застосовуються у виробництві азобарвників, входять до складу вибухових матеріалів, в медицині, як окислювачі і відновники в радіотехніці, текстильній і металообробній промисловості, як консерванти харчових продуктів застосовуються в лабораторіях як реактиви.

Нітрити утворюються в рослинах, організмах людей і тварин за рахунок відновлення нітратів.

Дія нітритів на організм. Нітрити, які надходять в організм, викликають утворення метгемоглобіну і метміоглобіну - розвивається метгемоглобінемія. Шкіра набуває буроватого відтінку, виникають головні болі, головокружіння, запаморочення, пульсація в судинах голови, шум у вухах, ціаноз шкіри і слизових оболонок, прискорення пульсу, зниження артеріального тиску, задишка, розширення зіниць, коматозний стан, болі в животі.

Нітрити особливо небезпечні для немовлят і дітей молодшого віку.

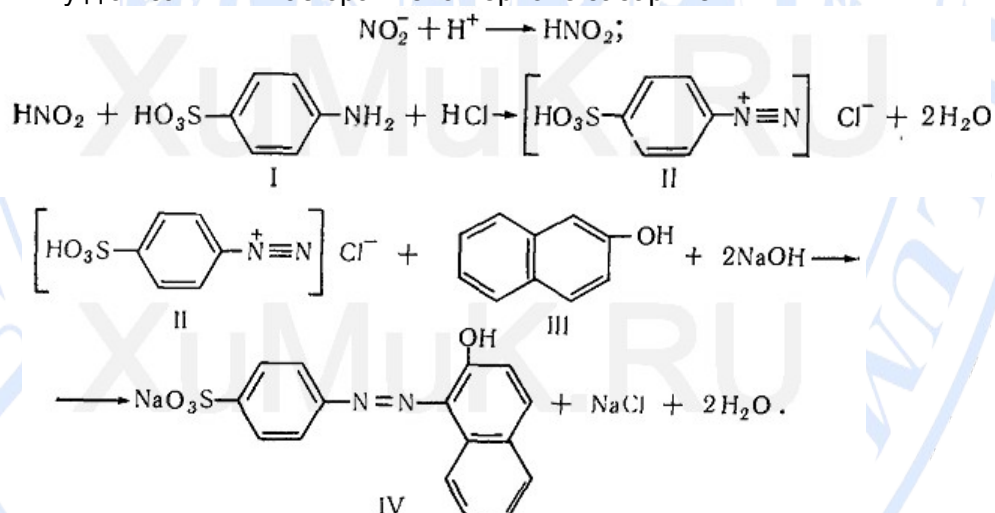
Виконання лабораторної роботи

Дослідження нітритів

Виділення нітритів із об'єктів дослідження. Досліджуваний об'єкт змішують з невеликою кількістю дистильованої води до утворення кашкоподібної маси, настоюють 1 - 2 год і фільтрують. Одержані фільтрати піддають діалізу. Діалізати доводять до нейтральної реакції, а потім виявляють в них нітрити.

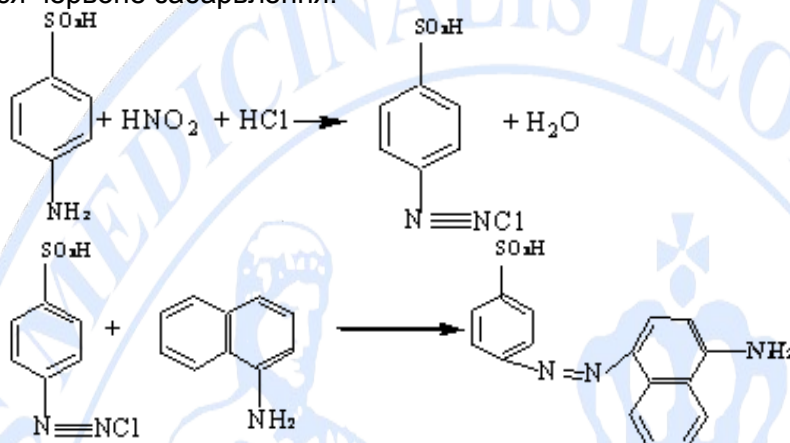
Виявлення нітритів

Реакція з сульфаніловою кислотою і β -нафтолом. Після підкислення діалізату, який містить нітрити, і додавання сульфанілової кислоти утворюється сіль діазонію. Під час взаємодії солі діазонію з лужним розчином β -нафтолу утворюється азобарвник. При наявності нітритів у діалізаті виникає оранжево-червоне забарвлення



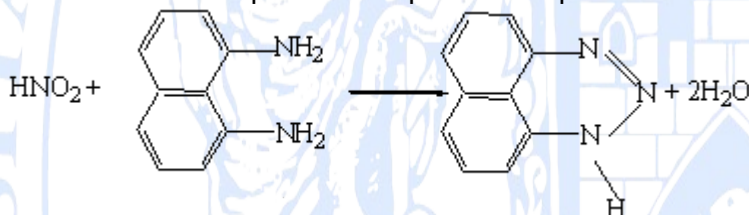
Методика виконання реакції. У заглиблення на краплинній пластинці або у маленьку пробірку вносять 1-2 краплі діалізату, додають 2-3 краплі 0,5 %-го розчину сульфанілової кислоти у 2 %-му розчині хлоридної кислоти. Після перемішування рідини через 5 хв. додають краплю лужного розчину β -нафтолу. При наявності нітритів у діалізаті виникає оранжево-червоне забарвлення, інтенсивність якого залежить від кількості нітритів у пробі. Нітрати не дають цієї реакції.

Реакція Грісса базується на взаємодії нітритів з реактивом Грісса (суміш сульфанілової кислоти і α -нафтиламіну в ацетатній кислоті). В результаті цієї реакції утворюється забарвлена сполука. При наявності нітритів відразу або через деякий час з'являється червоне забарвлення.



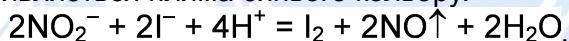
Методика виконання реакції. У заглиблення на краплинній пластинці або у маленьку пробірку вносять кілька крапель діалізату і додають 3-4 краплі реактиву Грісса. При наявності нітритів відразу або через деякий час з'являється червоне забарвлення. Нітрати не дають цієї реакції.

Реакція з 1,8-нафтилендіаміном. У слабкокислому розчині нітрити з 1,8-нафтилендіаміном утворюють забарвлений осад 1,8-азімінонафталіну. Відразу або після нагрівання з'являється оранжево-червоне забарвлення або осад такого самого кольору.



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

Йодкрохмальна реакція. Цю реакцію виконують на смужці фільтрувального паперу, змоченого розчином крохмалю і калію йодиду, а потім висушеного на повітрі. При наявності нітритів у діалізаті на папері з'являється пляма синього кольору.



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

Дослідження нітратів

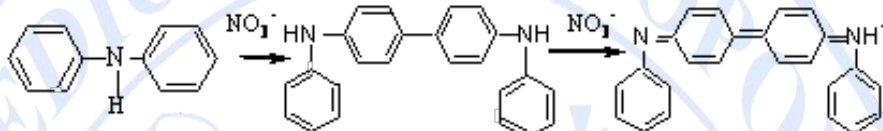
Виділення нітратів з біологічного матеріалу. Досліджуваний об'єкт змішують з невеликою кількістю дистильованої води до утворення кашкоподібної маси, настоюють 1 - 2 год і фільтрують. Одержані фільтрати піддають діалізу і виявляють в них нітрати.

Виявлення нітратів

Усі наведені нижче реакції на нітрати не специфічні, оскільки їх дають і нітрити. У зв'язку з цим, приступаючи до відкриття нітратів у діалізатах, потрібно перевірити досліджуваний розчин на наявність нітритів за допомогою реакцій з реактивом Грісса, або з сульфаніловою кислотою і β -нафтолом. При відсутності нітритів приступають до виявлення нітратів.

Якщо в діалізаті, в якому визначають нітрати, містяться нітрити, їх потрібно зруйнувати. Для цього використовують реакції з сульфаміновою кислотою, натрію азидом або сечовиною. В більшості випадків для руйнування нітритів використовують сульфамінову кислоту або її солі. Після звільнення діалізатів від нітритів виконують реакції на нітрати.

Реакція з дифеніламіном. Під час взаємодії нітратів з дифеніламіном утворюється дифенілбензидин. При окисленні дифеніл-бензидину утворюється сполука синього кольору.

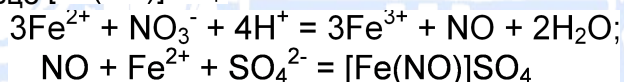


Методика виконання реакції. У заглиблення на краплинній пластинці або на предметне скло наносять 2-3 краплі 1 %-го розчину дифеніламіну в концентрованій сульфатній кислоті. До цього розчину додають 1-2 краплі діалізату. Виникнення синього забарвлення розчину свідчить про наявність нітратів у діалізаті.

Цій реакції заважають нітрити та деякі інші окисники, які за умов виконання цієї реакції також дають синє забарвлення.

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

Солі заліза (II) в присутності концентрованої сульфатної кислоти з NO₃⁻-іонами утворюють коричневе кільце [Fe(NO)]SO₄:



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

Оформлення та захист протоколу заняття № 2.

Питання до заняття № 2

1. Неорганічні кислоти (хлоридна, нітратна, сульфатна) та луги (гідроксиди натрію, калію, кальцію, амонію). Механізм їх токсичної дії та ознаки отруєння.
2. Солі нітратної та нітритної кислот (нітрати, нітрити). Механізм їх токсичної дії та ознаки отруєння. Застосування у побуті.
3. Попередні проби, що вказують на можливе отруєння неорганічними кислотами та лугами.
4. Попередні проби, що вказують на можливе отруєння нітратами та нітритами. Навести хімізм відповідних реакцій.
5. Метод ізолювання з біологічного матеріалу настоюванням з водою. Загальна характеристика методу та порядок проведення.
6. Очистка витяжок з біологічного матеріалу за допомогою діалізу. Принцип методу, його недоліки та переваги. Порядок проведення.
7. Очистка витяжок з біологічного матеріалу за допомогою електродіалізу. Принцип методу, його недоліки та переваги. Порядок проведення.
8. Відгонка кислот із діалізату. Порядок її проведення та мета.
9. Виявлення сульфатної кислоти. Навести хімізм відповідних реакцій.
10. Виявлення нітратної кислоти. Навести хімізм відповідних реакцій.
11. Виявлення хлоридної кислоти. Навести хімізм відповідних реакцій. Тракткування результатів аналізу при одночасній наявності в пробі сульфатної і хлоридної кислот.
12. Виявлення гідроксиду калію в діалізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
13. Виявлення гідроксиду натрію в діалізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
14. Виявлення аміаку в діалізаті. Навести хімізм відповідних реакцій. Особливості трактування результатів аналізу при одночасній наявності в пробі сірковуглецю.

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

Тема 3. Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу дистиляцією з водяною парою (леткі речовини). Токсикологічна характеристика летких речовин, методи їх виділення із об'єктів дослідження та методи аналізу дистиляту. Дослідження першої фракції дистиляту на ціаніди.

Зміст навчального матеріалу Темі 3.

Загальна і токсикологічна характеристика групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу методом дистиляції (леткі речовини): синильна кислота та ціаніди, алкілгалогеніди (хлороформ, 1,2-дихлоретан, тетрахлорметан, хлоралгідрат, трихлоретилен), аліфатичні одноатомні спирти (метиловий, етиловий, в т.ч. «сивушні» олії: пропіловий, ізопропіловий, бутиловий, ізобутиловий, аміловий та ізоаміловий спирти), багатоатомні спирти (етиленгліколь), альдегіди (формальдегід, ацетальдегід, поліацетальдегід (метальдегід чи сухий спирт), кетони (ацетон), ароматичні вуглеводні (бензол, толуол, ксилол), одноатомні феноли (фенол, крезол), ароматичні аміни (анілін та його похідні), карбонові кислоти (оцтова чи ацетатна кислота), етери (діетиловий), естери (етилацетат, бутилацетат, трикрезилфосфат), целозольви (етилцелозольв), металоорганічні сполуки (тетраетилсвинець), фенолформальдегідні смоли, нафтопереробні продукти (бензин, гас, дизельне пальне, мазут, газойлі), компоненти клеїв (ароматичні і хлоровані вуглеводні, спирти, ацетон, бензин, дибутилфталат, диоктилфталат тощо), компоненти парфумерних та косметичних засобів (спирти, бензилбензоат, діетилфталат, пропіленгліколь, продукти переробки нафти тощо).

Фізико-хімічні властивості, будова і дія на організм летких речовин. Причини і частота отруєнь леткими речовинами. Особливості комбінованих отруєнь. Токсикоманія. Напрямки та продукти перетворення алкілгалогенідів, ароматичних амінів, ароматичних вуглеводнів та інших летких речовин. Загальна та токсикологічна характеристика фосгену - продукту окислення хлороформу та трихлоретилену. Значення результатів хіміко-токсикологічного аналізу для діагностики отруєнь леткими речовинами. Засоби детоксикації організму при отруєнні леткими речовинами.

Попередні проби на леткі речовини.

Методи виділення летких речовин з об'єктів біологічного походження, харчових продуктів та об'єктів зовнішнього середовища: дистиляція з водяною парою, сухоповітряна відгонка, перегонка з інертними газами, перегонка з носієм. Теоретичне обґрунтування методів, вибір методу і умов дистиляції залежно від об'єкта і фізико-хімічних властивостей досліджуваної речовини. Речовини, які переганяються з кислого середовища та речовини, які переганяються з лужного середовища.

Дослідження ціанідів у першій порції дистиляту за допомогою хімічних реакцій.

Теоретична база

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

Леткі речовини легко проникають в організм через дихальні шляхи і легені. Це пояснюється великою поверхнею всмоктування в альвеолах ($100-150 \text{ м}^2$) і відсутністю біологічних бар'єрів для затримання отруту. Більшість речовин цієї групи добре розчинні в жирах і можуть проникати в організм через непошкоджену шкіру та шлунково-кишковий тракт. Для вивчення взаємодії отрути з організмом важливе значення має знання процесів токсикодинаміки і токсикокінетики отруту. Токсикодинаміка відображає вплив отрути на різні структури і функції систем організму, механізм її токсичної дії і вибіркової токсичності. Токсикокінетика характеризує шляхи проникнення та розподіл отруту в органах і тканинах, їх біотрансформацію та виведення із організму. Незалежно від шляху проникнення в організм токсичні речовини поступають в кров. Розподіл отруту в організмі залежить від природи речовини та складу тканин організму. Леткі речовини виводяться із організму з видихуванним повітрям, з сечею та через кишечник в нативній формі і у вигляді метаболітів.

Отруєння леткими речовинами часто призводять до летальних наслідків. В цих випадках з метою посмертної діагностики виникає потреба у виділенні цих отрут із внутрішніх органів та біологічних рідин трупа і їх виявленні та кількісному визначенні.

Для прижиттєвої експрес-діагностики гострих інтоксикацій, яку проводять для ефективного і цілеспрямованого лікування, необхідними є експрес-методи виявлення та визначення токсичних речовин у біологічних рідинах організму (крові, сечі, спинномозковій рідині, слині, блювотних масах, діалізуючих рідинах).

Ця група отрут (леткі речовини) виділяється із об'єктів дослідження шляхом перегонки (дистиляції) з водяною парою.

Дистиляцією (перегонкою) називається процес випаровування рідкої суміші і утворення пари, при конденсації якої, утворюється рідина нового складу – дистилят. Дистилят відрізняється від вихідної рідини більшим вмістом леткого компоненту. Для збільшення концентрації речовини у дистиляті, його ще піддають дефлегмації.

При перегонці, багатокомпонентні рідкі суміші, розділяються на окремі фракції, які відрізняються за своїм складом.

В судово-токсикологічному аналізі найчастіше використовується метод дистиляції з водяною парою при атмосферному тиску. Використовуються і інші методи дистиляції:

- перегонка з водяною парою при зменшеному тиску;
- перегонка з водяною парою при підвищеному тиску;
- перегонка з інертними газами;
- перегонка з носієм;
- сухоповітряна відгонка;
- парофазовий метод аналізу.
- методи мікродифузії;

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

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

Леткі речовини, які змішуються з водою (розчинні у воді) переганяються з водяною парою в основному за рахунок утворення *азеотропних сумішей*.

Леткі речовини, які не змішуються з водою (не розчинні у воді) переганяються з водяною парою, підпорядковуючись закону Дальтона. Відповідно до цього закону сумарний тиск пари визначається сумою парціальних тисків пари всіх компонентів: $P_{\text{зар}} = P_1 + P_2 + \dots + P_n$. А це означає, що суміш закипає при нижчій температурі, ніж кожен з її компонентів.

Леткі речовини кислого характеру переганяються з водяною парою з кислого середовища. Речовини основного характеру переганяються з лужного і частково з слабокислого середовища. Речовини нейтрального характеру та амфотерні сполуки переганяються як з кислого, так і з лужного середовища. У максимальних кількостях амфотерні сполуки переганяються при рН, що відповідає ізоелектричній точці цих сполук.

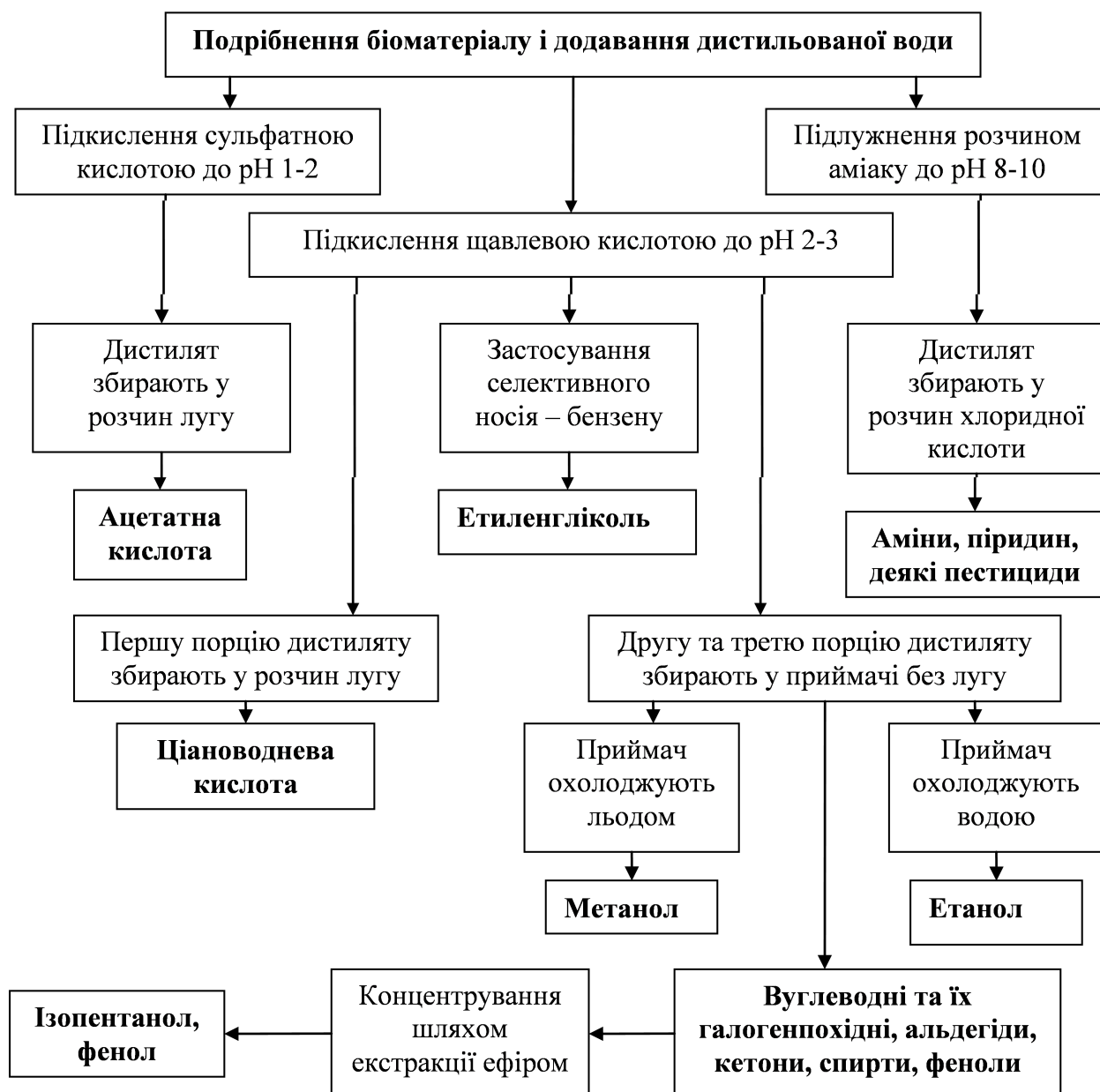


Схема одержання дистилатів для проведення нецільового аналізу біологічного матеріалу на наявність летких отрут.

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

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

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

Загалом, дистилат з біологічного матеріалу є безбарвним. Наявність певного забарвлення одержаного дистилату може бути дуже важливою ідентифікаційною ознакою, особливо під час дослідження отруєнь технічними рідинами чи денатурованим спиртом.

Дистиллят розділяють на кілька частин і зберігають у колбах із притертим корком, для його наступного дослідження різними методами (хімічним, газохроматографічним тощо).

Виконання лабораторної роботи

Попередні проби на леткі речовини:

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

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

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

Методика виділення летких речовин із об'єктів дослідження

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

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

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

Першу порцію дистилату в кількості 3 мл збирають у приймач, що містить 2—3 мл 2 %-го розчину натрію гідроксиду. При цьому кінець алонжа повинен бути занурений у цей розчин лугу. Зібраний у розчин лугу дистилат використовують для виявлення в ньому ціанідів. Потім у конічні колби місткістю 50 мл збирають 1—2 порції дистилату по 25 мл.

Схема поетапного виконання реакцій при дослідженні першої порції дистилату

Речовина, що досліджується	1 етап	2 етап	3 етап	4 етап	5 етап
Синильна кислота	Утворення берлінської блакиті	Утворення роданіду заліза	Утворення бензидинов ої сині	Утворення поліметиного барвника	Утворення ціаніду срібла

Дослідження ціановодневої (синильної) кислоти у дистилаті

Реакція утворення берлінської блакиті

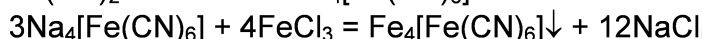
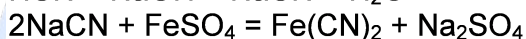
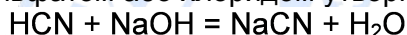
Методика виконання реакції. До 2 мл першої порції дистилату, що збирався у розчин лугу, додають 2 мл 10 % розчину сульфату заліза (II) і такий самий об'єм 10 % розчину заліза (III) хлориду. Суміш збовтують і нагрівають на газовому пальнику майже до кипіння, а потім охолоджують до кімнатної температури і додають 10 % розчин хлоридної

кислоти до слабо кислої реакції на лакмус. Виникнення синього осаду або синього забарвлення вказує на наявність ціановодневої кислоти (ціанідів) у дистилаті.

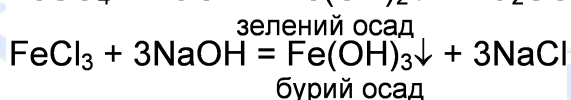
Для дослідження гнильного біоматеріалу застосовують іншу методику виконання цієї реакції – на індикаторному папері. Для цього 2-3 мл дистилату поміщають у пробірку, додають 1 мл 10 % розчину сульфатної кислоти і щільно закривають отвір пробірки фільтрувальним папером, просоченим розчином сульфату заліза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

Межа виявлення становить 0,3 мкг ціанідної кислоти у пробі.

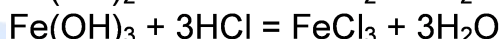
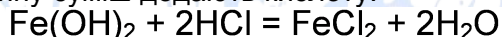
Рівняння хімічної реакції. При додаванні заліза (II) сульфату до лужного розчину ціанідів утворюється заліза (II) ціанід, а потім при взаємодії з надлишком ціанідів та заліза (III) сульфатом або хлоридом утворюється берлінська блакить:



У лужному середовищі солі заліза можуть взаємодіяти з лугом:



З метою розчинення утворених гідроксидів заліза та нейтралізації надлишку лугу в реакційну суміш додають кислоту:



Великий надлишок кислоти може сповільнювати процес утворення берлінської блакиті. За тривалої відсутності синього осаду до суміші додають 5 % розчин хлориду барію, який утворює осад сульфату барію з сульфат-іонами, що присутні у розчині. Сульфат барію, що утворився, адсорбує на своїй поверхні берлінську блакить. Висновок про відсутність ціанідів можна робити з повною впевненістю лише у тому випадку, коли впродовж 48 годин осад берлінської блакиті не утворився.

Реакція утворення берлінської блакиті є специфічною і має доказове значення наявності ціанідів у біологічному матеріалі.

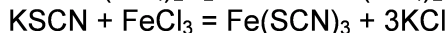
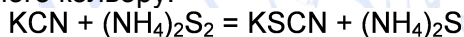
Чутливість реакції – 20 мкг ціановодневої кислоти у 1 мл дистилату.

Реакція утворення роданіду заліза.

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

Межа виявлення становить 10 мкг ціановодневої кислоти в 1 мл дистилату.

Рівняння хімічної реакції. При нагріванні ціанідів з розчином амонію полісульфіду утворюється роданід, який з розчином заліза (III) хлориду утворює сполуку криваво-червоного кольору:



Реакція з міді ацетатом та бензидином

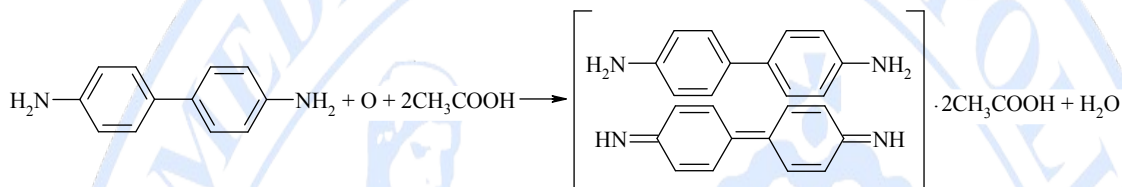
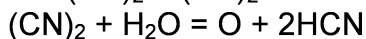
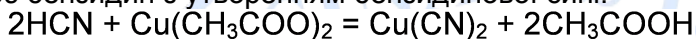
Методика виконання реакції. Реакція виконується на фільтрувальному папері, просоченому сумішшю розчинів ацетату міді та бензидину.

В пробірку додають 2-3 мл дистилату і 1 мл 10 % розчину тартратної кислоти. Пробірку закривають корком з прикріпленим до нього клаптиком зволоженого індикаторного

паперу. Пробірку впродовж декількох хвилин нагрівають на водяній бані. При наявності ціанідів у дистилаті індикаторний папір набуває синього кольору.

Реакція неспецифічна.

Рівняння хімічної реакції. Солі міді (II) з ціанідами утворюють диціан $(\text{CN})_2$, який окислює бензидин з утворенням бензидинової сині:

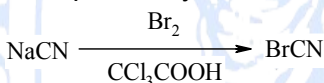


Реакція утворення поліметинового барвника (з піридин-бензидиновим реактивом).

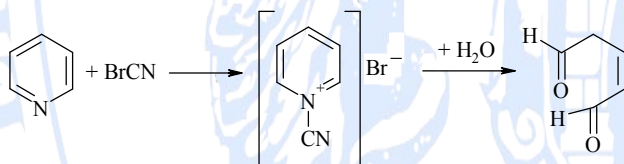
Методика виконання реакції. До 2-3 мл дистилату додають 0,5 мл бромної води, 1 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти, а потім по краплях 0,5 % розчин гідрозину сульфату до знебарвлення рідини і додатково ще одну краплю. До суміші додають 3 мл піридин-бензидинової суміші. За наявності ціанідів виникає оранжеве забарвлення, яке поступово переходить у червоно-фіолетове.

Межа виявлення становить 0,2 мкг ціановодневої кислоти у пробі. Проходженню реакції не заважають продукти гнильного розпаду біоматеріалу.

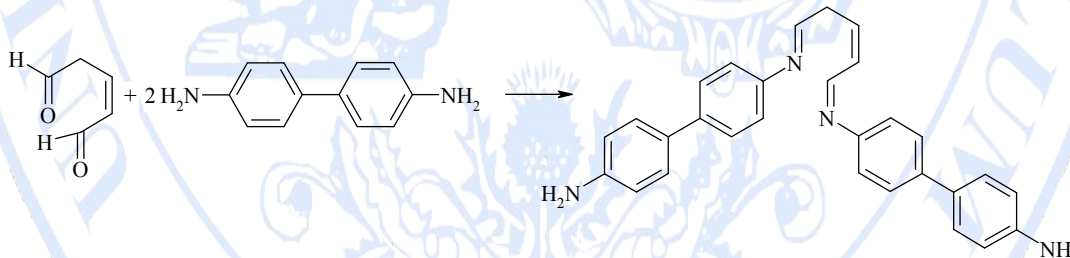
Рівняння хімічної реакції. Ця реакція проходить у декілька етапів. При додаванні бромної води до розчину ціанідів в присутності трихлороцтової кислоти відбувається утворення бромціану:



Бромціан з піридином утворює бромід ціанпіридину, який одразу ж гідролізує до глутаконового альдегіду:



Глутаконовий альдегід конденсується з бензидином, утворюючи забарвлений продукт реакції:

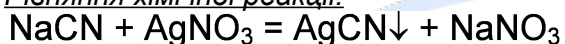


Мікрокристалоскопічна реакція утворення ціаніду срібла.

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

Межа виявлення становить 0,1 мкг ціановодневої кислоти у пробі. Цю реакцію можна використовувати для дослідження гнильного біоматеріалу.

Рівняння хімічної реакції:



Оформлення та захист протоколу заняття № 3.

