

**Міністерство освіти і науки України
Запорізький національний університет**

О.А. Бражко, В.І. Генчева

ТОКСИКОЛОГІЧНА ХІМІЯ

**Методичні вказівки до лабораторних занять
для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»**

**Затверджено
вченою радою ЗНУ
Протокол № 4 від 27.11.2024 р.**

**Запоріжжя
2024**

УДК:001.891:54(075.8)

K673

Бражко О.А., Генчева В.І. Токсикологічна хімія : методичні вказівки до лабораторних робіт для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія». Запоріжжя : ЗНУ, 2024. 62 с.

У методичних вказівках у систематизованому вигляді подано програмний матеріал дисципліни «Токсикологічна хімія». Зміст лабораторних занять включає навчальні завдання та стислі теоретичні відомості. Така структура заняття сприяє ефективному виконанню навчальних завдань, усвідомленому застосуванню теоретичних знань на практиці. Схематичні зображення основних положень навчальної дисципліни дозволяють візуалізувати навчальний матеріал.

У навчально-методичному виданні викладено прийоми систематичного підходу до вирішення проблем, які виникають при організації хіміко-токсикологічних досліджень.

Запропоновані запитання до кожного лабораторного заняття дозволять здобувачам освіти здійснювати самоконтроль за ступенем засвоєння теоретичного матеріалу і рівнем формування практичних навичок з навчальної дисципліни.

Призначені для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія». Буде корисним у ході підготовки та виконання кваліфікаційних робіт, організації наукової роботи молодими вченими.

Рецензент

М.М. Корнет, кандидат біологічних наук, доцент кафедри хімії

Відповідальний за випуск

Л.О. Омелянчик, доктор фармацевтичних наук, професор, професор кафедри хімії

ЗМІСТ

Передмова.....	4
ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ У ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ	5
ТЕМА 1: ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ.....	8
Лабораторна робота №1.....	8
ТЕМА 2: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДИСТИЛЯЦІЄЮ З ВОДЯНОЮ ПАРОЮ (ЛЕТКІ ОТРУТИ).....	12
Лабораторна робота №2.....	12
Лабораторна робота №3.....	17
ТЕМА 3: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ (МЕТАЛІЧНІ ОТРУТИ).....	20
Лабораторна робота №4.....	20
Лабораторна робота №5.....	28
Лабораторна робота №6.....	37
ТЕМА 4: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЕКСТРАКЦІЄЮ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ОТРУТОХІМІКАТИ).....	40
Лабораторна робота №7.....	40
ТЕМА 5: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ПІДКИСЛЕНОЮ ВОДОЮ АБО ПІДКИСЛЕНИМ СПИРТОМ.....	48
Лабораторна робота №8.....	48
Лабораторна робота №9.....	50
Лабораторна робота №10.....	54
ДОДАТКИ	58
ЛІТЕРАТУРА.....	60

Передмова

Методичний посібник призначений для полегшення підготовки студентів біологічного факультету спеціальності «Хімія» до лабораторних занять з курсу “Токсикологічна хімія”. Після передмови представлені правила техніки безпеки при роботі в хімічній лабораторії, з якими зобов’язаний ознайомитись кожен студент. Методичний посібник складено за наступною схемою: 1. Перелік дослідів, рекомендованих для виконання (досліди, які будуть виконуватись вказує викладач). 2. Питання які виносяться на колоквіум. Виконані роботи, у яких мова йде про виявлення токсичних речовин зручно оформляти у вигляді таблиці на розвороті зошита (роботи № 2,4,5,7):

№ досліду Методика проведення досліду Хімізм процесу Спостереження

До всіх дослідів записують рівняння реакцій. Інші роботи оформляють за схемою:

1. Назва роботи.
2. Короткі теоретичні відомості.
3. Методика виконання (коротко записують послідовність проведення досліду, креслять схему установки, тощо).
4. Результати дослідів і їх обробка (подають у формі таблиць, розрахунків та графіків). Якщо після виконання роботи необхідно написати акт хімікотоксикологічного дослідження, то після оформлення роботи оформляють «Акт...». Приклад акту хіміко-токсикологічного дослідження наведено в додатках.

ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ У ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

1. Забороняється працювати одному в лабораторії, оскільки в разі нещастя нікому подати допомогу потерпілому і ліквідувати наслідки нещасного випадку.

2. Кожний працюючий повинен знати, де знаходяться в лабораторії засоби протипожежного захисту (ящик з просіяним піском та совком для нього, протипожежна ковдра, заряджений вогнегасник) та аптечка, яка містить все необхідне для надання першої допомоги (розчини KMnO_4 , H_3BO_3 , NaHCO_3 і діюду I_2 , спирт, вата, бинти, пластир, мазь від опіків).

3. Під час роботи в лабораторії слід дотримуватися правил техніки безпеки.

4. Не можна починати роботу, поки не засвоїш всієї техніки її виконання.

5. Категорично забороняється брати речовини руками і пробувати їх на смак. Нюхати речовини можна, лише обережно направляючи на себе гази чи пару легкими рухами рук. Не можна нахилятися над посудом і вдихати на повні груди.

6. Всі досліди виконують лише в чистому посуді. Після кожного експерименту посуд зразу ж необхідно помити.

7. Під час роботи необхідно дотримуватись чистоти, охайності. Слідкувати, щоб речовини не потрапляли на руки і обличчя, тому щодеякі з них (кислоти, луги та ін.) викликають. руйнування шкіри і слизових оболонок.

8. Економно витрачати реактиви, дистильовану воду, електроенергію і газ. Після закінчення роботи необхідно виключити воду і електроенергію.

9. Категорично забороняється в лабораторії їсти, пити воду, курити.

Правила роботи з небезпечними, легкозаймистими і токсичними речовинами.

1. Всі роботи з небезпечними і токсичними речовинами (приклад: дибром, органічні розчинники (приклад: хлороформ, ацетон, бензол, толуол), нітроген діоксид (NO_2), тощо) необхідно проводити лише у витяжній шафі, причому дверці шафи повинні бути опушеними на 1/2, і в гумових рукавичках.

2. Досліди з легкозаймистими, вогнєбезпечними, рідинами (приклад: ефір, ацетон, бензол чи інші органічні розчинники), пов'язані з нагріванням, необхідно проводити на попередньо нагрітій водяній бані з вимкнутим пальником. При роботі завжди треба мати поблизу листовий азбест і пісок.

3. Якщо розлили вогнєбезпечну речовину, необхідно виключити всі пальники, засипати піском розливу речовину, потім обережно все зібрати і викинути у спеціально відведену тару.

4. Необхідно вміти користуватися вогнегасником, який є в лабораторії аналітичної хімії.

5. При загоранні одяжі треба накинути на потерпілого азбестові листи, які повинні лежати постійно в лабораторії.

Робота з отруйними речовинами

1. Всі роботи з отруйними і їдкими речовинами необхідно проводити у витяжній шафі з опущеними на 1/3 дверцятами шафи.
2. Прилад у витяжній шафі не розбирають, до тих пір, поки з шафи не буде витіснений весь газ чи пара речовини.
3. Подрібнення їдких лугів, калій перманганату тощо необхідно проводити у витяжній шафі з опущеними дверцятами шафи на 2/3 і в гумових рукавичках.
4. При розчиненні концентрованої сульфатної кислоти у воді, при приготуванні хромової суміші, при змішуванні сильних кислот (приклад: нітратної і сульфатної кислот, нітратної з хлоридною слід користуватися тільки тонкостінним посудом.
5. Гарячі рідини не можна вливати у товстостінний посуд.
6. Не можна виливати у раковини залишки кислот, лугів і вогнебезпечних речовин. Ці рідини зливають у спеціальні склянки, які знаходяться у витяжній шафі.

Перша допомога при опіках та отруєннях

1. При порізі рук склом необхідно, насамперед, видалити пінцетом шматочки скла з рани. Потім змастити рану спиртовим розчином йоду, прикрити шматочком марлі і вати, накласти пов'язку. Якщо кровотеча відразу не припиняється, то слід докласти шматочок кровоспинної вати. Її можна приготувати в лабораторії, змочити вату 10% -им розчином ферум хлориду або 3%-им розчином перекису водню. При сильній кровотечі, яка виникла при пораненні більш великих кровоносних судин, треба тимчасово перетягнути руку еластичним джгутом з гумової трубки, відправити хворого в травматологічний пункт.
2. При незначних теплових опіках шкіру необхідно обробити примочками з етанолу або водним розчином KMnO_4 з масовою часткою речовини 5%.
3. При "хімічних опіках" їдкими речовинами (кислотами чи лугами) необхідно промити уражене місце великою кількістю водопровідної води, а тоді водним розчином NaHCO_3 , з масовою часткою речовини 3% (розведеним розчином CH_3COOH), після чого знову промити великою кількістю води. Аналогічним способом запобігають пошкодженню одягу та взуття, коли на них попадають кислота або луг. При потраплянні хімічних речовин в очі, їх необхідно промити великою кількістю води, потім розведеним розчином борної кислоти H_3BO_3 , і негайно звернутися до лікаря.
4. При вдиханні парів брому треба глибоко подихати над етанолом, а тоді випити молоко і вийти на свіже повітря.
5. Не можна пробувати на смак і нюхати отруйні і взагалі невідомі речовини.
6. При випадковому потраплянні реактивів всередину рекомендується випити якомога більше води. Потім необхідно: а) при отруєнні лугами випити розчин ацетатної, етанової або лимонної кислоти з масовою часткою розчиненої речовини 2%; б) при отруєнні кислотами випити стакан розчину натрій гідроген карбонату з масовою часткою розчиненої речовини 2%.

7. При будь-якому отруєнні необхідно створити більший приток свіжого повітря або винести потерпілого на свіже повітря.

8. При опіках гарячими органічними розчинниками необхідно промити обпечене місце, найчастіше етиловим спиртом, потім водою.

Обладнання і техніка лабораторних робіт

1. Місце на лабораторному столі, за яким працює студент у лабораторії аналітичної хімії, закріплюється за ним на весь час його роботи. Це робоче місце студента, за збереження якого він відповідає.

2. На робочому місці не повинно бути сторонніх речей, які не мають відношення до виконання завдань.

3. Кожен студент повинен виконувати всі досліди тільки на своєму робочому місці.

4. **Реактиви відбирають** піпеткою і переносять, не торкаючись кінчиком піпетки до стінок пробірки чи іншого посуду, в якому проводять реакцію. Для роботи набирають у піпетку небагаторозчину, оскільки невикористану частину розчину реактиву не можна зливати назад у склянку з реактивом. Склянки з реактивами повинні знаходитися на постійних місцях, виймати їх з ящика чи переносити зі столу на інший, брати будь-який посуд, прилади і т.п. з чужого робочого місця категорично забороняється.

5. Перш, ніж залишити лабораторію, кожен студент повинен прибрати своє робоче місце, закрити водопровідні крани та вимкнути електрику біля свого місця роботи.

У лабораторії забороняється:

1. Працювати на несправному устаткуванні.
2. Лишати працюючі прилади без догляду.
3. Їсти їжу в лабораторіях, пити з хімічного посуду.
4. Відмірювати концентровані кислоти і луги, втягуючи їх ротом у піпетку.
5. Зберігати летючі й легкозаймисті речовини поблизу джерел тепла, відкритого вогню, працюючих приладів.
6. Ставити в термостат легкозаймисті речовини.
7. Торкатися голими руками до проводів заземленого устаткування, що може бути під напругою.

ТЕМА 1. ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

Лабораторна робота № 1

ПОПЕРЕДНІ ПРОБИ

Визначення реакції середовища. Рекомендується оволодіти методикою визначення реакції середовища з різними кислотами (мінеральні та органічні) і різними їх розведеннями. Наприклад, сульфатна, хлоридна і оцтова кислоти в концентраціях 10, 1, 0.1% і т.і. Для визначення реакції середовища невелику кількість (2-3 г) подрібненого твердого об'єкту змішують в пробірці з невеликою кількістю дистильованої води (нейтральної реакції по лакмусу). В 2 порцелянові чашки або на 2 порцелянові пластинки поміщують поряд (але без зіткнення один з одним) по 2 лакмусові папірці – червоний і синій. Частини водної витяжки з об'єкту за допомогою оплавленої скляної палички наносять на обидва лакмусові папірці. На два інші лежачі поряд папірці (червоний і синій) наносять краплі дистильованої води (контроль). По зміні забарвлення лакмусу судять про реакцію середовища. При кислій реакції об'єкту на лакмус, для складання плану хіміко-токсикологічного дослідження, необхідно визначити реакцію середовища ще і по червоному папірцю конго. Позитивний результат випробування по папірцю конго (зміна кольору на синій) орієнтує хіміка-експерта на дослідження в першу чергу на наявність в об'єкті мінеральних або органічних кислот, введених в об'єкт дослідження ззовні, тобто тих, які не є природною складовою частиною об'єкту. З метою уточнення характеру кислоти досліджувану водну витяжку розбавляють дистильованою водою в 5, 10 і більше разів, і розбавлений розчин знову наносять на папірець конго. За наявності мінеральних кислот папірець конго повинен посиніти, у присутності органічних кислот індикаторний папірець кольору після розбавлення не змінює. При лужній реакції об'єкту на лакмус для попереднього дослідження на наявність їдких лугів або карбонатів (а також розчинних силікатів) проробляють наступну реакцію: невелику кількість (1-2 мл) водної витяжки з об'єкту дослідження поміщують у пробірку, з скла якої вода не витягує лугів (тверде скло). Додають до рідини 1-2 краплі спиртового розчину фенолфталеїну (1:1000) – спостерігається рожеве або червоне забарвлення, обумовлене іонами OH^- . До забарвленої рідини додають надлишок 10% розчину барій хлориду або нітрату і збовтують. За наявності в досліджуваній рідині їдких лугів забарвлення фенолфталеїну не зникає. У разі наявності в досліджуваній рідині карбонатів і розчинних силікатів забарвлення фенолфталеїну від дії барію хлориду зникає (чому?). Частину досліджуваної рідини, після обробки її надлишком розчину барій хлориду, наносять на червоний лакмусовий папірець. Якщо посинівший при цій операції папірець через деякий час на повітрі знову приймає попередній колір (рожевіє), то це свідчить про присутність амоній гідроокису (амоніаку). Для попереднього випробування на наявність амоніаку і гідрогенсульфіду (гниття) виконують такі операції: частину об'єкту дослідження лужної реакції на лакмус поміщують у маленьку конічну колбу. Отвір колби закривають корковою пробкою, до нижньої поверхні якої прикріплені 2, іноді 3 папірці: а) вологий червоний лакмусовий папірець; б)

папірець, змочений розчином плюмбум ацетату; в) папірець, змочений розчином купрум сульфату. При розкладанні біологічного матеріалу (одночасне утворення амоніаку і гідрогенсульфіду), червоний лакмусовий і «мідний» (змочений розчином купрум сульфату) папірці синіють, «свинцевий» папірець (змочений розчином плюмбум ацетату) буріє або темніє (за рахунок наявності гідрогенсульфіду). За наявності в біологічному матеріалі амоніаку, коли гнильні процеси ще не почалися, червоний лакмусовий, а також «мідний» папірці синіють, причому на повітрі посинілий лакмусовий папірець з часом знову червоніє. «Свинцевий» папірець залишається незабарвленим.

Попереднє дослідження «фарфоровидних» крупинок. Знайдені при огляді об'єкту (наприклад, шлунок з вмістом) білі «фарфоровидні» крупинки (мають вигляд розбитої на дрібні шматочки 9 порцеляни) піддають попередньому дослідженню таким чином: досліджувану крупинку (1) поміщують в тугоплавку тонку, витягнуту з одного боку і запаяну трубку. На деякій відстані від випробовуваної крупинки на початку розширеної частини трубки поміщують шматочок вугілля (2). Спочатку вугілля, а потім і досліджувану крупинку обережно, при постійному обертанні трубки, нагрівають. Нагрівання особливо, зручно проводити на мікропальнику. Якщо «фарфоровидні» крупинки по своєму хімічному складу є «білим миш'яком» – As_2O_3 , тоді на охолоджуваній частині трубки (3), вище досліджуваної крупинки, з'являється сіро-чорне блискуче кільце металічного миш'яку. Після охолодження трубки запаяний бік її відламують, вугілля обережно видаляють, а сіро-чорне блискуче кільце обережно, тримаючи трубку високо над полум'ям пальника під кутом в 45° , нагрівають. При цьому кільце переходить до вільного кінця трубки, даючи білий наліт миш'яковистого ангідриду. При розгляді під мікроскопом білого нальоту (прямо в трубці при малому збільшенні) видні характерні блискучі кристали миш'яковистого ангідриду у вигляді октаєдрів. Іноді можна спостерігати лише окремі грані кристалів у вигляді тетраєдрів.

Попередня проба (Рейнша) на арсен. 20-25 г твердого об'єкту дослідження змішують з 50 мл 18% хлоридної кислоти (що не містить вільного хлору) і поміщують в невелику (100 мл) колбу. Туди ж поміщують кілька мідних спіралей або мідну пластинку. 10 Колбу нагрівають спочатку на азбестовій сітці протягом 30 хвилин, а потім також на протязі 30 хвилин на киплячій водяній бані. При достатньому вмісті арсену мідь покривається сірим нальотом. Спіралі або мідну пластинку (незалежно від того, потемніли вони чи ні) виймають з колби, промивають водою, етиловим спиртом і діетиловим етером. Після видалення ефіру спіралі по черзі поміщують у вузьку пробірку і обережно нагрівають. Вище місця, нагрівання, на відстані 2-3 см від дна пробірки, проводять охолодження шматочком фільтрувального паперу або вати, змоченими водою. За наявності в об'єкті дослідження арсену на холодних частинах пробірки з'являється у вигляді кільця білий наліт.

Попередня проба (Рейнша) на меркурій. 20-25 г твердого досліджуваного матеріалу змішують з концентрованою хлоридною кислотою, що не містить вільного хлору і меркурію, і поміщують у колбу. Туди ж поміщують кілька мідних спіралей або мідну пластинку. Колбу залишають стояти при кімнатній температурі протягом доби. Наступного дня спіралі виймають, промивають водою, етиловим спиртом і діетиловим етером і переносять у вузьку пробірку,

що містить дуже маленьку кількість кристалів йоду. Пробірку обережно при постійному обертанні нагрівають на мікропальнику. Вище місця, нагрівання, на відстані 2-3 см, проводять охолодження пробірки шматочком фільтрувального паперу або ватним гнітом, змоченим водою. За наявності ртуті на мідній спіралі (зовні спіралі іноді не змінюються в кольорі) ртуть возгоняється у вигляді йодиду і осідає на холодних частинах пробірки у вигляді червоного нальоту.

Питання до теми «ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ».

1. Предмет і завдання токсикологічної хімії.
2. Токсикологічна хімія, її зміст, завдання.
3. Галузі застосування методів хіміко-токсикологічного аналізу.
4. Етапи становлення та розвитку токсикологічної хімії.
5. Організація судово-токсикологічної експертизи в Україні.
6. Судово-токсикологічні і хіміко-токсикологічні лабораторії, їх завдання, організація роботи, правові основи діяльності.
7. Порядок виконання і документація судово-токсикологічних (хімікотоксикологічних) експертиз.
8. Складання плану хіміко-токсикологічного аналізу.
9. Попередні випробування (скринінгові дослідження) у хімікотоксикологічному аналізі та їх роль у складанні плану хімікотоксикологічного аналізу.
10. Методика визначення реакції середовища.
11. Попередні дослідження на амоніак та гідрогенсульфід.
12. Попереднє дослідження «фарфоровидних» крупинок 13. Попередня проба (Рейнша) на арсен 11.
14. Попередня проба (Рейнша) на ртуть.
15. Загальні принципи класифікації отрут: за хімічною будовою, метою застосування (виробничим призначенням), за ступенем токсичності (гігієнічна), видом токсичної дії (токсикологічна), вибірковою токсичністю, за способами виділення з об'єктів біологічного походження.
16. Класифікація отруєнь за причиною виникнення (випадкові, навмисні), за умовами (місцем) розвитку (побутові, виробничі, медичні).
17. Поділ навмисних отруєнь на кримінальні і суїцидальні. Класифікація отруєнь за клінічним принципом (гострі, хронічні, підгострі отруєння); за шляхами проникнення в організм; нозологічна класифікація.
18. Наркоманія, токсикоманія і залежність від лікарських препаратів.
19. Шляхи проникнення отрут в організм, транспортні механізми всмоктування і взаємозв'язок з їх фізичними і хімічними властивостями.
20. Вплив природи, концентрації та шляху всмоктування отрути на динаміку зростання її концентрації у крові і розподіл в органах.
21. Метаболізм (біотрансформація) отрут. Перша і друга фази метаболізму. Летальний синтез.
22. Реакції конюгації
23. Залежність токсикокінези отрут від видової чутливості, віку, статі, присутності інших ксенобіотиків та інших факторів.

24. Вплив процесів метаболізму на результати хіміко-токсикологічних досліджень біологічних рідин і тканин.

25. Використання знань токсикокінетики та основних токсикокінетичних констант для інтерпретації результатів аналізу.

26. Об'єкти хіміко-токсикологічного дослідження (внутрішні органи, тканини, кров, лімфа, сеча, діалізати, промивні води та ін.) їх характеристика, засоби консервування.

27. Гниття біологічного матеріалу і основні реакції вторинного метаболізму.

28. Перетворення отрут при розкладанні трупів.

29. Правила відбору, направлення і прийому об'єктів на судово-хімічну експертизу та зберігання проб.

30. Методи детоксикації. Антидоти, антидотна терапія.

ТЕМА 2. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДИСТИЛЯЦІЄЮ З ВОДЯНОЮ ПАРОЮ (ЛЕТКІ ОТРУТИ)

Лабораторна робота № 2

ВИЯВЛЕННЯ РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ ДИСТИЛЯЦІЇ З ВОДЯНОЮ ПАРОЮ.

Проведення перегонки (дистиляції).

Біологічний матеріал подрібнюють, поміщують в колбу для перегонки, додають воду до утворення густої кашоподібної суміші (суміш повинна займати не більше 1/3 об'єму колби). Колбу із вмістом ставлять на холодну водяну баню. Вміст колби підкислюють 10 % розчином шавлевої або винної кислоти до рН 2-3, швидко з'єднують з апаратом для перегонки і нагрівають водяну баню. Першу фракцію дистиляту (3 мл) збирають у колбу з 2 мл 5 % розчину натрію гідроксиду, при цьому алонж холодильника повинен бути зануреним у розчин. Після цього відганяють дві наступні фракції (по 25 мл). Першу фракцію досліджують на наявність синильної кислоти, другу фракцію - на хлорвмісні вуглеводні, спирти та інші «леткі» отрути. При необхідності продовження дослідження – залишки другої фракції дистиляту об'єднують із третьою фракцією дистиляту і піддають дефлегмації. Дослідження дефлегмату на наявність «летких» отрут проводять хімічним методом та методом газохроматографічного аналізу. Схему апарату для перегонки з водяною парою наведено на Рис.

Рис. Апарат для перегонки з водяною парою 1 – пароутворювач, 2 – колба для перегонки, 3 – холодильник, 4 – приймач, 5 – водяна баня

Виявлення синильної кислоти

Реакція утворення берлінської блакиті. До декількох мілілітрів дистиляту, зібраного в розчин лугу, додають 1-4 краплі розбавленого розчину ферум (II) сульфату і такий же об'єм розбавленого розчину ферум (III) хлориду. Суміш добре збовтують і нагрівають на полум'ї газового пальника майже до кипіння, а потім охолоджують до кімнатної температури і додають 10 % розчин хлоридної кислоти до слабокислої реакції на лакмус. Поява синього осаду або синього забарвлення вказує на наявність синильної кислоти (ціанідів) у дистиляті.

Реакція утворення ферум (III) роданіду. До 2-3 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель 10-20 % розчину амоній полісульфіду і суміш випаровують на водяній бані до невеликого об'єму. До випареної рідини по краплях додають 8 % розчин хлоридної кислоти до кислої реакції (по лакмусу), а потім додають 1 краплю 10 % розчину ферум (III) хлориду. Поява криваво-червоного забарвлення вказує на наявність ціанідів у розчині. При збовтуванні забарвленого розчину з діетиловим етером забарвлення переходить в етерний шар.

Виявлення формальдегіду

Реакція з хромотроповою кислотою. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину, 0,2 мл 1 % розчину хромотропової кислоти в концентрованій сульфатній кислоті, а потім додають 5 мл концентрованої сульфатної кислоти і збовтують. Поява фіолетового або червоно-фіолетового забарвлення вказує на наявність формальдегіду в досліджуваному розчині. Не дають цієї реакції альдегіди оцтової, пропіонової і масляної кислот та ін. Цю реакцію дають речовини, які при гідролізі, дегідратації або окисненні утворюють формальдегід.

Реакція з фуксинсірчистою кислотою. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину і 2-3 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки збовтують і охолоджують проточною водою. Потім додають 1 мл розчину фуксинсірчистої кислоти. Поява синьо-фіолетового або червоно-фіолетового забарвлення вказує на наявність формальдегіду. Розчин іноді забарвлюється не відразу, а через 10-15 хв. Забарвлення може з'являтися не тільки під впливом формальдегіду, але і під впливом окиснювачів (хлор, нітроген оксиди, кисень повітря та ін.). Тому поява забарвлення через 30 хв після додавання реактивів не повинна розглядатися як позитивний результат реакції на формальдегід. Ця реакція не специфічна для виявлення формальдегіду. Її дають ацетальдегід, нітробензальдегід і ін.

Реакція «срібного дзеркала». В добре очищену від жиру пробірку вносять 5 крапель 1 % розчину аргентум нітрату і по краплях додають 10% 14 розчин амоніаку до розчинення осаду аргентум гідроксиду (оксиду), що утворився. До отриманого розчину додають 1 мл досліджуваного розчину, а потім суміш обережно нагрівають на полум'ї пальника. За наявності формальдегіду відбувається реакція утворення «срібного дзеркала». Ця реакція успішно протікає при рН = 8...9. Нагрівання пробірки треба проводити рівномірно. При високій температурі «срібне дзеркало» не утворюється, а випадає сірий осад срібла. Окрім формальдегіду цю реакцію дають і деякі інші відновники.

Реакція з резорцином. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину і 1 мл 1 % розчину резорцину в 10 % розчині натрій гідроксиду. Суміш нагрівають протягом 3-5 хв на водяній бані. Поява рожевого або малинового забарвлення вказує на наявність формальдегіду. Цю реакцію дають оцтовий альдегід, акролеїн, фурфурол і ін.

Виявлення етилового спирту.

Реакція утворення йодоформу. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину і 2 мл 5 % розчину натрій гідроксиду або натрій карбонату. До цієї суміші по краплям додають 1 % розчин йоду в 2 % розчині калій йодиду до появи слабо-жовтого забарвлення. Потім суміш декілька хвилин нагрівають на водяній бані (50 °C). За наявності етилового спирту відчувається запах йодоформу. При відносно великих кількостях етилового спирту в пробі утворюються кристали йодоформу, що мають форму шестикутників і зірочок. Ця реакція не специфічна на етиловий спирт. Її дають ацетон, молочна кислота і ін.

Реакція утворення етилового естеру оцтової кислоти. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину і 0.1 г сухого натрій ацетату, потім

обережно по краплях додають 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Суміш нагрівають на спиртівці (краще на парафіновій бані) до початку виділення газу. Поява специфічного запаху етилового естеру оцтової кислоти вказує на наявність етилового спирту в досліджуваному розчині. Запах оцтово-етилового естеру більш виразно відчувається, якщо вміст пробірки вилити в 20-25-кратний об'єм води.

Реакція утворення етилбензоату. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1-2 краплі бензоїлхлориду. При частому збовтуванні суміші до неї додають по краплях 10 % розчин натрій гідроксиду до зникнення задушливого запаху бензоїлхлориду. Поява запаху етилбензоату вказує на наявність етилового спирту в пробі. Цей запах краще відчувається після нанесення декількох крапель реакційної суміші на шматочок фільтрувального паперу. Реакції заважає метиловий спирт, оскільки запах етилбензоату ідентичний запаху метилбензоату. Розпізнаванню запаху етилбензоату заважає надлишок бензоїлхлориду, що має неприємний запах.