Питання до заняття № 3

1. Фізико-хімічні властивості, будова і дія на організм летких речовин. Причини і частота отруєнь леткими речовинами. Особливості комбінованих отруєнь. Токсикоманія.
2. Перегонка з водяною парою. Принцип методу, будова приладу та порядок проведення. Переваги та недоліки методу. Закон Дальтона.
3. Азеотропні суміші, їх види. Використання явища утворення азеотропних сумішей в хіміко-токсикологічному аналізі. Навести приклади.
4. Вплив рН середовища на відгонку речовин із проби. Навести приклади.
5. Особливості використання селективних носіїв для виділення деяких лікарських отрут.
6. Метод фракційної перегонки (дефлегмації). Принцип методу та порядок проведення. Використання в токсикологічній хімії.
7. Метод мікродифузії. Принцип методу та порядок проведення досліджень. Використання в токсикологічній хімії.
8. Синильна кислота та ціаніди, їх механізм токсичної дії та ознаки отруєння. Основні антидоти, які використовуються при отруєнні ціанідами.
9. Напрямки метаболізму синильної кислоти та ціанідів. Навести формули метаболітів.
10. Виявлення синильної кислоти та її солей в дистиляті. Навести хімізм відповідних реакцій.

Тема 4. Аналіз дистиляту на наявність летких речовин за допомогою хімічних методів.

Зміст навчального матеріалу Темі 4.

Виявлення летких речовин у дистиляті хімічними реакціями. Типи хімічних реакцій, що використовуються при аналізі, оцінка їх чутливості і специфічності. Принципова схема дослідження біологічних об'єктів на леткі речовини при направленому і ненаправленому аналізі за допомогою комбінації. Методики виявлення та ідентифікації летких речовин в дистилятах хімічним методом.

Дослідження у дистиляті хлороформу, 1,2-дихлоретану, тетрахлорметану, хлоралгідрату, метилового спирту, етилового спирту, ізоамілового спирту, етиленгліколю, формальдегіду, ацетону, оцтової кислоти, фенолу та аніліну за допомогою хімічних реакцій.

Теоретична база

Основні типи хімічних реакцій, які використовуються в аналізі:

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

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

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

Табл. Схема поетапного виконання реакцій при дослідженні дистиляту

Речовина, що досліджується	1 етап	2 етап	3 етап	4 етап	5 етап

я					
1	2	3	4	5	6
Синильна кислота	Утворення берлінської блакиті	Утворення роданіду заліза	Утворення бензидинової сині		
Формальдегід	З хромотроповою кислотою	З фуксинсірчистою кислотою	З реактивом Фелінга	З резорцином	
Ацетатна Кислота	З хлоридом заліза (III)	Утворення індиго	Утворення етилацетату		
Фенол	З хлоридом заліза (III)	Утворення індофенолу	З бромною водою	З реактивом Мілона	
Ацетон	Утворення йодоформу	З натрію нітропрусидом (реакція Легаля)	З фурфуролом	З о-нітробензальдегідом	
Етанол	Утворення йодоформу	Утворення етилацетату	Утворення ацетальдегіду		
Метанол	Утворення метилсаліцилату	Утворення формальдегіду і реакція з хромотроповою кислотою	Утворення формальдегіду і реакція з фуксинсірчистою кислотою		
Ізоаміловий спирт	З п-диметиламінобензальдегідом	Утворення ізоамілацетату	Утворення ізовалер'янової кислоти		
Етиленгліколь	З міді (II) сульфатом	Утворення оксалатної кислоти	Утворення формальдегіду та його виявлення		
Хлороформ	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення ізонітрину	З резорцином	З реактивом Фелінга
Хлоралгідрат	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення ізонітрину	З резорцином	З реактивом Фелінга
Чотирихлористий вуглець	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення ізонітрину	З резорцином	
Дихлоретан	Виявлення ковалентно зв'язаного хлору	Реакція Фудживара	Утворення етиленгліколю і його виявлення	Утворення ацетиленіду міді	З хіноліном

В ході дослідження дистилляти зберігають у закритих корками колбах.

Виконання лабораторної роботи

Виявлення формальдегіду

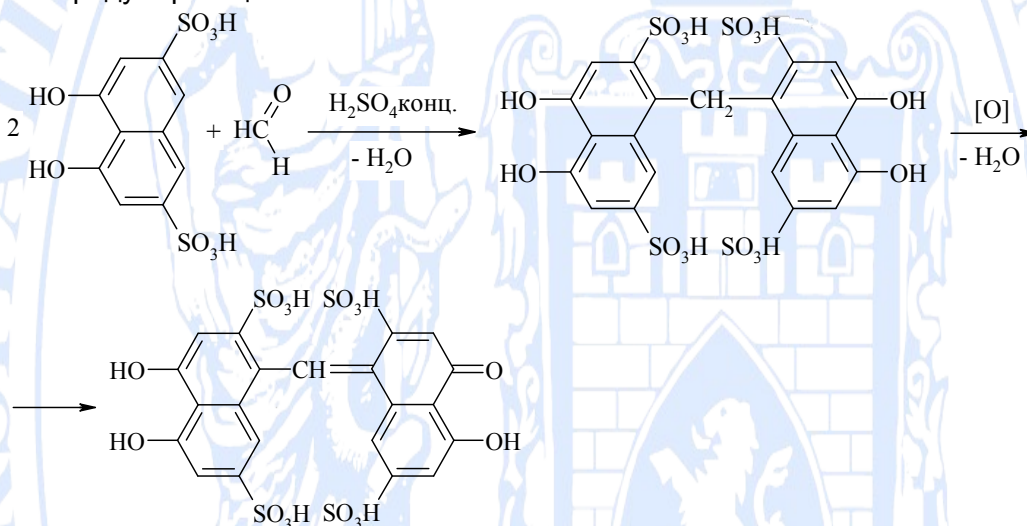
Реакція з хромотроповою кислотою

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

Межа виявлення становить 1 мкг формальдегіду у пробі. Ця реакція використовується для підтвердження наявності формальдегіду в біоматеріалі.

Не дають цієї реакції оцтовий, пропіоновий і масляний альдегіди. Речовини, що утворюють формальдегід під час гідролізу, дегідратації та окислення, також взаємодіють з хромотроповою кислотою.

Рівняння хімічної реакції. Формальдегід з хромотроповою кислотою (1,8-диоксинафталін-3,6-дисульфокислота) у присутності концентрованої сульфатної кислоти при нагріванні утворює продукт конденсації фіолетового кольору. Концентрована сульфатна кислота одночасно є дегідратуючим агентом і окисником. Спочатку сульфатна кислота спричиняє конденсацію формальдегіду з хромотроповою кислотою, а потім окисдує утворений продукт реакції:



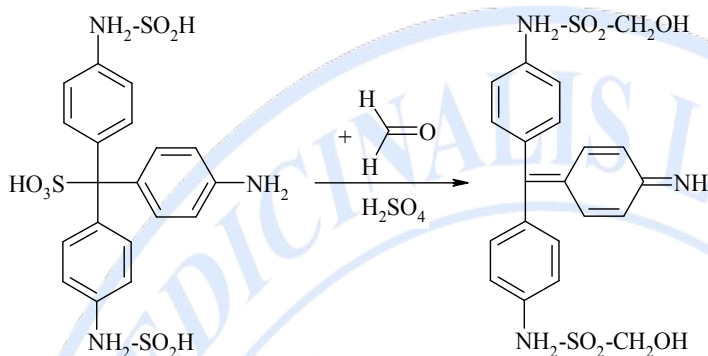
Реакція з фуксинсірчистою кислотою (реактивом Шіффа).

Методика виконання реакції. В пробірку вносять 1 мл дистилляту і 3 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки збовтують і охолоджують протічною водою, а потім додають 1 мл розчину фуксинсірчистої кислоти. За наявності формальдегіду одразу або впродовж 10-15 хвилин виникає синє чи синьо-фіолетове забарвлення.

Межа виявлення 0,03 мкг формальдегіду в пробі. Реакція є специфічною для формальдегіду в присутності мінеральних кислот (рН < 1). За інших умов з хромотроповою кислотою реагують ацетальдегід, нітробензальдегід, фурфурол тощо.

Забарвлення може виникати не лише за присутності формальдегіду, але і під впливом окисників (оксидів азоту, хлору, кисню повітря), підвищеної температури. Тому виникнення забарвлення через 30 хв. після додавання реактивів не слід вважати за позитивний результат реакції.

Рівняння хімічної реакції. Фуксинсірчиста кислота (реактив Шіффа) з формальдегідом утворює хіноїдний барвник синьо-фіолетового кольору:



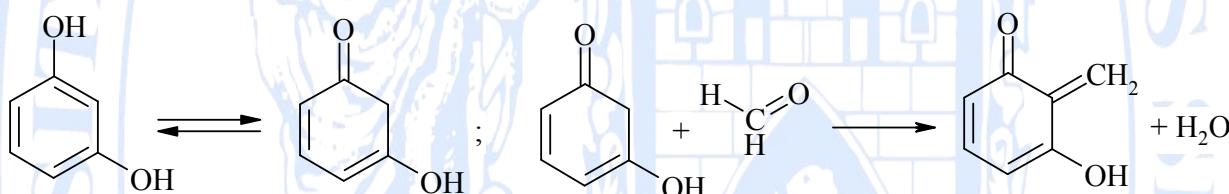
Реакція з резорцином

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

Межа виявлення становить 0,03 мкг формальдегіду у пробі.

Реакція не є специфічною. З резорцином взаємодіють також ацетальдегід, акролеїн, фурфурол і алкілгалогеніди. Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції. Альдегіди реагують з резорцином з утворенням забарвленої сполуки:

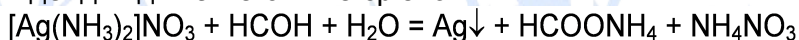


Реакція відновлення іонів срібла (утворення «срібного дзеркала»)

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

Ця реакція є дуже чутливою – дозволяє виявляти декілька десятків нанограмів формальдегіду – і використовуються для підтвердження наявності формальдегіду в дистилаті. Не є специфічною, так як крім формальдегіду цю реакцію дають і деякі інші відновники.

Рівняння хімічної реакції. З аміачного розчину солей срібла (реактив Толленса) формальдегід виділяє металічне срібло:



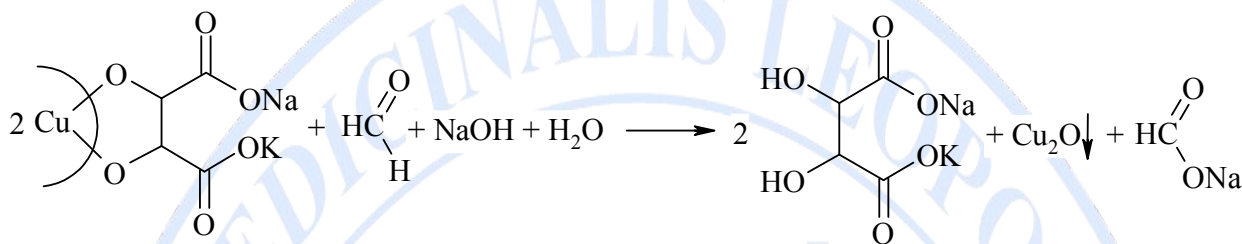
Реакція з реактивом Фелінга

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

Ця реакція не є специфічною. Крім формальдегіду її дають інші аліфатичні альдегіди та цукри, що мають відновні властивості.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання реактиву Фелінга з формальдегідом випадає осад оксиду або гідроксиду міді. Оксид міді (I) має чорне забарвлення.

Забарвлення гідроксиду міді (I) залежить від розміру частинок. Дуже дрібні частинки мають блакитно-зелене забарвлення, а великі – червоне. Тому при взаємодії реактиву Фелінга з відновниками переважно випадає жовтий або червоний осад:



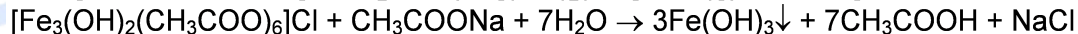
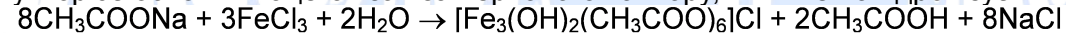
Виявлення ацетатної (оцтової) кислоти

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

На відміну від роданіду заліза під час струшування з ефіром забарвлення не переходить в ефірний шар.

Межа виявлення становить 1,25 мг ацетат-іонів в пробі.

Рівняння хімічної реакції. Реакція з хлоридом заліза (III). Хлорид заліза (III) з ацетат-іонами утворює основний ацетат заліза червоного кольору, який легко гідролізує:



Реакція з лантану нітратом і йодом

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

Межа виявлення становить 500 мкг ацетат-іонів в пробі.

Проведенню цієї реакції заважають сульфати, фосфати та катіони, що утворюють осад з амонію гідроксидом. Аналогічне забарвлення дає пропіонова кислота. Вищі гомологи та молочна кислота заважають реакції тільки при високих концентраціях. Похідні оцтової кислоти – хлороцтова та амінооцтова кислоти, ацетонітрил та ізобутилацетат не утворюють забарвлених сполук у цій реакції.

Рівняння хімічної реакції. Виникнення забарвлення під час взаємодії ацетат-іонів з нітратом лантану в присутності йоду зумовлене адсорбцією йоду основним нітратом лантану:

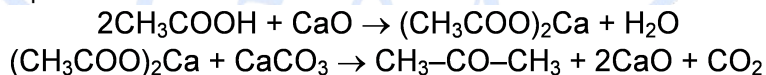


Реакція утворення індиго

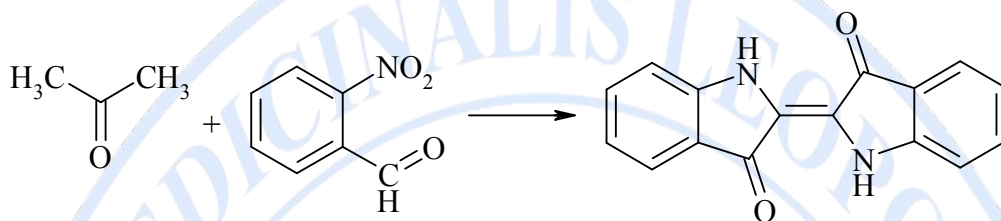
Методика виконання реакції. Половину дистилляту вносять в пробірку і випаровують насухо. До сухого залишку додають суміш оксиду кальцію і карбонату кальцію (1 : 1). Отвір пробірки накривають фільтрувальним папером, змоченим розчином о-нітробензальдегіду в 5 % розчині натрію гідроксиду (папір набуває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

Реакція не є специфічною. Цю реакцію дають також речовини, при гідролізі яких утворюється ацетильна група CH_3COO^- . Реакція утворення індиго має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання оцтової кислоти чи ацетатів з солями кальцію утворюється ацетон:



Ацетон, що утворився, в присутності луку взаємодіє з о-нітробензальдегідом і через ряд проміжних продуктів утворює індіго:

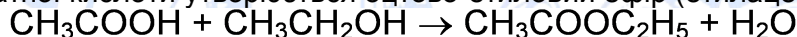


Реакція утворення оцтово-етилового ефіру

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

Реакція є характерною, однак відчуття запаху є суб'єктивним.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання ацетатів з етанолом в присутності сульфатної кислоти утворюється оцтово-етиловий ефір (етилацетат):

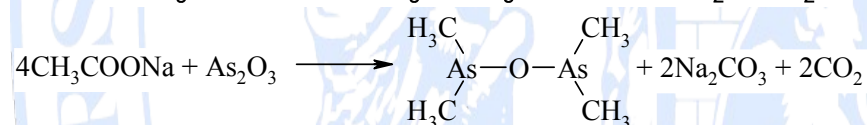
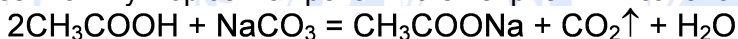


Реакція утворення оксиду какодилу (алкарзину, диметиларсину)

Методика виконання реакції (реакцію виконують під витяжкою !!!).

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

Рівняння хімічної реакції. Під час сплавлення ацетатів з сухим оксидом арсену (III) або арсенітами утворюється речовина з неприємним запахом - оксид какодилу:



Чутливість реакції становить 10 мг ацетатної кислоти в пробі.

Ця реакція не є специфічною для ацетатної кислоти; її дають також гомологи ацетатної кислоти.

Виявлення фенолу

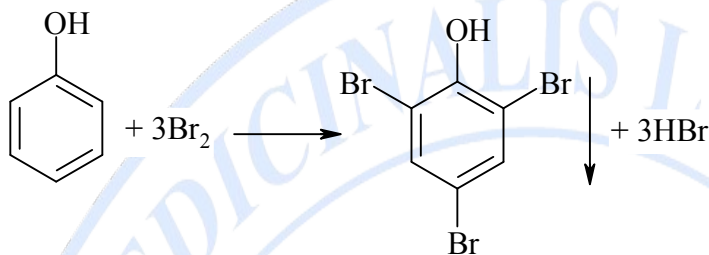
Для виявлення фенолу використовується частина третього дистилляту. Його вносять у роздільну лійку, додають розчин натрію гідрокарбонату до лужної реакції (за універсальним індикатором) і 2-3 рази збовтують з новими порціями діетилового ефіру по 10 мл. Ефірні екстракти об'єднують і випаровують насухо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

Реакція утворення трибромфенолу

Методика виконання реакції. До 0,5-1,0 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель бромної води. За наявності фенолу утворюється жовтувато-білий осад.

Реакція утворення трибромфенолу має високу чутливість (1 : 50000), але не є специфічною. Цю реакцію дають також крезולי, анілін та деякі ароматичні аміни. За допомогою цієї реакції можна виявити ендогенний фенол, що утворюється в кишечнику під впливом бактерій, особливо, якщо об'єкти дослідження перебувають в стані гнильного розкладу. В токсикологічній хімії реакція утворення трибромфенолу має значення при негативному результаті для доказу відсутності фенолу в дистилляті.

Рівняння хімічної реакції. Під час взаємодії фенолу з бромом утворюється трибромфенол:

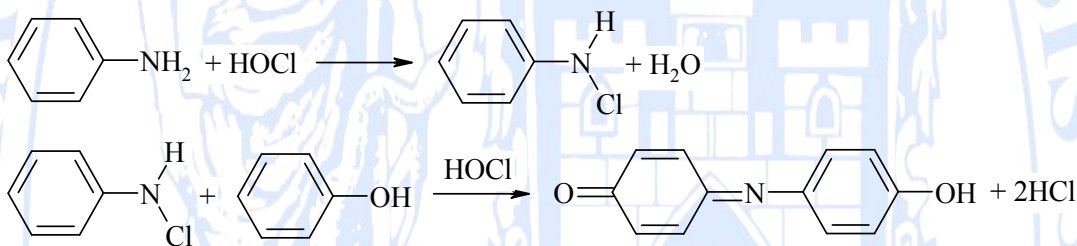


Реакція утворення індофенолу

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

Індофенолову пробу дають феноли з вільним пара-положенням, крезолі та інші сполуки, що містять фенольну групу. Ця реакція має негативне судово-хімічне значення і використовується для підтвердження наявності фенолу в дистилаті.

Рівняння хімічної реакції. Під час окислення фенолів і амінів утворюються індофеноли з характерним забарвленням:



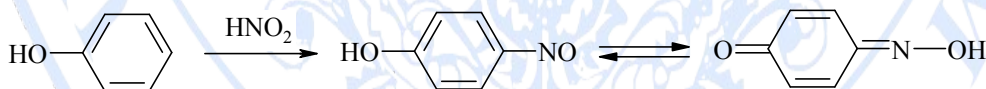
Окисниками у індофеноловій реакції можуть бути натрію гіпохлорит, хлорне вапно, хлорна або бромна вода, водню пероксид, а також кисень повітря.

Реакція Лібермана

Методика виконання реакції. 1-2 краплі досліджуваного розчину випаровують насухо в маленькому тиглі. До сухого залишку додають 1 краплю 1 % свіжовиготовленого розчину натрію нітриту в концентрованій сульфатній кислоті і залишають суміш на декілька хвилин. Після охолодження до суміші по краплях додають 4 н. розчин натрію гідроксиду до лужної реакції (за універсальним індикатором). Виникнення синього забарвлення, яке переходить в червоне, а потім у зелене, вказує на наявність фенолу в пробі.

Реакцію Лібермана дають деякі феноли, ефіри фенолів, тіофен та ін. Не дають цієї реакції нітрофеноли та пара-заміщені феноли.

Рівняння хімічної реакції. Ця реакція базується на утворенні індофенолу. Реактивами служать натрію нітрит і сульфатна кислота, під час взаємодії яких утворюється нітритна кислота. Нітритна кислота з фенолом утворює п-нітрозифенол, під час ізомеризації якого утворюється п-хіноїдоксим:



Під час взаємодії хіноїдоксиму з надлишком фенолу утворюється індофенол синього кольору:



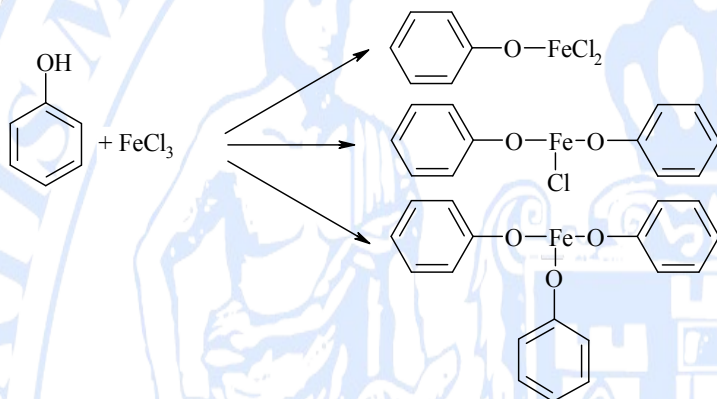
Реакція з хлоридом заліза (III)

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

Ця реакція є менш чутливою (1 : 1000), ніж реакція з бромною водою. Реакція з хлоридом заліза (III) має позитивне судово-хімічне значення, оскільки кількість утвореного біогенного та гнильного фенолу в організмі не досягає вказаної концентрації.

З хлоридом заліза (III) утворюють забарвлені продукти крезолі, оксипіridини, оксихінолін та ряд інших речовин, що містять фенольні групи. Склад і забарвлення утворених продуктів залежать від природи досліджуваних речовин, розчинників та рН середовища. Наприклад, о-крезол і п-крезол з хлоридом заліза (III) дають синє забарвлення, а м-крезол – червоно-фіолетове.

Рівняння хімічної реакції. Під час взаємодії фенолу з хлоридом заліза (III) утворюються забарвлені сполуки:

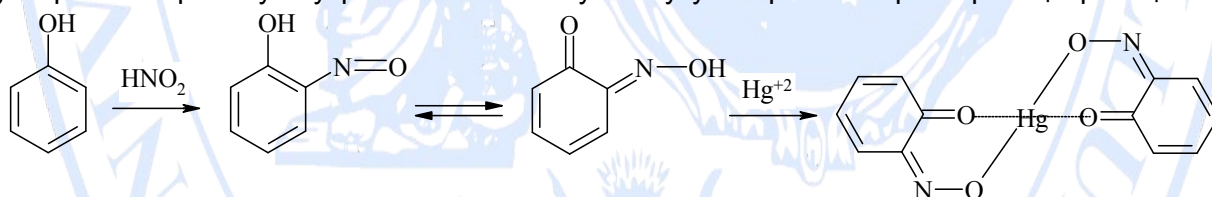


Реакція з реактивом Мілона

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

Цю реакцію дають деякі феноли, анілін та ефіри фенолів, які при нагріванні утворюють фенол. Також цю реакцію часто використовують для виявлення пара-заміщених фенолу, які не можна виявити за допомогою реакції Лібермана.

Рівняння хімічної реакції. Під час взаємодії фенолу з реактивом Мілона (суміш нітратів одно- та двовалентної ртуті, що містить нітритну кислоту) утворюється 2-нітрозифенол, що перетворюється в 1,2-хінонмоноксим. 1,2-хінонмоноксим з іонами ртуті утворює забарвлену внутрішньокмлексну сполуку. Нагрівання прискорює цю реакцію:



Реакція з бензальдегідом

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

Цю реакцію дає також о-крезол.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання фенолу з бензальдегідом в кислому середовищі утворюється безбарвний продукт конденсації, після окислення якого виникає забарвлення. Концентрована сульфатна кислота у цій реакції діє як дегідратуючий, конденсуючий та оксидуючий агент.

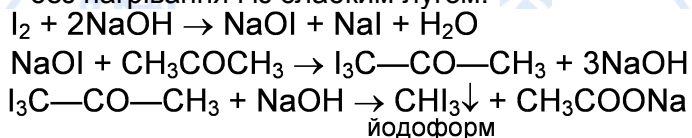
Виявлення ацетону

Реакція утворення йодоформу

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

Чутливість реакції становить 0,1 мг ацетону в пробі. Реакція не є специфічною (аналогічний продукт утворює і етанол), але має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції. При взаємодії ацетону з розчином йоду в лужному середовищі утворюється йодоформ. На відміну від етанолу ацетон вступає в цю реакцію за значно м'якших умов – без нагрівання і із слабким лугом:



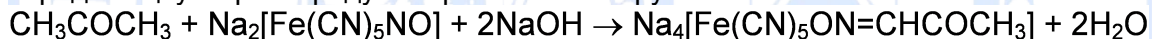
Реакція з натрію нітропрусидом

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

Реакція є чутливою, але не специфічною. З натрію нітропрусидом взаємодіють також інші кетони і альдегіди (метилетилкетон, ацетофенон, ацетилацетон, ацетооцтовий ефір, діацетил).

Реакція з натрію нітропрусидом використовується для підтвердження наявності ацетону в пробі.

Рівняння хімічної реакції. Ацетон при взаємодії з натрію нітропрусидом в лужному середовищі утворює продукт червоного кольору:



Вважається, що забарвлені сполуки з натрію нітропрусидом утворюють речовини, що містять здатні до енолізації СО-групи:



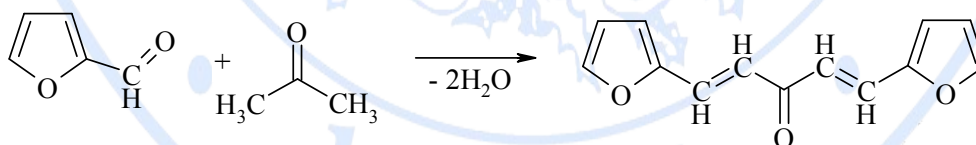
Кетони, в молекулах яких немає метильних чи метиленових груп, з'єднаних з карбонільними групами, не дають цієї реакції.

Реакція з фурфуролом

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

Ця реакція не є специфічною і використовується для підтвердження наявності ацетону в пробі.

Рівняння хімічної реакції. Ця реакція базується на здатності ацетону конденсуватися з фурфуролом (та деякими іншими ароматичними альдегідами: ванілін, саліциловий альдегід) з утворенням забарвлених сполук:



Реакція утворення індиго

Методика виконання реакції. У пробірку до 3-5 крапель дистилляту додають одну краплю насиченого розчину о-нітробензальдегіду в 2 н. розчині натрію гідроксиду. Суміш

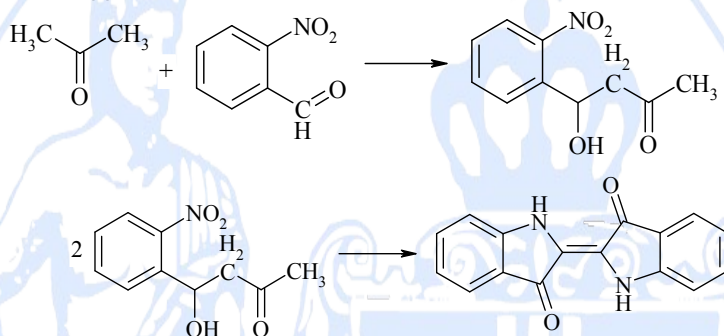
нагрівають на водяній бані, а потім охолоджують до кімнатної температури. Після цього в пробірку додають 1 мл хлороформу і збовтують. За наявності ацетону хлороформний шар забарвлюється в синій колір.

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

За вказаних умов о-нітробензальдегід реагує також з ацетофеноном, діацетиллом, ацетилацетоном, ацетооцтовим ефіром, ацетальдегідом.

Межа виявлення становить 100 мкг ацетону в пробі.

Рівняння хімічної реакції. При взаємодії ацетону з о-нітробензальдегідом в лужному середовищі утворюється індіго:

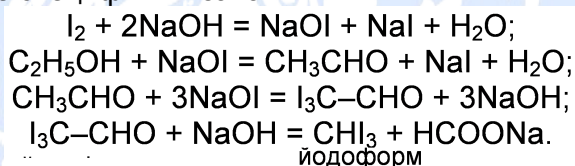


Виявлення етилового спирту (етанолу)

Реакція утворення йодоформу

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

Межа виявлення становить 0,04 мг етанолу в пробі. Реакція не є специфічною. Її дають молочна кислота і ацетон, що майже завжди присутні у вмісті шлунково-кишкового тракту. Ця реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті Рівняння хімічної реакції. При нагріванні етанолу з розчином йоду в лужному середовищі утворюється йодоформ (CHI_3), що має специфічний запах:

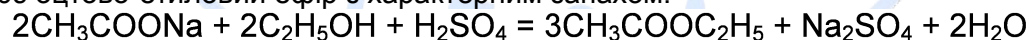


Реакція утворення етилацетату

Методика виконання реакції. До 1 мл дистилляту додають безводний натрію ацетат до насичення розчину (до припинення його розчинення) і по краплях 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Суміш ретельно перемішують і обережно нагрівають на полум'ї газового пальника до появи перших бульбашок газу. Потім суміш виливають у 20 кратний об'єм дистильованої води. Виникнення специфічного фруктового запаху (запаху яблучної есенції) свідчить про наявність етанолу в пробі.