Реакція утворення ацетальдегіду. До 1 мл досліджуваного розчину додають 10 % розчин сульфатної кислоти до отримання кислого середовища (по лакмусу). До цієї суміші по краплях додають 10%-й розчин калій біхромату до тих пір, поки рідина не стане оранжево-червоною. Суміш залишають на декілька хвилин при кімнатній температурі. За наявності етилового спирту в досліджуваному розчині з'являється запах ацетальдегіду. Реакція утворення оцтової кислоти знижує чутливість реакції виявлення ацетальдегіду, тому його виявляють безпосередньо після змішування реактивів. Ацетальдегід, що утворюється при окисненні етилового спирту, можна виявити за допомогою реакції з натрій нітропрусидом і морфоліном. Для цього 2-3 краплі розчину, наносять на краплинну пластинку або на фільтрувальний папір і додають краплю реактиву (суміш рівних об'ємів 20 % водного розчину морфоліну і 5 % водного розчину натрій нітропрусиду). За наявності ацетальдегіду в розчині з'являється синє забарвлення.

Виявлення ацетону

Реакція утворення йодоформу. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1 мл 10 % розчину амоніаку і декілька крапель розчину йоду в калій йодиді. У присутності ацетону утворюється жовтий осад йодоформу з характерним запахом, а його кристали мають характерну форму. Цю реакцію дає і етиловий спирт.

Реакція з натрій нітропрусидом. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1 мл 10 % розчину натрій гідроксиду і 5 крапель 1 % свіжоприготованого розчину натрій нітропрусиду. За наявності ацетону в пробі з'являється червоне або оранжево-червоне забарвлення. При додаванні 10 %-го розчину оцтової кислоти до кислої реакції через декілька хвилин забарвлення переходить в червоно-фіолетове або вишнево-червоне. Таке ж забарвлення з натрій нітропрусидом дає метилетилкетон. Деякі альдегіди і кетони утворюють з натрій нітропрусидом забарвлені сполуки, але інших кольорів.

Реакція з о-нітробензальдегідом. В пробірку вносять 3-5 крапель досліджуваного розчину і краплю насиченого розчину о-нітробензальдегіду в 2 н розчині натрій гідроксиду. Суміш злегка 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 набуває синього кольору. Цю реакцію дають і деякі інші альдегіди і кетони. 16

Виявлення фенолу

Реакція з бромною водою. До 0.5-1.0 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель бромної води. При наявності фенолу випадає жовтобілий осад трибромфенолу. Цю реакцію дають також крезолі, анілін та деякі інші ароматичні аміни.

Індифенолова реакція. До 0.5-1.0 мл досліджуваного розчину додають 1 краплю аніліну і 2 мл розчину натрій гіпохлориту. Поява темнофіолетового забарвлення вказує на наявність фенолу в пробі. Після додавання амоніаку з'являється стійке синє забарвлення. Індифенолову реакцію дають феноли, що мають вільне орто- чи пароположення, крезолі та інші сполуки, що містять фенольну групу.

Реакція з ферум (III) хлоридом. 1-2 краплі досліджуваного розчину поміщують на порцелянову пластинку або в маленьку порцелянову чашку і додають 1-2 краплі свіжоприготованого 5 % розчину ферум (III) хлориду. За наявності фенолу з'являється фіолетове або синьо-фіолетове забарвлення, зникаюче при додаванні ізопропілового спирту і кислот. З ферум (III) хлоридом дають забарвлення крезолі, оксихінолін і ряд інших речовин, що містять фенольні групи.

Виявлення хлороформу

Лужний гідроліз. В пробірку вносять 1-2 мл досліджуваного розчину і 1 мл 10% спиртового розчину натрій гідроксиду. Пробірку обережно нагрівають на полум'ї 3-5 хвилин. Після охолодження розчину його підкислюють 10% розчином нітратної кислоти до кислої реакції на лакмус і додають 0.5 мл 1 % розчину аргентум нітрату. Поява білого розчинного в амоніаку осаду вказує на наявність хлороформу в досліджуваному розчині. Ця реакція не специфічна. Її дають хлоральгідрат, чотирихлористий карбон, дихлоретан і ін.

Реакція Фуджівара. До 2-3 мл досліджуваного розчину додають 2 мл свіжоприготованого піридину і 2 мл 10 % розчину натрій гідроксиду. Суміш нагрівають на водяній бані протягом 2-3 хвилин. За наявності хлороформу в досліджуваному розчині з'являється червоне забарвлення. Ця реакція не специфічна. Її дають хлоральгідрат, чотирихлористий карбон, дихлоретан і ін.

Реакція з резорцином. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину і 1 мл 10 % свіжоприготованого розчину резорцину в 10% розчині натрій гідроксиду. Після нагрівання пробірки на киплячій водяній бані протягом 5-10 хв з'являється рожеве або малинове забарвлення. Паралельно виконують «холостий дослід». Цю реакцію окрім хлороформу дають хлоральгідрат, чотирихлористий карбон і ін. Не дає цієї реакції дихлоретан.

Реакція з реактивом Фелінга. В пробірку вносять 2 мл досліджуваного розчину, 2 мл 10 % розчину натрій гідроксиду і 5 крапель реактиву Фелінга, а потім нагрівають на водяній бані. За наявності хлороформу в досліджуваному розчині випадає жовтий осад, що змінює забарвлення на червоне. Окрім хлороформу цю реакцію дають хлоральгідрат, формальдегід, оцтовий альдегід.

Не дають цієї реакції 1, 2-дихлоретан, чотирихлористий карбон і ін. Виявлення хлоральгідрату

Реакція з реактивом Несслера. До декількох крапель досліджуваного розчину додають 2-3 краплі реактиву Несслера і збовтують рідину. За наявності хлоральгідрату в досліджуваному розчині утворюється цегляночервоний (коричневий) осад, який з часом стає сіро-зеленим. Цю реакцію не дають хлороформ, чотирихлористий карбон, дихлоретан і хлористий етилен. З реактивом Несслера дають реакцію альдегіди і деякі інші відновники.

Виявлення чотирихлористого карбону

Реакція з 2,7-діоксинафталіном. Краплю досліджуваної рідини вносять в пробірку, додають 2 мл циклогексанолу, крупинку натрій гідроксиду і декілька кристалів 2,7-діоксинафталіну. Суміш нагрівають до кипіння і продовжують нагрівання протягом 1 хв. Потім розчин зливають з натрій гідроксиду, що не розчинився, охолоджують, додають до нього 2 мл льодяної оцтової кислоти і 4 мл етилового спирту, а потім збовтують. За наявності чотирихлористого карбону в досліджуваній рідині з'являється світло-буре забарвлення, яке переходить в зелено-жовте. Хлороформ з 2,7-діоксинафталіном дає темно-червоне забарвлення.

Виявлення 1,2-дихлоретану

Реакція утворення етиленгліколю і виявлення його після переведення у формальдегід. В ампулу місткістю 1 мл вносять 0.5 мл дистиляту і 0.5 мл 10% розчину натрій карбонату. Ампулу запаюють і протягом 1-2 годин нагрівають в киплячій воді. Після цього ампулу виймають з киплячої води, охолоджують, розкривають і вміст переносять в пробірку. До цієї рідини по краплях додають 10 % розчин сульфатної кислоти до кислої реакції на лакмус, а потім додають 2 краплі 5 % розчину калій перйодату в 1 н розчині сульфатної кислоти. Через 5 хвилин наявність формальдегіду визначають за допомогою реакцій описаних вище. Не дають ці реакції хлороформ, хлоральгідрат, чотирихлористий карбон, 1,1-дихлоретан. Для розрізнення 1,2-дихлоретану від хлороформу, хлоральгідрата і чотирихлористого карбону можуть бути використані реакції з резорцином і реактивом Фелінга. Цих реакцій не дає 1,2-дихлоретан.

Виявлення оцтової кислоти

Реакція з ферум (III) хлоридом. До 2-3мл досліджуваного розчину додають 1 краплю свіжо приготованого 5 % розчину ферум (III) хлориду. Поява червоного забарвлення вказує на наявність ацетат-іонів у розчині. При нагріванні забарвленого розчину, проходить гідроліз в результаті якого випадає бурий осад.

Реакція утворення індиго. Частину дистиляту вносять в пробірку і випарюють досуха. До сухого залишку додають суміш, що складається з рівних кількостей оксиду та кальцій карбонату. Отвір пробірки накривають фільтрувальним папером змоченим насиченим свіжоприготованим розчином о-нітробензальдегіду у 5 % розчині натрій гідроксиду. Пробірку нагрівають. При наявності ацетат-іонів на фільтрувальному папері з'являється синя пляма.

Реакція утворення етилового естеру оцтової кислоти. У пробірку вносять 3-5 мл дистиляту і випарюють досуха. До сухого залишку додають 1 мл етилового спирту і 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Суміш обережно нагрівають. Поява специфічного запаху етилового естеру оцтової кислоти свідчить про наявність ацетат-іонів у дистиляті.

Виявлення етиленгліколю

Реакція окиснення етиленгліколю перйодатом і виявлення формальдегіду, що утворився. До 3-5 мл дистиляту додають 5 крапель 12 %-го розчину сульфатної кислоти, 5 крапель 5 %-го розчину калій перйодату в 5 %-м розчині сульфатної кислоти і збовтують. Через 5 хвилин додають 3-5 крапель сульфїтної кислоти (для зв'язування надлишку перйодату). Формальдегїд виявляють, як описано вище.

Реакція окиснення етиленгліколю кислотою і виявлення щавлевої кислоти. При багатократному випаровуванні етиленгліколю з нітратною кислотою утворюється щавлева кислота, яка з солями кальцію утворює кристали кальцій оксалату, що мають характерну форму. Ці кристали, у ряді випадків, з'являються тільки через 2-3 доби.

Реакція з купрум сульфатом. До 2-3 мл досліджуваного розчину додають 1-2 мл 10 %-го розчину натрій гідроксиду і декілька крапель 10 %-го розчину купрум сульфату. Поява синього забарвлення вказує на наявність етиленгліколю в розчині.

Лабораторна робота № 3

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЕТИЛОВОГО СПИРТУ

Кількісне визначення етилового спирту є обов'язковим при його якісному виявленні в досліджуваному матеріалі. Залежно від характеру досліджуваного матеріалу, його кількостей і інших обставин хімік-експерт вибирає метод кількісного визначення спирту. Існує багато методів кількісного визначення етилового спирту: етилнітритний, метод Відмарка, хроматографічний і фотометричний метод. При проведенні кількісного визначення етилового спирту беруть 100- 200 г об'єкту (як правило кров, іноді сечу).

1) *Етилнітритний метод* базується на переведенні етилового спирту в складний естер етилнітрит, з наступним його омиленням і в подальшому визначенні нітритної кислоти – одного з продуктів омилення. Для утворення етилнітриту на спирт діють калій нітритом у присутності трихлороцтової кислоти. Етилнітрит екстрагують хлороформом і додають до екстракту розчину сульфанілову та винну кислоти. Етилнітрит при цьому омилюється і утворюється сіль діазонію. Шар органічного розчинника видаляють, а до водного розчину діазотованої сульфанілової кислоти додають 10 мл солянокислого розчину α -нафтиламіну. Після струшування – утворюється осад або забарвлений розчин внаслідок утворення азобарвника: Кількісному визначенню етилового спирту даним методом передуює підготовка: багатократна перегонка з натрій хлоридом.

2) *Визначення етилового спирту мікро методом Відмарка в модифікації Шоймоша.* Метод був розроблений для визначення етанолу в крові живих осіб.

Отримані цим методом результати кількісного визначення можуть мати тільки відносне значення. Принцип мікрометоду полягає в тому, що в колбі певної конструкції спирт з певної наважки крові відганяють шляхом сухоповітряної дистиляції і поглинають певною кількістю суміші калій біхромату з концентрованою сульфатною кислотою. Спирт вступає в реакцію з калій біхроматом і окиснюється до оцтової кислоти, а калій біхромат відновлюється. Виходячи з кількості калій біхромату, взятого до аналізу і що залишився незмінним після реакції із спиртом, обчислюють кількість його, що пішла на окиснення поглиненого з крові спирту. Як і етилнітритний метод, метод Відмарка - Шоймоша неспецифічний.

3) *Одним з найкращих методів є метод газо-рідинної хроматографії.* Визначення етилового спирту цим методом є специфічним, порівняно точним – чутливість методу складає 0,01 %, об'єктивним і доказовим. Газо-рідинна хроматографія дозволяє розділити спирти – метиловий, етиловий, пропіловий, бутиловий та ізоаміловий один від одного у присутності інших летких речовин, дати виділеним спиртам якісну і кількісну характеристику. Даний метод полягає в переведенні спиртів в алкілнітриди чи інші сполуки (іноді без переведення), які потім піддають розділенню на хроматографічній колонці. Розділені на компоненти суміші спиртів по черзі поступають на детектор по теплопровідності – катарометр, сигнали якого реєструються у вигляді ряду хроматографічних піків. В основі детектування лежить вимірювання відмінностей в теплопровідності чистого газу-носія, і суміші аналізованої речовини з газом-носієм, що входить в детектор з колонки. Якісною характеристикою є час утримування, а кількісною – висота (площа, напівширина) піку. Визначення етилового спирту (в крові і сечі) фотометричним методом Визначення засновано на прискореній ізотермічній дифузії етилового спирту з об'єкту дослідження під дією калій карбонату і окиснення його калій біхроматом в кислому середовищі з подальшим фотометруванням отриманого розчину. Для якісного виявлення етилового спирту в досліджуваній пробі використовують три реактиви: розчин калій біхромату в сульфатній кислоті, водний розчин калій перманганату і розчин метанітробензальдегіду в сульфатній кислоті. При відсутності змін при взаємодії досліджуваного розчину з зазначеними розчинами у порівнянні з «холостим дослідом», фотометричне визначення не проводять.

Приготування розчинів

Розчин калій біхромату: у мірну колбу ємністю 500 мл кількісно переносять 3.3700 г перекристалізованого калій біхромату і розчиняють в 150 мл дистильованої води. Потім невеликими порціями при постійному перемішуванні додають 280 мл концентрованої сульфатної кислоти. Після охолодження розчин доводять дистильованою водою до мітки.