Межа виявлення становить 15 мкг етанолу в пробі. Реакція є не специфічною, і застосовується для підтвердження наявності етанолу в пробі.

Рівняння хімічної реакції. Етанол з натрію ацетатом в присутності сульфатної кислоти утворює оцтово-етиловий ефір з характерним запахом:

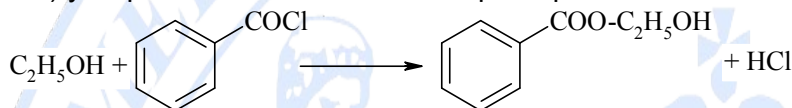


Реакція утворення етилбензоату

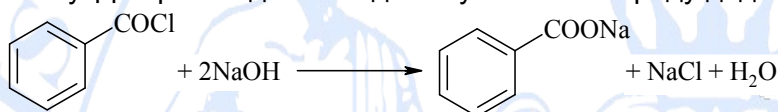
Методика виконання реакції. До 1 мл дистилляту додають 1-2 краплі бензоїлхлориду. До суміші при постійному збовтуванні по краплях додають 10 % розчин натрію гідроксиду до зникнення задушливого запаху бензоїлхлориду. Виникнення запаху етилбензоату вказує на наявність етанолу в пробі. Цей запах краще відчувається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

Реакції заважає метиловий спирт, так як він з бензоїлхлоридом утворює продукт з подібним запахом (метилбензоат).

Рівняння хімічної реакції. Під час взаємодії етанолу з бензоїлхлоридом (хлористим бензоїлом) утворюється етилбензоат з характерним запахом:



Бензоїлхлорид має неприємний запах, тому його присутність маскує запах етилбензоату. Для розкладання надлишку бензоїлхлориду додають розчин лугу:



Реакція окислення етанолу до ацетальдегіду

Методика виконання реакції. До 1 мл дистилляту додають 10 % розчин сульфатної кислоти до кислої реакції (за універсальним індикатором) і по краплях 10 % розчин калію дихромату до оранжево-червоного забарвлення реакційної суміші. Суміш залишають на декілька хвилин при кімнатній температурі. За наявності етанолу виникає фруктовий запах ацетальдегіду (запах свіжих яблук).

Межа виявлення становить 3 мкг етанолу в пробі. Реакція є неспецифічною і використовується для підтвердження наявності етанолу.

Рівняння хімічної реакції. Етанол окислюється дихроматом калію або калію перманганатом до ацетальдегіду:



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

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

Виявлення метилового спирту (метанолу)

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

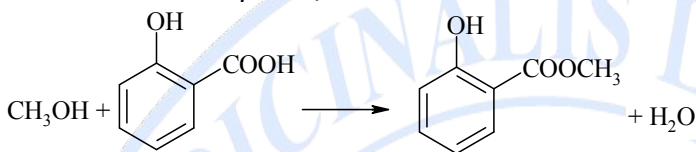
Реакція утворення метилсаліцилату.

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

За допомогою цієї реакції можна виявити 0,3 мкг метанолу в пробі.

Ця реакція є доказовою, але не специфічною – з саліциловою кислотою ефір з подібним запахом утворює етанол.

Рівняння хімічної реакції:

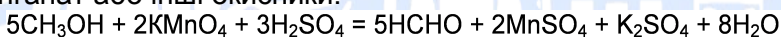


Реакція окислення метанолу до формальдегіду

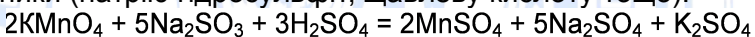
Методика виконання реакції. До 5 мл дистиляту додають 2 мл 10 % розчину сульфатної кислоти. Рідину охолоджують, занурюючи пробірку у холодну воду з льодом. Потім по краплях у досліджувану суміш додають 1 % розчин калію перманганату до стійкого рожевого забарвлення. Через 20 хв. у реакційну суміш по краплях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

Рівняння хімічної реакції. Більшість реакцій виявлення метилового спирту базується на окисненні метанолу до формальдегіду з подальшим виявленням його за допомогою кольорових реакцій. Перед початком дослідження дистиляту на наявність метанолу слід пересвідчитися у відсутності альдегідів в досліджуваному дистиляті.

Для окислення метилового спирту до формальдегіду використовують калію перманганат або інші окисники:



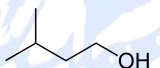
Для зв'язування надлишку калію перманганату додають натрію сульфід або інші відновники (натрію гідросульфід, щавлеву кислоту тощо):



Окислення метанолу слід проводити в присутності розбавленої сульфатної кислоти і при охолодженні. При наявності в дистиляті етилового спирту при бурхливому перебігу реакції та розігріванні реакційної суміші спирт зазнає дегідратації з наступним окисленням утвореного етилену до формальдегіду. Це може спричинити фальшиве виявлення метанолу за рахунок етанолу:



Виявлення ізоамілового спирту (ізопентанолу)

Ізоаміловий спирт  — продукт спиртового бродіння. Він складає основну частину сивушного масла, куди входять також пропіловий, ізопропіловий, бутиловий, ізобутиловий та аміловий спирти.

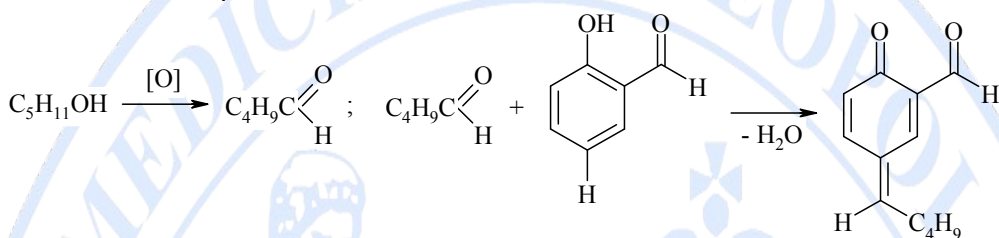
Усі наведені нижче реакції, дають позитивний ефект лише за відсутності води у реакційній суміші. Тому перед виконанням вказаних реакцій ізоаміловий спирт екстрагують з дистиляту діетиловим ефіром. Ефірну витяжку ділять на частини, випаровують ефір на повітрі і потім проводять відповідні реакції з одержаними залишками.

Реакція з саліциловим альдегідом.

Методика виконання реакції. У фарфорову чашку до залишку після випаровування діетилового ефіру додають 1 мл 1 % спиртового розчину саліцилового альдегіду і 3 мл концентрованої сульфатної кислоти. Після охолодження вміст фарфорової чашки переносять у пробірку і нагрівають впродовж 3 хвилин на киплячій водяній бані. Виникнення рожево-червоного забарвлення свідчить про наявність ізоамілового спирту в пробі. При наявності великої кількості ізоамілового спирту забарвлення рідини може виникнути без нагрівання.

Межа виявлення становить 1,5 мкг ізоамілового спирту в пробі. Реакція є неспецифічною і має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції. Ізоаміловий спирт взаємодіє з саліциловим альдегідом в присутності концентрованої сульфатної кислоти (реакція Комаровського – конденсація аліфатичних спиртів, що містять більше 3-х атомів вуглецю, з ароматичними альдегідами). Один з імовірних механізмів реакції полягає в окисленні ізоамілового спирту концентрованою сульфатною кислотою до ізовалеріанового альдегіду, який вступає в реакцію конденсації з ароматичним альдегідом:



Реакція з п-диметиламінобензальдегідом

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

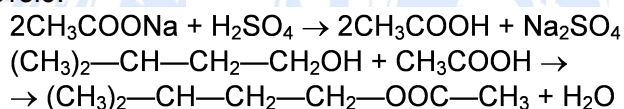
Рівняння хімічної реакції. Ізоаміловий спирт в присутності концентрованої сульфатної кислоти взаємодіє з п-диметиламінобензальдегідом, утворюючи продукт конденсації темно-червоного кольору (реакція Комаровського).

Реакція утворення ізоамілацетату

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

Реакція має високу чутливість, але не є специфічною. Використовується для підтвердження наявності ізоамілового спирту в дистилаті.

Рівняння хімічної реакції. Це є реакція утворення складного ефіру ізоамілового спирту з оцтовою кислотою:

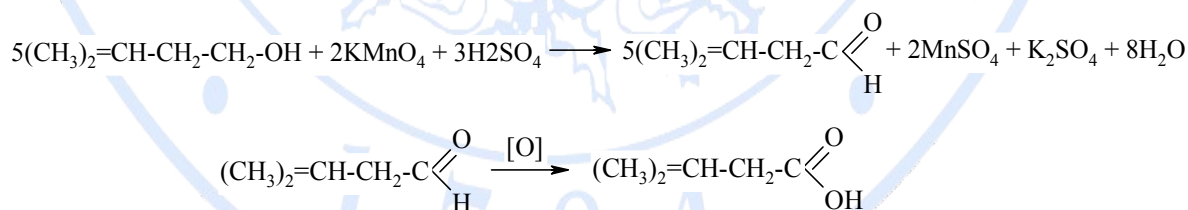


Реакція окислення ізоамілового спирту

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

Чутливість реакції становить 0,11 мг ізоамілового спирту в пробі. Ця реакція використовується для підтвердження наявності ізоамілового спирту в дистилаті.

Рівняння хімічної реакції. Ізоаміловий спирт в присутності концентрованої сульфатної кислоти окислюється калію перманганатом до ізовалеріанового альдегіду, а потім до ізовалеріанової кислоти:

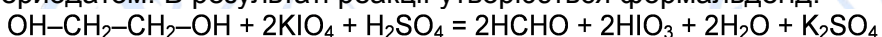


Виявлення етиленгліколю

Реакція окислення етиленгліколю до формальдегіду

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

Рівняння хімічної реакції. Ця реакція базується на окисненні етиленгліколю натрію чи калію періодатом. В результаті реакції утворюється формальдегід:

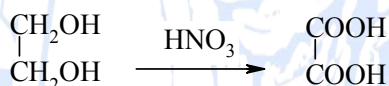


А потім утворений формальдегід виявляють за допомогою хімічних реакцій з хромотроповою кислотою, з фуксинсірчистою кислотою, з резорцином, відновлення іонів срібла, з реактивом Фелінга (див. вище - **Формальдегід**).

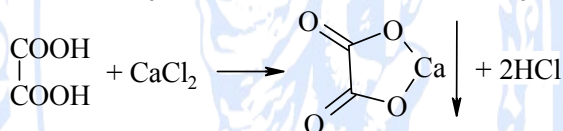
Реакція окислення етиленгліколю до щавлевої кислоти

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

Рівняння хімічної реакції. При кількаразовому випаровуванні етиленгліколю з нітратною кислотою утворюється щавлева кислота:



Утворена щавлева кислота з солями кальцію утворює білий осад оксалату кальцію. Кристали оксалату кальцію мають характерну форму, яка нагадує поштові конверти:

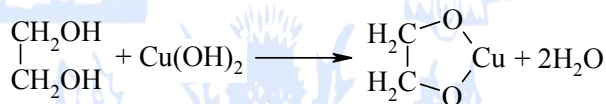
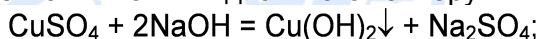


Реакція утворення гліколяту міді

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

Цю реакцію використовують для виявлення етиленгліколю в технічних рідинах (антифризах, гальмівних рідинах).

Рівняння хімічної реакції. При додаванні до етиленгліколю лугу та сульфату міді утворюється гліколят міді синього кольору:



Виявлення хлороформу

Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору

Ця реакція має малу чутливість. У випадку відсутності осаду чи муті в цій реакції слід провести реакцію утворення ізонітрилу. Негативний результат ізонітрильної проби дозволяє зробити висновок про відсутність в дистилляті галогенпохідних вуглеводнів. За позитивного результату ізонітрильної проби виконують усі інші реакції ідентифікації.

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

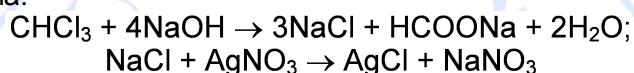
До 1-2 мл дистилляту в пробірку вносять 1 мл 10 % спиртового розчину натрію гідроксиду. Пробірку обережно нагрівають на полум'ї газового пальника впродовж 3-5

хвилин. Після охолодження розчин підкислюють 10 % розчином нітратної кислоти до кислої реакції (за універсальним індикатором) і додають 0,5 мл 1 % розчину нітрату срібла. Утворення білого осаду або помутніння (більш інтенсивного, ніж у контрольному досліді), що розчиняється в розчині амонію гідроксиду, вказує на наявність хлороформу в дистилаті.

Реакція є малочутливою і неспецифічною. З її допомогою можна виявити 0,15-0,20 мг хлороформу в пробі. Цю реакцію дають також хлоралгідрат, дихлоретан і тетрахлорметан та деякі інші хлорпохідні вуглеводнів.

Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання хлорпохідних вуглеводнів із спиртовим розчином лугу відбувається відщеплення атомів хлору, які можна виявити за допомогою реакції з нітратом срібла:

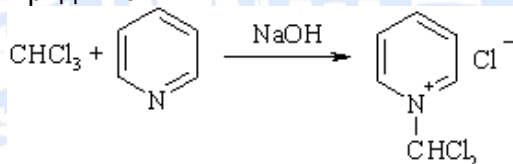


Реакція Фудживара

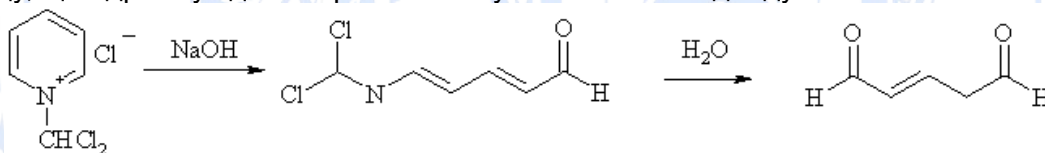
Методика виконання реакції. До 2-3 мл дистилату додають 2 мл піридину і 2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду. Суміш нагрівають на водяній бані 2-3 хв. За наявності хлороформу виникає червоне забарвлення.

Ця реакція не є специфічною. Реакція Фудживара є загальною реакцією на хлорпохідні вуглеводні.

Рівняння хімічної реакції. Ця реакція ґрунтується на здатності галогенпохідних сполук утворювати поліметиновий барвник під час взаємодії з піридином у лужному середовищі. Спочатку утворюється сіль піридинію:



В лужному середовищі сіль піридинію перетворюється в похідне глутаконового альдегіду, що гідролізує до забарвленого глутаконового альдегіду:

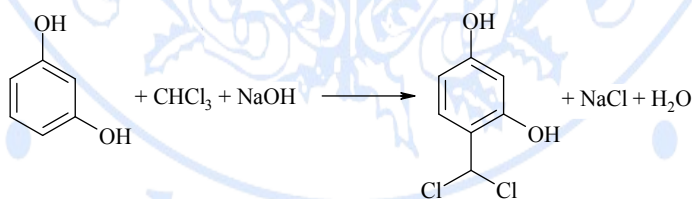


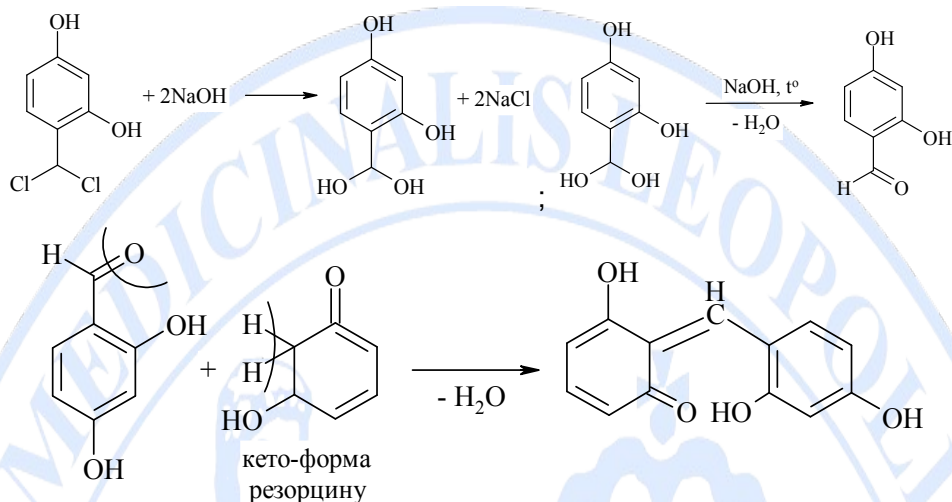
Реакція з резорцином

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

Реакція є неспецифічною. Цю реакцію дають тетрахлоретан і хлоралгідрат, але не дає дихлоретан. За допомогою реакції з резорцином можна виявити 0,25-0,30 мг хлороформу. Реакція використовується для підтвердження наявності хлороформу в дистилаті.

Рівняння хімічної реакції:





Реакція утворення ізонітрилу

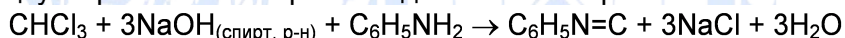
Методика виконання реакції.

До 1 мл дистилату додають 10 крапель 10 % спиртового розчину натрію гідроксиду і одну краплю водного розчину аніліну. Рідину нагрівають на водяній бані впродовж 1-2 хвилин. Виникнення неприємного запаху (запах горілої гуми) свідчить про наявність хлороформу в пробі.

Ізонітрильну пробу виконують під тягою! Для руйнування ізонітрилу використані пробірки кип'ятять з 10 % розчином сульфатної кислоти.

Ця реакція є відносно чутливою (0,01 мг) і неспецифічною, її дають усі хлорпохідні за виключенням дихлоретану. Реакція утворення ізонітрилу має судово-хімічне значення при негативному результаті. Негативний результат цієї дозволяє зробити висновок про відсутність згаданих хлорпохідних у дистилаті.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання хлороформу з первинними амінами в лужному середовищі утворюється ізонітрил з надзвичайно неприємним запахом:



Реакція з реактивом Фелінга

Методика виконання реакції.

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

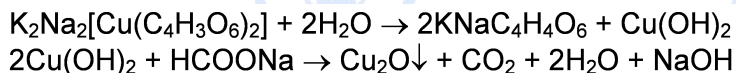
Окрім хлороформу цю реакцію також дають хлоралгідрат та альдегіди. Не дають цієї реакції 1,2-дихлоретан, тетрахлоретан.

Чутливість реакції становить 3,0 мг хлороформу в пробі.

Рівняння хімічної реакції. Під час взаємодії хлороформу з лугом утворюється форміатна кислота:

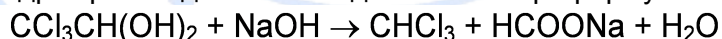


Реактив Фелінга – внутрішньо комплексна сполука іонів міді з сегнетовою сіллю –при нагріванні окислює форміатну кислоту та її солі. Внаслідок реакції випадає осад оксиду міді (I) червоного кольору:



Виявлення хлоралгідрату

Для виявлення хлоралгідрату використовують усі реакції, котрі в хіміко-токсикологічному аналізі застосовують для виявлення хлороформу. Це пояснюється тим, що всі ці реакції виявлення хлороформу виконуються в присутності лугу. У лужному ж середовищі хлоралгідрат розкладається з виділенням хлороформу:



Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору. (Методика - див. хлороформ). Чутливість реакції становить 0,15-0,20 мг хлоралгідрату у пробі.

Реакція утворення ізонітрилу. (Методика - див. хлороформ). Чутливість реакції 0,01 мг хлоралгідрату.

Реакція з резорцином. (Методика - див. хлороформ). Чутливість реакції 0,25 мг хлоралгідрату.

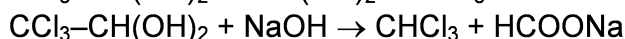
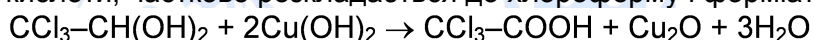
Реакція відновлення гідроксиду міді (II) у оксид міді (I).

Методика виконання реакції. До 2 мл дистилляту додають 4 мл 10 % розчину натрію гідроксиду і 2-3 краплі розчину сульфату міді (II). Суміш обережно нагрівають на водяній бані. За присутності хлоралгідрату або хлороформу у дистилляті спостерігається утворення осаду жовтого кольору, який поступово змінюється на цеглисто-червоний.

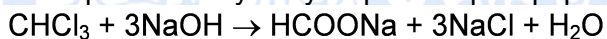
Чутливість реакції становить 2,0 мг хлоралгідрату в пробі.

Тетрахлорметан під час нагрівання з лугом утворює оксид вуглецю (IV) і воду, тому відновлення гідроксиду міді (II) у оксид міді (I) з ним не відбувається.

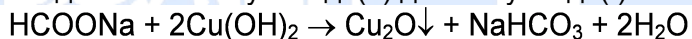
Рівняння хімічної реакції. Хлоралгідрат частково окислюється гідроксидом міді (II) до три хлороцтової кислоти, частково розкладається до хлороформу і формиату натрію:



Хлороформ під час нагрівання з лугом утворює натрію формиат і натрію хлорид:



Форміат натрію відновлює сполуки міді (II) до сполук міді (I):



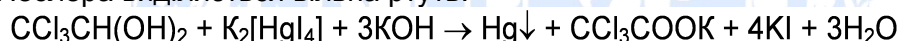
Специфічна реакція виявлення хлоралгідрату

Реакція з реактивом Неслера

Методика виконання реакції. До 1 мл дистилляту додають 2-3 краплі реактиву Неслера і рідину збовтують. За наявності хлоралгідрату в дистилляті утворюється цеглисто-червоний осад, що перетворюється на брудно-зелений.

Реакція є чутливою і характерною лише для хлоралгідрату. Інші хлорпохідні не дають цієї реакції, однак вона не є специфічною, тому що альдегіди та деякі відновники взаємодіють з реактивом Неслера.

Рівняння хімічної реакції. Для розрізнення хлоралгідрату від хлороформу використовують реакцію з реактивом Неслера. Хлоралгідрат містить альдегідну групу, під час взаємодії якої з реактивом Неслера виділяється вільна ртуть:



ПРИМІТКА. Якщо реакція з реактивом Неслера не дала достовірного результату, то слід провести **екстракцію хлоралгідрату з дистилляту**. Для цього частину дистилляту 2-3 рази збовтують з діетиловим ефіром (порціями по 3-5 мл). Ефірні екстракти фільтрують через сухий паперовий фільтр і збирають у фарфорову чашку. Ефір випаровують насухо при кімнатній температурі. Якщо у дистилляті був хлороформ, то він випарується разом з ефіром, а хлоралгідрат залишиться у чашці. Залишок у чашці розчиняють у 0,5-1,0 мл води і досліджують утворений розчин на наявність хлоралгідрату.

Виявлення тетрахлорметану (чотирихлористого вуглецю)

В хіміко-токсикологічному аналізі виявлення тетрахлорметану базується на тих же реакціях, що й інші хлорпохідні вуглеводнів. Однак, на відміну від хлороформу і хлоралгідрату, тетрахлорметан не дає реакції з реактивом Фелінга, так як під час нагрівання з розчином лугу не утворюються речовини з відновними властивостями.

Висновок про наявність тетрахлорметану в дистилляті, роблять при позитивному результаті реакцій: Фудживара, відщеплення хлору, утворення ізонітрилу, з резорцином в лужному середовищі та негативному результаті реакції з реактивом Фелінга.

Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору

Методика виконання реакції. Див. виявлення хлороформу. Чутливість реакції становить 6,8 мг тетрахлорметану в 1 мл дистилляту.

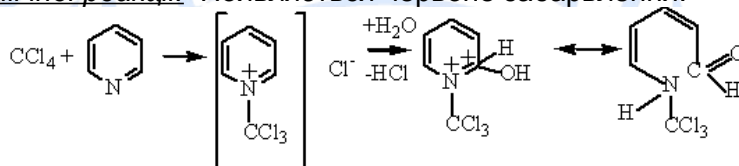
Рівняння хімічної реакції:



Реакція Фудживара

Методика виконання реакції: Див. виявлення хлороформу.

Рівняння хімічної реакції: Появляється червоне забарвлення:



Реакція утворення ізонітрилу

Методика виконання реакції: Див. виявлення хлороформу.

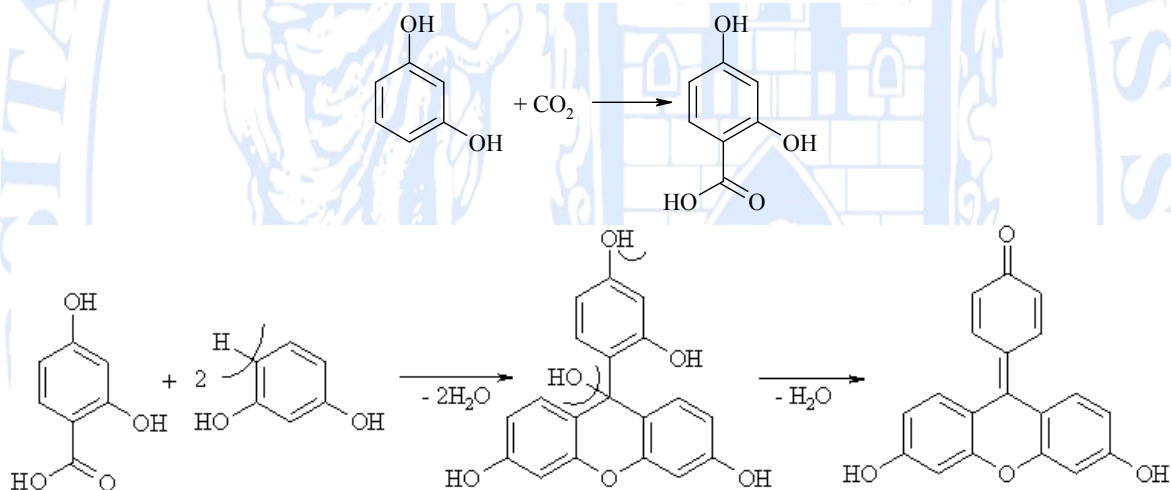
Рівняння хімічної реакції:

При взаємодії з аніліном утворюється ізонітрил, що має неприємний запах:
 $\text{CCl}_4 + \text{RNH}_2 + 4\text{KOH} \rightarrow \text{RN}=\text{C} + 4\text{KCl} + 3\text{H}_2\text{O}$. Чутливість реакції становить 2,3 мг тетрахлорметану в 1 мл дистилляту.

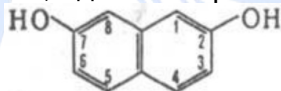
Реакція з резорцином в лужному середовищі

Методика виконання реакції: Див. виявлення хлороформу. Чутливість реакції становить 4,5 мг тетрахлорметану в 1 мл дистилляту.

Рівняння хімічної реакції:



Реакція з 2,7-діоксинафталіном. Для виявлення тетрахлорметану в дистиллятах і в технічних рідинах застосовують реакцію з 2,7-діоксинафталіном:



Методика виконання реакції: В пробірку до краплі дистилляту додають 2 мл циклогексанолу, крупинку натрію гідроксиду і декілька кристаликів 2,7-діоксинафталіну. Суміш нагрівають до кипіння і продовжують нагрівання ще впродовж 45-60 с. Потім розчин зливають з нерозчиненого натрію гідроксиду, охолоджують, додають до нього 2 мл льодяної оцтової кислоти і 4 мл етанолу, а потім збовтують. За наявності CCl_4 виникає світло-буре забарвлення, що переходить в жовто-зелене.

У цій реакції хлороформ дає темно-червоне забарвлення.

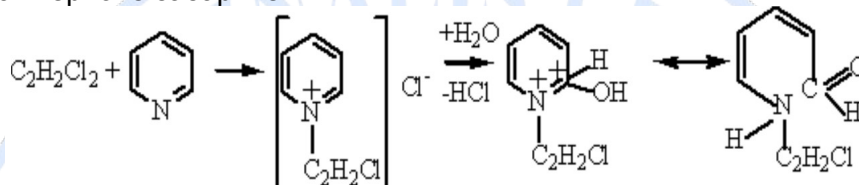
Виявлення 1,2-дихлоретану

В хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення 1,2-дихлоретану $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl}$ застосовують ряд реакцій, що є спільними і для інших хлороподібних вуглеводнів.

Реакція Фудживара

Методика виконання реакції. Див. виявлення хлороформу.

Рівняння хімічної реакції. При нагріванні 1,2-дихлоретану з піридином при наявності лугу з'являється червоне забарвлення:



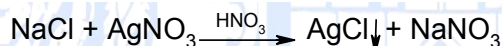
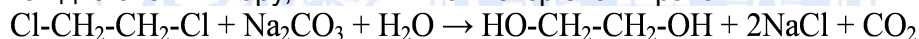
Реакція відщеплення атомів хлору

Методика виконання реакції. В ампулу місткістю 1 млносять 0,5 мл дистилляту і 0,5 мл 10 % розчину натрію карбонату. Ампулу запаюють і на 1 год. Поміщають у киплячу водяну баню. Після охолодження вміст ампули переносять у пробірку, додають 10 % розчин нітратної кислоти до кислої реакції (за універсальним індикатором) і 3-5 крапель 1 % розчину нітрату срібла. Виникнення помітної муті вказує на наявність 1,2-дихлоретану в дистилляті.

Чутливість реакції становить 2,5 мг 1,2-дихлоретану в пробі.

Цю реакцію дають хлороформ, хлоралгідрат, тетрахлорметан, 1,1-дихлоретан (CH_3-CHCl_2) та багато інших хлорпохідних вуглеводнів.

Рівняння хімічної реакції. У випадку з 1,2-дихлоретаном реакція відщеплення атомів хлору проходить у більш жорстких умовах: або при тривалому нагріванні зі спиртовим розчином лугу, або при нагріванні і підвищеному тиску. Так після тригодинного нагрівання дистилляту в запайній ампулі з 10 % розчином натрію карбонату від дихлоретану відщеплюються два атоми хлору, які виявляють зі срібла нітратом:



Утворюється білий асад, нерозчинний у азотній кислоті.