Приготування еталонних розчинів етилового спирту: для приготування еталонних розчинів використовують 1 % розчин етилового спирту (13.1 мл 95.9% (об'ємних) етилового спирту поміщують в мірну колбу на 1 л і доводять дистильованою водою до мітки). Для приготування еталонного розчину, що містить, 0.4 % етилового спирту, 2 мл 1 % розчину поміщують в мірну колбу на 50 мл і доводять дистильованою водою до мітки; для приготування еталонного

розчину із змістом 2 % етилового спирту необхідно узяти 10 мл початкового розчину, для 4 % – 20 мл і провести вказане вище розбавлення. Фотометричне визначення етилового спирту проводять за допомогою фотокалориметра чи спектрофотометра, що працює у видимій області спектру. Визначення проводять в межах довжин хвиль 436-465 нм з світлофільтрами № 8 і 7. Для фотометрування використовують скляні кювети товщиною 1-5 мм. Дослідження починають з фотометрування розчину калій біхромату в контрольній пробі по відношенню до початкового розчину калій біхромату. Потім фотометрують розчин калій біхромату, що вступив в реакцію з етиловим спиртом еталонних розчинів по зростаючій концентрації (0.4 %; 2 %; 4 %). У всіх випадках проводять три вимірювання. По отриманим цифровим даним будують калібрувальний графік і розраховують концентрації спирту в досліджуваних зразках.

Питання до теми «ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДИСТИЛЯЦІЄЮ З ВОДЯНОЮ ПАРОЮ»

1. Дистиляція з водяною парою, сухоповітряна відгонка. Апаратурне оформлення.
2. Вплив рН на перегонку з водяною парою.
3. Поняття про азеотропні суміші.
4. Синильна кислота.
5. Формальдегід.
6. Метиловий спирт.
7. Етиловий спирт.
8. Ацетон.
9. Фенол.
10. Хлороформ.
11. Чотирихлористий карбон.
12. Хлоральгідрат.
13. Дихлоретан.
14. Оцтова кислота.
15. Етиленгліколь.
16. Реакції, що дозволяють розрізнити хлорпохідні даної групи у суміші.
17. Кількісне визначення етилового спирту.
18. Екстракція, кількісні показники екстракції. Вплив різних факторів на екстракцію. Екстракція амфотерних сполук.
19. Мікрокристалоскопічний аналіз.
20. Метод мікродифузії.
21. Суть фотометричного методу аналізу та методу атомно-абсорбційної спектроскопії (ААС).
22. Метод ТІХ. Якісні та кількісні характеристики.
23. Метод ГРХ.
24. Імуноферментні методи.
25. Дистиляція з водяною парою, сухоповітряна відгонка. Апаратурне оформлення.

ТЕМА 3 ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ (МЕТАЛІЧНІ ОТРУТИ)

Лабораторна робота № 4. МІНЕРАЛІЗАЦІЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ. ВИЯВЛЕННЯ У МІНЕРАЛІЗАТІ «МЕТАЛІЧНИХ ОТРУТ» (ПЛЮМБУМ, БАРІЙ, МАНГАН, ХРОМ, АРГЕНТУМ, КУПРУМ, ЦИНК).

Мінералізація біологічного матеріалу сумішшю нітратної і сульфатної кислот.

Руйнування біологічного матеріалу сумішшю нітратної і сульфатної кислот є основним методом, що застосовується в хіміко-токсикологічних лабораторіях нашої країни. На початку мінералізації концентрована сульфатна кислота відіграє водовіднімаючу роль. Завдяки водовіднімаючій дії концентрована сульфатна кислота порушує структуру клітин і тканин біологічного матеріалу. При підвищенні температури (понад 110 °C) і концентрації (до 60-70 %) сульфатної кислоти вона проявляє окиснювальні властивості з виділенням сульфур (IV) оксиду. Нітратна кислота, що входить до складу суміші з сульфатною кислотою, на початку мінералізації є слабшим окиснювачем. Через певний проміжок часу частина нітратної кислоти при окисненні біологічного матеріалу перетворюється на оксиди нітрогену і нітритну кислоту, які є автокаталізаторами інтенсивного процесу окиснення органічних речовин нітратною кислотою. З утворенням оксидів нітрогену і нітритної кислоти, а також при підвищенні температури, нітратна кислота виявляє сильні окиснювальні властивості. При нагріванні біологічного матеріалу з сумішшю нітратної і сульфатної кислот відбувається не тільки руйнування органічних речовин цими кислотами, а й деякі побічні реакції, наприклад реакції сульфонування і нітрування органічних сполук. Нітрування і сульфонування зазнають в основному фенільні групи амінокислот, які утворюються під час гідролізу білкових речовин кислотами. Нітрування і сульфонування органічних речовин при руйнуванні біологічного матеріалу сумішшю нітратної і сульфатної кислот є небажаним, оскільки нітро- і сульфосполуки важко руйнуються цією сумішшю. При розбавленні сульфатної і нітратної кислот водою нітрування і сульфонування органічних сполук цими кислотами послаблюється. Тому для руйнування органічних речовин використовують не концентровані, а частково розбавлені сульфатну і нітратну кислоти. У процесі руйнування біологічного матеріалу утворюються певні кількості оксидів нітрогену, нітритної та нітрозилсульфатної кислот, які заважають виявленню деяких катіонів у мінералізатах. Руйнування біологічного матеріалу сумішшю сульфатної і нітратної кислот відбувається в 2 етапи. На першому етапі відбувається деструкція (порушення структури) біологічного матеріалу. Цей етап триває 30-40 хв. Після деструкції залишається прозора жовтувато-бура рідина, яку називають деструктатом. У деструктаті залишаються незруйнованими значна кількість молекул білків та продуктів їх гідролізу (пептидів, амінокислот тощо). На другому етапі мінералізації, який більш тривалий в часі порівняно з першим, майже повністю руйнуються білкові речовини. Для остаточного руйнування органічних речовин до нагрітого

мінералізату краплями додають концентровану нітратну кислоту. Отже, швидкість і повнота руйнування біологічного матеріалу цим методом залежить від кількості нітратної і сульфатної кислот. При додаванні великої кількості нітратної кислоти утворюється значна кількість нітритної кислоти і оксидів нітрогену, які в процесі руйнування біологічного матеріалу виділяються з колби, що може бути небезпечним при недостатній тязі. При недостатній кількості нітратної кислоти сульфатна кислота обвуглює біологічний матеріал. Про це свідчать почорніння мінералізату і виділення з колби значної кількості газів, з якими можуть потрапляти в повітря сполуки арсену та ртуті, якщо ці елементи були присутні в досліджуваному об'єкті. Руйнування біологічного матеріалу сульфатною і нітратною кислотами вважається закінченим тоді, коли після припинення додавання краплями концентрованої нітратної кислоти (при нагріванні колби) виділятиметься біла пара сульфатної кислоти і не спостерігатиметься потемніння рідини. Після проведення мінералізації обов'язково проводять денітрацію. Денітрація – це процес звільнення мінералізатів від залишків нітратної кислоти, а також оксидів нітрогену, нітритної кислоти, нітрозилсульфатної кислоти.

Проведення мінералізації

100 г біологічного матеріалу, подрібнюють, поміщують в колбу К'єльдаля на 500 мл і заливають 75 мл суміші, яка складається з однакових об'ємів концентрованих нітратної, сульфатної кислот та дистильованої води. На слабкому вогні проводять деструкцію біологічного матеріалу, яка триває 30-40 хв. При цьому утворюється прозорий розчин жовтого або бурого кольору. Потім на сильному вогні та з періодичним додаванням розчину нітратної кислоти проводять повну мінералізацію біоматеріалу. Мінералізація вважається закінченою тоді, коли при нагріванні (без додавання нітратної кислоти) під час виділення над рідиною білої пари сульфатної кислоти, а мінералізатор перестане темніти. Після закінчення мінералізації до охолодженого мінералізату додають 10-15 мл води, нагрівають до кипіння і з метою проведення денітрації обережно краплями додають формалін. Для перевірки повноти денітрації краплю мінералізату наносять на фарфорову пластинку і додають краплю розчину дифеніламіну у концентрованій сульфатній кислоті. При появі синього забарвлення проведення денітрації слід продовжити. Після повної денітрації надлишок формаліну усувають нагріванням рідини протягом 5-10 хв. Об'єм мінералізату доводять водою до 180-200 мл. Метод руйнування органічних речовин нітратною і сульфатною кислотами, є непридатний для ізолювання ртуті з біологічного матеріалу, оскільки значна його кількість втрачається.

Дослідження мінералізату дробним методом

При наявності в досліджуваному біологічному матеріалі іонів свинцю і барію – у мінералізаті спостерігається білий осад (свинець і барій сульфати). Білий осад відділяють від рідини центрифугуванням (або фільтруванням).

1) **Дослідження осаду.** Мінералізатор 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 порцелянову 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 амоній ацетату. Вміст порцелянової чашки перемішують, нагрівають, одержаний розчин зливають і досліджують на наявність катіонів плюмбуму: •з натрій родизонатом; •з дитізоном, •з калій йодидом; •з калій хроматом; •з купрум ацетатом і натрій нітритом. При виявленні іонів плюмбуму, осад на фільтрі промивають гарячим розчином амоній ацетату для повного розчинення плюмбум сульфату. Якщо після повного відмивання осаду від плюмбум сульфату (реакції виявлення плюмбуму в останніх краплях фільтрату дають негативний результат) ще залишається осад (барій сульфат), то його переводять в у барій карбонат. Для цього барій сульфат багаторазово кип'ятять з новими порціями натрій карбонату. Утворений барій карбонат розчиняють у 4 мл 10 % розчину оцтової кислоти і проводять реакції виявлення барію: •з натрій родизонатом; •з калій перманганатом; •з калій біхроматом.

2) **Дослідження фільтрату (центрифугату).** Мінераліза́т досліджують на наявність забарвлення. При наявності іонів купруму мінераліза́т може набувати блакитного забарвлення, а при наявності іонів хрому – зелено-фіалкового.

Проведення хімічних реакцій. Рідку частину мінералізату (центрифугат або фільтрат) досліджують на наявність «металічних» отрут за допомогою таких реакцій : а) на іони мангану – з калій перйодатом і з амоній персульфатом; б) на іони хрому – з дифенілкарбазидом та реакція утворення надхромової кислоти; в) на іони аргентуму – з дитізоном, з хлоридами, з калій йодидом, тіосечовиною і калій пікратом; г) на іони купруму – з плюмбум діетилдитіокарбаматом (для ізолювання з мінералізату), з дитізоном, з амоній тетрароданомеркуратором, з калій гексаціанофератом (II), з піридин-роданідним реактивом; д) на іони цинку – з діетилдитіокарбаматом натрію (для ізолювання з мінералізату), з дитізоном, з тетрароданомеркуріатом амонію, з гексаціанофератом (II) калію, з сульфідом натрію чи амонію. е) на іони бісмуту – з тіосечовиною і 8-оксихіноліном; ізолювання іонів бісмуту за допомогою натрій діетилдитіокарбамату і наступного виявлення з бруцином і калій бромідом, з цезій хлоридом і калій йодидом; є) на іони талію – з дитізоном, з малахітовим зеленим; ж) на іони стибію – з малахітовим зеленим, з натрій тіосульфатом; з) на іони арсену – реакції Зангер-Блека і Марша, реакція з розчином аргентум діетилдитіокарбамату в піридині.

Систематичний хід аналізу мінералізату.

При наявності в досліджуваному біологічному матеріалі іонів плюмбуму і барію – у мінераліза́ті спостерігається білий осад. Білий осад відділяють від рідини центрифугуванням (або фільтруванням).

1) **Дослідження осаду.** Дослідження осаду при систематичному ході аналізу проводиться аналогічно як у дробному методі (див. вище).

2) **Дослідження фільтрату (центрифугату).** Мінераліза́т досліджують на наявність забарвлення. При наявності іонів купруму мінераліза́т може набувати голубого забарвлення, а при наявності іонів хрому – зелено-фіолетового.

Проведення хімічних реакцій. Рідку частину мінералізату (центрифугат або фільтрат) досліджують на наявність «металічних» отрут в такій послідовності:

1. Частину мінералізату (по 1 мл) досліджують на іони мангану (з калій перйодатом і з амоній персульфатом).

2. Частину мінералізату (по 1мл) досліджують на іони хрому (з дифенілкарбазидом та реакцією утворення надхромової кислоти).

3. До 5 мл додають хлороформний розчин дитізону з метою утворення аргентум дитізонату. При позитивному результаті до 90 мл рідкої частини мінералізату (фільтрату) додають хлориди до повного осадження аргентум хлориду і досліджують окремо осад (на аргентум) і фільтрат (на решту катіонів).

•Осад аргентум хлориду розчиняють в амоній гідроксиді і проводять реакції з калій йодидом, тіосечовиною і калій пікратом.

•При відсутності катіонів аргентуму продовжують досліджувати частини мінералізату (попередній фільтрат без додавання хлоридів) на інші катіони. Всі інші «металічні» отрути досліджують у фільтраті, одержаному після відділення аргентум хлориду (або у першому мінералізаті – при відсутності аргентуму.)

4. Досліджують 10 мл фільтрату (мінералізату) на катіон купруму. Для цього його екстрагують у вигляді діетилдитіокарбамату. Купрум діетилдитіокарбамат розкладають меркурій (II) хлоридом. При цьому іони купруму переходять у водну фазу. У водній фазі проводять реакції виявлення купруму: з дитізоном, з амоній тетрароданомеркуріатом, з калій гексаціанофератом (II), з піридин-роданідним реактивом.

5. Частину мінералізату (по 1 мл) досліджують на стибій (з малахітовим зеленим, з натрій тіосульфатом).

6. По 2 мл мінералізату використовують для виявлення арсену (реакції Зангер-Блека і Марша, реакція з розчином аргентум діетилдитіокарбамату в піридині).

7. З двома порціями мінералізату (10 і 5 мл) проводять реакції виявлення бісмуту (з 8-оксихіноліном і тіосечовиною). При позитивному результаті цих реакцій бісмут екстрагують із мінералізату у вигляді діетилдитіокарбамату (при $pH = 14$), або відновлюють до металічного. Після реекстракції бісмуту нітратною кислотою – проводять додаткові реакції з тіосечовиною, з бруцином і калій бромідом, з цезій хлоридом і калій йодидом.

8. 0.5 мл мінералізату досліджують попередньою реакцією з дитізоном ($pH = 8.5$). При відсутності забарвлення шару органічного розчинника – подальшого дослідження цинку не проводять. При наявності забарвлення – цинк екстрагують із 10 мл мінералізату у вигляді діетилдитіокарбамату, реекстрагують (1 н хлоридною кислотою) у водну витяжку і проводять реакції на цинк (з амоній тетрароданомеркуріатом, з калій гексаціанофератом (II) з натрій чи амоній сульфідом).

9. Дві порції мінералізату (по 5 мл) досліджують (використовуючи маскуючі реагенти – лимонну кислоту, тіосечовину) на талій: реакції з дитізоном і з малахітовим зеленим.

Виявлення плюмбуму

Реакція з натрій родизонатом. На фільтрувальний папір наносять краплю досліджуваного розчину, додають краплю 0.2% свіжо приготовленого розчину натрій родизонату. При наявності іонів плумбуму в розчині з'являється синя пляма або кільце. При додаванні до плями буферного розчину ($\text{pH} = 2.8$) вона набуває яскраво-червоного забарвлення. Крім іонів плумбуму натрій родизонат дає забарвлення з катіонами інших металів (барій, стронцій, талій, аргентум, кадмій, станум (II) та деяких інших), проте в умовах хіміко-токсикологічного аналізу ці катіони не заважають виявленню плумбуму із зазначеним реактивом.

Реакція з калій йодидом. В пробірку вносять 0.5 мл досліджуваного розчину і декілька крапель 5% розчину калій йодиду. За наявності іонів плумбуму випадає жовтий осад PbI_2 , який розчиняється при нагріванні і знов з'являється у вигляді жовтих пластинок при охолодженні розчину. При виконанні цієї реакції слід уникати надлишку реактиву, в якому розчиняється плумбум йодид і утворюється $\text{K}_2[\text{PbI}_4]$.

Реакція з калій хроматом. До 0.5 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель 5% розчину калій хромату. Утворення оранжево-жовтого осаду плумбум хромату вказує на наявність іонів плумбуму в розчині. Реакція з сірководневою водою. До 0.5 мл досліджуваного розчину додають 3-5 крапель свіжоприготованої сірководневої води. Поява чорного осаду плумбум сульфід (або муті) вказує на наявність іонів плумбуму в розчині.

Реакція з сульфатною кислотою. 0.5 мл досліджуваного розчину вносять в пробірку і додають 5 крапель 10 % розчину сульфатної кислоти. Поява білого осаду вказує на наявність іонів плумбуму в розчині.

Реакція з цезій хлоридом і калій йодидом. На предметне скло наносять 4-5 крапель водної фази, яку випаровують на невеликому полум'ї. На сухий залишок наносять 2-3 краплі 30 % розчину оцтової кислоти. З одного краю рідини поміщують 2-3 кристали цезій хлориду, а з протилежного – декілька кристалів калій йодиду. За наявності іонів плумбуму утворюються жовтозелені голчаті кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Реакція з купрум ацетатом і калій нітритом. На предметне скло наносять декілька крапель водної фази, яку на невеликому полум'ї випаровують насухо. На сухий залишок наносять 1-2 краплі 1 % розчину купрум ацетату і випаровують насухо. До сухого залишку додають 2-3 краплі 30 % розчину оцтової кислоти, а потім на край рідини вносять декілька 29 кристалів калій нітриту. Утворення чорних або коричневих кристалів, що мають форму куба, вказує на наявність іонів плумбуму у водній фазі.

Виявлення барію

Реакція з калій хроматом. До 3-5 крапель досліджуваного розчину додають 4 краплі 5 % розчину калій дихромату. Суміш цих розчинів перемішують, а потім краплями додають 2 М розчин натрій ацетату доти, доки оранжевий колір рідини над осадом не зміниться на жовтий. При наявності іонів барію випадає жовтий осад. Ця реакція дає змогу не лише виявити іони барію, а й відокремити їх від іонів стронцію. Оцтова кислота, що утворилася не розчиняє осад барій хромату. Іони стронцію не заважають цій реакції, оскільки осад стронцій хромату розчиняється в мінеральних і оцтовій кислотах.

Реакція з сульфатною кислотою. 0.5 мл досліджувані розчини вносять в пробірку і додають 5 крапель 10 % розчину сульфатної кислоти. Поява білого осаду вказує на наявність іонів барію в розчині.

Реакція з натрій родизонатом. На фільтрувальний папір наносять краплю нейтрального або злегка кислого розчину аналізованої речовини і додають краплю 0.2 % водного розчину натрій родизонату. При цьому на папері з'являється інтенсивна пляма червонувато-коричневого кольору. Від додавання краплі розбавленої хлоридної кислоти пляма барій родизонату набуває яскраво-червоного забарвлення, а червонувато-коричнева пляма стронцій родизонату зникає.

Виявлення мангану

Реакція з калій періодатом. У пробірку вносять 1 мл мінералізату, 4 мл води, 1 мл насиченого розчину натрій дигідрофосфату і 0.2 г калій періодату. Після нагрівання пробірки на киплячій водянній бані протягом 20 хв при наявності іонів мангану в мінералізаті розчин забарвлюється в червоно-фіолетовий або рожевий колір.

Реакція з амоній персульфатом. У пробірку вносять 1 мл мінералізату, 4 мл води, 1 мл насиченого розчину натрій дигідрофосфату. Суміш нагрівають на киплячому водяному нагрівнику протягом 5-6 хв. До гарячого розчину додають 1 краплю 10 % розчину аргентум нітрату і 0.5 г амоній персульфату. Суміш знову нагрівають протягом кількох хвилин (до розкладання надлишку персульфату). При наявності іонів мангану в мінералізаті з'являється червоно-фіолетове або рожеве забарвлення.

Виявлення хрому

Реакція утворення надхромової кислоти. У пробірку вносять 5 мл мінералізату і краплями додають 30% розчин натрій гідроксиду до $\text{pH} = 7$. Суміш струшують, вносять у пробірку 1-2 краплі 10% розчину аргентум нітрату, 0.5 г амоній персульфату і нагрівають на киплячій водянній бані протягом 20 хв. Потім пробірку з вмістом охолоджують у крижаній воді протягом 10-15 хв. До охолодженої рідини додають 1 мл насиченого розчину натрій дигідрофосфату і перевіряють pH середовища. При необхідності рідину доводять до $\text{pH} = 1.5-1.7$. 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 гідроген пероксиду. Вміст пробірки енергійно струшують. При наявності іонів хрому в мінералізаті шар органічного розчинника забарвлюється в блакитний або синій колір.

Реакція з дифенілкарбазидом. У пробірку вносять 1 мл мінералізату, до якого додають 4 мл води, 1 краплю 10 % розчину аргентум нітрату і 0.5 г амоній персульфату. Пробірку з сумішшю нагрівають на киплячій водянній бані протягом 20 хвилин, потім вносять 1 мл насиченого розчину натрій дигідрофосфату і краплями додають 5 % розчин хлоридної кислоти до $\text{pH} = 1.5-1.7$. По досягненні pH розчину до рідини додають 1 мл 0.25 % розчину дифенілкарбазиду в суміші етилового спирту і ацетону (1:1) і вміст пробірки струшують. При наявності іонів хрому в мінералізаті розчин набуває рожевого або червоно-фіолетового забарвлення.

Виявлення хромат-іонів при наявності перманганат-іонів. В заглиблення на краплинній пластинці вносять краплю досліджуваного розчину, додають краплю концентрованої сульфатної кислоти і кілька кристаликів натрій азиду. Суміш перемішують скляною паличкою до зникнення забарвлення перманганат-іонів. Потім додають краплю 1 % спиртового розчину дифенілкарбазиду. При наявності хроматів з'являється синьо-фіолетове або червоне забарвлення.

Виявлення аргентуму

Реакція з дитізоном. В ділительну лійку вносять 5 мл мінералізату, 1 мл 8 н розчину сульфатної кислоти і 3 мл 0.01 % розчину дитізону в хлороформі або в чотирхлористому карбоні. Після струшування вмісту ділительної лійки хлороформний шар набуває жовтого забарвлення. Якщо в мінералізаті міститься незначна кількість іонів аргентуму, то жовте забарвлення маскується зеленим забарвленням надлишку дитізону. Щоб видалити надлишок дитізону з хлороформного шару, цей шар відділяють від водної фази і збовтують з 5 мл 0.3 н розчину амоніаку. При цьому амонієва сіль дитізону переходить у водну фазу, а хлороформний шар, що містить 31 аргентум дитізонат, має жовте забарвлення. Потім від водної фази відділяють хлороформний шар, який збовтують з 5 мл 0,5 н розчину хлоридної кислоти. При цьому аргентум дитізонат розкладається. Дитізон, що вивільнився залишається в хлороформному шарі, забарвлюючи його в зелений колір (відмінність від меркурію). При позитивному результаті реакції з дитізоном проводять подальше виявлення аргентуму за допомогою інших якісних реакцій.

Реакція з натрій хлоридом. До 100 мл мінералізату додають 0.5 г натрій хлориду і цю суміш добре збовтують. Якщо в мінералізаті містяться іони аргентуму, то утворюється білий осад AgCl . За наявності в мінералізаті незначної кількості іонів аргентуму білий осад може не з'явитися. Незалежно від появи осаду суміш мінералізату і натрій хлориду нагрівають до 80 °C і залишають на 2 год. Якщо і за цей час не утворюється осад, то вказану суміш залишають на добу. Після цього осад аргентум хлориду, що утворився, фільтрують. Отриманий при цьому фільтрат використовують для виявлення катіонів інших металів, що мають токсикологічне значення. Осад аргентум хлориду, що знаходиться на фільтрі промивають 0.5 н. розчином хлоридної кислоти, а потім дистильованою водою. Після цього осад розчиняють в 0.5-4 мл 8 н розчину амоніаку (не допускаючи його надлишку). Отриманий при цьому амоніакат $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ використовують для виявлення іонів аргентуму за допомогою інших реакцій.

Реакція з нітратною кислотою. До 0.1-0.5 мл розчину, що містить аргентум амоніакат, додають нітратну кислоту до $\text{pH}=1$. Утворення білого осаду вказує на наявність іонів аргентуму у розчині.

Реакція з калій йодидом. До 0.5 мл розчину, що містить аргентум амоніакат, додають 0.5 мл насиченого розчину калій йодиду. Поява муті або жовтого осаду AgI вказує на наявність аргентуму в досліджуваному розчині. Осад розчинний в ціанідах та тіосульфатах.

Реакція з тіосечовиною і калій пікратом. 1-2 краплі розчину, що містить, аргентум амоніакат, наносять на предметне скло і випаровують насухо. На

сухий залишок наносять декілька крапель насиченого розчину тіосечовини, а потім – краплю насиченого розчину калій пікрату. Утворення жовтих призматичних кристалів або зростків з них вказує на наявність аргентуму в досліджуваній пробі.

Сполуки купруму

Виділення іонів купруму з мінералізату. У ділильну лійку поміщують 10 мл мінералізату, додають 2-3 краплі індикатору (безбарвний 0.1 % спиртовий розчин 2,4-динітрофенолу), а потім невеликими порціями – 25 % розчин амоніаку (до $pH=3$) до зміни забарвлення індикатора на жовте, потім 32 додають 5 мл хлороформного розчину плюмбум діетилдитіокарбамату і струшують. При цьому хлороформний шар забарвлюється в жовтий або коричневий колір. Хлороформний шар відокремлюють від водної фази і переносять його в іншу ділильну лійку, куди додають 6 М розчин хлоридної кислоти (для руйнування надлишку плюмбум діетилдитіокарбамату), струшують і відокремлюють водну фазу. До хлороформного шару краплями додають 1 % розчин меркурій (II) хлориду і струшують. Розчин меркурій (II) хлориду додають краплями і струшують доти, доки не настане повне знебарвлення хлороформного шару. Потім у ділильну лійку (не відділяючи хлороформний шар) вносять 1.5-2.0 мл води й інтенсивно струшують. Через 2-3 хвилини хлороформний шар відокремлюють від водної фази, яку досліджують на наявність іонів купруму.

Реакція з амоній тетрароданомеркуратором. До 0.5 мл водної фази додають кілька крапель 5 % розчину цинк сульфату і кілька крапель розчину амоній тетрароданомеркуратору. При наявності іонів купруму випадає рожевобузковий або фіолетовий осад.

Реакція з калій гексаціанофератом (II). До 0.5 мл водної фази додають 2 краплі 5 % розчину калій гексаціаноферату (II). При наявності іонів купруму випадає червоно-бурий осад.

Реакція з піридин-роданідним реактивом. У пробірку вносять 0.5 мл водної фази, до якої краплями додають 1-2 мл піридин-роданідного реактиву. При цьому утворюється осад (або каламуть), до якого додають 2 мл хлороформу, і суміш струшують. При наявності іонів купруму хлороформний шар забарвлюється в смарагдово-зелений колір.

Виявлення цинку

Реакція з дитізоном. До 0.5 мл мінералізату додають 0.25 мл насиченого розчину натрій тіосульфату, а потім краплями додають 5 % розчин калій гідроксиду до $pH=4,5...5,0$. До цієї суміші додають 1 мл ацетатного буферного розчину ($pH=5$). Рідину добре перемішують і кількісно переносять у ділильну лійку, в яку додають 1 мл хлороформу, 2 краплі 0.01 % розчину дитізону в хлороформі, потім вміст ділильної лійки добре струшують. Якщо в мінералізаті є іони цинку, то зелене забарвлення хлороформного шару, характерне розчинам дитізону, зникає, а з'являється рожеве або пурпурово-червоне забарвлення (залежно від кількості іонів цинку), характерне для цинк дитізонату. При малих кількостях іонів цинку в мінералізаті і великому надлишку дитізону зміна зеленого забарвлення хлороформного шару на пурпуровочервоне може не

відбутися, оскільки забарвлення цинк дитізонату маскуватиметься забарвленням вільного дитізону. Тому хлороформний шар необхідно відокремити у другу ділильну лійку, додати 5 мл 0.3 М розчину 33 амоніаку і добре струсити. При цьому дитізон перетвориться на амонійну сіль, яка перейде у водну фазу, а в хлороформній фазі залишиться цинк дитізонат, який має рожеве або пурпурово-червоне забарвлення.