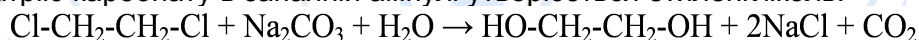
Специфічні реакції виявлення 1,2-дихлоретану

Реакція утворення етиленгліколю та виявлення його після переведення у формальдегід.

Методика виконання реакції. В ампулу місткістю 1 млносять 0,5 мл дистилляту і 0,5 мл 10 % розчину натрію карбонату. Ампулу запаюють і на 1 год. поміщають у киплячу водяну баню. Після охолодження вміст ампули переносять у пробірку, додають 10 % розчин сульфатної кислоти до кислої реакції за універсальним індикатором і 2 краплі 5 % розчину калію періодату в 1 н. розчині сульфатної кислоти. Через 5 хв. за наявності формальдегіду проводять виявлення його за допомогою реакції з хромотроповою або фуксинсфрчистою кислотою.

Хлороформ, хлоралгідрат, тетрахлоретан і 1,1-дихлоретан не дають цієї реакції.

Рівняння хімічної реакції. Ця реакція базується на тому, що при нагріванні дихлоретану з розчином натрію карбонату в запайній ампулі утворюється етиленгліколь:



Потім утворений етиленгліколь взаємодіє з калію періодатом KIO_4 і утворюється формальдегід: $HO-CH_2-CH_2-OH + KIO_4 \rightarrow 2HCHO + KIO_3 + H_2O$.

Утворений формальдегід виявляють за допомогою хімічних реакцій з хромотроповою кислотою, з фуксинсфрчистою кислотою, з резорцином, відновлення іонів срібла, з реактивом Фелінга (див. вище - **Формальдегід**).

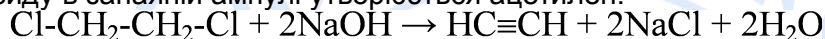
Реакція утворення ацетиленіду міді

Методика виконання реакції. В ампулу місткістю 1 млносять 0,5 мл дистилляту і 0,5 мл 30 % розчину натрію гідроксиду. Ампулу запаюють і на 1 год. поміщають у киплячу водяну баню. Після охолодження вміст ампули переносять у пробірку і додають 30 % розчин ацетатної кислоти до кислої реакції за універсальним індикатором. До цієї рідини

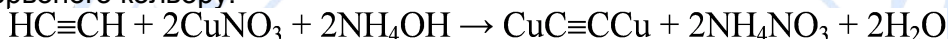
додають 2 краплі аміачного розчину солі міді (I). Виникнення рожевого або вишнево-червоного забарвлення чи випадіння осаду свідчить про наявність 1,2-дихлоретану в пробі.

Ця реакція є специфічною, інші хлорпохідні вуглеводнів її не дають. Однак, ця реакція не завжди дає позитивний результат з дистилятом, одержаним з внутрішніх органів трупів.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання 1,2-дихлоретану з розчином натрію гідроксиду в запаяній ампулі утворюється ацетилен:



Ацетилен під час взаємодії з солями міді (I) в присутності аміаку утворює ацетиленід міді червоного кольору:

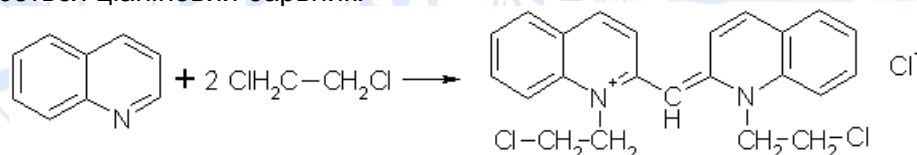


Реакція з хіноліном

Методика виконання реакції. В пробірку до 0,2-0,3 мл хіноліну додають 1 краплю дистиляту. Суміш нагрівають на полум'ї газового пальника впродовж 3-4 хвилин. При повільному нагріванні виникає буре або буро-червоне забарвлення. При швидкому нагріванні рідина набуває синювато-червоного забарвлення.

Ця реакція є специфічною і використовується для виявлення 1,2-дихлоретану в технічних рідинах. Інші хлорпохідні цієї реакції не дають.

Рівняння хімічної реакції. Під час нагрівання 1,2-дихлоретану з хіноліном утворюється ціаніновий барвник:



Оформлення та захист протоколу заняття № 4

Питання до заняття № 4

1. Принципова схема дослідження біологічних об'єктів на леткі речовини при загальному та цілеспрямованому аналізі.
2. Формальдегід. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
3. Основні напрямки метаболізму формальдегіду. Написати основні метаболіти.
4. Виявлення формальдегіду в дистиляті. Попередні проби на формальдегід. Написати хімізм відповідних реакцій.
5. Фенол. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
6. Основні напрямки метаболізму фенолу. Написати основні метаболіти.
7. Виявлення фенолу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
8. Ацетон. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
9. Основні напрямки метаболізму ацетону. Написати основні метаболіти.
10. Виявлення ацетону в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
11. Попередні проби, що використовуються для виявлення метанолу та етанолу. Написати рівняння відповідних реакцій.
12. Метанол. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
13. Основні напрямки метаболізму метанолу. Написати основні метаболіти. Поняття про «летальний» синтез. Атидоти, які використовують при отруєнні метанолом.
14. Виявлення метанолу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
15. Етанол. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння. Поняття про алкоголізм.
16. Основні напрямки метаболізму етанолу. Написати основні метаболіти.
17. Виявлення етанолу в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
18. Сп'яніння, його ступені. Концентрації етанолу в крові при різних ступенях сп'яніння.
19. Ізоаміловий спирт. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
20. Основні напрямки метаболізму ізоамілового спирту. Написати основні метаболіти.
21. Виявлення ізоамілового спирту в дистиляті. Написати хімізм відповідних реакцій.
22. Етиленгліколь. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
23. Основні напрямки метаболізму етиленгліколю. Написати основні метаболіти.

24. Особливості виділення етиленгліколю із біологічного матеріалу. Поняття про селективний носій.
25. Виявлення етиленгліколю в дистилаті. Написати хімізм відповідних реакцій.
26. Попередні проби на хлорпохідні вуглеводнів. Написати хімізм відповідних реакцій.
27. Хлороформ. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
28. Основні напрямки метаболізму хлороформу. Написати основні метаболіти.
29. Виявлення хлороформу в дистилаті. Написати хімізм відповідних реакцій.
30. Хлоральгидрат. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
31. Основні напрямки метаболізму хлоральгидрату. Написати основні метаболіти.
32. Виявлення хлоральгидрату в дистилаті. Написати хімізм відповідних реакцій.
33. Чотирихлористий вуглець. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
34. Основні напрямки метаболізму чотирихлористого вуглецю. Написати основні метаболіти.
35. Виявлення чотирихлористого вуглецю в дистилаті. Написати хімізм відповідних реакцій.
36. Дихлоретан. Механізм токсичної дії та ознаки отруєння.
37. Основні напрямки метаболізму дихлоретану. Написати основні метаболіти.
38. Виявлення дихлоретану в дистилаті. Написати хімізм відповідних реакцій.
39. Загальні реакції на хлорпохідні вуглеводнів та реакції, які дозволяють відрізнити їх один від одного.

Тема 5. Вивчення умов проведення газохроматографічного дослідження. Якісний аналіз летких речовин методом газорідинної хроматографії. Виявлення аліфатичних одноатомних спиртів у дистилаті та біологічних рідинах.

Зміст навчального матеріалу Темі 5.

Теоретичні основи методу газорідинної хроматографії (ГРХ). Хроматографи. Тверді носії у хроматографії. Нерухомі рідкі фази (НРФ). Хроматографічні колонки. Типи та характеристика детекторів. Процеси, які проходять хроматографічному розділенні. Фактори, які впливають на хроматографічне розділення. Вплив сполук ендogenous походження на чутливість та специфічність методу ГРХ при аналізі летких речовин. Умови дослідження дистилату та біологічних рідин (кров, сеча) на леткі речовини методом ГРХ. Параметри затримання. Методи якісного аналізу в ГРХ. Прийоми групової та індивідуальної ідентифікації отруйних речовин за допомогою методу ГРХ. Виявлення аліфатичних спиртів методом ГРХ. Переведення спиртів в алкїлнітрити (ефіри). Експертиза алкогольного сп'яніння.

Теоретична база

Одним з важливих методів розділення складних сумішей органічних і неорганічних речовин на окремі компоненти, а також якісного та кількісного аналізу розділених речовин *хроматографія*.

Хроматографічний метод базується на розподілі речовин між двома фазами, з яких одна нерухома (стаціонарна), а інша просувається відносно першої (рухома фаза).

Нерухома фаза може бути або твердим тілом, або рідиною.

Рухома фаза може бути газом або рідиною.

Якщо рухомою фазою є газ – метод має назву *газової хроматографії* (ГХ). Сюди належать методи: **газорідинна хроматографія** (нерухома фаза – рідина) та газо-адсорбційна хроматографія (нерухома фаза – тверда речовина).

Якщо рухомою фазою є рідина – метод має назву *рідинної хроматографії* (РХ). Сюди належать методи хроматографії: твердо-рідинна (нерухома фаза – тверда речовина), рідинно-рідинна (нерухома фаза – рідина), іонообмінна (нерухома фаза – тверда речовина), гель-проникаюча (нерухома фаза – рідина у порах гелю), осадова (нерухома фаза – тверда речовина), комплексоутворююча (нерухома фаза – рідина на носії), окисно-відновна (нерухома фаза – тверда речовина).

Газорідинна хроматографія (ГРХ)

Хроматографічні дослідження здійснюється за допомогою приладів, які називаються

хроматографами (див. Малюнок):



Мал. Спрощена схема процесу газохроматографічного розділення:

1 – джерело газу-носія при постійній швидкості потоку або постійному тиску; 2 – випарник (у термостаті) – місце введення проби в потік газу-носія; 3 – хроматографічна колонка (у термостаті); 4 – система детектування (у термостаті); 5 – система збору, обробки і реєстрації даних.

- Газовий хроматограф являє собою сукупність взаємодіючих систем, вузлів та блоків:
- **система газозабезпечення** – система для очистки, встановлення і стабілізації потоків газу-носія (азот, гелій тощо) та допоміжних газів (водень, кисень); сюди відносяться сталеві балони з газами, генератори газу, компресори, газопровідні магістралі, редуктори, дроселі, регулятори тиску та регулятори витрати газів;
 - **випарник (дозатор, інжектор)** – пристрій для введення досліджуваної проби і для її випаровування; система забезпечує введення точної кількості проби в потік газу-носія на початку хроматографічної колонки і миттєве випаровування введеної проби;
 - **хроматографічна колонка** – пристрій або система пристроїв, призначена для розділення досліджуваної проби; хроматографічна колонка заповнюється рідкою (рідинною) нерухоною фазою, нанесеною на твердий носій, тут відбувається розділення досліджуваної суміші на її компоненти між рухомою та нерухоною фазами;
 - **система термостатування** – система для підтримування певного температурного режиму випарника, хроматографічних колонок і детектора; сюди належать: терморегулятори, програматори температури для встановлення заданого температурного режиму, термостати та пристрої для вимірювання температури у відповідних блоках хроматографа; робоча температура переважно перебуває у діапазоні від кімнатної температури до 350 °С;
 - **система детектування (детектор)** – пристрій з чутливим елементом для індикації певних груп речовин; сюди належать детектор із блоком живлення та допоміжними комунікаціями, сигнал детектора дає змогу провести ідентифікацію кожного компонента за часом елювання його зони (параметри затримання) і його кількісне визначення за величиною сигналу детектора (висота або площа піка).
 - **система реєстрації сигналів** – сукупність приладів (самописці, потенціометри, цифрові інтегратори, мікропроцесори, комп'ютери) для реєстрації результатів хроматографічного процесу; ця система приймає, опрацьовує та реєструє сигнали детектора і на їхній основі виписує хроматограму.

Механізм розділення речовин методом газорідинної хроматографії

При аналізі речовин методом газорідинної хроматографії – компоненти досліджуваної суміші після їх уведення у випарник (дозатор, інжектор), захоплюються потоком газу-носія і потрапляють у хроматографічну колонку, заповнену набивкою (нерухоною рідкою фазою, яка тонкою плівкою нанесена на інертний твердий носій). У колонці суміші розділяються на певні компоненти за рахунок їх розподілу між *рухоною фазою* (газом-носієм) та *нерухоною рідкою фазою* (НРФ).

Компоненти суміші селективно затримуються у колонці і утворюють окремі зони, які виносяться газом-носієм із колонки і потрапляють у детектор, який їх реєструє. Сигнали із детектора, які є функцією часу, подаються на реєструючий пристрій та записуються на хроматографічній стрічці у вигляді хроматограми.

Рухомою фазою можуть бути різні гази-носії (азот, гелій тощо).

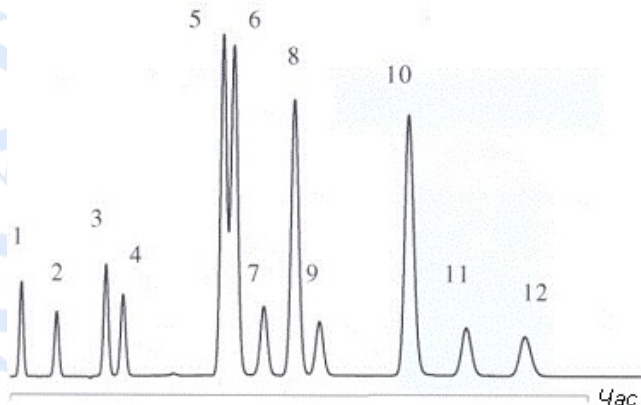
У якості *нерухомих рідких фаз* (НРФ) використовуються різні рідини, які класифікуються за температурними межами хроматографування, за класами сполук та за полярністю.

Хроматографічна колонка має певну *роздільну здатність (ефективність)*, яка характеризується: 1) числом теоретичних тарілок; 2) висотою, еквівалентною теоретичній тарілці (ВЕТТ); 3) висотою, еквівалентною ефективній теоретичній тарілці (ВЕЕТТ).

Детектори бувають інтегральні та диференціальні. Диференціальні детектори точніші та зручніші у використанні. Є такі типи диференціальних детекторів: за теплопровідністю (катарометр, ДТП); полуменево-іонізаційний (ПІД); детектор електронного захоплення (ДЕЗ); термоіонний детектор (ТІД) або фосфорний (ФД), V – гелієвий (ГД).

Для вимірювання та реєстрації сигналів використовуються автоматичні компенсаційні потенціометри, електрометри (підсилювачі), електронні інтегратори та мікропроцесорні системи обробки хроматографічної інформації.

Таким чином, хроматографічний процес є послідовним процесом. При кожному введенні проби, у *хроматографічній колонці* відбувається розділення сумішей, що супроводиться детектуванням кожного компонента і записуванням **хроматограми**:



Роздільна здатність (ефективність) хроматографічної колонки характеризується: 1) числом теоретичних тарілок; 2) висотою, еквівалентною теоретичній тарілці (ВЕТТ); 3) висотою, еквівалентною ефективній теоретичній тарілці (ВЕЕТТ).

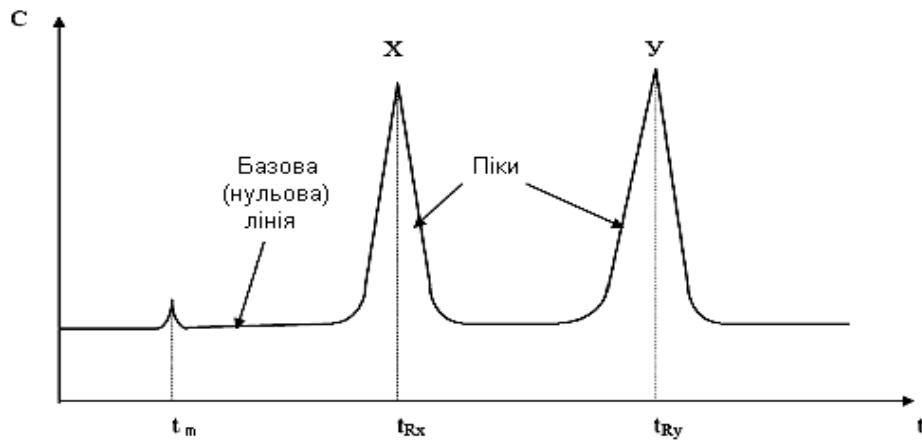
Інтегральні детектори такі, як азотометр, автоматична бюретка та полярографічна комірка вже застаріли і тепер не використовуються.

Диференціальні детектори точніші та зручніші у використанні і тому вони мають ширше застосування.

Типи диференціальних детекторів: за теплопровідністю (катарометр, ДТП); полуменево-іонізаційний (ПІД); детектор електронного захоплення (ДЕЗ); термоіонний детектор (ТІД) або фосфорний (ФД), V – гелієвий (ГД).

Параметри хроматографічного піка

Хроматограма зазвичай складається із базової (нульової) лінії та піків:



Базова лінія відповідає тому проміжку часу, на протязі якого детектор реєструє сигнал тільки від рухомої фази (газу-носія).

Пік – крива, яка описує поступове наростання, а потім зменшення концентрації речовини на виході із колонки. Ця крива в ідеалі наближається до кривої розподілу Гауса.

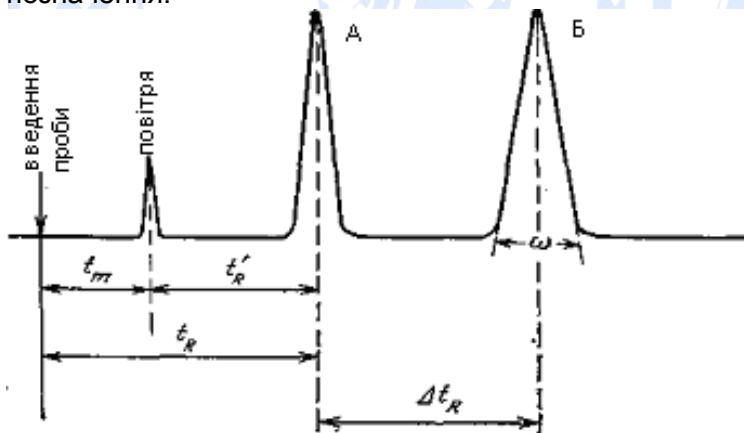
На початку хроматограми інколи реєструється пік, природа якого пов'язана із короткочасним порушенням рівноваги в колонці при введенні проби.

Час з моменту введення проби в колонку до виходу максимуму піка на хроматограмі називається **часом затримання** (t_R). Він складається з двох складових: часу перебування молекул речовини в газовій фазі (t_m) і часу перебування молекул речовини у нерухомій рідкій фазі (t'_R): $t_R = t_m + t'_R$

Час перебування молекул досліджуваної речовини в газовій фазі залежить від розміру порожнин у набивній чи капілярній колонці. У різних колонках щільність набивки може змінюватися і тому також змінюватиметься і величина t_m , яка отримала назву **час затримання несорбованого компонента**, або „мертвого” часу затримання (t_m).

При постійних умовах хроматографування і постійному складі фаз хроматографічної системи час затримання є величиною постійною для даної речовини.

Нижче наведена **хроматограма**, на якій позначено пік несорбованого компонента (повітря) і піки двох розділених речовин, а також проілюстровані хроматографічні позначення.



Мал. Ідеалізована хроматограма, що показує пік «повітря» і піки двох речовин:

t_R - час затримання (час з моменту введення проби до виписування максимуму піка речовини А);

t_m - час затримання несорбованого компонента (повітря, інертного газу), або „мертвий” час затримання;

t'_R - виправлений час затримання (час з моменту виписування максимуму піка несорбованого компонента до виписування максимуму піка речовини А);

Δt_R - відстань між максимумами піків двох розділених речовин А і Б;

ω - ширина хроматографічного піка Б в основі (ця величина ще позначається літерою *a*).

Якісний ГРХ-аналіз

Основні завданнями якісного аналізу:

- 1) ідентифікація індивідуальних сполук або компонентів;
- 2) підтвердження наявності або відсутності у досліджуваному зразку яких-небудь конкретних речовин, або сполук певних хімічних класів;
- 3) віднесення піків на хроматограмі до тієї або іншої сполуки при дослідженні сумішей, склад яких відомий;
- 4) визначення групової приналежності всіх або деяких речовин, що містяться у досліджуваному зразку, тобто їх належність до певного гомологічного ряду, чи до сполук з однотипною функціональною групою (вуглеводні, спирти, альдегіди, кислоти тощо).

Якісний аналіз проводиться :

- за параметрами затримування;
- за відносним сигналом детекторів (при одночасній роботі кількох детекторів і при рівності кількості речовини, яка потрапляє в кожен детектор – виписуються піки різних висот (площ) в залежності від природи речовин);
- за допомогою реакційної хроматографії (тут поєднуються хімічні і ГХ методи) : метод віднімання (утворюються нелеткі сполуки) і метод “зсуву” піків (продукти реакції мають інші параметри);
- за допомогою поєднання ГРХ з іншими методами (СФМ, ЯМР, ІЧС, ПМР тощо)

Для якісного аналізу в ГРХ використовуються такі параметри затримування: затримуваний об'єм (V_R), час затримування (t_R) і відстань затримування (l_R).

Затримуваний об'єм (V_R) – вимірюється у см³ (чи мілілітрах), час затримування (t_R) – у хвилинах і секундах, а затримувана відстань (l_R) – у міліметрах на хроматограмі.

Параметри затримування бувають: невиправлені, виправлені, зведені, істинні, питомі та відносні.

Час затримування () – час з моменту введення проби у колонку до моменту виходу на хроматограмі максимуму піка речовини.

Час затримування залежить від швидкості газу-носія: чим більша швидкість газу-носія, тим менший час затримування. Тому на практиці зручніше використовувати затримуваний об'єм (V_R), який не залежить від лінійної швидкості газу-носія.

Затримуваний об'єм (V_R) – це об'єм рухомої фази, який проходить через колонку з моменту введення проби у колонку до моменту виходу на хроматограмі максимуму піка речовини. Це такий об'єм газу-носія, який необхідно пропустити через хроматографічну колонку, щоб вимити дану сполуку.

Затримуваний об'єм розраховується як добуток часу затримування t_R і об'ємної швидкості газу-носія F_c (мл/хв): $V_R = t_R F_c$, де: t_R - час затримування речовини; F_c – об'ємна швидкість газу-носія, виміряна при температурі колонки на виході з колонки.

Затримувана відстань (l_R) – відстань на нульовій лінії хроматограми з моменту введення проби у колонку до моменту виходу максимуму піка речовини.

Невиправлені параметри залежать від довжини і діаметра колонки, виду і кількості стаціонарної фази, температури колонки, типу газу-носія, мертвого об'єму приладу і перепаду тиску. Оскільки, невиправлені параметри не можуть бути зіставлені з аналогічними величинами, отриманими на інших колонках, - вони не використовуються як характеристичні.

Методи якісного ГРХ - аналізу

1. Якісний аналіз за параметрами затримування стандартних речовин

Цей метод в практиці застосовується найчастіше, і здійснюється такими способами:

1а.. Метод порівняння параметрів затримування досліджуваної речовини і речовини-стандарту. Цей прийом якісного аналізу отримав назву «техніка відбитків пальців».

1 б. Метод мітки. Цей метод реалізується як метод добавки, і його використовують для верифікації у досліджуваній суміші передбачуваних компонентів.

2. Якісний аналіз з використанням довідникових даних параметрів затримання сполук, різними нерухомими фазами.

3. Якісний аналіз за індексами затримання Ковача. Найчастіше використовується для ідентифікації невідомих речовин Індекс затримання Ковача досить часто використовують як відносний параметр затримання.

4. Використання кореляційної залежності параметрів затримання в якісному аналізі. Тут використовують лінійну залежність між логарифмом виправленого об'єму (часу) затримання, або індексом затримання членів гомологічного ряду і якою-небудь їх властивістю, наприклад, числом атомів карбону в молекулі і температурою кипіння тощо.

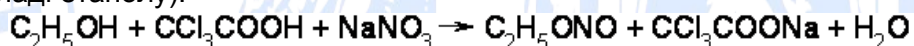
Виконання лабораторної роботи

Приготування хроматографічної системи до аналізу

На вході в колонку створюють тиск газу-носія одна атмосфера, забезпечують і перевіряють герметичність у системі газопостачання. Встановлюють задану швидкість газу-носія, задають температури термостатів випарника, колонок та детектора і вмикають їх в електромережу. Після виходу хроматографа на режим встановлюють нульову лінію на потенціометрі. На діаграмній стрічці записується дата і умови проведення аналізу, № проби, об'єм проби, параметри піків. У випарник хроматографа вводять заданий об'єм проби. Момент введення проби реєструють секундоміром та на хроматограмі роблять помітку (при необхідності). Оптимальними умовами хроматографічного аналізу вважаються такі, які забезпечують добре розділення компонентів суміші, короткий час аналізу, а також висоту піків в межах 60-70 % ширини діаграмної стрічки. Таку висоту піків забезпечують зміною величини досліджуваної проби та зміною чутливості хроматографа. Необхідно перевірити відтворення (повторюваність) результатів хроматографічного аналізу (параметрів затримання та висот піків).

Хроматографічний аналіз аліфатичних одноатомних спиртів

В основі газохроматографічного аналізу спиртів лежить реакція переведення їх у леткіші сполуки – алкілнітри, які киплять при кімнатній температурі. Хімізм реакції (на прикладі етанолу):



Умови хроматографування. Газові хроматографи: Цвет-100, Хром-4, Хром-5; детектор за теплопровідністю (катарометр); Струм моста детектора – 90 мА; колонка металева (200×0,3 см); твердий носій – Хроматон N-AW (0,16 - 0,20 мм); рідка нерухома фаза – Сквалан (15 %); газ-носії – азот технічний; швидкість газу-носія (F_r) – 30 см³/хв; температура термостата випарника – 75° С; температура термостата колонок - 70°С; температура термостата детектора - 75° С; швидкість хроматографічної стрічки 600 мм/хв.

Робочі розчини і реактиви: 2 ‰ розчин метилового спирту, 3 ‰ розчин етилового спирту, 4 ‰ розчини ізопропілового і пропілового спиртів, 6 ‰ розчини ізобутилового і бутилового спиртів, 8 ‰ розчини ізоамілового і амілового спиртів, 50 % розчин трихлороцтової кислоти, 30 % розчин натрію нітриту, тестова суміш.

Склад тестової суміші: 0,3 мл метилового спирту, 0,6 мл етилового спирту, по 1,5 мл ізопропілового і пропілового спиртів, по 3,0 мл ізобутилового і бутилового спиртів, по 6,0 мл ізоамілового і амілового спиртів,

Перевірка розділювальної здатності колонки і чутливості детектора. У флакон з-під пеніциліну вносять 0,5 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти і 0,5 мл тестової суміші, флакон закривають гумовим корком і поміщають у фіксатор. Вміст флакона перемішують і через корок вводять за допомогою медичного шприца 0,5 мл 30 % розчину натрію нітриту. Вміст знову перемішують (щоб не намочити внутрішньої поверхні корка) і залишають на 1 хв. Потім із флакона за допомогою шприца відбирають 0,5 — 3,0 мл (залежно від чутливості детектора, але завжди одну і ту ж кількість) газової проби

(алкілнітритів спиртів) і вводять у випарник хроматографа. При задовільному розділенні всіх компонентів тестової суміші приступають до визначення їх параметрів затримання.

Вимірювання параметрів затримання аліфатичних одноатомних спиртів

У ряд флаконів з-під пеніциліну вносять по 0,5 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти і додають по 0,5 мл розчину відповідного спирту та по 0,5 мл розчину стандарту (4 ‰ розчину пропілового спирту). Флакони закривають гумовим корком і поміщають у фіксатори. Вміст флаконів перемішують і через корок вводять за допомогою медичного шприца по 0,5 мл 30 % розчину натрію нітриту. Вміст знову перемішують (щоб не намочити внутрішньої поверхні корка) і залишають на 1 хв. Потім із флаконів за допомогою шприца відбирають 0,5 — 3,0 мл (залежно від чутливості детектора, але завжди одну і ту ж кількість) газової проби (алкілнітритів спиртів) і вводять у випарник хроматографа. Після випускання хроматограми визначають абсолютні і відносні (по відношенню до пропанолу) параметри затримання всіх спиртів. Результати досліджень записують у таблицю.

Табл. Параметри затримання алкілнітритів аліфатичних одноатомних спиртів

Назва спирту	t_R , Час затримання, секунди	t_n , Відносний час затримання, секунди	I_R , Відстань на хроматограмі, мм	I_n , Відносна відстань на хроматограмі, мм	$V_R=t_R F_r$, Затримуваний об'єм, см ³	$V_n= t_n F_r$, Відносний затримуваний об'єм, см ³	Примітки
Метилловий							
Етиловий							
Ізопропіловий							
Пропіловий		1		1			стандарт
Ізобутиловий							
Бутиловий							
Ізоаміловий							
Аміловий							
Досліджувані проби	Параметри затримання піків речовин у досліджуваних пробах						
№ 1							
№ 2							

Виявлення спиртів у досліджуваних пробах (кров, сеча, дистилат, промивні води шлунка). У флакон з-під пеніциліну вносять 0,5 мл досліджуваної рідини (задачі) і додають 0,5 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти. Флакон закривають гумовим корком, поміщають у фіксатор. Вміст флакона перемішують і через корок за допомогою медичного шприца вводять 0,5 мл 30 % розчину натрію нітриту. Вміст знову перемішують (щоб не намочити внутрішньої поверхні корка) і залишають на 1 хв. Потім із флакона за допомогою шприца відбирають 0,5 — 3,0 мл (залежно від чутливості детектора, але завжди одну і ту ж кількість) газової проби (алкілнітритів спиртів) і вводять у випарник хроматографа.