Виділення іонів цинку з мінералізату. У ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, додають 4 мл 10 % розчину сегнетової солі, 4 мл 10 % розчину лимонної кислоти і 1 мл насиченого розчину натрій тіосульфату. До цієї суміші додають кілька крапель індикатору (0.1 % розчин нільського голубого), а потім краплями – 2.5 М розчин натрій гідроксиду до появи рожевого забарвлення. У ділильну лійку додають 1 М розчин сульфатної кислоти до pH=8.5 (за універсальним індикатором), 3 мл 1 % розчину натрій діетилдитіокарбамату в суміші вода:етиловий спирт (3:1) і 5 мл хлороформу. Вміст ділильної лійки інтенсивно струшують і переносять хлороформний шар в іншу ділильну лійку. До хлороформної витяжки додають 10 мл води і струшують. Потім відокремлюють водну фазу. До хлороформної фази у ділильну лійку додають 3 мл 1 М розчину хлоридної кислоти. Збирають водну фазу, яку використовують для виявлення в ній іонів цинку за допомогою наведених нижче реакцій.

Реакція з калій гексаціанофератом (II). До 1 мл водної фази додають краплями 5 % розчин калій гідроксиду до pH=5, а потім – 3 краплі 5 % розчину калій гексаціаноферату (II). При наявності іонів цинку випадає білий осад. При надлишку реактиву може утворюватись більш розчинний осад $Zn_2[Fe(CN)_6]$.

Реакція з натрій сульфідом. До 1 мл водної фази краплями додають 5 % розчин натрій гідроксиду до pH=5, потім додають 3-4 краплі 5 % свіжоприготованого розчину натрій сульфиду. Утворення білого осаду свідчить про наявність іонів цинку в розчині.

Реакція з амоній тетрароданомеркуратом. На предметне скло наносять 3 краплі водної фази і випарюють досуха. На сухий залишок наносять краплю 10 % розчину оцтової кислоти і краплю розчину амоній тетрароданомеркурату. При наявності іонів цинку утворюються поодинокі клиновидні кристали або дендрити білого кольору.

Лабораторна робота № 5. ВИЯВЛЕННЯ У МІНЕРАЛІЗАТІ «МЕТАЛІЧНИХ ОТРУТ» (БІСМУТ, ТАЛІЙ,СТИБІЙ, АРСЕН, МЕРКУРІЙ).

Сполуки бісмуту

Реакція з тіосечовиною. В пробірку вносять 5 мл мінералізату і додають 3-5 мл насиченого водного розчину тіосечовини. За наявності іонів бісмуту розчин набуває лимонно-жовтого забарвлення.

Реакція з 8-оксихіноліном. В пробірку вносять 10 мл мінералізату, додають по 0.5 г аскорбінової кислоти, сегнетової солі і калій йодиду. При цьому з'являється інтенсивно-жовте забарвлення (утворюється йодбісмутат), яке не повинно переходити в синє від додавання краплі розчину крохмалю. При появі синього забарвлення до суміші реагуючих речовин по краплях додають 10 % розчин натрій тіосульфату до зникнення цього забарвлення. Після цього по

стінках пробірки до суміші, що має жовте забарвлення, обережно додають 1-2 мл 2 % розчину 8-оксіхіноліну в 2 н хлоридній кислоті. На межі зіткнення розчинів через 1-2 хв з'являється оранжевожовтий осад оксин йодвібсмутату. Якщо в досліджуваній пробі міститься незначна кількість іонів бісмуту, то вказаний осад може з'явитися тільки через 30-60 хв. Тому, не чекаючи утворення осаду, вміст пробірки переносять в ділильну лійку, в яку додають 3 мл суміші рівних об'ємів ацетону і амілацетату. Ділильну лійку збовтують. За наявності іонів бісмуту в мінералізаті шар органічних розчинників (ацетон-амілацетат) набуває оранжево-рожеве забарвлення. Описані вище реакції на бісмут з тіосечовиною та 8-оксіхіноліном є попередніми. Негативний результат цих реакцій вказує на відсутність іонів бісмуту в мінералізаті. При позитивному результаті вказаних вище реакцій проводять подальше дослідження мінералізату на наявність іонів бісмуту. З цією метою іони бісмуту виділяють з мінералізату у вигляді комплексу з натрій діетилдитіокарбаматом. Цей комплекс екстрагують хлороформом, а потім розкладають нітратною кислотою.

Виділення іонів бісмуту з мінералізату. В ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, 0.1 г комплексону III і декілька крапель 0.1 % спиртового розчину нільського голубого, що є індикатором. До цієї суміші додають 3 н розчин натрій гідроксиду до $\text{pH} = 12$ (до переходу синього забарвлення індикатору в рожеве). Після доведення вмісту ділильної лійки до необхідного pH до рідини ще додають 2-3 мл 3 н розчину натрій гідроксиду, а потім в ділильну лійку вносять 3 мл 1 % розчину натрій діетилдитіокарбамату (в суміші рівних об'ємів етилового спирту і води) і 5 мл хлороформу. Вміст ділильної лійки збовтують протягом 0.5 хв, а потім хлороформний шар відділяють в іншу ділильну лійку. Для промивання хлороформного шару до 35 нього додають 5 мл 0.3 н розчину натрій гідроксиду і збовтують. Після збовтування хлороформного шару з розчином луку відділяють водну фазу. Хлороформний шар, що містить бісмут діетилдитіокарбамат, переносять в ділильну лійку, додають 3 мл 4 н розчину нітратної кислоти. Вміст ділильної лійки збовтують протягом 1 хвилини і відділяють хлороформний шар, який надалі не досліджують. Водну фазу піддають дослідженню на наявність іонів бісмуту за допомогою реакцій з бруцином, цезій хлоридом і тіосечовиною.

Реакція бруцином і калій бромідом. На предметне скло наносять декілька крапель водної фази, яку випаровують насухо. На сухий залишок наносять краплю 2 н розчину нітратної кислоти, а потім додають краплю насиченого розчину бруцину в 1 н сульфатній кислоті і краплю 5% розчину калій броміду. За наявності іонів бісмуту зразу або через декілька хвилин утворюються жовто-зелені кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Реакція з цезій хлоридом і калій йодидом. На предметне скло наносять декілька крапель водної фази, яку випаровують насухо. На сухий залишок наносять 1-2 краплі 3 н розчину хлоридної кислоти. Потім з одного боку рідини на предметному склі поміщують кристал цезій хлориду, а з іншою – кристал калій йодиду. Нанесені кристали реактивів за допомогою тонкої скляної палички сполучають з рідиною. За наявності іонів бісмуту в розчині утворюються оранжево-червоні кристали $\text{Cs}[\text{BiI}_4]$, що мають форму шестикутників або шестипроменевих зірочок.

Виявлення талію

Реакція з дитізоном. У ділительну лійку вносять 5 мл мінералізату, додають 2 мл 20 % розчину лимонної кислоти, 2 мл насиченого розчину тіосечовини, 2 мл 10 % розчину гідроксиламіну сульфату, 2 мл 5 % розчину калій ціаніду. Потім додають 3 М розчин амоніаку до $\text{pH} = 11-12$ (за універсальним індикатором). Суміш струшують і додають 1 мл 3 М розчину амоніаку і 3 мл 0.01 %-го розчину дитізону в хлороформі, знову струшують, а потім відстоюють протягом 5 хв. При наявності іонів талію зелене забарвлення хлороформного шару переходить у червоне. При незначному вмісті талію в мінералізаті забарвлення хлороформного шару може не змінюватись, оскільки зелене забарвлення розчину дитізону може маскувати червоне забарвлення талій дитізонату. Незалежно від зміни забарвлення хлороформного шару його відокремлюють від водної фази. Хлороформний шар переносять в іншу ділительну лійку і додають суміш однакових об'ємів 3 М амоніаку і 1 М розчину калій ціаніду. Вміст ділительної лійки струшують. При наявності іонів талію в мінералізаті хлороформний шар матиме рожеве або червоне забарвлення. Стибій не дає цієї реакції.

Реакція з малахітовим зеленим. У ділительну лійку вносять 5 мл мінералізату, додають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти, 3 мл 5 М розчину хлоридної кислоти і 2 краплі 5 % розчину натрій нітриту. Суміш струшують, через 5 хв додають 1 мл насиченого розчину сечовини і 7 крапель 0.5 % розчину малахітового зеленого в суміші води і етилового спирту (3:1), 2 г безводного натрій сульфату і 5 мл толуену. При наявності іонів талію в мінералізаті шар толуену набуває синього або блакитного забарвлення. Забарвлений органічний шар переносять в іншу ділительну лійку, додають 3 мл 2.5 М розчину сульфатної кислоти і струшують. При наявності іонів талію в мінералізаті шар органічного розчинника не повинен знебарвлюватись. Стибій заважає виявленню талію за допомогою цієї реакції, оскільки утворює сполуки, що мають аналогічне забарвлення. Щоб відрізнити талій від стибію, використовують реакцію з натрій тіосульфатом, яку дає стибій і не дає талій.

Виявлення стибію

Реакція з малахітовим зеленим (брильянтовим зеленим). В ділительну лійку вносять 5 мл мінералізату, додають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти, 3 мл 5 М розчину хлоридної кислоти і 2 краплі 5 % розчину натрій нітриту. Суміш струшують, через 5 хв додають 1 мл насиченого розчину сечовини, 7 крапель 0.5 % розчину малахітового зеленого в суміші води і етилового спирту (3:1), 2 г безводного натрій сульфату і 5 мл толуену. Вміст ділительної лійки струшують протягом кількох секунд. При наявності стибію в мінералізаті толуеновий шар набуває синього або голубого забарвлення. Забарвлений толуеновий шар переносять в іншу ділительну лійку, додають 3 мл 2.5 М розчину сульфатної кислоти і струшують. При наявності стибію в мінералізаті толуеновий шар не повинен знебарвлюватись. Цій реакції заважають іони талію, які за цих умов дають таке саме забарвлення, як і іони стибію.

Реакція з натрій тіосульфатом. У пробірку вносять 5 мл мінералізату, додають 5 крапель насиченого розчину натрій тіосульфату і кип'ятять суміш протягом 1-2 хв. Утворення оранжевого осаду стибій (III) сульфідіду свідчить про

наявність стибію в мінералізаті. Цю реакцію використовують для виявлення стибію, вона відрізняє його від талію, який не утворює осаду з натрій тіосульфатом.

Виявлення арсену

Реакція Зангер-Блека базується на відновленні воднем сполук арсену до арсину, який на фільтрувальному папері реагує з меркурій (II) хлоридом або бромідом. Реакцію виконують у спеціальному приладі.

Апарат Зангер-Блека 1 – колба; 2 – насадка заповнена ватою, просоченою розчином ацетату плумбуму; 3 – папір, змочений розчином меркурій (II) хлориду або бромиду

В колбу апарату Зангер-Блека вносять 2 мл мінералізату, 10 мл 2 М розчину сульфатної кислоти, 5 мл води і 1 мл 10 % розчину станум (II) хлориду в 50 % розчині сульфатної кислоти. Потім у колбу апарату вносять 2 г дрібних гранул «купрованого» цинку. Колбу апарату закривають насадкою, отвір якої накривають папером, змоченим меркурій (II) хлоридом або бромідом, а нижче вставляють тампон вати, змоченої розчином плумбум ацетату. Апарат залишають на час, необхідний для утворення на папері бурувато-коричневої плями. При наявності великих кількостей арсену в пробі ця пляма може з'явитися через кілька хвилин. При малих кількостях арсену в мінералізаті пляма з'являється через 30-45 хв. Якщо і через 45 хв. пляма не з'явиться, папір занурюють в 3 % водний розчин калій йодиду. При цьому весь папір (крім плям сполук арсену з меркурій (II) хлоридом або бромідом) забарвлюється в червоний колір. Після цього папір занурюють у насичений розчин калій йодиду. При наявності арсену, в мінералізаті на папері залишається жовта або коричнева пляма, а навколо неї зникає червонувате забарвлення паперу. Реакція з розчином аргентум діетилдитіокарбамату в піридині. Реакцію сполук арсену з аргентум діетилдитіокарбаматом виконують за допомогою апарату, зображеного на Рис.

Апарат для виявлення сполук арсену з аргентум діетилдитіокарбаматом 1 – колба, 2 – краплинна лійка, 3 – відвідна трубка, 4 – приймач

В колбу апарату місткістю 50 мл вносять 2 г дрібних гранул «купрованого» цинку, який не містить арсену. Колбу закривають притертою скляною пробкою, в яку вмонтовані циліндрична краплинна лійка 2 з краном і відвідна трубка 3. У циліндричну краплинну лійку вносять 10 мл мінералізату, 5 мл води, 1 мл 10 % розчину станум (II) хлориду в 50 % розчині сульфатної або хлоридної кислоти. Кінець відвідної трубки занурюють у приймач 4, у який налито 1 мл 0.5 % розчину аргентум діетилдитіокарбамату в піридині. Після такої підготовки апарату в циліндричній краплинній лійці відкривають кран і поступово (протягом 10-15 хв) спускають її вміст у колбу апарату, в якій знаходиться «купрований» цинк. Після витікання рідини з краплинної лійки її промивають 5 мл 2 моль/л розчину сульфатної кислоти, яку також спускають у колбу з «купрованим» цинком. При наявності арсену в досліджуваному мінералізаті вміст пробірки (приймача), забарвлюється в рожевий або червоно фіолетовий колір. Залежно від кількості арсену в мінералізаті забарвлення рідини в пробірці може з'явитися через 5-15хвилин.