Після випускання хроматограми визначають параметри затримання компонентів досліджуваної проби і порівнюють їх з відповідними параметрами затримання хроматографічних піків у тестовій суміші.

З метою визначення відносних параметрів затримання, дослідження проводять згідно з наведеною вище методикою, але до задачі ще додають 0,5 мл розчину речовини-стандарту (наприклад, 4 ‰ розчин пропілового спирту - при його відсутності у задачі). Результати досліджень записують у таблицю (див. вище).

При виявленні етанолу необхідно також проводити його кількісне визначення (Заняття № 6).

Оформлення та захист протоколу заняття № 5.

Питання до заняття № 5

1. Теоретичні основи газохроматографічного аналізу. Класифікація методів газової хроматографії.
2. Хроматограф для газової хроматографії, його основні складові частини.
3. Принцип розділення речовин методом газової хроматографії. Хроматограма, її складові частини. Основні фактори, які впливають на розділення речовин.
4. Хроматографічні колонки, їх види. Основні величини, що характеризують роздільну здатність хроматографічної колонки, та фактори, що на них впливають.
5. Характеристика рідких нерухомих фаз.
6. Детектори газової хроматографії, їх типи, принцип роботи та характеристика. Чутливість детектора.
7. Якісний аналіз речовин. Його основні методи та їх характеристика. Поняття про параметри затримування.
8. Абсолютні параметри затримування, методи їх визначення та взаємозв'язок між ними.
9. Поняття про «мертвий» об'єм колонки і основні недоліки, які виникають через нього. Виправлені параметри затримування та методи їх визначення.
10. Відносні параметри затримування, їх визначення та використання в аналізі.
11. Метод мітки. Використання його в якісному аналізі, переваги та недоліки.
12. Виявлення одноатомних спиртів методом газо-рідинної хроматографії (алкільнітритний метод).

Тема 6. Кількісний аналіз летких речовин методом газорідинної хроматографії (ГРХ). Визначення аліфатичних одноатомних спиртів у дистиляті та біологічних рідинах.

Зміст навчального матеріалу Темі 6.

Завдання кількісного газохроматографічного методу аналізу: а) визначення вмісту одного, декількох або всіх компонентів суміші; б) визначення вмісту мікродомішок в індивідуальних речовинах і різних середовищах; в) визначення сумарного складу суміші.

Параметри хроматографічного піка для кількісного визначення у ГРХ: площа піка (S), висота піка (h), добуток висоти піка на час затримування (ht_R) та добуток висоти піка на затримуваний об'єм (hV_R). Способи опрацювання кількісних параметрів хроматограм. Методики кількісного визначення в ГРХ.

Теоретична база

Кількісний ГРХ-аналіз

Для кількісного визначення у ГРХ використовуються такі параметри хроматографічного піка: *площа піка (S), висота піка (h) та добуток висоти піка на час затримування (ht_R) або добуток висоти піка на затримуваний об'єм (hV_R).*

Методи кількісного ГРХ - аналізу

Кількісно хроматограми можна оцінити або безпосередньо, або за допомогою деяких видів градування (калібрування) приладів. Калібрування може бути прямим (метод абсолютного калібрування), або непрямим, куди належать методи нормування (метод внутрішньої нормалізації) та внутрішнього калібрування (метод внутрішнього стандарту, метод стандартної добавки).

Існують три загальні способи обробки результатів кількісного аналізу, а саме, нормування, внутрішнього калібрування та зовнішнього калібрування.

1. Метод внутрішньої нормалізації (нормування або нормалізація).

Метод внутрішньої нормалізації застосовується тільки у випадках, коли з колонки повністю елюються і реєструються всі компоненти суміші. Сума площ всіх піків на хроматограмі приймається за 100%.

Для розрахунку процентного вмісту окремого компонента знімають хроматограму суміші, що досліджується, і визначають площі всіх записаних піків. Концентрацію кожного індивідуального компонента в суміші, що досліджується, обчислюють за формулою:

$$c_i(\%) = \frac{S_i f_i}{S_1 f_1 + S_2 f_2 + \dots + S_n f_n} \cdot 100, \text{ тобто } c_i(\%) = \frac{f_i S_i}{\sum_{i=1}^n f_i S_i} \cdot 100$$

де: $c_i(\%)$ — процентний вміст досліджуваної речовини у суміші;

S_i — площа хроматографічного піка досліджуваної речовини;

f_i — ваговий калібрувальний (поправочний) коефіцієнт досліджуваної речовини, який визначається чутливістю детектора до даного компонента;

$S_1 f_1 + S_2 f_2 + \dots + S_n f_n$ — сума добутків площ всіх піків на їх поправочні коефіцієнти.

2. Метод абсолютного градування

Метод абсолютного градування є методом прямого внутрішнього калібрування. Він полягає в побудові графічної залежності одного з кількісних параметрів хроматографічного піка (висоти або площі) від вмісту речовини в пробі.

3. Метод внутрішнього стандарту

Це є метод непрямого внутрішнього градування із застосуванням як стандарту сторонньої речовини. Як внутрішній стандарт використовують таку речовину, що не реагує з компонентами проби, а її пік на хроматограмі повинен повністю відділятися від піків всіх інших компонентів суміші, не має збігатися із піками досліджуваних компонентів, але повинен перебувати поблизу.

Метод внутрішнього стандарту є найзручнішим для кількісної характеристики хроматограм. Він передбачає два варіанти розрахунку концентрації досліджуваної речовини: за формулою і за градувальним графіком.

Розрахунок концентрації за формулою. Найчастіше кількість досліджуваного компонента (c_i), що визначається у відсотках розраховують за формулою:

$$c_i(\%) = \frac{f_i P_i q_{st}}{f_{st} P_{st} q_{test}} \cdot 100$$

де: f_i і f_{st} — коефіцієнти поправки до площі піків компонента, що визначається, і внутрішнього стандарту, які залежать від чутливості детектора; P_{st} та P_i — параметри хроматографічних піків (площа, висота, добуток висоти на час затримання) внутрішнього стандарту і компонента, що визначається; q_{st} та q_{test} — кількості (г, моль, мл) стандартної речовини та досліджуваної суміші (без стандарту).

Коефіцієнт поправки для внутрішнього стандарту f_{st} приймається за 1,0. А поправочний коефіцієнт для досліджуваної речовини f_i може бути відомий з літератури, або його розраховують.

Розрахунок концентрації за градувальним графіком. Якщо коефіцієнт поправки f_i невідомий, тоді заздалегідь хроматографують суміші точно відомого складу досліджуваної і стандартної речовин. На підставі отриманих даних будують градувальний графік.

4. Метод стандартної добавки (метод зовнішнього стандарту)

Цей метод є варіантом методу непрямого внутрішнього градування із застосуванням як стандарту одного із визначуваних компонентів.

При використанні методу зовнішнього стандарту, можливі два варіанти досліджень: 1) коли в суміші визначають ту ж речовину, яка є стандартом і 2) визначають інші речовини, які є в даній суміші разом із тією речовиною, яку використовують як стандарт.

5. Методи зовнішнього градування

Суть цих методів полягає у тому, що стандартну речовину або суміш калібрувальних речовин, в точно відомих кількостях, хроматографують і визначають кількісні параметри хроматографічних піків (висота, площа). Потім хроматографують досліджувану суміш, а

отримані висоти чи площі піків порівнюють (співвідносять) із кількістю чи концентрацією стандартних речовин на попередній хроматограмі.

Оцінка ступеня алкогольного сп'яніння за значенням концентрації етанолу в крові:

Концентрація етанолу в ‰	Характер сп'яніння
Менше 0,4 ‰	Сп'яніння практично відсутнє або похибка методу
0,5-1,5 ‰	Легке алкогольне сп'яніння
1,5-2,5 ‰	Сп'яніння середнього ступеня
2,5 -3,5 ‰	Сильне алкогольне сп'яніння, за таких концентрацій алкоголю в крові можливий токсичний ефект зі смертельним наслідком внаслідок гострої серцевої недостатності (кардіо генний механізм смерті)
3,5 – 5,0 ‰	Важке отруєння, що може обумовити тератогенез як за варіант гострої серцевої недостатності, так і викликати смерть через розвиток мозкової коми або інших клінічно пролонгованих смертельних ускладнень
5,0 ‰ і вище	Приймання умовно смертельної дози алкоголю

Кількісне визначення етанолу у досліджуваних пробах (кров, сеча, дистилат, промивні води шлунка)

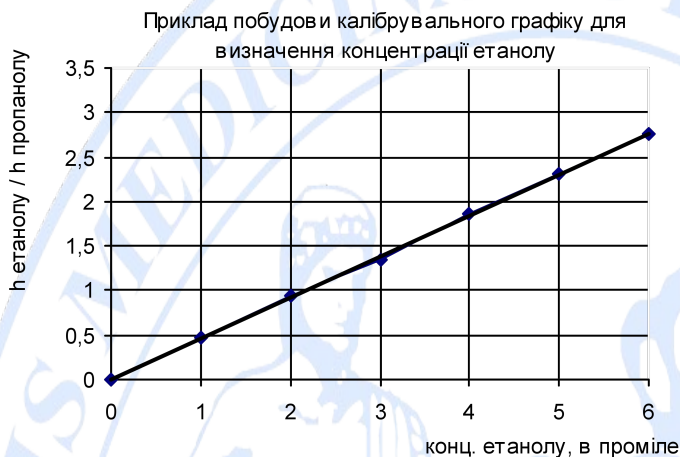
Побудова калібрувального графіка. Виготовляють серію стандартних розчинів етанолу з концентрацією 1, 2, 3, 4, 5 і 6 ‰ (проміле), розчин внутрішнього стандарту (4 ‰ розчин пропілового спирту). У декілька флаконів з-під пеніциліну вносять по 2 мл розчину етанолу різної концентрації (1, 2, 3, 4 і 6 ‰) і по 2 мл внутрішнього стандарту. Вміст флаконів добре перемішують, а потім беруть з цих флаконів по 1 мл розчинів (суміш 4 ‰ розчину пропанолу з різними концентраціями етанолу –1, 2, 3, 4 і 6 ‰) і переносять в інші флакони з-під пеніциліну. У кожний флакон додають по 0,5 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти, закривають гумовим корком і поміщають у фіксатори. Флакони перемішують і за допомогою медичного шприца через корок вводять 0,5 мл 30 % розчину натрію нітриту. Вміст знову перемішують і залишають на 1 хв. Потім із флакона за допомогою шприца відбирають 0,5 – 3,0 мл газової проби (алкїлнітритів спиртів) і вводять у випарник хроматографа.

Після виписування хроматографічних піків вимірюють висоти (або визначають площі) піків етилнітриту та пропілнітриту і розраховують у кожній пробі відношення висот піків нітриту етанолу до висот піків нітриту пропанолу (внутрішнього стандарту). Результати досліджень записують у таблицю.

Табл. Залежність висот піків від концентрації етанолу

Концентрація етанолу, ‰	Висота, мм (h_{et})		Площа, мм ³ (S_{et})		h_{et} / h_{pr}	S_{et} / S_{pr}	Примітки
	піка етилнітриту	піка пропілнітриту	піка етилнітриту	піка пропілнітриту			
1 ‰							
2 ‰							
3 ‰							
4 ‰							
5 ‰							
6 ‰							
Досліджувані проби	Параметри піків досліджуваних проб						
№ 1							
№ 2							

За отриманими даними будують калібрувальний графік в координатах: концентрація етанолу (‰) – відношення висот піків етанолу до висот піків пропанолу ($h_{\text{етанолу}}/h_{\text{пропанолу}}$), або координатах: концентрація етанолу (‰) – відношення площ піків етанолу до площ піків пропанолу ($S_{\text{етанолу}}/S_{\text{пропанолу}}$).



Визначення концентрації етанолу у крові, сечі, дистиляті. У флакон з-під пеніциліну вносять по 2 мл 4 ‰ розчину пропанолу (внутрішнього стандарту) і 2 мл досліджуваної рідини. Вміст флакона добре перемішують, а потім беруть 1 мл суміші з флакона і переносять в інший флакон з-під пеніциліну.

У флакон, який вміщує 1 мл суміші (досліджуваного розчину і внутрішнього стандарту), додають 0,5 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти, закривають його гумовим корком та поміщають у фіксатор. Вміст флакона перемішують і через корок за допомогою медичного шприца вводять 0,5 мл 30 % розчину натрію нітриту. Вміст знову акуратно перемішують (щоб не намочити внутрішньої поверхні корка) і залишають на 1 хв. Потім із флакона за допомогою шприца відбирають 0,5 — 3,0 мл (як при побудові калібрувального графіка) газоподібної проби і вводять у випарник хроматографа.

Після випикування хроматографічних піків етанолу (досліджувана речовина) і пропанолу (внутрішній стандарт) вимірюють їх висоти (мм) та вираховують величину відношення висоти піка етанолу до висоти піка пропанолу. За цією величиною та за попередньо побудованим калібрувальним графіком розраховують кількісний вміст етанолу в дистиляті.

При кількісному визначенні етанолу в крові використовують коефіцієнт перерахунку 0,95, а при кількісному визначенні етанолу в сечі використовують коефіцієнт поправки 1,05.

Аналіз і оцінка результатів хроматографічного дослідження. Вміст етанолу в крові до 0,3 ‰ свідчить про відсутність сп'яніння. Виявлення і кількісне визначення етанолу за етилнітридом специфічне в присутності синильної кислоти, формальдегіду, галогенпохідних вуглеводнів (хлороформ, хлоралгідрат, чотирихлористий вуглець, дихлоретан), спиртів (метанол, ізопропанол, пропанол, ізобутанол, бутанол, ізопентанол, пентанол), фенолу, ацетатної кислоти, пентану, гексану, бензолу, толуолу, ксилолу, метилсаліцилату, діетилового ефіру. Тобто всі перелічені речовини не заважають виявленню та визначенню етанолу цим методом.

Оформлення та захист протоколу заняття № 6.

Питання до заняття № 6

1. Кількісний газохроматографічний аналіз. Основні методи.
2. Параметри хроматографічного піка для кількісного визначення у ГРХ та спомоби їх вимірювання.
3. Метод абсолютного градування, порядок проведення визначення цим методом, його переваги та недоліки. Побудова калібрувального графіка в методі абсолютного градування.

4. Метод внутрішнього стандарту, порядок проведення визначення цим методом, його переваги та недоліки. Побудова калібрувального графіка в методі абсолютного градування.
5. Метод внутрішньої нормалізації, порядок проведення визначення цим методом, його переваги та недоліки.
6. Метод стандартної добавки, порядок проведення визначення цим методом, його переваги та недоліки. Розрахунок кількості речовини у пробі цим методом.
7. Кількісне визначення етанолу в пробах з біологічного матеріалу методом внутрішнього стандарту.

Поточний контроль Змістового модуля 1.

Змістовий модуль 2. Токсикологічна характеристика та методи хіміко-токсикологічного аналізу групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу мінералізацією (метали).

Конкретні цілі змістового модуля:

- Засвоїти загальну характеристику металів, їх хіміко-токсикологічне значення (токсичність та використання в народному господарстві та медицині);
- Засвоїти особливості методів мінералізації та деструкції біологічних об'єктів при дослідженні на метали;
- Продемонструвати проведення аналізу мінералізату та деструктату на наявність металів;
- Продемонструвати кількісне визначення металів в мінералізаті екстракційно-фотокolorиметричним методом.

Тема 7. Токсикологічна характеристика та методи виділення металів із об'єктів дослідження. Проведення мінералізації біологічного матеріалу. Дослідження осаду мінералізату на наявність та вміст металів.

Зміст навчального матеріалу Теми 7.

Загальна характеристика, застосування і токсичність сполук металів: барію, свинцю (плюмбуму), марганцю (мангану), хрому, срібла (аргентуму), міді (купрум), цинку, кадмію, бісмуту, талію, стибію, арсену та ртуті (меркурію). Шляхи поступлення металів в організм. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії металів отрут з білками, пептидами і амінокислотами в організмі. Розподіл та накопичення металів в організмі. Виведення металів із організму. Мікроелементи та макроелементи.

Теоретичне обґрунтування необхідності мінералізації об'єктів біологічного походження при їх дослідженні на метали. Характеристика методів мінералізації. Вибір методу мінералізації в залежності від характеру об'єкта дослідження та досліджуваного металу. Денітрація мінералізату та підготовка його до дослідження.

Характеристика металів, які можуть міститися в мінералізаті у вигляді осадів. Виявлення у мінералізаті катіонів барію та свинцю. Відокремлення осаду від рідкої частини мінералізату. Промивка та перекристалізація осаду. Розчинність солей свинцю та барію. Розділення осадів барію сульфату та свинцю сульфату. Підбір умов для повного відділення свинцю сульфату від барію сульфату. Перетворення барію сульфату у розчинні сполуки. Реакції виявлення катіонів свинцю та барію.

Теоретична база

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

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

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

Метали виводяться з організму дуже повільно, в основному, через кишечник і нирки. Інколи метали затримуються в організмі на десятки років.

Попередні проби на метали:

Проба Рейнша (Reinsch) на ртуть (ртуть). Вміст шлунка або блювотні маси поміщають в невеликий посуд і підкислюють хлоридною (соляною) кислотою до кислої реакції. У вміст посудини опускають чисту мідну пластинку або дріт, попередньо оброблені 35% розчином нітратної кислоти та промиті водою, і підігрівають. Присутність ртуті визначається за сіруватим тьмяним нальотом на поверхні металу, який після легкого тертя набуває сріблястого дзеркального вигляду (амальгама). Поміщені у вузьку пробірку пластинка або дріт з нальотом дають при нагріванні сіруватий наліт на склі в холодній частині пробірки. При мікроскопічному дослідженні наліт складається з мікроскопічних кульок ртуті. Пластинка або дріт і наліт ртуті в трубці можуть бути залишені як *corpus delicti* (склад злочину, речовий доказ). Також мідна пластинка або мідна монета можуть бути покладені на слизову шлунка або розрізану печінку. У присутності солей ртуті на них з'являється сіруватий наліт.

Проба Гетлера (Gottler's) на ртуть (ртуть). Наліт ртуті на мідному дроті може бути виявлений за допомогою тесту Гетлеру який є специфічним, оскільки інші метали не впливають на його результат. Поміщають невеликий шматок фільтрувального паперу на годинникове скло і наносять на нього 2 краплі суспензії купруму йодиду (Cu_2I_2). Поміщають знебарвлену мідну спіраль на пляму купруму йодиду і накривають годинниковим склом. Залишають мідну спіраль від 1 до 12 годин, в залежності від кількості нальоту на дротині. Поява оранжево-рожевої плями свідчить про наявність ртуті. Межа виявлення становить 20 мкг ртуті.

Цим методом можна зробити приблизну оцінку кількісного вмісту ртуті у зразку приготуванням стандартних зразків ртуті (від 20 до 200 мкг), які визначаються за наведеною вище методикою.

Проба Кукуеля (Cucuel) на ртуть (ртуть). Другим дуже чутливим тестом для виявлення ртуті є амальгамний тест Кукуеля. Ртуть від мідної дротини відокремлюють нагріванням у посудині, в яку поміщено шматок полірованої пластинки з металічного алюмінію. Алюміній після контакту з ртуттю протягом 15 хв. перетворюється на вологому повітрі в оксид. Додають краплю алізаринового реагенту і залишають на декілька хвилин. Пластинку промивають водою і висушують шматочком фільтрувального паперу, цю процедуру повторюють ще раз. Якщо ртуть присутня у пробі, на алюмінієвій пластинці залишається пляма червоного алюмінієвого лаку з алізарином.

Проба Кукуеля (Cucuel) на бісмут. Бісмут може бути видалений з міді розведеною нітратною кислотою після завершення визначення ртуті. Наліоти інших металів, особливо арсену і стибію, не розчиняються і не перешкоджають наступному тестові на бісмут.

Кладуть спіраль у малу посудину і додають 1 мл 5% розчину натрію сульфату і 1 мл 15 % розчину нітратної кислоти. Збовтують часто до тих пір, поки бісмут розчиниться. Це триває не більше 5 хв., якщо кількості бісмуту незначні. Витягають мідну спіраль і зберігають для наступних тестів. Додають 1 мл води до розчину і 1 мл реагенту хініну-калію йодиду. При незначних кількостях бісмуту, приблизно 10 мкг, з'являється незначне помутніння і слабке оранжеве забарвлення. При вищих концентраціях бісмуту і помутніння, і забарвлення більш інтенсивні. Метод специфічний для бісмуту при цих умовах, оскільки натрію сульфат пригнічує реакцію розчинення міді в калію йодиді.

Проба Рейнша (Reinsch) на арсен. Проводиться так само, як і на ртуть, з мідною пластинкою, на якій арсен дає сіруватий наліт. При нагріванні пластинки у вузькій пробірці арсен дає наліт з мікроскопічними кристалами у формі правильних октаєдрів і тетраєдрів.

Темний або чорний наліт також можуть давати стибій, бісмут, телур і селен. Подальше диференціювання може проводитися на основі забарвлення нальотів і їх характеристик розчинності в розчині калію ціаніду

Проба Берцеліуса (Berzelius) на арсен. Проба виконується, якщо при розтині у шлунку знаходять білуваті крупинки арсенітної (миш'яковистої) кислоти. У запаяну з одного кінця трубку з тугоплавкого скла та з витягнутим вузьким сліпим конусом поміщають 1-2 знайдених крупинки і зверху вводять вугілля (обвуглену паличку або сірник), що повинні досить щільно входити в вузький кінець трубки. Трубку в тому місці, де поміщають вугілля, нагрівають на пальнику так, щоб воно розжарилося до червоного кольору, потім нагрівають дно трубки з крупинками. Пари арсенітної кислоти після проходження через розпечене вугілля осідають на холодних частинах трубки, утворюючи дзеркальний наліт арсену. Вузький кінець трубки можна відпиляти, а дзеркальний наліт у запаяній трубці залишити як *corpus delicti*.

Модифікований цинхоніновий тест Файгля (Feigl) на бісмут. Цей тест є більш чутливим при виявленні бісмуту. Поміщають мідну спіраль в розчин, що містить 0,5 мл 5% натрію сульфату і 0,5 мл розчину нітратної кислоти (1:7) і залишають на 5-10 хв. при періодичному збовтуванні. Просочують шматок фільтрувального паперу цинхоніновим реагентом і наносять декілька крапель досліджуваного розчину в центр цього паперу. Поява оранжево-червоного кільця свідчить про наявність бісмуту в пробі. Поява коричневого кільця вільного йоду свідчить про наявність в розчині катіонів міді. Чіткішу оранжеву пляму можна одержати при нанесенні в центр плями декількох крапель води, які зменшують концентрацію йодидів.

Виділення металів із об'єктів аналізу біологічного походження, проводять шляхом мінералізації цих об'єктів. Це пояснюється тим, що іншими способами неможливо зруйнувати міцні зв'язки між металами та тканинами організму.

Методи мінералізації об'єктів біологічного походження

Найчастіше використовуються 2 варіанти мінералізації:

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

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

Основні методи «**мокрої мінералізації**»:

- мінералізація сульфатною та нітратною кислотами;
- мінералізація сульфатною, нітратною та хлорною кислотами;
- метод неповної мінералізації для виявлення ртуті в об'єкті дослідження (**метод деструкції**).

Основні методи «**сухої мінералізації**»:

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

Хімічні методи аналізу металів мінералізату

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

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

Для вибіркової екстракції катіонів міді, бісмуту, цинку і кадмію використовують діетилдитіокарбамати (ДДТК). Специфічність екстракційних методик виділення цих катіонів досягається використанням правила ряду діетилдитіокарбаматів металів:

Hg > Ag > Си > Ni > Со > Pb > Bi > Cd > Тl > Sb > Zn > Mn > Fe

У цьому ряду кожен попередній катіон металу витісняє наступний з його солі з діетилдитіокарбаміною кислотою. Наприклад, Hg²⁺ здатен витіснити Cu²⁺ із (ДДТК)₂Cu, в свою чергу Cu²⁺ витісняє Pb із (ДДТК)₂Pb.

Селективна екстракція з дитизоном використовується для виявлення іонів свинцю, срібла, талію, цинку, які при певних значеннях рН утворюють забарвлені дитизонати.

За правилами проведення хіміко-токсикологічного аналізу для висновку про виявлення у витяжці з об'єкта отруйної речовини необхідно провести не менше 3-4 характерних для цієї речовини реакцій.

Інструментальні методи аналізу металів

Для аналізу металів найчастіше використовуються атомно-емісійна спектроскопія та атомно-абсорбційна полум'яна фотометрія, атомно-флуоресцентний та рентгено-флуоресцентний методи аналізу.

Метод атомно-емісійної спектроскопії ґрунтується на термічному збудженні вільних атомів або одноатомних іонів і реєстрації оптичного спектру випромінювання збуджених атомів.

Атомно-абсорбційна полум'яна фотометрія (спектрометрія) – це метод визначення вмісту хімічного елемента у досліджуваному зразку за допомогою вимірювання абсорбції електромагнітного випромінювання атомною парою досліджуваного елемента.

Атомно-флуоресцентний аналіз (АФА) речовини – метод кількісного елементного аналізу з допомогою атомних спектрів флуоресценції

Метод рентгено-флуоресцентного аналізу (РФА) базується на аналізі спектру, отриманого дією рентгенівського випромінювання на досліджуваний матеріал.

Виконання лабораторної роботи

Виділення металів із об'єктів дослідження

Мінералізація біологічного матеріалу сульфатною та нітратною кислотами.

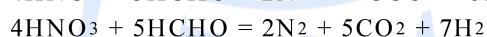
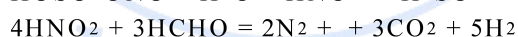
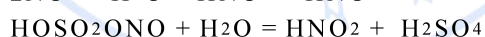
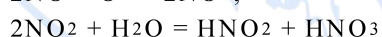
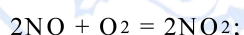
Мінералізацію проводять у колбі К'ельдаля, в яку вносять 100 г подрібненого об'єкта і 75 мл суміші однакових об'ємів сульфатної, нітратної кислот та води. Колбу К'ельдаля закріплюють на 2 см вище металічної сітки і над колбою закріплюють ділильну лійку з нітратною кислотою, розведеною водою у співвідношенні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

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

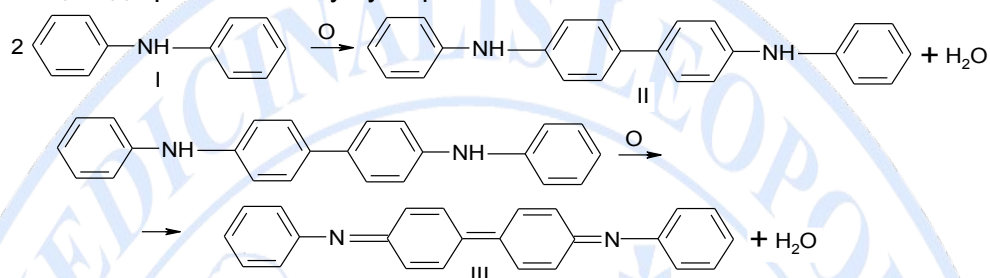
На **другій стадії** мінералізації колбу К'ельдаля опускають на металічну сітку, збільшують нагрівання і з ділильної лійки краплями додають нітратну кислоту. На цій стадії проходить повне окислення і руйнування органічних речовин. Друга стадія може тривати 3-4 год.

Завершенням другої стадії вважають момент, коли не спостерігають потемніння мінералізату при 30-хвилинному нагріванні без додавання нітратної кислоти.

Для **денітрації** (усунення оксидів азоту, нітратної та нітритної кислот) до мінералізату додають 10-15 мл води, нагрівають до 110-130 °С і краплями до суміші додають формалін. При цьому відбувається реакція відновлення нітратної та нітритної кислот до азоту та оксидів азоту і окислення формальдегіду до вуглекислого газу.



Реакція завершується за 1-2 хв. Можливі залишки формальдегіду усувають нагріванням рідини протягом 5-10 хв. Перевірку завершення денітрації проводять за допомогою реакції з дифеніламіном у сульфатній кислоті:



Відсутність синього забарвлення, при проведенні реакції, свідчить про повне усунення з мінералізату сполук азоту.

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

Поокреме дослідження металів у мінералізаті (осібне дослідження, «дробний» метод)

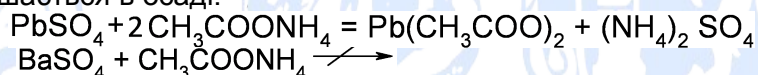
Органолептичний контроль. Мінералізат може бути з осадом чи без осаду, а також може бути безбарвним чи забарвленим. В осаді будуть **барій** та **плюмбум**, а рідкій фазі - манган (марганець), хром, аргентум (срібло), купрум (мідь), бісмут, цинк, талій, стибій (сурма), арсен (миш'як), кадмій тощо.

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

Дослідження осаду

Мінералізат з осадом переносять у центрифужну пробірку місткістю 200 мл і центрифугують 10 хв (2000-3000 об/ хв). Рідину (центрифугат) зливають, а осад кількісно переносять у фарфорову чашку. До осаду додають невелику кількість 5 % розчину сульфатної кислоти, перемішують скляною паличкою і центрифугують у пробірці невеликого об'єму. Надосадову рідину приєднують до першого центрифугату.

До осаду додають 3-5 мл гарячого 30 % розчину амонію ацетату. Вміст фарфорової чашки перемішують, нагрівають. При цьому свинець переходить у розчин, а барій залишається в осаді:



Виявлення плюмбуму (свинцю)

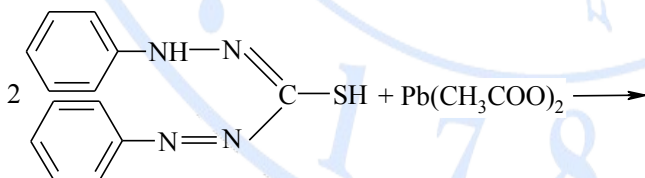
Одержаний розчин свинцю ацетату $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, зливають з осаду і досліджують за допомогою хімічних реакцій на наявність катіонів свинцю.