Реакція Марша ґрунтується на відновленні сполук арсену воднем у момент його виділення та термічному розкладі арсину AsH_3 , що утворюється при цьому: Арсен, який утворюється при термічному розкладанні арсину, відкладається на стінках відповідної трубки апарату Марша у вигляді нальоту («миш'якового дзеркала»). Реакцію Марша виконують у спеціальному апараті. Апарат Марша Отвір колби 1 апарату Марша має пришліфовану поверхню і закривається пришліфованою скляною пробкою, в яку впаяні краплинна лійка 2 і відповідна трубка. Відновна трубка 4 апарату Марша виготовляється з тугоплавкого скла (діаметр 4 мм) або кварцу. В кількох місцях ця трубка має звуження (діаметр 1,5 мм), а кінець її зігнутий майже під прямим кутом і витягнутий у вістря. Між відповідною і відновною трубками розміщена 39 хлоркальцієва трубка 3, заповнена безводним кальцій хлоридом – осушувачем газів, які виходять з колби апарату Марша. Колбу, хлоркальцієву і відновну трубки сполучають між собою за допомогою кусочків гумової трубки. Зібраний таким чином апарат Марша повинен бути герметичним. Реакція Марша є найдоказовішою з усіх реакцій, рекомендованих у хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення арсену. Ця реакція дає змогу не лише виявляти малі кількості арсену, а й відрізнити його від стибію. Виявлення арсену за допомогою реакції Марша виконують у три етапи. Спочатку перевіряють реактиви («купрований» цинк і сульфатну кислоту) на відсутність у них арсену, потім визначають арсен у мінералізаті, а пізніше проводять ідентифікацію нальоту, який утворився у відновній трубці. Перевірка чистоти реактивів. Перш ніж приступити до виявлення арсену в мінералізаті, необхідно переконатись у тому, що реактиви («купрований» цинк і сульфатна кислота), які використовуються з цією метою, не містять арсену. У колбу апарату Марша вносять 10 г дрібних гранул «купрованого» цинку, колбу закривають скляною пробкою з краплинною лійкою і відповідною трубкою. В краплинну лійку вносять 30 мл 10 % розчину сульфатної кислоти, яку невеликими порціями (по 4-5 мл) вливають у колбу до «купрованого» цинку. В краплинній лійці завжди слід залишати 8-10 мл сульфатної кислоти, яка перешкоджає проникненню повітря із зовні в апарат Марша. Проникнення повітря в апарат Марша через краплинну лійку може бути причиною вибуху під час нагрівання відновної трубки або запалювання газів, які виходять з неї. Через 20-25 хвилин після початку виділення водню перевіряють повноту витіснення повітря воднем з апарату Марша. Для цього над вихідним отвором відновної трубки апарату тримають перевернуту вузьку пробірку. Через 4-5 хвилин цю пробірку закривають пальцем і, не перевертаючи її, відносять далі від апарату Марша. До отвору пробірки підносять запалений сірник. Якщо водень повністю витіснив повітря з апарату Марша, то при підпалюванні водню не буде відчуватись навіть незначного тріску (вибуху). Якщо повітря з апарату Марша витіснене не повністю, продовжують пропускання водню. Повноту витіснення повітря воднем перевіряють через кожні 4-5 хвилин. Після повного витіснення повітря з апарату Марша воднем приступають до перевірки наявності арсену в реактивах (сульфатній кислоті і «купрованому» цинку). Визначення наявності арсену в реактивах. Користуються кількома способами. Запалюють водень, який виходить з отвору відновної трубки апарату Марша. При наявності арсену в реактивах полум'я забарвлюється в синюватий колір. Цю пробу можна

проводити тільки тоді, коли з апарату Марша повністю витіснене повітря. При наявності хоча б слідів повітря в апараті Марша під час запалювання газів, які виходять з трубки, може статися вибух. Відновну трубку апарату Марша перед одним із звужень обгортають шматком металевої сітки (для рівномірного нагрівання), а звуження за сіткою обгортають мокрою марлевою смужкою. Один кінець цієї смужки занурюють у чашку з водою, другий – у склянку для стікання рідини. Після цього розширену частину трубки, обгорнуту металевою сіткою, нагрівають до слабо-червоного розжарювання. Якщо в реактивах міститься арсен, то через деякий час в охолодженій звуженій частині відновної трубки з'являється темний наліт з металічним блиском (вільний арсен). Перевірку наявності металевого нальоту в трубці здійснюють через годину після початку нагрівання відновної трубки. Якщо результати описаних дослідів позитивні, то роблять висновок, що сульфатна кислота і «купрований» цинк непридатні для подальшого дослідження сполук арсену в мінералізаті. Тільки при негативному результаті описаних дослідів сульфатну кислоту і «купрований» цинк можна використовувати для визначення сполук арсену в мінералізатах та інших об'єктах.

Дослідження мінералізату. У колбу апарату Марша вносять 10 г «купрованого» цинку, який не містить арсену, а в краплинну лійку наливають 30 мл 2 М розчину сульфатної кислоти, яка також не містить арсену. З краплинної лійки невеликими порціями (по 4-5 мл) приливають 2 М розчин сульфатної кислоти до «купрованого» цинку. Доливати великі об'єми розчину сульфатної кислоти до «купрованого» цинку не можна, оскільки це викличе бурхливу реакцію, в результаті якої частина сульфатної кислоти може відновитись до гідрогенсульфіду, який при нагріванні відновної трубки апарату Марша виділятиметься у вигляді вільної сірки і відкладатиметься в цій трубці. Слід також пам'ятати, що в краплинній лійці завжди повинен залишатись невеликий об'єм розчину сульфатної кислоти для запобігання проникненню повітря в апарат Марша через цю лійку. Через 15-20 хв після початку взаємодії цинку з сульфатною кислотою в апараті Марша перевіряють повноту витіснення повітря з нього воднем так, як описано вище. Після цього в краплинну лійку, в якій залишився невеликий об'єм розчину сульфатної кислоти, вносять 20 мл мінералізату і 2 мл 10 % розчину станум (II) хлориду в 50 % розчині сульфатної кислоти. Вміст краплинної лійки протягом 30-40 хв невеликими порціями вливають у колбу апарату Марша і рівномірно нагрівають розширену частину відновної трубки (перед звуженням). Одночасно за допомогою смужки з марлі охолоджують звужену частину відновної трубки, розміщену за місцем нагрівання. Через 20-30 хв після початку нагрівання відновної трубки перевіряють наявність арсену в мінералізаті за допомогою таких дослідів:

- 1.Перевіряють наявність нальоту у відновній трубці апарату Марша. Вигляд нальоту і місце знаходження його у відновній трубці можуть свідчити про наявність арсену в мінералізаті.

- 2.Запалюють водень, який виходить з трубки апарату Марша. При наявності арсену в мінералізаті полум'я забарвлюється в синюватий колір. Водень запалюють тільки після витіснення ним повітря з апарату. Якщо з апарату Марша не повністю витіснене повітря, може статися вибух.

3. У полум'я, що утворилось при згорянні газів, які виділяються з апарату Марша, вносять холодні порцелянові пластинки або шматочки розбитих порцелянових чашок. Якщо в мінералізаті містяться сполуки арсену, то на холодних порцелянових шматочках або пластинках відкладатиметься бурувато-сіруватий наліт.

4. Відновну трубку апарату Марша обережно повертають на 180° і занурюють її кінець у 5 % розчин аргентум нітрату, слабо підлужений амоніаком. Якщо в потоці газів, що виходять з апарату, міститься арсин, то розчин темніє внаслідок виділення металічного срібла.

Нітратна кислота, яка виділяється під час цих реакцій, зв'язується амоніаком. Протягом перших 20-30 хв від початку реакції в апараті Марша результати перелічених вище дослідів можуть бути позитивними лише при наявності відносно великих кількостей сполук арсену в мінералізаті. При малому вмісті сполук арсену в мінералізаті за такий час наліт його у відновній трубці не утворюється. У зв'язку з цим дослідження мінералізату на наявність арсену в апараті Марша продовжують до однієї години, а іноді і довше. Якщо у відновній трубці апарату Марша утвориться наліт, то його досліджують на наявність арсену.

Дослідження нальоту. Утворення нальоту у відновній трубці апарату Марша є одним з важливих доказів наявності арсену в мінералізаті. Проте у цій трубці можуть утворюватись нальоти й інших речовин (сурми, селену, сірки та вуглецю). Нальоти елементарного арсену можна відрізнити від нальотів інших речовин за забарвленням і за розміщенням їх у відновній трубці. Наліт арсену має бурувато-сіре забарвлення з металічним блиском, наліт металічної сурми має матово-чорний колір, селену – сірий, а сірки – жовтуватий або буруватий колір. При недотриманні умов руйнування біологічного матеріалу в мінералізаті можуть міститись залишки органічних речовин, які відкладаються у відновній трубці апарату Марша у вигляді чорного нальоту (карбону). Наліт арсену відкладається у звуженій частині відновної трубки відразу за місцем її нагрівання, а наліт стибію – по обидва боки від місця нагрівання відновної трубки. Це пояснюється тим, що стибін SbH_3 при нагріванні розкладається легше, ніж арсин AsH_3 . Крім того, стибій менш леткий, ніж арсен. Для подальшого дослідження нальотів, які утворилися у відновній трубці, її від'єднують від апарату Марша і виконують описані нижче проби.

Нагрівання трубки в місцях локалізації нальоту. При цьому відбувається окиснення речовин, які відклалися у відновній трубці. Нальоти вуглецю і сірки окиснюються киснем повітря, перетворюються на леткі оксиди (CO_2 , SO_2) і швидко зникають з відновної трубки. Нальоти миш'яку та сурми окиснюються і відкладаються неподалік від місця нагрівання у вигляді оксидів. Кристали арсен (III) оксиду мають форму октаедрів, а стибій (III) оксид – аморфний. Утворення кристалів арсен (III) 42 оксиду в формі октаедрів є одним з найважливіших доказів наявності арсену в мінералізаті. При пропусканні гідрогенсульфіду через відновну трубку, в якій знаходяться арсен (III) і стибій (III) оксиди, утворюються їхні сульфіді, що відрізняються між собою забарвленням. Арсен (III) сульфід має жовте, а стибій (III) сульфід – червоне або чорне забарвлення. Під дією концентрованої хлоридної кислоти забарвлення арсен (III) сульфідіду не змінюється, а стибій (III) сульфід

знебарвлюється. Нальоти миш'яку, які утворюються у відновній трубці, розчиняються у свіжоприготованому розчині натрій гіпохлориту. Нальоти сурми не розчиняються у натрій гіпохлориті. Нальоти миш'яку та сурми, що відклалися у відновній трубці апарату Марша, можна виявити методом мікрокристалоскопічного аналізу. Під дією кількох крапель концентрованої нітратної кислоти нальоти розчиняються з утворенням арсенатної і метастибіатної кислот. По 2-3 краплі розчинів одержаних кислот наносять на предметне скло і випаровують досуха. На сухі залишки наносять краплю 5 М розчину хлоридної кислоти і кристалик цезій хлориду. При наявності стибію утворюються безбарвні кристали у вигляді багатогранників. Сполуки арсену з цим реактивом кристалів не утворюють. Якщо до цього розчину додати кристалик цезій хлориду і кристалик калій йодиду, то з розчину, в якому містяться сполуки арсену, випадає червоно-оранжевий осад.

Виявлення кадмію

Виділення іонів кадмію з мінералізату. У ділильну лійку вносять 10 мл мінералізату, додають 2 мл 10 % водного розчину гліцеролу, 4 мл 10 % розчину сегнетової солі і 2-3 краплі 0.1 %-й розчину нільського голубого; краплями додають 2.5 М розчин натрій гідроксиду до появи рожево-червоного забарвлення, струшують. Потім додають 3 мл 1 % розчину натрій діетилдитіокарбамату в суміші етилового спирту і води (1:3) і 10 мл хлороформу. Вміст ділильної лійки енергійно струшують протягом 1 хвилини. Після розділення фаз до хлороформного шару, який переносять в іншу ділильну лійку, додають 10 мл води і струшують. Потім водну фазу відкидають, а до хлороформного шару додають 2 мл 1 М розчину хлоридної кислоти. Вміст ділильної лійки струшують протягом 1 хвилини, потім від хлороформного шару відділяють водну фазу, в якій виявляють іони кадмію.

Реакція з натрій сульфідом. До 1 мл водної фази краплями додають 2.5 М розчин натрій гідроксиду, до досягнення $\text{pH}=5$ (за універсальним індикатором) і 3-4 краплі 5 % свіжоприготованого розчину натрій сульфиду. Утворення жовтого осаду свідчить про наявність іонів кадмію у водній фазі. При негативному результаті реакції на кадмій з натрій сульфідом подальше дослідження водної фази на наявність іонів кадмію не проводять. При позитивному результаті реакції додатково перевіряють розчин на наявність іонів кадмію у водній фазі. Для цього застосовують описані нижче реакції.

Реакція з бруцином і калій бромідом. 2-3 краплі водної фази наносять на предметне скло і випарюють досуха. На сухий залишок наносять краплю насиченого розчину бруцину в 0.5 М розчині сульфатної кислоти і краплю 5 % розчину калій бромиду. При наявності іонів кадмію в розчині утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Реакція з піридином і калій бромідом. На предметне скло наносять 2-3 краплі водної фази, яку випарюють досуха. На сухий залишок наносять краплю піридину і краплю 5 % розчину бромиду калію. При наявності іонів Кадмію в розчині утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Виявлення меркурію

Виділення іонів ртуті з біологічного матеріалу. Для того щоб запобігти втратам Ртуті під час судово-токсикологічних досліджень, А.А. Васильєва запропонувала метод деструкції біологічного матеріалу замість мінералізації. Метод деструкції біологічного матеріалу, запропонований А.А. Васильєвою, удосконалили О.М. Крилова та інші дослідники.