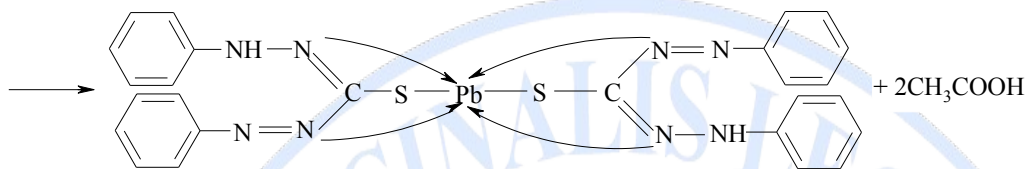
Реакція з дитизоном

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

Межа виявлення становить 0,05 мкг плюмбуму в 1 мл розчину. Реакція має судово-токсикологічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції.

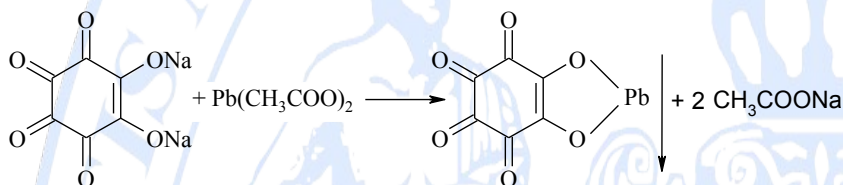




Реакція з натрію родизонатом

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

Рівняння хімічної реакції:

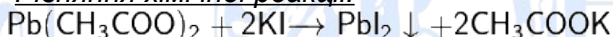


Реакція з калію йодидом

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

Під час виконання цієї реакції не слід додавати надлишок розчину калію йодиду, оскільки при цьому утворюється розчинна комплексна сполука $K_2[PbI_4]$.

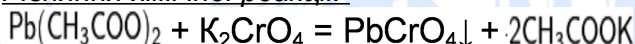
Рівняння хімічної реакції:



Реакція з калію хроматом

Методика виконання реакції: до 0,5 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель 5 % розчину калію хромату, який з іонами п्लумбуму утворює оранжево-жовтий осад.

Рівняння хімічної реакції:



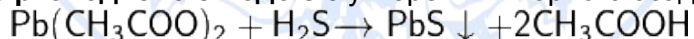
Реакція з купрум ацетатом і натрію нітритом

Методика виконання реакції: на предметне скло наносять 2-3 краплі досліджуваного розчину і випаровують на невеликому полум'ї насухо. Після охолодження предметного скла на сухий залишок наносять 1-2 краплі 1 % розчину купрум ацетату і знову випаровують насухо. На сухий залишок наносять 2-3 краплі 30 % розчину ацетатної кислоти. На край одержаної плями наносять 1-2 кристалики калію нітриту. Під мікроскопом спостерігають утворення чорних або коричневих кристалів, які мають форму кубів, складу $K_2Cu[Pb(NO_2)_6]$.

Рівняння хімічної реакції:



Реакція із сірководневою водою з утворенням чорного осаду свинцю сульфід:



Кількісний аналіз.

Екстракційно-фотометричний метод базується на реакції свинцю з дитизоном і екстракції хлороформом утвореного свинцю дитизонату (методика наведена вище). Оптичну густину забарвленого у червоний колір хлороформного шару вимірюють за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 520 нм.

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Виявлення та визначення плумбуму проводять за характерною для нього лінією резонансного переходу при довжині хвилі 217нм.

Виявлення барію

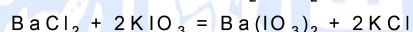
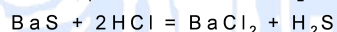
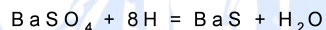
Якщо весь осад з мінералізату розчинився у амонію ацетаті, то дослідження на барій не проводяться!

Після виявлення іонів свинцю, осад на фільтрі промивають гарячим розчином амонію ацетату до повного видалення іонів свинцю (коли останні краплі фільтрату не будуть давати реакції на свинець). Якщо після повного відмивання осаду від свинцю, ще залишається осад (барію сульфат), то проводять його перекристалізацію.

Перекристалізація барію сульфату і мікроскопічне дослідження кристалів.

Частина осаду переносять на предметне скельце, додають 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти і нагрівають на полум'ї газового пальника до появи білих парів діоксиду сірки. Після охолодження під мікроскопом спостерігають безбарвні кристали сільфату барію у вигляді прямокутних пластинок, які переходять у хрести з перистими кінцями.

Мікрокристалоскопічна реакція одержання барію йодату. Петлею на кінці платиного дроту беруть невелику кількість осаду барію сульфату і цю петлю вносять у відновлювальне полум'я пальника. При цьому відбувається відновлення барію сульфату до сульфідів цього металу. Петлю з платиного дроту, на якому утворився барію сульфід, вносять у краплю соляної кислоти, а потім додають калію йодат. Форму одержаних кристалів барію йодату досліджують за допомогою мікроскопу.



Для виявлення барію хімічними реакціями осад барію сульфату переводять у розчинну сполуку. Для цього барію сульфат багаторазово кип'ятять з новими порціями натрію карбонату (оскільки барію сульфат – важкорозчинна сполука). Утворений барію карбонат розчиняють у 4 мл 10 % розчину ацетатної кислоти (або хлоридної кислоти).

Одержаний розчин барію ацетату (чи хлориду) досліджують на наявність катіонів барію.

Примітка. Осад барію сульфату також можна розчинити у 5% розчині трилону Б в 0,1 н. розчині натрію (чи амонію) гідроксиду.

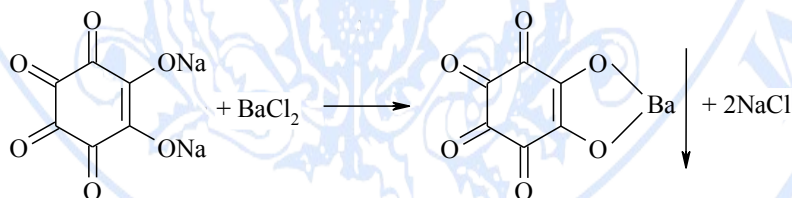
Реакція з натрію родизонатом

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

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

Цій реакції заважають сульфати, які руйнують барію родизонат і взаємодіють з іонами барію та випадають в осад у вигляді барію сульфату. Тому у присутності сульфатів пляма барію родизонату на папері не утворюється.

Рівняння хімічної реакції.



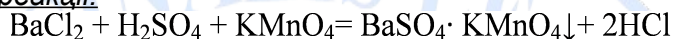
Реакція з сульфат-іонами в присутності калію перманганату

Методика виконання реакції: до 2-3 крапель досліджуваного розчину додають 3-4 краплі насиченого розчину калію перманганату і 2-3 краплі 2 н. розчину сульфатної кислоти. Суміш нагрівають до кипіння. Після охолодження рідину з осаду зливають, а до осаду

вносять розчин оксалатної кислоти або іншого відновника і нагрівають до кипіння, а потім охолоджують. При цьому розчин над осадом знебарвлюється, а осад залишається фіолетовим.

Іони стронцію не дають цієї реакції.

Рівняння хімічної реакції:



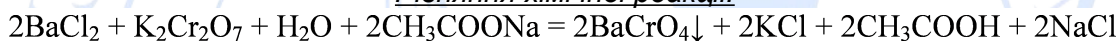
Реакція з калію дихроматом

Методика виконання реакції: до 3-5 крапель досліджуваного розчину додають 4 краплі 5 % розчину калію дихромату та 3-4 краплі 2 М розчину натрію ацетату. Випадає жовтий осад барію хромату.

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

Примітка. При розчиненні осаду BaSO_4 у трилоні Б, до одержаного розчину додають розчин калію дихромату в середовищі ацетатної кислоти (рН середовища даного реактиву повинен бути 5,0-5,5). Від додавання вказаного реактиву випадає в осад барію дихромату (жовтий колір).

Рівняння хімічної реакції:



Кількісне визначення барію

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Аналіз барію проводять за характерною для барію лінією резонансного переходу при довжині хвилі 553,6 нм

Межа виявлення становить 0,4 мкг барію в 1 мл досліджуваної проби.

Оформлення та захист протоколу заняття № 7.

Схема аналізу мінералізату (початок)

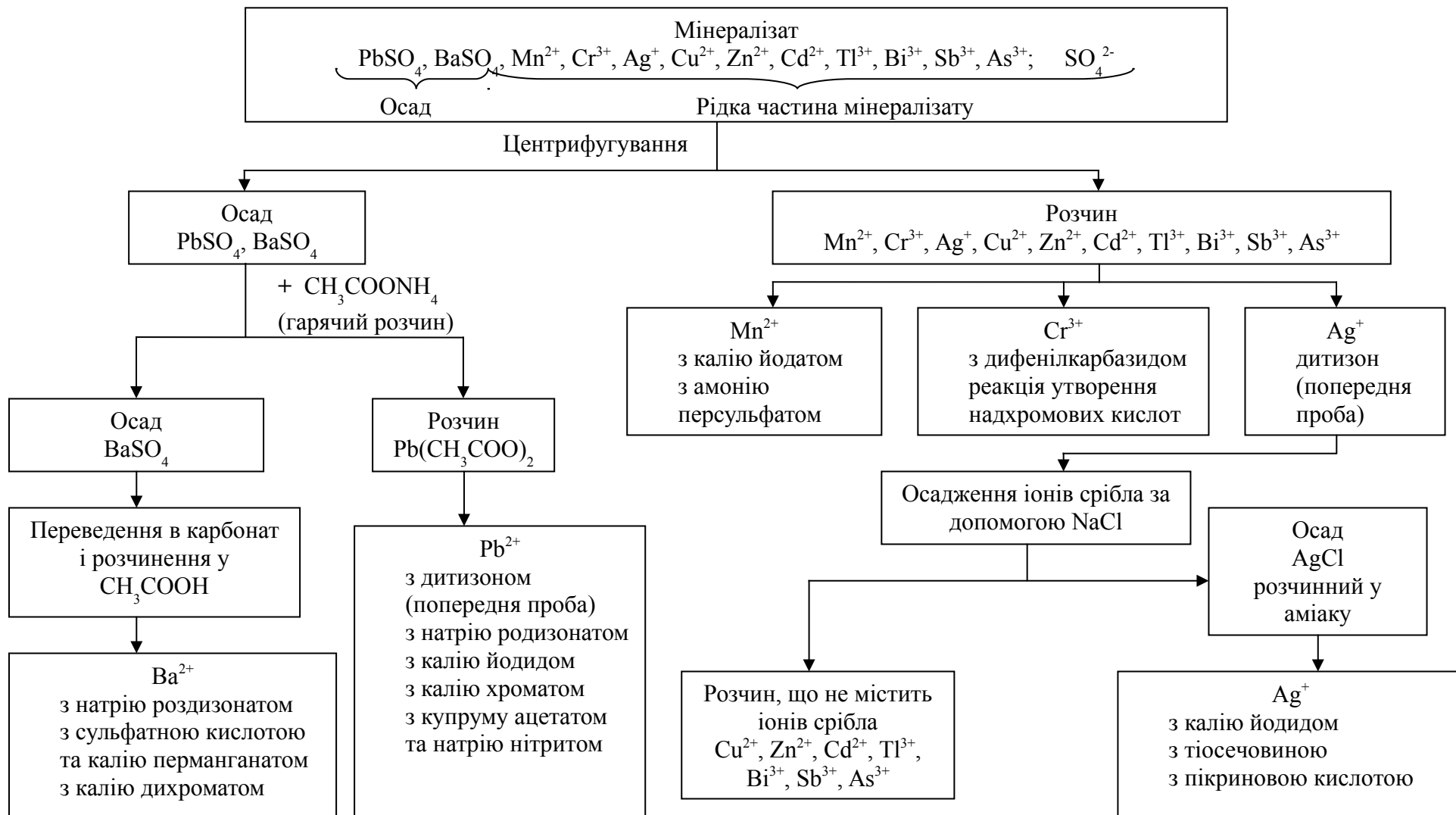
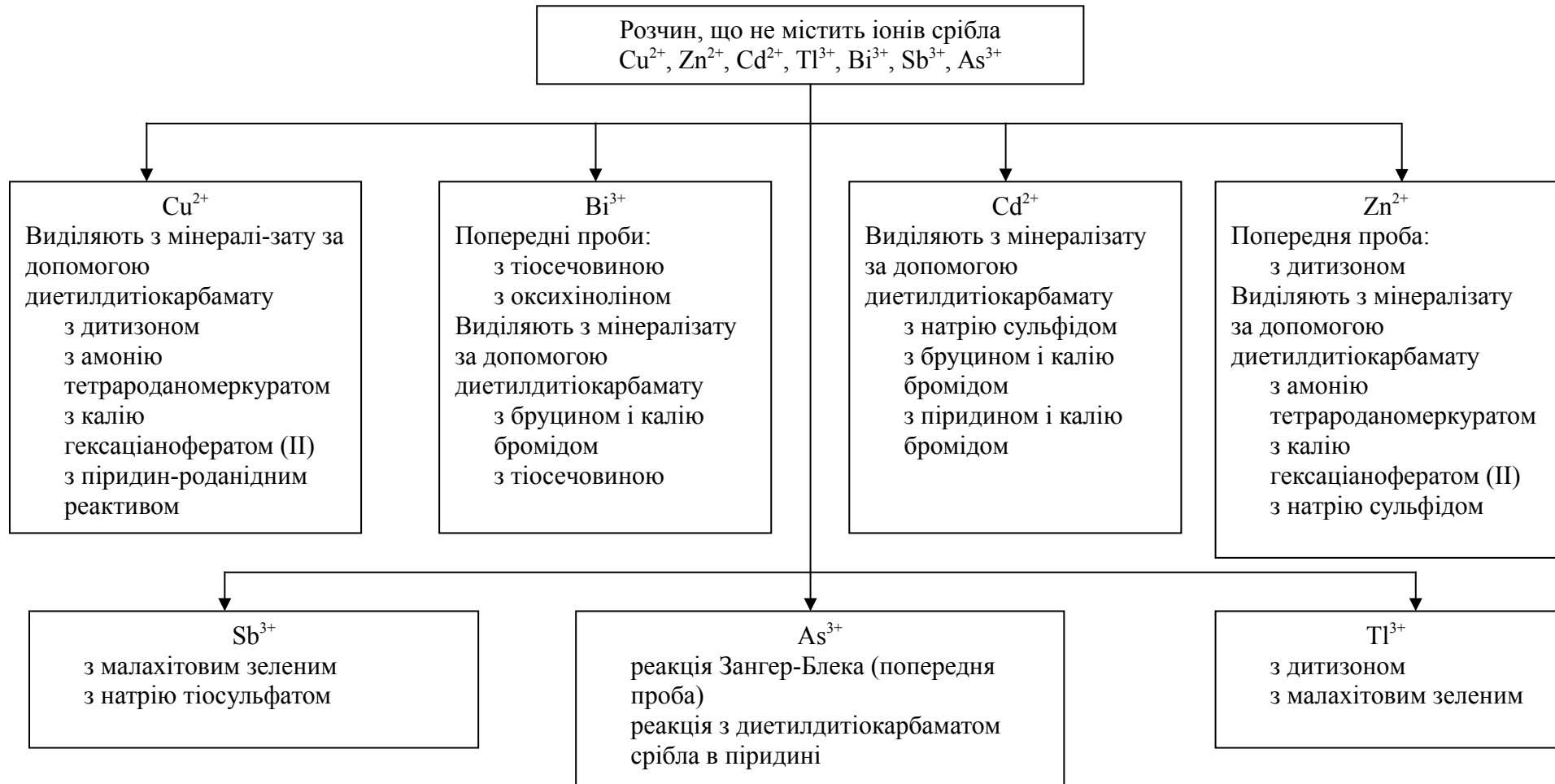


Схема аналізу мінералізату (продовження)



Питання до заняття № 7

1. Загальна характеристика, застосування, екологічна токсикологія та токсичність групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу методом мінералізації (метали).
2. Шляхи поступлення металів в організм.
3. Механізм токсичної дії металів.
4. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії металів отрут з білками, пептидами і амінокислотами в організмі.
5. Залежність токсичності металів від атомної маси, нормального потенціалу, ступеню гідратації, величини іонного радіусу і кількості електронних оболонок, ступеню окислення, розчинності у рідинах організму та від інших факторів.
6. Розподіл та накопичення металів в організмі. Виведення металів із організму.
7. Антидотна терапія при отруєннях металами.
8. Поняття про мікроелементи та макроелементи.
9. Попередні проби на метали.
10. Мінералізація. Класифікація методів, принцип вибору методу мінералізації.
11. Методи «сухої» мінералізації, порядок їх проведення, переваги та недоліки.
12. Методи «мокрої» мінералізації, порядок їх проведення, переваги та недоліки.
13. Мінералізація біологічного матеріалу сумішшю сульфатної та нітратної кислот. Основні етапи методу.
14. Способи проведення денітрації мінералізату, її значення та перевірка повноти. Навести хімізм відповідних реакцій.
15. Систематичний та поокремий аналіз мінералізату. Принципи методів.
16. Використання вибіркової екстракції для очистки та концентрування металів. Навести хімізм реакцій, які використовуються при цьому.
17. Основні інструментальні методи, що використовуються для виявлення металів у мінералізаті, принцип методів, переваги та недоліки.
18. Розчинення осаду плюмбуму сульфату, виявлення та кількісне його визначення. Навести хімізм відповідних реакцій.
19. Переведення барію сульфату у розчин. Його виявлення та кількісне визначення. Навести хімізм відповідних реакцій.

Тема 8. Дослідження рідкої частини мінералізату на наявність і зміст марганцю (марганцю), хрому, аргентуму (срібла), талію та стибію

Зміст навчального матеріалу Теми 8.

Метод поокремого дослідження металів (осібне дослідження, «дробний» метод, поокремий аналіз металів) у мінералізаті. Теоретичні положення. Вибір об'єктів дослідження. Схема поокремого дослідження металів у мінералізаті (за О.М. Криловою). Характеристика реагентів для маскування заважаючих іонів при поокремому дослідженні металів. Характеристика реагентів, які використовуються для виділення і аналізу металів. Вимоги до чутливості реакцій при дослідженні металів у мінералізаті. Загальна характеристика методів кількісного визначення металів у мінералізаті. Виявлення та кількісне визначення у мінералізаті катіонів марганцю (марганцю), хрому, срібла (аргентуму), талію та стибію.

Виконання лабораторної роботи

Дослідження рідкої частини мінералізату

Після відділення осаду (див. заняття № 7), доосліджують рідку частину мінералізату. Тут можуть міститися : марган (марганець), хром, аргентум (срібло), купрум (мідь), бісмут, цинк, талій, стибій (сурма), арсен (миш'як), кадмій тощо.

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

Виявлення марганцю (марганцю)

У мінералізіті манган знаходиться у вигляді солей з нижчою валентністю. Для виявлення його переводять у манган (VII). При дії окисників манган (II) у кислому середовищі окислюється до аніона MnO_4^- , який у розчинах має характерне малинове забарвлення.

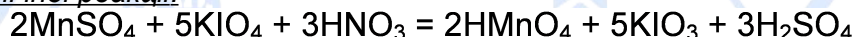
Реакція з калію періодатом

Методика виконання реакції: У пробірку вносять 1 мл мінералізіату, 4 мл води, 1 мл насиченого розчину натрію дигідрогенфосфату і 0,2 г калію періодату. Пробірку нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв..

При наявності іонів мангану в мінералізіті розчин забарвлюється в червоно-фіолетовий або рожевий колір. Межа виявлення – 0,1 мкг мангану в 0,1 мл; 0,02 мг мангану в 100 г біологічного матеріалу.

Поява забарвлення тільки у цій реакції може вказувати на природний вміст мангану!

Рівняння хімічної реакції:



Реакція з амонію персульфатом

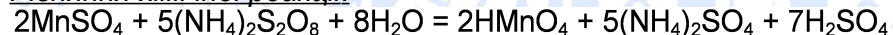
Реакція проводиться при нагріванні у присутності каталізатора $AgNO_3$.

Методика виконання реакції: у пробірку вносять 1 мл мінералізіату, 4 мл води, 1 мл насиченого розчину натрію дигідрогенфосфату. Суміш нагрівають на киплячій водяній бані протягом 5-6 хв. До гарячого розчину додають 1 краплю 10 % розчину аргентуму нітрату і 0,5 г амонію персульфату. Суміш знову нагрівають протягом декількох хвилин (до розкладання надлишку амонію персульфату).

При наявності іонів мангану в мінералізіті появляється червоно-фіолетове або рожеве забарвлення.

Межа виявлення – 0,1 мг мангану в 100 г біологічного матеріалу.

Рівняння хімічної реакції:



Поява забарвлення у двох реакціях (з калію періодатом та з амонію персульфатом) з свідчить про перевищення природного вмісту мангану у організмі і вимагає проведення кількісного визначення.

Кількісний аналіз. Манган у мінералізіті визначають інструментальними методами аналізу.

Фотокolorиметричний метод. Метод базується на переведенні двовалентного мангану у семивалентний за допомогою реакції з калію періодатом.

Методика виначення. До 2 мл мінералізіату додають 6 мл води, 2 мл насиченого розчину натрію дигідрогенфосфату, 0,2 г калію (натрію) періодату і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику протягом 20 хв. Кінцевий об'єм реакційної суміші доводять водою до 10 мл. Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють за допомогою фотоелектрокolorиметра, використовуючи кювету 10 мл і світлофільтр з ефективною довжиною хвилі 465 нм. Як розчин порівняння використовують 2 М розчин сульфатної кислоти. Калібрувальний графік будують за точними і перевіреними титруванням стандартними розчинами калію перманганату. Підпорядкованість закону Бугера-Ламберта-Бера спостерігається в межах концентрацій мангану від 0,1 до 30 мкг/мл.

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Виявлення мангану проводять за характерною для мангану лінією резонансного переходу при довжині хвилі 279,5 нм.

Межа виявлення мангану становить 0,1 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

Виявлення хрому

У мінералізіті хром знаходиться у вигляді розчину хрому (III) сульфату.

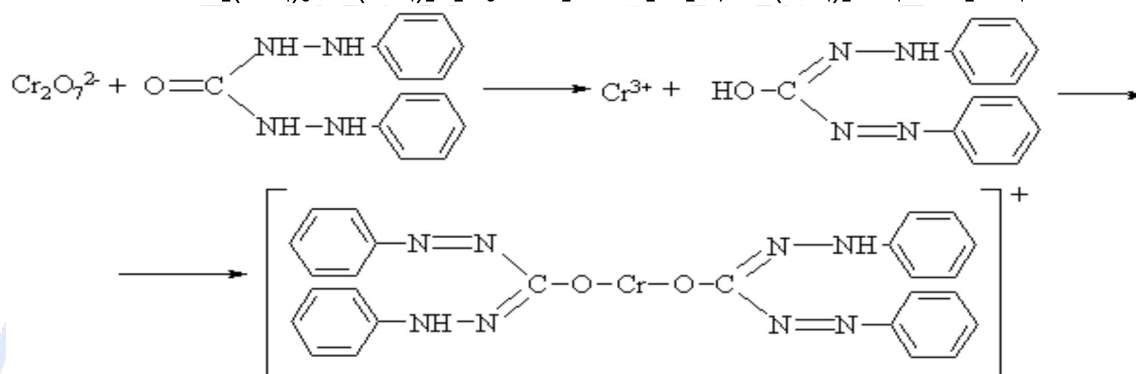
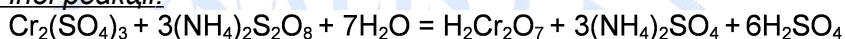
Реакція з дифенілкарбазидом

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

При наявності іонів хрому в мінералізаті розчин забарвлюється у рожевий або червоно-фіолетовий колір.

Реакція специфічна. Межа виявлення становить 0,2 мкг хрому в 1 мл мінералізату.

Рівняння хімічної реакції.



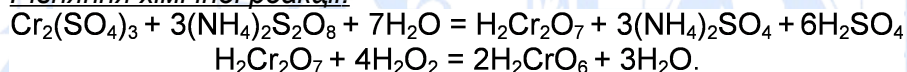
Реакція утворення надхромової кислоти (підтверджуюча)

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

При наявності іонів хрому в мінералізаті шар органічного розчинника забарвлюється в голубий або синій колір.

Реакція специфічна. Межа виявлення становить 2 мкг хрому в 1 мл мінералізату.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Хром у мінералізаті визначають методом спектрофотометрії у видимій області та методом атомно-абсорбційної спектрометрії.

Спектрофотометричний метод базується на отриманні забарвленого продукту з дифенілкарбазидом за методикою, описаною вище. Оптичну густину забарвленого продукту реакції вимірюють за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 546 нм. Розрахунок концентрацій хрому у мінералізаті проводять за градуювальним графіком.

За цією методикою визначають 0,1-20 мг хрому у 100 г об'єкта.

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Дослідження хрому проводять за характерною для хрому лінією резонансного переходу при довжині хвилі 357,9 нм.

Нижня межа визначення хрому становить 0,15 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

Виявлення аргентуму (срібла)

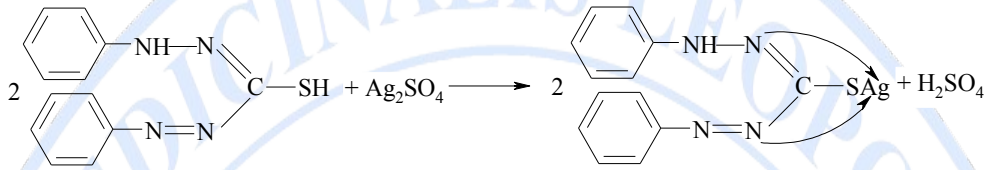
У мінералізаті аргентум знаходиться у вигляді розчину аргентуму сульфату.

Реакція з дитизоном

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

Аргентуму дитизонат розкладається 0,5 н. розчином хлоридної кислоти, а меркурію дитизонат має інший колір, ніж аргентуму дитизонат, і не розкладається цією кислотою. Тому за допомогою реакції з дитизоном можна відрізнити іони аргентуму від іонів меркурію.

Рівняння хімічної реакції.

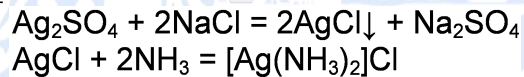


Реакція з хлоридами

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

Якщо отриманий аміачний розчин залишити на предметному скельці, то через деякий час під мікроскопом спостерігають утворення дрібних безбарвних кристалів і зрощених тетраедрів і трикутників. Цій реакції заважають іони Cu^+ , Pb^+ , $[\text{Hg}_2]^{2+}$, які дають з хлоридами малорозчинні у воді осад.

Рівняння хімічної реакції.

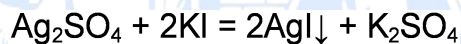


Реакція з калію йодидом

Методика виконання реакції: до 0,5 мл мінералізату додають 0,5 мл 10 % розчину калію йодиду. Поява жовтого осаду свідчить про наявність іонів аргентуму в мінералізаті.

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

Рівняння хімічної реакції.



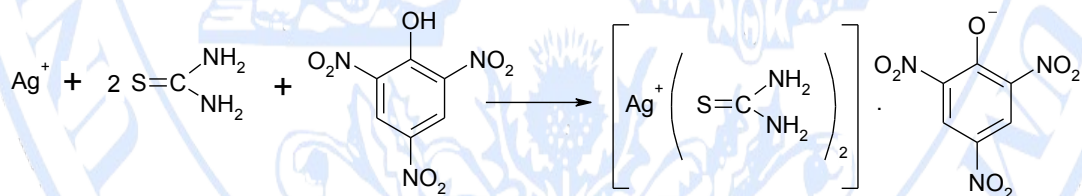
Реакція з тіосечовиною і пікриновою кислотою

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

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

Межа виявлення – 0,03 мкг аргентуму у досліджуваній пробі.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Аргентум мінералізаті визначають методом спектрофотометрії у видимій області та методом атомно-абсорбційної спектрометрії.

Екстракційно-фотометричний метод. В основі цього методу лежить реакція іонів срібла з дитизоном, наведена вище. Утворений забарвлений продукт (ргентуму дитизонат) екстрагують чотирихлористим вуглецем. Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 426 нм. Кількісний вміст аргентуму у пробі визначають за градувальник графіком.

Межа визначення – 0,02 мг аргентуму у пробі.

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Аналіз аргентуму проводять за характерною для аргентуму лінією резонансного переходу при довжині хвилі 328,1 нм.

Межа виявлення аргентуму становить 0,1 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

Розрахунок концентрації аргентуму проводять за градувальник графіком або використовуючи метод добавок.

Виявлення талію

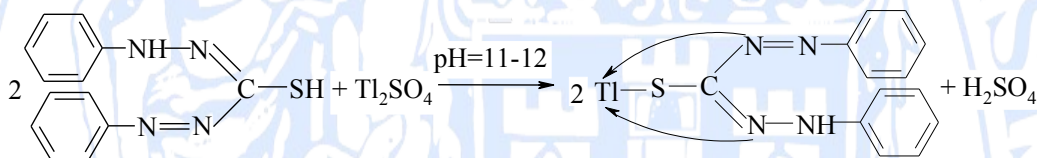
У рідкій частині мінералізату талі знаходиться у вигляді талію сульфату.

Реакція з дитизоном

Методика виконання реакції в ділильну лійку вносять 5 мл досліджуваного розчину або мінералізату, додають по 2 мл 20 % розчину лимонної кислоти, 10 % розчину гідроксиламіну сульфату і 5 % розчину калію ціаніду. Після цього вносять розчин аміаку до pH 11-12 (за універсальним індикатором) і 2-3 мл 0,01% розчину дитизону в хлороформі. При струшуванні хлороформовий шар забарвлюється в червоний чи фіолетовий колір. Хлороформовий шар відокремлюють, переносять в пробірку і промивають сумішшю 1 % розчину калію ціаніду з 0.3 н. розчином аміаку (1:1). У присутності талію шар хлороформу забарвлюється від рожевого до малиново-червоного кольору.

Межа виявлення – 0,1 мкг талію у досліджуваній пробі. Стибій цієї реакції не дає.

Рівняння хімічної реакції.

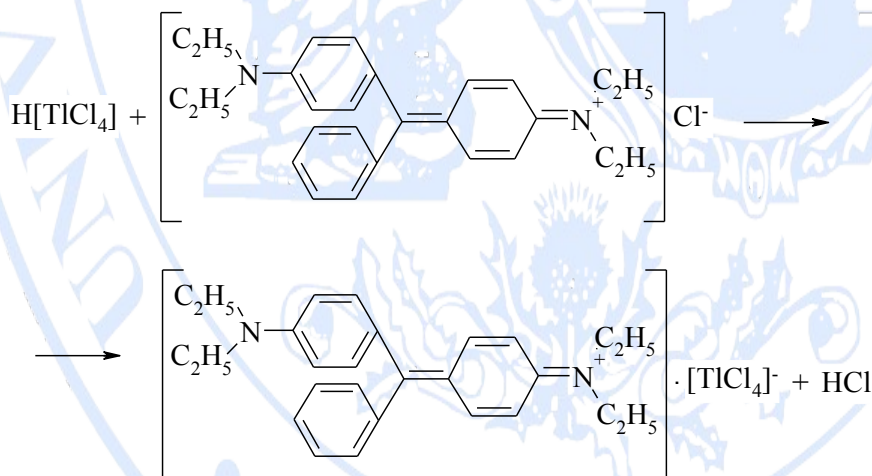


Реакція з малахітовим зеленим

Методика виконання реакції В ділильну лійку вносять 1 мл досліджуваного розчину чи мінералізату, додають 4 мл 40 % розчину сульфатної кислоти, 3 мл 5 н. розчину хлоридної кислоти, 2 краплі 5 % розчину натрію нітриту (для окислення талію (I) до талію (III)), 7 крапель 0,5 % спиртового розчину малахітового зеленого, 1-2 г безводного натрію сульфату і 5 мл толуену. Суміш збовтують 1-2 хвилини. У присутності талію толуенова фаза забарвлюється в голубий колір, а водна фаза – в оранжевий колір. Якщо відокремити органічну фазу і додати до неї 3 мл 25 % розчину сульфатної кислоти і збовтати, то голубе забарвлення толуенової фази залишається, якщо досліджуваний розчин містить іони талію чи стибію.

Межа виявлення – 0,03 мкг талію у досліджуваній пробі. Реакцію дає також стибій.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Талій у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Екстракційно-фотометричний метод. Метод базується на отриманні іонного асоціату талію з малахітовим зеленим, що екстрагується толуеном, за методикою, описаною вище. Оптичну густину толуену, що містить іонні асоціати, забарвлені у голубий чи синій колір, визначають при довжині хвилі 640 нм.

Межа визначення - 0,1 мг талію у 100 г об'єкта.

Атомно-абсорбційна спектроскопія. Аналіз талію проводять за характерною для талію лінією резонансного переходу при довжині хвилі 276,8 нм.

Межа виявлення становить 0,8 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

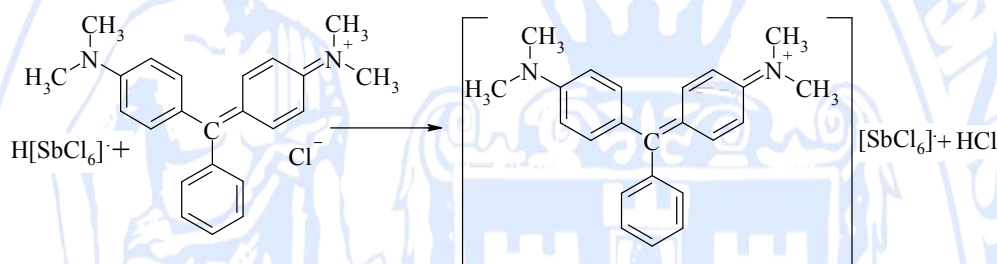
Виявлення стибію

У мінералізаті аргентум знаходиться у вигляді розчину аргентуму сульфату.

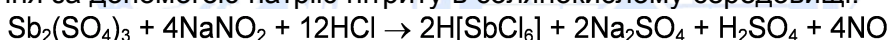
Реакція з малахітовим зеленим

Методика виконання реакції. Проводиться аналогічно, як при виявленні талію (див. талій).

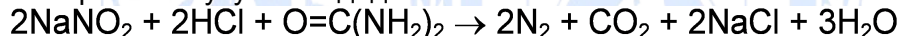
Рівняння хімічної реакції.



При деяких хімічних операціях з мінералізатом (наприклад, при денітрації) іони стибію (V) можуть відновлюватися до іонів стибію (III), які з малахітовим зеленим не взаємодіють. Тому, перед виконанням цієї реакції, для більшої достовірності, проводять реакцію окислення за допомогою натрію нітриту в солянокислому середовищі:



Надлишок нітрит-іонів усувають додаванням сечовини:



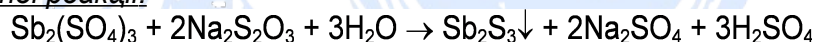
Реакція з тіосульфатом натрію

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

Межа виявлення – 0,01 мг стибію у пробі.

Талій цієї реакції не дає.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Стибій у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Екстракційно-фотометричний метод. Визначення стибію базується на методиці, описаній вище, яка використовується для визначення талію (утворення іонних асоціатів з малахітовим зеленим).

Межа визначення – 0,1 мг стибію у 100 г об'єкта.

Атомно-абсорбційна спектроскопія. Виявлення стибію проводять за характерною для стибію лінією резонансного переходу при довжині хвилі 217,6 нм.

Межа виявлення становить 1 мкг стибію в 1 мл досліджуваної проби.

Оформлення та захист протоколу заняття № 8.

Питання до заняття № 8

1. Загальна характеристика, застосування, екологічна токсикологія та токсичність сполук марганцю, хрому, аргентуму, талію та стибію. Шляхи поступлення металів в організм. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії цих металів з білками, пептидами і амінокислотами

в організмі. Розподіл та накопичення, виведення із організму. Антидотна терапія при отруєннях цими металами.

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

Тема 9. Дослідження рідкої частини мінералізату на наявність і вміст цинку, кадмію, бісмуту, стибію, купруму (міді) та арсену.

Зміст навчального матеріалу Теми 9.

Метод осібногo дослідження у мінералізаті катіонів цинку, кадмію, бісмуту, купруму (міді) та арсену. Систематичний хід аналізу металів у мінералізаті. Особливості та методи кількісного визначення металів в об'єктах біологічного походження. Можливі помилки при проведенні аналізу.

Судово-медична оцінка результатів судово-токсикологічного дослідження з урахуванням природного вмісту металів в організмі.

Теоретична база

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

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

1. Виділяють з мінералізату у вигляді діетилдитіокарбаматів (ДДТК) при певному рН розчину і екстрагують в органічну фазу.
2. Руйнують утворені комплекси і шляхом реекстракції переводять катіони у водну фазу.
3. Проводять виявлення та кількісне визначення катіонів у водній фазі..

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

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

Виконання лабораторної роботи

Дослідження рідкої частини мінералізату

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

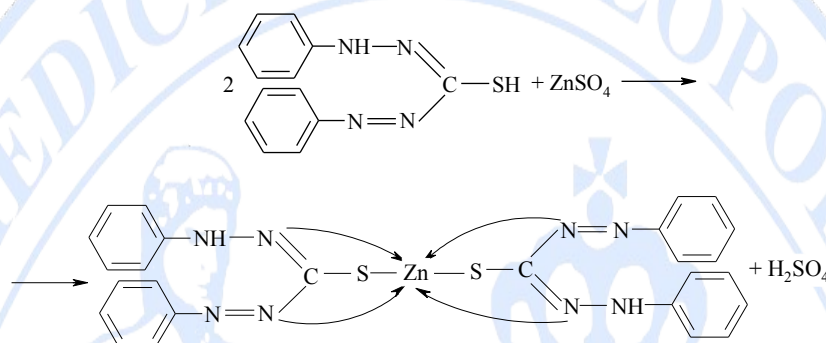
Мінералізат досліджують на вміст перелічених іонів за допомогою хімічних реакцій.

Виявлення цинку

Попередня проба з дитизоном

Методика виконання реакції: до 0,5 мл мінералізату додають 0,25 мл насиченого розчину натрію тіосульфату, а потім краплями 5 % розчин калію гідроксиду до рН 4,5-5,0. До

цєї суміші додають 1 мл ацетатного буферного розчину (рН 5). Рідину добре перемішують і кількісно переносять у ділильну лійку, в яку додають 1 мл хлороформу, 2 краплі 0,01 % розчину дитизону в хлороформі. Вміст ділильної лійки добре збовтують. При наявності іонів цинку, утворюється цинку дитизонат, який естрагується хлороформом. При цьому зелене забарвлення (яке дає дитизон) хлороформного шару, змінюється на рожеве або пурпурово-червоне забарвлення (залежно від кількості іонів цинку у дитизонаті).



Висновки результатів попередньої проби

Попередня проба має судово-токсикологічне значення при негативному результаті – дослідження цинку не проводиться. При позитивному результаті попередньої проби, проводять виділення цинку із мінералізату (див.нижче).

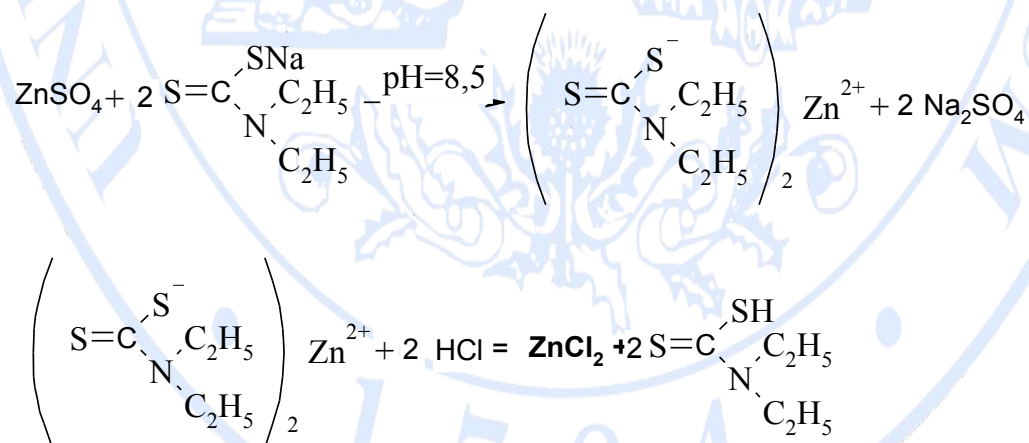
Виділення цинку з мінералізату (на основі реакції з натрію діетилдитіокарбаматом)

Для виділення цинку із мінералізату, його спочатку екстрагують хлороформом (у вигляді діетилдитіокарбамату), а потім іони цинку реекстрагують у розчин хлоридної кислоти.

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

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

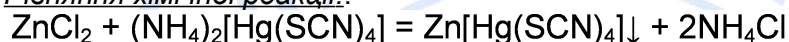
Рівняння хімічних реакцій:



Реакція з амонію тетрароданомеркуріатом

Методика виконання реакції: на предметне скло наносять 3 краплі водної фази, яку випаровують насухо. На сухий залишок наносять краплю 10 % розчину ацетатної кислоти і краплю розчину амонію тетрароданомеркуроату $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$. У присутності іонів цинку утворюються поодинокі клиновидні кристали або дендрити білого кольору.

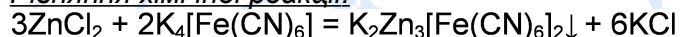
Рівняння хімічної реакції:



Реакція з калію гексаціанофератом(II)

Методика виконання реакції: до 1 мл водної фази краплями додають 5 % розчин калію гідроксиду до pH 5, а потім – 3 краплі 5 % розчину калію гексаціаноферату (II). У присутності іонів цинку випадає білий осад $\text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$. Осад утворюється у вигляді характерних кристалів – хрестів та дендритів. При додаванні надлишку реактиву може утворитись більше розчинний осад $\text{Zn}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Рівняння хімічної реакції:

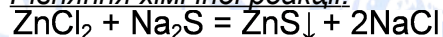


Реакція з натрію або амонію сульфідом

Методика виконання реакції: до 1 мл водної фази краплями додають 5 % розчин натрію гідроксиду до pH 5 і 3-4 краплі 5 % свіжоприготованого розчину натрію сульфідіду. Утворення білого осаду ZnS свідчить про присутність іонів цинку в розчині.

Межа виявлення після екстракції у вигляді діетилдитіокарбамату, реекстракції розчином хлоридної кислоти і використання усіх наведених вище реакцій - 0,5 мг цинку у 100 г об'єкта.

Рівняння хімічної реакції:



Кількісний аналіз. Цинк у мінералізаті визначають за допомогою інструментальних методів.

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Виявлення цинку проводять за характерною для цинку лінією резонансного переходу при довжині хвилі 213,9 нм.

Межа виявлення цинку становить 0,04 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

Виявлення кадмію

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

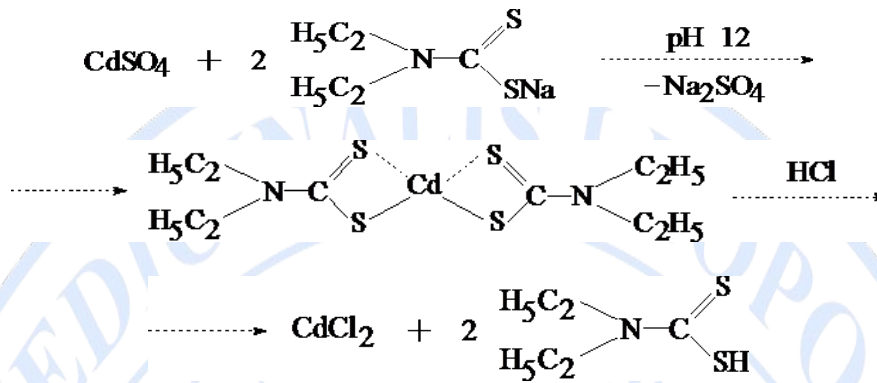
Виділення іонів кадмію з мінералізату (на основі реакції з натрію діетилдитіокарбаматом)

Методика виділення кадмію. В ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, додають 2 мл 10 % розчину гліцерину, 4 мл 10 % розчину калію-натрію тартрату і декілька крапель 0,1 % спиртового розчину нільського голубого (індикатора). До цієї суміші краплями додають 2,5 М розчин натрію гідроксиду до переходу забарвлення індикатора від синього до рожевого і збовтують. Після цього до розчину додають 3 мл 1 % розчину натрію діетилдитіокарбамату у суміші спирту і води (1:3) і 10 мл хлороформу.

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

Хлороформний шар, що містить кадмію діетилдитіокарбамат, переносять у іншу ділильну лійку, додають 2 мл 1 М розчину хлоридної кислоти. Вміст лійки збовтують протягом 1 хв і відділяють хлороформний шар. При цьому кадмій у вигляді солі хлоридної кислоти (CdCl_2) переходить у водний розчин. Цей розчин досліджують на вміст іонів кадмію за допомогою реакцій (див.нижче).

Рівняння хімічної реакції:

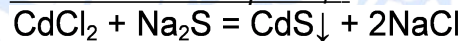


Реакція з натрію сульфідом

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

Межа виявлення – 50 мкг кадмію у досліджуваній пробі. Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті.

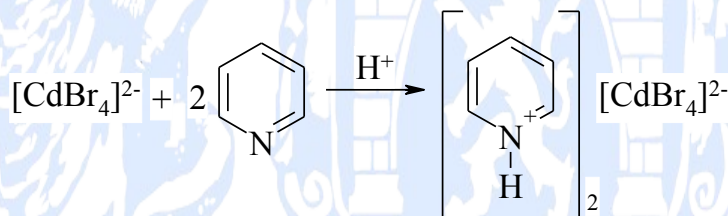
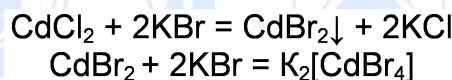
Рівняння хімічної реакції.



Реакція з піридином і калію бромідом

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

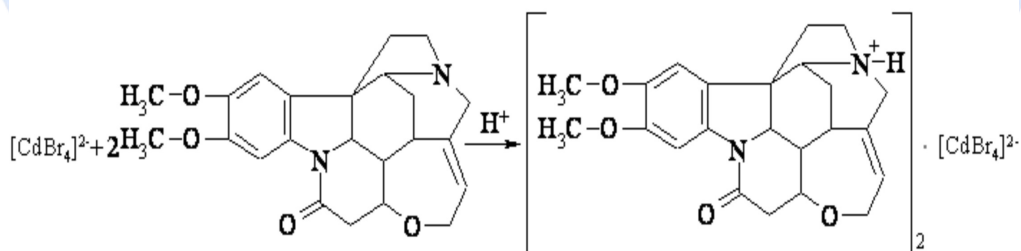
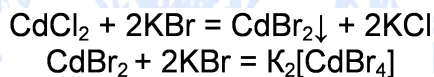
Рівняння хімічної реакції.



Реакція з бруцином і калію бромідом

Методика виконання реакції. 2-3 краплі водної фази наносять на предметне скло і випарюють насухо. На сухий залишок наносять краплю насиченого розчину бруцину в 1 М розчині сульфатної кислоти і краплю 5% -ного розчину калію броміду. При наявності іонів кадмію в розчині утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Кадмій у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Атомно-абсорбційна спектроскопія. Виявлення кадмію проводять за характерною для кадмію лінією резонансного переходу при довжині хвилі 228,8 нм.

Межа виявлення кадмію становить 0,03 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

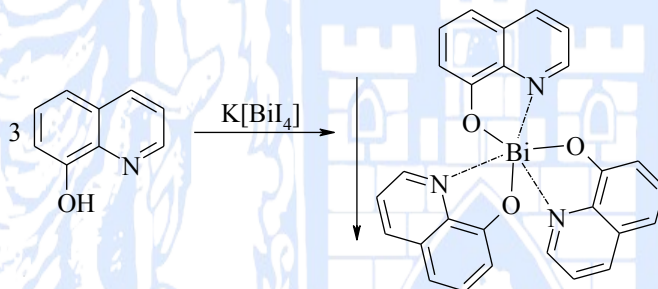
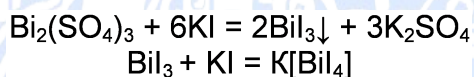
Виявлення бісмуту

Реакція з оксихіноліном у присутності калію йодиду.

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

Межа виявлення - 0,005 мкг бісмуту у досліджуваній пробі. Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції.

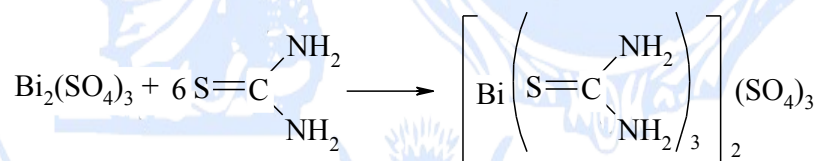


Реакція з тіосечовиною

Методика виконання реакції. До 1 мл досліджуваного розчину додають 0,5 мл насиченого розчину тіосечовини. При наявності іонів бісмуту розчин забарвлюється в лимонно-жовтий колір.

Межа виявлення - 0,005 мкг бісмуту в досліджуваній пробі. Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції.



При позитивному результаті цих двох реакцій (з оксихіноліном; з тіосечовиною) бісмут екстрагують з мінералізату у вигляді ДДТК-бісмуту.

Виділення іонів бісмуту із мінералізату.

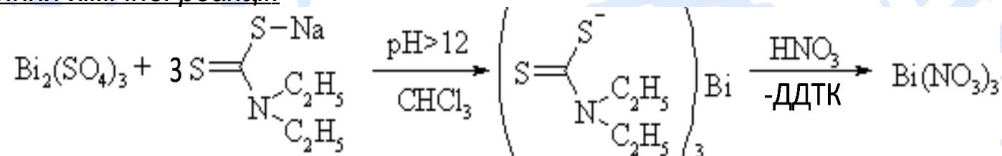
Виділення базується на додаванні до мінералізату розчину натрію діетилдитіокарбамату, з яким іони бісмуту утворюють внутрішньокмплесну сполуку. Крім іонів бісмуту з натрію діетилдитіокарбаматом внутрішньокмплесні сполуки утворюють деякі інші катіони, які можуть міститись у мінералізаті. Для маскування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

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

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

Хлороформний шар, що містить бісмуту діетилдитіокарбамат, переносять у іншу ділильну лійку, додають 3 мл 4 М розчину нітратної кислоти. Вміст лійки збовтують протягом 1 хв і відділяють хлороформний шар. Водну фазу, яка вміщує $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$, досліджують на вміст іонів бісмуту за допомогою реакцій (див.нижче).

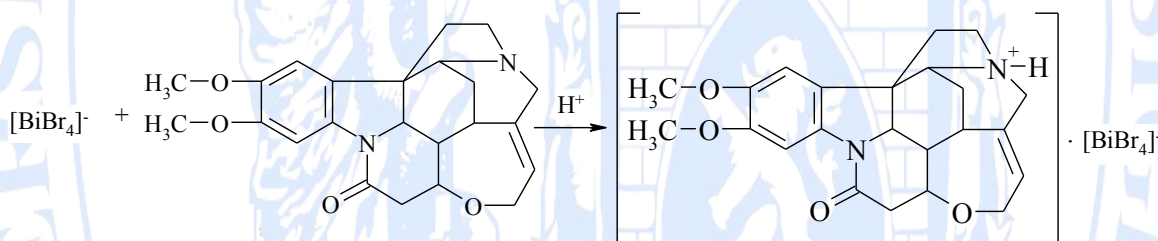
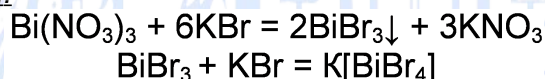
Рівняння хімічної реакції.



Реакція з бруцином і бромідом калію

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

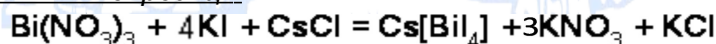
Рівняння хімічної реакції.



Реакція з цезію хлоридом і калію йодидом

Методика виконання реакції. На предметне скло наносять декілька крапель досліджуваного водного розчину, додають 1-2 краплі розчину калію йодиду і 2 краплі цезію хлориду. Через 10-15хв під мікроскопом спостерігають утворення помаранчевих кристалів у вигляді багатокутників і шестипроменевих зірочок $\text{Cs} [\text{BiI}_4]$.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Бісмут у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Фотометричний аналіз. Методика кількісного визначення бісмуту у мінералізаті базується на утворенні і руйнуванні бісмуту діетилдитіокарбамату, описаних вище. До кислого реекстракту, що містить бісмуту нітрат, додають надлишок тіосечовини. Оптичну густину забарвленого у жовтий колір розчину визначають при довжині хвилі 470 нм, Кількісний вміст бісмуту у пробі визначають за градуовальним графіком. Межа визначення бісмуту – 0,1 мг у 100 г об'єкта.

Атомно-абсорбційна спектроскопія. Виявлення бісмуту проводять за характерною для бісмуту лінією резонансного переходу при довжині хвилі 223,1 нм.

Межа виявлення становить 0,8 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

Виявлення купруму (міді)

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

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

Виділення купруму з мінералізату (на основі реакції з плюмбуму діетилдитіокарбаматом).

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

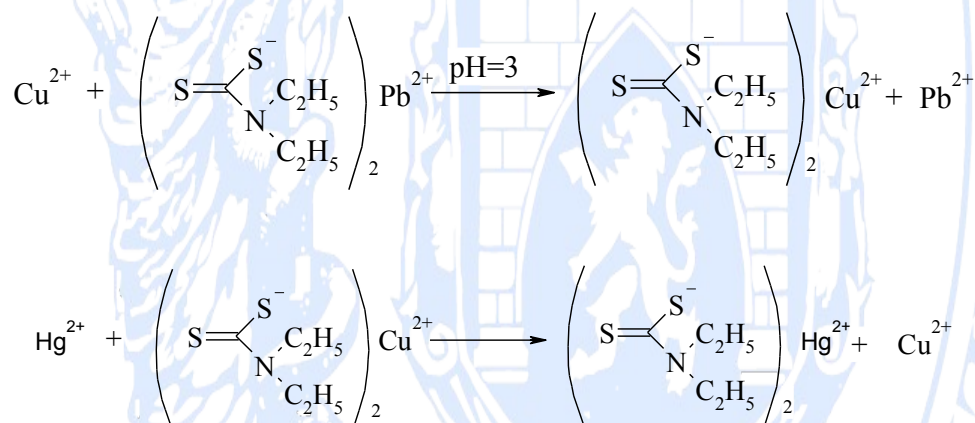
Методика виділення міді. До 10 мл мінералізату додають 2-3 краплі індикатора (безбарвний 0,1 % спиртовий розчин 2,4-динітрофенолу), а потім невеликими порціями 25 % розчин аміаку до зміни забарвлення індикатора на жовте (до рН 3). Рідину переносять у ділильну лійку, у яку додають 5 мл хлороформного розчину плюмбуму діетилдитіокарбамату і збовтують. При цьому утворюється купруму діетилдитіокарбамат, який, залежно від кількості купруму в мінералізаті, забарвлює хлороформний шар у жовтий або коричневий колір.

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

Межа виявлення – 0,5 мкг в 1 мл досліджуваної проби.

Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті (тобто, дослідження даного мінералізату на мідь не проводяться).

Рівняння хімічної реакції.



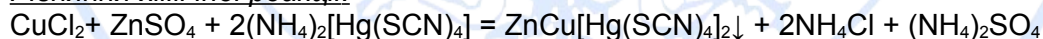
Отриману, таким чином, водну витяжку досліджують на наявність іонів купруму за допомогою хімічних реакцій (див. нижче).

Реакція з амонію тетрароданомеркуріатом

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

Межа виявлення – 0,1 мкг купруму в досліджуваній пробі.

Рівняння хімічної реакції.



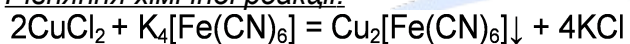
Реакція з калію гексаціанофератом (II)

Методика виконання реакції до 0,5 мл водної фази додають 2 краплі 5 % розчину калію гексаціаноферату (II).

У присутності іонів купруму випадає червоно-бурий осад.

Межа виявлення – 0,1 мкг купруму в досліджуваній пробі.

Рівняння хімічної реакції.



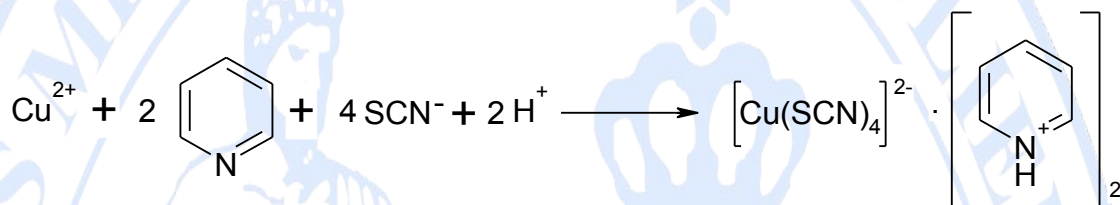
Реакція з піридин-роданідним реактивом

Методика виконання реакції: у пробірку вносять 0,5 мл водної фази, до якої краплями додають 1-2 мл піридин-роданідного реактиву. Утворюється осад, до якого додають 2 мл хлороформу, і суміш збовтують.

У присутності іонів купруму хлороформний шар забарвлюється в смарагдово-зелений колір.

Межа виявлення – 1 мкг купруму в досліджуваній пробі.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Купрум у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Екстракційно-фотометричний метод. Метод базується на отриманні купруму діетилдитіокарбамату за методикою, описаною вище. Комплексну сполуку екстрагують декілька разів до отримання безбарвного екстракту. Хлороформні екстракти, що містять купрум діетилдитіокарбамат, відокремлюють і об'єднують. Оптичну густина об'єданого екстракту визначають при довжині хвилі 435 нм, використовуючи для визначення кількісного вмісту купруму градувальний графік.

Межа визначення – 0,05 мг купруму у 100 г об'єкта.

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Виявлення купруму проводять за характерною для купруму лінією резонансного переходу при довжині хвилі 324,7 нм.

Межа виявлення купруму становить 0,15 мкг в 1 мл досліджуваної пробі.

Виявлення арсену

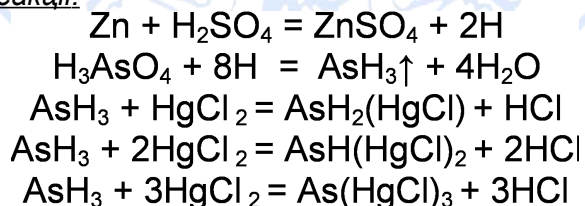
Реакція Зангер-Блека

Методика виконання реакції: В колбу апарата Зангер-Блека вносять 2 мл мінералізату, 10 мл 4 н. розчину сульфатної кислоти, 5 мл дистильованої води і 1 мл 10 % розчину стануму (II) хлориду в 50 % розчині сульфатної кислоти. Потім в колбу вносять 2 г дрібних гранул «купованого цинку». Колбу закривають насадкою, отвір якої накривають папером, змоченим хлоридом або бромідом меркурію(II), а нижче вставляють тампон вати, змочений розчином плюмбуму ацетату. При наявності великих кількостей арсену на папері з'являється бурувато-коричнева пляма вже через декілька хвилин. При малих кількостях – пляма з'являється через 35-45 хвилин. Якщо через 45 хвилин пляма не з'явилась, то папір занурюють в 3 % водний розчин калію йодиду. При цьому весь папір (крім плям сполук арсену з хлоридом чи бромідом меркурію) забарвлюється в червоний колір. Після цього папір занурюють у насичений розчин калію йодиду. При наявності арсену в мінералізаті на папері залишається жовта або коричнева пляма, а навколо неї зникає червонувате забарвлення.

Межа виявлення – 0,1 мкг в 2 мл мінералізату, або 0,01 мг в 100 г досліджуваного об'єкта.

Реакція неспецифічна. Має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції.



Реакція з розчином аргентуму діетилдитіокарбамату в піридині

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

Цю реакцію дає також стибій. Виявленню арсену за допомогою названої реакції заважають сполуки стибію, які також взаємодіють з розчином діетилдитіокарбамату аргентуму в піридині і дають оранжево-червоне забарвлення.

Хімізм цієї реакції не встановлено.

Реакція Марша (див. підручник В.П.Крамаренко «Токсикологічна хімія», 1995, с.337-342).

Кількісний аналіз. Арсен у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Фотометричний метод. Метод базується на реакції взаємодії арсину з розчином аргентуму діетилдитіокарбамату у піридині за методикою, описаною вище. Оптичну густину забарвленого у червоно-фіолетовий колір розчину вимірюють при довжині хвилі 540 нм.

Межа визначення – 0,01 мг арсену в 100 г об'єкта.

Атомно-абсорбційна спектроскопія. Виявлення арсену проводять за характерною для арсену лінією резонансного переходу при довжині хвилі 193,7 нм.

Межа виявлення становить 2 мкг арсену в 1 мл досліджуваної проби.

Оформлення та захист протоколу заняття № 9.

Питання до заняття № 9

1. Загальна характеристика, застосування, екологічна токсикологія та токсичність сполук цинку, кадмію, бісмуту, купруму та арсену. Шляхи поступлення металів в організм. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії цих металів з білками, пептидами і амінокислотами в організмі. Розподіл та накопичення, виведення із організму. Антидотна терапія при отруєннях цими металами.
2. Екстракція з мінералізату, виявлення та кількісне визначення цинку у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
3. Екстракція з мінералізату, виявлення та кількісне визначення кадмію у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
4. Екстракція з мінералізату, виявлення та кількісне визначення бісмуту у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
5. Екстракція з мінералізату, виявлення та кількісне визначення міді у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.
6. Екстракція з мінералізату, виявлення та кількісне визначення арсену у мінералізаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

Тема 10. Виділення ртуті (ртуті) із біологічного матеріалу та її дослідження у деструктаті. Підсумковий контроль Модуля 1.

Зміст навчального матеріалу Теми 10.

Токсикологічна характеристика сполук ртуті, механізми токсичної дії, зв'язування з клітинами організму, розподіл та накопичення в організмі. Особливості виділення ртуті із об'єктів дослідження біологічного походження. Суть методу деструкції. Виявлення ртуті в деструктаті. Методи кількісного визначення ртуті в деструктаті. Антидоти, які використовуються при отруєннях ртуттю та механізми їх дії.

Методи атомно-абсорбційної спектроскопії, бездифракційного рентгенофлуоресцентного аналізу та інших фізичних методів при дослідженні металів у мінералізатах і біологічних рідинах.

Виконання лабораторної роботи

Виділення ртуті із біологічного матеріалу

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

Проведення деструкції. До об'єкта (печінка або нирки) масою 20 г додають 5 мл води, 1 мл етилового спирту і 10 мл концентрованої нітратної кислоти. Після цього краплями додають 10мл концентрованої сульфатної кислоти. Такий процес дає можливість контролювати швидкість розкладу нітратної кислоти. Цьому сприяє також присутність етилового спирту, який має здатність зв'язувати нітратну кислоти нестійким ефірним зв'язком. Після додавання сульфатної кислоти колбу залишають на 15 хв при кімнатній температурі до зупинки виділення оксидів азоту, а потім нагрівають на водяній бані 10-20 хв. Якщо реакція проходить надто бурхливо з виділенням бурих парів, тоді додають 30-50 мл гарячої води. Гарячий деструктат фільтрують у колбу з 20 мл насиченого розчину сечовини, який додають для проведення денітрації. Надлишок сечовини усувають нагріванням з розчином сульфатної кислоти. Деструктат розводять водою до певного об'єму і далі проводять необхідні дослідження.

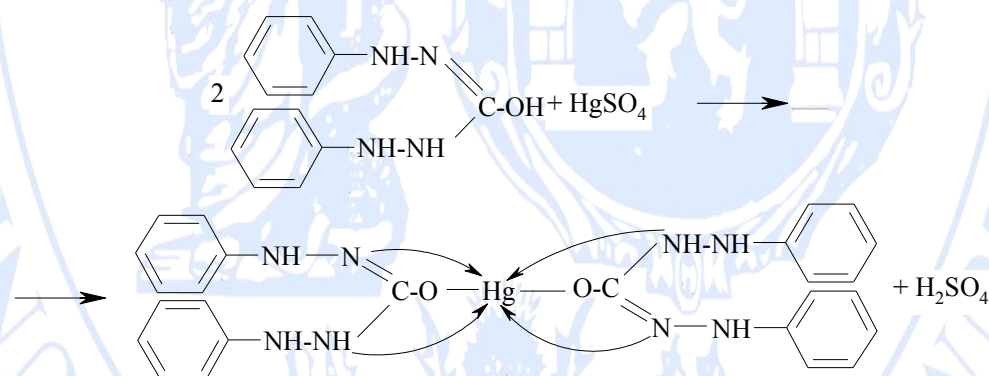
Виявлення меркурію (ртуті) в деструктаті

Реакція з дитизоном

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

Межа виявлення – 0,05 мкг меркурію в 1 мл досліджуваного розчину. Реакція має судово-хімічне значення при негативному результаті.

Рівняння хімічної реакції.

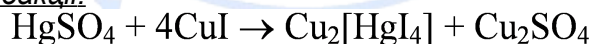


Реакція із суспензією йодиду купруму

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

Межа виявлення – 1 мкг меркурію в досліджуваному об'єкті.

Рівняння хімічної реакції.



Кількісний аналіз. Меркурій у мінералізаті визначають інструментальними методами аналізу.

Екстракційно-фотоколориметричний метод. Кількісне визначення іонів меркурію проводять екстракційно-фотометричним методом, який базується на реакції з дитизоном. У ділильну лійку вносять 10 мл деструктату, додають 1 мл 2 н. розчину сульфатної кислоти, 4 мл води, 5 мл 10% розчину аскорбінової кислоти (маскуючий засіб) і 5 мл 0,001% розчину дитизону у хлороформі. Вміст ділильної лійки збовтують 2 хв і залишають на 2 хв для розшарування фаз. Фазу органічного розчинника зливають у мірну колбу на 50 мл, а водну фазу збовтують з новими порціями хлороформного розчину дитизону (по 5 мл) доти, доки не перестане змінюватися зелене забарвлення хлороформного розчину дитизону.

Хлороформну витяжку з дитизонатом ртуті, відмивають від надлишку дитизону. Для цього її переносять у роздільну лійку, додають 10 мл 1,25% розчину аміаку і збовтують з протягом 3 хв. Потім хлороформні витяжки (дитизонат ртуті) переносять у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять до позначки хлороформом. Оптичну густину цього розчину вимірюють за допомогою фотоелектроколориметра (кювета 10 мм, світлофільтр – зелений). Вміст ртуті визначають за градувальним графіком.

Метод дозволяє визначати від 10 мкг до 90 мкг меркурію в 50 мл кінцевого об'єму.

Рівняння хімічної реакції. (див. вище – Реакція з дитизоном).

Атомно-абсорбційна спектрометрія. Виявлення меркурію проводять за характерною для меркурію лінією резонансного переходу при довжині хвилі 253,7 нм.

Межа виявлення становить 15 мкг ртуті в 1 мл досліджуваної проби.

Оформлення та захист протоколу заняття № 10.

Питання до заняття № 10

1. Загальна характеристика, застосування, екологічна токсикологія та токсичність сполук меркурію. Шляхи поступлення в організм. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії з білками, пептидами і амінокислотами в організмі. Розподіл та накопичення, виведення із організму. Антитоксична терапія при отруєннях меркурієм.
2. Виділення меркурію із біологічного матеріалу. Метод деструкції, порядок проведення, переваги та недоліки.
3. Виявлення та кількісне визначення меркурію у деструктаті. Навести хімізм відповідних реакцій.

Підсумковий контроль Модуля 1.

Перелік питань для підсумкового контролю Модуля 1

- Токсикологічна хімія її зміст, завдання та основні розділи (біохімічна токсикологія та аналітична токсикологія).
- Предмет вивчення та завдання біохімічної токсикології.
- Предмет вивчення та завдання аналітичної токсикології.
- Клінічна токсикологія її зміст, предмет вивчення та завдання.
- Основи токсикологічної хімії та хіміко-токсикологічного аналізу.
- Судова хімія та судово-токсикологічний аналіз.
- Галузі використання методів хіміко-токсикологічного аналізу. Використання хіміко-токсикологічного аналізу у теоретичній токсикології, клінічній токсикології, профілактичній токсикології та у судовій токсикології.
- Законодавчі акти та організація судово-медичної експертизи в Україні.
- Основна документація, яка ведеться при проведенні хіміко-токсикологічного аналізу.
- Галузі використання методів хіміко-токсикологічного аналізу. Використання хіміко-токсикологічного аналізу у теоретичній токсикології, клінічній токсикології, профілактичній токсикології та у судовій токсикології.
- Загальні принципи інтерпретації результатів судово-токсикологічних досліджень.
- Основні токсикокінетичні константи та їх використання для інтерпретації результатів хіміко-токсикологічного аналізу.

- Хіміко-токсикологічний та судово-токсикологічний аналізи у діагностиці гострих отруєнь
- Взаємозв'язок токсикологічної хімії з токсикологією та іншими медичними, біологічними, фармацевтичними і фундаментальними дисциплінами.
- Аналітична та прикладна токсикології.
- Етапи становлення та розвитку токсикологічної хімії.
- Значення токсикологічної хімії у підготовці провізора. Етика і деонтологія в токсикологічній хімії.
- Визначення понять "отруєння" і "отрута". Загальні принципи класифікації отрут: за хімічною будовою, метою застосування, за ступенем токсичності (гігієнічна), видом токсичної дії (токсикологічна), вибірковою токсичністю, за способами виділення з об'єктів біологічного походження.
- Класифікація отруєнь за причиною виникнення, за умовами (місцем) розвитку, за клінічним принципом (гострі, хронічні, підгострі отруєння), за шляхами проникнення в організм; нозологічна класифікація.
- Класифікація отрут у токсикологічній хімії.
- Токсикокінетика. Шляхи проникнення отрут в організм, транспортні механізми всмоктування і взаємозв'язок з їх фізичними і хімічними властивостями і розподіл в органах, виведення з організму, кумуляція. Вплив природи, концентрації та шляхів всмоктування отрути на динаміку росту її концентрації в крові і розподілу в органах.
- Основні закономірності поведінки отруйних речовин в організмі. Метаболізм (біотрансформація) отрут. Перша і друга фази метаболізму. Летальний синтез. Залежність метаболізму отрут від видової, вікової, статевої чутливості, присутності інших ксенобіотиків та інших факторів. Вплив процесів метаболізму на результати хіміко-токсикологічного дослідження.
- Законодавчі акти та організація судово-медичної експертизи в Україні
- Порядок виконання і документація судово-токсикологічних (хіміко-токсикологічних) експертиз.
- Особливості хіміко-токсикологічного та судово-токсикологічного аналізу. Загальний та скерований (цілеспрямований) хіміко-токсикологічний аналіз.
- Аналіз речових доказів. Об'єкти хіміко-токсикологічних та судово-токсикологічних досліджень їх характеристика, засоби консервування. Правила відбору, направлення і прийому об'єктів на судово-токсикологічне дослідження та зберігання проб. Особливості аналізу окремих об'єктів у залежності від їх природи, стану, хімічних властивостей отруйних речовин. Гниття біологічного матеріалу та основні реакції вторинного метаболізму.
- Проведення зовнішнього огляду об'єктів дослідження та попередніх проб для виявлення аміаку, сірководню, кислот, лугів, окисників, відновників та консервантів. Роль попередніх випробувань (скринінгових досліджень) у складанні плану хіміко-токсикологічного аналізу.
- Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу шляхом настоювання з водою: неорганічні кислоти (хлоридна, нітратна, сульфатна), луги (гідроксиди натрію, калію, кальцію, амонію), солі нітратної та нітритної кислот (нітрати, нітрити). Ізолювання з біологічного матеріалу, очищення водних витяжок, виявлення та кількісне визначення. Оцінка отриманих результатів аналізу.
- Загальна і токсикологічна характеристика групи отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу методом дистиляції (леткі речовини): синильна кислота та ціаніди, алкілгалогеніди (хлороформ, 1,2-дихлоретан, тетрахлорметан, хлоралгідрат, трихлоретилен), аліфатичні одноатомні спирти (метиловий, етиловий, в т.ч. «сивушні» олії: пропіловий, ізопропіловий, бутиловий, ізобутиловий, аміловий та ізоаміловий спирти), багатоатомні спирти (етиленгліколь), альдегіди (формальдегіди, ацетальдегід, поліацетальдегід (метальдегід чи сухий спирт), кетони (ацетон), ароматичні вуглеводні (бензол, толуол, ксилол), одноатомні феноли (фенол, крезол), ароматичні аміни (анілін та його похідні), карбонові кислоти (оцтова чи ацетатна кислота), етери (діетиловий), естери (етилацетат, бутилацетат, трикрезилфосфат), целозольви (етилцелозольв), металоорганічні сполуки (тетраетилсвинець), фенолформальдегідні смоли, нафтопереробні продукти (бензин, гас, дизельне пальне, мазут, газойлі), компоненти клеїв (ароматичні і хлоровані вуглеводні, спирти, ацетон, бензин,

дибутилфталат, диоктилфталат тощо), компоненти парфумерних та косметичних засобів (спирти, бензилбензоат, діетилфталат, пропіленгліколь, продукти переробки нафти тощо).

- Загальна та токсикологічна характеристика фосгену - продукту окислення хлороформу та трихлоретилену.

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

- Напрямки та продукти перетворення летких речовин (алкілгалогенідів, ароматичних амінів, ароматичних вуглеводнів та інших).

- Значення результатів хіміко-токсикологічного аналізу для діагностики отруєнь леткими речовинами.

- Засоби детоксикації організму при отруєнні леткими речовинами.

- Методи виділення летких речовин з об'єктів біологічного походження, харчових продуктів та об'єктів зовнішнього середовища: дистиляція з водяною парою, сухоповітряна відгонка, перегонка з інертними газами, перегонка з носієм. Механізми перегонки летких речовин, які розчиняються у воді та летких речовин, які не змішуються з водою. Азеотропні суміші. Закон Дальтона. Теоретичне обґрунтування методів, вибір методу і умов дистиляції залежно від об'єкта і фізико-хімічних властивостей досліджуваної речовини. Характеристика речовин, які переганяються з кислого середовища та речовин, які переганяються з лужного середовища.

- Методи очищення і концентрування летких речовин у дистилятах.

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

- Хімічні методи дослідження летких речовин у дистилятах, їх чутливість та специфічність. Реакції виявлення ціанідів, хлороформу, 1,2-дихлоретану, тетрахлорметану, хлоралгідрату, трихлоретилену, метанолу, етанолу, ізоамілового спирту, етиленгліколю, формальдегіду, ацетону, фенолу, аніліну, оцтової (ацетатної) кислоти, тетраетилсвинцю.

- Застосування ГРХ для аналізу летких речовин. Теоретичні основи газохроматографічного аналізу. Характеристика систем і вузлів газового хроматографа (система газопостачання, випарник, хроматографічні колонки, система термостатування, система детектування, система реєстрації сигналів). Принципіальна схема хроматографічного розділення. Газо-носії, допоміжні гази, тверді носії, рідкі нерухомі фази та набивки в ГРХ та їх характеристика. Температурні характеристики газохроматографічного процесу. Програмування температури. Пристрої для введення проб у випарник. Характеристика хроматографічних колонок (матеріали, типи, форми, довжина, діаметр). Загальні вимоги до детекторів та їх характеристики (чутливість, межа виявлення, лінійність, селективність, специфічність, інерційність та універсальність). Класифікація детекторів за природою сигналу. Устаткування та способи реєстрації сигналів детектора. Характеристики які впливають на хроматографічне розділення. Параметри хроматографічного піка.

- Типові завдання і основні прийоми якісного аналізу. Параметри якісного газохроматографічного аналізу. Методи групової та індивідуальної ідентифікації летких речовин методом ГРХ.

- Завдання та методи кількісного газохроматографічного аналізу. Параметри хроматографічного піка для кількісного визначення у ГРХ. Способи опрацювання кількісних параметрів хроматограм. Методи кількісного аналізу в ГРХ (внутрішньої нормалізації, абсолютного калібрування, внутрішнього стандарту, зовнішнього стандарту).

- Застосування ГРХ для аналізу спиртів та «сивушних» олій. Значення відносного коефіцієнту етанолу в сечі і крові для діагностики отруєння алкоголем та для діагностики алкогольної коми.

- Застосування ГРХ для аналізу фенолформальдегідних смол, компонентів клеїв, компонентів парфумерних засобів, а також компонентів нафти, бензину, гасу і мазуту.

- Група отруйних речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу методом мінералізації (метали): сполуки барію, свинцю (плюмбуму), марганцю (мангану), хрому, срібла (аргентуму), міді (купрум), цинку, кадмію, бісмуту, талію, стибію, арсену та ртуті (меркурію). Загальна характеристика, застосування, екологічна токсикологія та токсичність сполук металів. Шляхи поступлення металів в організм. Типи зв'язків, які утворюються при взаємодії металів отрут з

білками, пептидами і амінокислотами в організмі. Розподіл та накопичення металів в організмі. Виведення металів із організму. Антидотна терапія при отруєннях металами.

- Мікроелементи та макроелементи, їх роль в організмі та вплив на судово-токсикологічний аналіз.

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

- Методи виділення металів із об'єктів дослідження. Характеристика методів мінералізації. Способи денітрації мінералізату.

- Характеристика металів, які можуть міститися в мінералізаті у вигляді осадів. Відділення осаду свинцю сульфату від барію сульфату. Реакції виявлення катіонів свинцю та барію у мінералізаті.

- Метод осібно́го дослідження металів (метод поокремого дослідження, «дробний» метод, поокреми́й аналіз металів) у мінералізаті. Схема поокремого дослідження металів у мінералізаті (за О.М. Криловою). Характеристика реагентів для маскуваннн заважаючих іонів при поокремому дослідженні металів. Систематичний хід аналізу металів (сполук барію, свинцю (плюмбуму), марганцю (мангану), хрому, срібла (арґентуму), міді (купрум), цинку, кадмію, бісмуту, талію, стибію, арсену та ртуті (меркурію) у мінералізаті.

- Характеристика реагентів, які використовуються для маскуваннн іонів, виділення, виявлення та кількісного визначення металів.

- Вимоги до чутливості реакцій при дослідженні металів у мінералізаті. Особливості та методи кількісного визначення металів в об'єктах біологічного походження. Результати кількісного визначення металів та їх значення для судово-хімічної оцінки результатів дослідження.

- Судово-медична оцінка результатів судово-токсикологічного дослідження з урахуванням природного вмісту металів в організмі.

- Виділення ртуті із об'єктів дослідження біологічного походження. Суть методу деструкції. Виявлення та кількісне визначення ртуті в деструктаті. Антидоти, які використовуються при отруєннях металами.

- Інструментальні методи при дослідженні металів у мінералізатах і біологічних рідинах (атомно-абсорбційної спектроскопії, бездифракційного рентгенофлуоресцентного аналізу тощо).

ПЕРЕЛІК НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Підручники

1. Крамаренко В.Ф. Токсикологічна хімія. – К.: Вища школа, 1995. – 424 с.
2. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия. – К.: Вища школа, 1989. – 448 с.
3. Ніженковська І.В., Вельчинська О.В., Кучер М.М. Токсикологічна хімія. – К.: ВСВ «Медицина», 2012. – 372 с.
4. Токсикологическая химия: Учебник для вузов / Т.В. Плетенева, Е.М. Саломатин, А.В. Сыроежкин и др. – М.: ТЭОТАР-Медиа, 2005. – 512 с.
5. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия - М.: МЕДпресс-информ, 2009 - 400 с.
6. Військова токсикологія, радіологія та медичний захист: Підручник / За ред. Ю.М.Скалецького, І.Р. Мисули - Тернопіль: Укрмедкнига. - 2003 р. – 362 с.

Посібники

1. Болотов В.В., Стадніченко Е.І., Бондар В.С. Посібник до практичних занять з токсикологічної хімії. – Х.: Основа, 1997. – 169 с.
2. Веселовская Н.В., Коваленко А.Е. и др. Наркотики: свойства, действие, фармакокинетика, метаболизм. М.: Триада-Х, 2000. - 204 с.
3. Галькевич І.Й, Кучер М.М., Туркевич О.Д. Токсикологічна хімія. Методичні вказівки до лабораторних занять та контрольних робіт. – Львів: ЛНМУ, 2006. – 128 с.
4. Загальна характеристика токсичних речовин, діагностика і лікування за гострих отруень. / Панасенко О.І., Каплаушенко А.Г., Кучер М.М. та ін. – Запоріжжя: Карат, 2011. – 432 с.

5. Конспект лекций по токсикологической химии. / Кириленко Т.Е., Кривда Г.Ф., Осминкина Л.Н. - Одесса: Астропринт, 2007. – 272 с.
6. Крамаренко В.Ф. Туркевич Б.М. Анализ ядохимикатов. – М.:Химия, 1978. – 264 с.
7. Крамаренко В.Ф. Химико-токсикологический анализ. Практикум. - К: Вища школа, 1982. - 272 с.
8. Кучер М.М., Галькевич І.Й. Газорідинна хроматографія в аналізі ліків та отрут. Том 1. Теоретичні основи методу. – Львів: ЛНМУ, 2011. - 236 с.
9. Токсикологічна хімія в схемах і таблицях: Навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / В.С. Бондар, С.А. Карпушина, О.Г. Погосян та ін. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2005.– 128 с.
10. Токсикологічна хімія: Конспект лекцій / В.С. Бондар, О.О. Маміна, С.А. Карпушина та ін. – Х.: Вид-во НФаУ, Золоті сторінки, 2002. – 160 с.
11. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание: Методические указания. –М.: МЗ СССР, 1989.–104 с.

Допоміжна література (монографії, довідники, книги, збірники праць тощо)

1. Афанасьев В. В. Неотложная токсикология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 384 с.
2. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств. – М.: Литтерра, 2005. – 288 с.
3. Богоявленский В. Ф., Богоявленский И. Ф. Острые отравления. - СПб.: Гиппократ, 1999. — 160 с.
4. Вишневский М. В. Несъедобные, ядовитые и галлюциногенные грибы. Справочник-атлас. – М.: «Формика-С», 2001. — 192 с.
5. Высокоэффективная газовая хроматография: Пер. с англ./ Под ред. К. Хайвера. - М: Мир, 1993. - 288 с.
6. Гадаскина И.Д., Гадаскина Н.Д., Филон В.А. Определение промышленных неорганических ядов в организме.- Л.: Медицина,1975. – 288 с.
7. Гадаскина И.Д., Филон В.А. Определение промышленных органических ядов в организме.- Л.: Медицина,1971. – 304 с.
8. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – М.: Медицина, 1986. – 280 с.
9. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилов Е.М. Теория й практика иммуноферментного анализа. – М.: Высшая школа, 1991. – 288 с.
10. Еремін С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. Анализ наркотических средств. – М.: «Мысль», 1993. – 272 с.
11. Клиническая токсикология детей и подростков. Часть 1. / Под ред. Марковой И.В., Афанасьева В.В., Цыбулькиной Э.К., Неженцевой М.В. - СПб.: Интермедика, 1998. - 304 с.
12. Клиническая токсикология детей и подростков. Часть 2. / Под ред. Марковой И.В., Афанасьева В.В., Цыбулькиной Э.К. - СПб.: Интермедика, 1999. - 400 с.
13. Клисєнко М.А. Александрова Л.Г. Определение остаточных количеств пестицидов.-К. Здоров'я, 1983.- 248 с.
14. Корєнман И.М. Экстракция в анализе органических веществ.- М. :Химия. 1977.- 200 с.
15. Кородецкий А.В. Мухомор-целитель и другие ядовитые лекари. - СПб.: Питер, 2005. – 128 с.
16. Крылова А.Н. Исследование биологического материала на "металлические" яды дробным методом. – М.: Медицина, 1975. – 100 с.
17. Лакин К. М., Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. - М.: Медицина, 1981. - 344 с.
18. Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления.- М.: Медицина, 1983.- 560 с.
19. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: “Медицина”, 2000. – 416 с.
20. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С. Физиогемотерапия острых отравлений.-М.: Медпрактика. 2002.-200 с.
21. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2000. – 444 с.
22. Лужников Е.А., Суходолова Г.Н. Острые отравления у взрослых и детей — М.: Эксмо, 2009. — 560 с.

23. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Новая волна, – 2001. - Т.1, 540 с., - Т.2, 608 с.
24. Мельников Н.Н. Методы анализа пестицидов . – М. Химия, 1967.- 558 с.
25. Методические указания о определении метафоса, метилнитрофоса и метилэтилтиофоса в трупном материале.-М.: МЗ СССР, 1978.
26. Методические указания о применении энзимного экспозиционно-колориметрического способа обнаружения в трупном материале фосфорорганических соединений.-М., 1977.
27. Методические указания о судебно-химическом исследовании биологического материала на наличие фосфамида (рогора)- М.: МЗ СССР.
28. Методические указания о судебно-химическом определении карбофоса в биологическом материале.-М.: МЗ СССР, 1979.
29. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. – Т.1 / М.А. Клисенко А.А. Калинина, К.Ф. Новиков и др. – М.: Колос, 1992. – 567 с.
30. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. – Т.2 / М.А. Клисенко А.А. Калинина, К.Ф. Новиков и др. – М.: Агропромиздат, 1992. – 416 с.
31. Могош Г. Острые отравления. - Бухарест: Мед. изд-во, 1984.- 580 с.
32. Неотложная клиническая токсикология: руководство для врачей. / Под ред. Е. А. Лужникова. - М.: ИД "Медпрактика-М", 2007. - 608 с.
33. Общая токсикология. / Под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова. - М.: Медицина, 2002. - 608 с.
34. Орлов Б.Н., Гелашвили Д.Б., Ибрагимов А.К. Ядовитые животные и растения СССР . —М.: Высшая школа, 1990. —272 с.
35. Острые отравления этанолом и его сурогатами. / Под ред. Ю. Ю. Бонитенко — СПб.: «ЭЛБИ-СПб», 2005. - 224 с.
36. Пестициды и регуляторы роста растений: Справ. Изд. / Н.Н. Мельников, К.В. Новокшилов, С.Р. Белан. – М.: Химия, 1995. – 576 с.
37. Полюдек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. – Л.: Химия, 1981. – 624 с.
38. Потапов А.В. Берегись ядовитых животных. Первая помощь, профилактика. - СПб: Нева, 2004. – 96 с.
39. Руководство по судебно-медицинской экспертизе / Под ред. Р.В. Бережного.- М.- Медицина, 1980.-416 с.
40. Сапрыкин, Л.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография / Под ред. В.В. Болотова; кол. авт. НФаУ.- Х.: Оригинал, 2007.- 226 с.
41. Симонов Е.А., Изотов Б.Н., Фесенко А.В. Наркотики: методы анализа на коже, в ее придатках и выделениях. – М.: «Анахарсис», 2000. – 130 с.
42. Современные проблемы допинг-контроля в спорте. М.:ВНИИФК, 1985. – 232 с.
43. Справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии // Под ред. Чекмана И.С., Пелещука А.П., Пятака С.А. – Киев. – 1988.– 736 с.
44. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. –Л.: Химия, 1988. – с.211-241, 321-323.
45. Таранов А.Г. Диагностические тест-системы (радиоиммунный и иммуноферментный методы диагностики). – М.: Издатель Мокеев, 2002. – 288 с.
46. Теория и практика иммуноферментного анализа / Егоров А.М., Олепов А.П., Дзантиев Б.Б. и др. – М.: Высшая шк., 1991. – 228 с.
47. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. Фармацевтична хімія. – Вінниця. – 2003. – 464 с.
48. Хирц Ж. Аналитические методы исследования метаболизма лекарственных веществ.- М.: Медицина, 1975.- 272 с.
49. Шаршунова М., Шварц Б., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. В 2 ч.- М.: Мир, 1980.- 624 с.
50. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях.- М.: Мир, 1965.- 508 с.
51. Cazes J., Scott R.P.W. Chromatography Theory. - Avon, Connecticut: CRC Press, 2002. - 496 p.
52. Clark`s isolation and identification of drugs. – London: The Pharmaceutical Press, 1986. – 1224 p.
53. Handbook of Toxicology. 2 ed. / Edited by Derelanko M.J., Hollinger_M.A. - N.W.: CRC Press

LLC, 2002 – 1380 p.

54. Lars Hagel, Günter Jagschies, Gail K. Sofer. Handbook of Process Chromatography, Second Edition: Development, Manufacturing, Validation and Economics. - Academic Press, 2007. – 384 p.

55. Poisoning and Drug Overdose. Fifth Edition / Edited by Kent R. Olson. - San Francisco: The McGraw-Hill Companies, 2007. – 1132 p.

56. Randall C. Baselt. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. – California, Foster City; Chemical Toxicology Institute, 2000. – 920 p.

57. Robert I. Grob, Eugene f. Barry. Modern practice of gas chromatography. Fourth edition. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. – P. 1048.

58. Scott R.P.W. Liquid Chromatography column theory. - New York: John Wiley & Sons, 2002. - 212 p.