Деструкція біологічного матеріалу. Під деструкцією розуміють процес руйнування структури біологічного матеріалу, внаслідок якого в деструктаті ще залишаються не зруйнованими деякі складові частини білкових та інших фізіологічно важливих речовин. Якщо, після руйнування органічних речовин за допомогою розглянутих вище методів у мінералізаті зовсім не залишається навіть слідів цих речовин, то в деструктаті ще можуть міститися пептиди, молекули органічних речовин, амінокислоти та продукти їх декарбоксилювання і дезамінування. Отже, деструкцію біологічного матеріалу слід розглядати як першу стадію мінералізації (неповну мінералізацію). Завдання деструкції полягає не в повному руйнуванні біологічного матеріалу, а в розщепленні міцних ковалентних зв'язків між іонами ртуті і сульфгідрильними та деякими іншими функціональними групами білків, пептидів та амінокислот. Внаслідок деструкції ртуті з трупного матеріалу переходить у деструктат, у якому можна виявити і кількісно визначити катіони цього металу. Для виконання деструкції біологічного матеріалу потрібно значно менше часу, ніж для мінералізації. Швидкість деструкції збільшується при додаванні етилового спирту, який є своєрідним каталізатором у цьому процесі. Як мінералізат, так і деструктат повинні бути звільнені від нітратної і нітритної кислот та оксидів нітрогену. Для цього проводять денітрацію, яка описана вище з усіх речовин, які використовують для денітрації мінералізаторів, для денітрації деструктатів використовують сечовину, яка реагує з залишками нітратної та нітритної кислот.

Методика деструкції органів трупів. 20 г подрібненого органа трупу вносять у конічну колбу місткістю 200 мл додають 5 мл води, 1 мл етилового спирту і 10 мл концентрованої нітратної кислоти. Потім у колбу малими порціями вносять 20 мл концентрованої сульфатної кислоти з такою швидкістю, щоб оксиди нітрогену не виділялись із колби. Після закінчення додавання концентрованої сульфатної кислоти колбу залишають на 5-10 хв при кімнатній температурі (до припинення виділення оксидів нітрогену). Потім колбу нагрівають на водяній бані протягом кілька хвилин. Якщо після нагрівання колби на киплячому водяному нагрівнику залишаються незруйнованими кусочки біологічного матеріалу, то їх обережно розтирають скляною паличкою, притискаючи до стінок колби. При бурхливому протіканні реакції з виділенням оксидів нітрогену в колбу додають 30-50 мл гарячої води. Одержаний гарячий деструктат змішують з подвійним об'ємом киплячої води і, не охолоджуючи рідини, її фільтрують крізь 2 шари фільтрувального паперу. Фільтр, крізь який фільтрували деструктат, і залишки на ньому жиру 2-3 рази промивають гарячою водою. Промивні води приєднують до профільтрованого деструктату. Одержану таким чином рідину переносять у другу колбу, в яку налито 20 мл насиченого розчину сечовини. Потім деструктат охолоджують доводять до певного об'єму водою і досліджують його на наявність ртуті.

Реакція з дитізоном. Близько половини деструктату вносять у ділильну лійку, додають 10 мл хлороформу і струшують протягом 1-2 хв. Хлороформний шар, в якому можуть міститися різні домішки, що переходять з деструктату, відділяють від водної фази, яку ще кілька разів струшують з новими порціями хлороформу (по 10 мл), доки хлороформний шар не перестане забарвлюватись у жовтий або буруватий колір. До очищеного таким чином деструктату додають 10 мл 10 % розчину гідроксиламін сульфату або 10 мл 10 % розчину аскорбінової кислоти, 5 мл хлороформу і 0.3 мл 0.01 М розчину дитізону в хлороформі, який має зелений колір. Суміш струшують протягом 1-2 хв. Поява жовтого або оранжево-жовтого забарвлення хлороформного шару свідчить про наявність меркурію в деструктаті. При малих кількостях іонів меркурію в деструктаті жовте або оранжевожовте забарвлення хлороформного шару може не з'явитись, оскільки воно буде замасковано зеленим забарвленням надлишку дитізону. Тому зелений хлороформний шар струшують з розчином амоніаку, який зв'язує вільний дитізон, переводячи його в амонійну сіль, що вилучається водою. Лише після цього може з'явитись жовте або оранжево-жовте забарвлення дитізонату меркурію в хлороформному шарі.

Реакція з суспензією купрум (I) йодиду. До 10-15 мл декструктату додають 10 мл суспензії купрум (I) йодиду. Поява червоного або оранжевого осаду свідчить про наявність іонів меркурію в деструктаті. Цій реакції заважають окисники, які з суспензією купрум (I) йодиду виділяють вільний йод, що має жовто-бурий колір.

Лабораторна робота № 6. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КУПРУМУ ФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ.

Метод ґрунтується вимірюванні оптичної густини забарвленого розчину купрум купрум (II) діетилдитіокарбамату. Залежно від кількості купруму в мінералізаті хлороформний шар, що містить купрум (II) діетилдитіокарбамат, забарвлюється у жовтий або коричневий колір.

Методика виконання.

В ділильну лійку вносять 5-10 мл мінералізату і нейтралізують його до $pH=3.0$, додають 5 мл хлороформу, потім 2 мл плюмбум (натрій) діетилдитіокарбамату в хлороформі, суміш енергійно струшують протягом 30 с. Після розділення шарів відділяють органічну фазу і знову повторюють екстракцію купруму плюмбум діетилдитіокарбаматом. Екстракцію продовжують до одержання безбарвного шару хлороформу. Отримані екстракти об'єднують, промивають водою, доводять хлороформом до певного об'єму (25мл) і вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі чи фотокалориметрі при 435 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм, в якості розчину порівняння використовують хлороформ.

Приготування основного стандартного розчину купруму з концентрацією 1 мг/см³. Купруму (II) сульфат двічі перекристалізують і висушують в ексикаторі до постійної маси. 0.3930 г купрум (II) сульфату розчиняють у воді, переносять в мірну колбу на 500 см³, додають 1 см³ сульфатної кислоти ($\rho=1.84$ г/см³) і доводять об'єм до мітки. Основний стандартний розчин

зберігають не більше 1 року. 1 см³ розчину містить 0,2 мг купруму. Робочі розчини необхідної концентрації готують послідовним розведенням у 10, 100, 1000 разів основного стандартного розчину купруму. Робочий розчин (I): 250 см³ основного розчину вливають у мірну колбу на 1 дм³ і доводять об'єм дистильованою водою до позначки. 1 см³ розчину містить 0.05 мг купруму. 46 Робочий розчин (II): 10 см³ робочого розчину (I) переносять у мірну колбу 500 см³ і бідистильованою водою доводять до позначки. 1 см³ розчину містить 0.001 мг купруму.

Приготування розчину натрій діетилдитіокарбамату 10.0 г натрій діетилдитіокарбамату зваженого з похибкою не більше ± 0.1 г переносять у мірну колбу на 1000 см³, розчиняють у дистильованій воді і доводять об'єм до мітки водою.

Приготування змішаного розчину трилону Б і амоній цитрату. В мірну колбу (на 500 см³) поміщують 100 г амоній цитрату і 25 г трилону Б, зважених з похибкою не більше ± 0.1 г, розчиняють і доводять об'єм розчину до мітки дистильованою водою. Вміст колби перемішують. Розчин переносять в ділильну лійку (на 1000 см³), додають 0.5 см³ розчину натрій діетилдитіокарбамату і 50 см³ CCl₄. Лійку інтенсивно струшують протягом 1 хвилини і залишають до розділення шарів. Нижній шар зливають і відкидають. В ділильну лійку вносять 50 см³ розчинника, струшують протягом 1 хвилини і після розділення шарів нижній шар зливають і відкидають. Останню операцію повторюють до отримання безбарвного нижнього шару. Водний розчин зберігають не більше 2-х місяців.

Побудова градувального графіку. В ділильні лійки на 250 см³ додають 0; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см³ робочого розчину (II), що відповідає 0; 0,2; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 мг/дм³ купруму. В кожну ділильну лійку додають 10 см³ змішаного розчину амоній цитрату і трилону Б, дві краплі розчину фенолфталеїну, розчин перемішують, нейтралізують, додаючи по краплям розчин амоніаку (2:3) до появи малинового забарвлення, охолоджують і додають дистильовану воду до об'єму ≈ 100 см³. Тоді в ділильні лійки додають по 2 см³ розчину натрій діетилдитіокарбамату і 15 см³ CCl₄. Нижній шар зливають в мірну колбу на 25 см³. В ділильні лійки знову додають 10 см³ CCl₄, струшують протягом 1 хвилини і після розділення шарів, нижній шар зливають в ту ж мірну колбу. У випадку необхідності, об'єм розчину в колбі доводять до мітки за допомогою CCl₄ і перемішують. Контрольний розчин готують аналогічно без додавання розчинну, що містить купрум. Вміст колб з розчинами порівняння і контрольним розчином фільтрують через сухий паперовий фільтр в кювети. Оптичну густину розчинів порівняння вимірюють по відношенню до контрольного розчину на фотокалориметрі із світлофільтром при $\lambda_{\text{max}} = (440 \pm 5)$ нм в кюветах з 47 відстанню між робочими граннями 20 (10) мм (або на спектрофотометрі при $\lambda_{\text{max}} = 440$ нм в кюветах з відстанню між робочими граннями 10 мм).

Розрахунки. Розрахунок вмісту купруму проводять за формулою: $X = C V_e V_{100} / V_1 m$, де X – маса купруму в 100 г органу, мг; C – концентрація купруму в фотометрованому розчині, мг/мл; V_e – об'єм екстракту купрум діетилдитіокарбаміату, мл; V – загальний об'єм мінералізату, мл; V_1 – аналізований об'єм мінералізату, мл; m – маса наважки органу, г.

Питання до теми «ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ (МЕТАЛІЧНІ ОТРУТИ)»

1. Потрапляння та зв'язування «металічних» отрут у організмі.
2. Характеристика методів сухої мінералізації.
3. Характеристика методів мокрої мінералізації.
4. Характеристика методів мінералізації руйнування біологічного матеріалу сумішшю нітратної та сульфатної кислот; сумішшю нітратної, сульфатної та хлорної кислот, сульфатною кислотою та пергідролем.
5. Мінералізація сумішшю нітратної і сульфатної кислот.
6. Правила техніки безпеки при руйнуванні біологічного матеріалу кислотами (хлорна кислота).
7. Продукти, що утворюються при руйнуванні білкових речовин після деструкції та мінералізації.
8. Денітрація та її механізм. Механізм дослідження повноти денітрації.
9. Виділення ртуті із біологічного матеріалу. Суть методу деструкції.
10. Виявлення ртуті в деструктанті.
11. Антитокси, які використовуються при отруєннях сполуками ртуті і механізми їх дії.
12. Методи, що використовуються для усунення впливу іонів, які заважають виявленню деяких «металічних» отрут в мінералізаті.
13. Мікроелементи, їх значення при трактуванні результатів дослідження.
14. Реакції маскування, реактиви для маскування, приклади.
15. Демаскування іонів, приклади.
16. Систематичний хід аналізу мінералізату на наявність «металічних» отрут і його недоліки.
17. Дрібний метод аналізу.
18. Сполуки барію.
19. Сполуки свинцю.
20. Сполуки марганцю.
21. Сполуки хрому.
22. Сполуки сріблястого.
23. Сполуки купрум.
24. Сполуки цинку.
25. Сполуки бісмуту.
26. Сполуки талію.
27. Сполуки стибію.
28. Сполуки арсену.
29. Сполуки кадмію.
30. Кількісне визначення «металічних» отрут.

ТЕМА 4. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЕКСТРАКЦІЄЮ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ОТРУТОХІМІКАТИ)

Лабораторна робота № 7. ВИЯВЛЕННЯ ОТРУТОХІМІКАТІВ.

Хлорорганічні отрутохімікати

Вилучення гексахлорциклогексану з трупного матеріалу. В круглодонну колбу місткістю 500 мл вносять 100 г ретельно подрібненого трупного матеріалу (органи трупів, шлунок і кишки з вмістом), додають води до отримання кашоподібної маси. Цю суміш підкисляють водним розчином щавлевої кислоти до явно вираженої кислої реакції (по лакмусу). Колбу приєднують до апарату для перегонки з водяною парою, потім встановлюють її на киплячу водяну баню і проводять перегонку ГХЦГ з водяною парою. В приймач збирають 300 мл дистиляту. В ході перегонки ГХЦГ з водяною парою на внутрішній стінці холодильника може з'явитися білий наліт, а в дистиляті – тверді білі частинки. Після закінчення перегонки холодильник відділяють від апарату і промивають діетиловим етером. Етер, використаний для промивки, приєднують до дистиляту. Дистилят переносять в ділільну лійку місткістю 500 мл і три рази збовтують з новими порціями етеру по 100 мл. Сполучені етерні витяжки вносять в іншу таку ж ділільну лійку, додають воду і збовтують. Водну фазу відкидають, а етерний шар переносять в колбу і відганяють етер до невеликого об'єму. Залишок вносять у порцелянову чашку і при кімнатній температурі випаровують етер до тих пір, поки в чашці не залишиться небагато рідини. В цій рідині визначають наявність ГХЦГ.

Виявлення ГХЦГ

Реакція з бурштиною кислотою і ферум (III) сульфатом. В мікропробірку вносять 10 мг бурштинової або фталевої кислоти і невелику кількість досліджуваної речовини або 1-2 краплі її розчину (в цьому випадку розчинник випаровують насухо). Отвір пробірки накривають кружком фільтрувального паперу, змоченого 0,1 % розчином ферум (III) сульфату. Пробірку занурюють в гліцеролову баню, нагріту до 200 °С. При наявності ГХЦГ в пробі на папері з'являється синя пляма.

Реакція відщеплення хлору і виявлення його з аргентум нітратом. 5- 10 мл розчину препарату вносять в колбу місткістю 50 мл і додають 50 двократний об'єм 10 % спиртового розчину калій гідроксиду. Колбу сполучають з повітряним холодильником, встановлюють її на киплячу водяну баню і нагрівають 1 год. Потім знімають холодильник і продовжують нагрівати до видалення основної кількості рідини. Рідину, що залишилася, охолоджують до кімнатної температури, підкислюють розбавленою нітратною кислотою до кислої реакції (по лакмусу), потім додають розчин аргентум нітрату. При цьому випадає білий осад, розчинний у водному розчині амоніаку.

Реакція дехлорування ГХЦГ і подальшої нітрації бензену, що утворився. Спочатку проводять дехлорування ГХЦГ, як вказано при виконанні попередньої реакції. Осад аргентум хлориду, що утворився, фільтрують. Фільтрат випаровують до невеликого об'єму. До залишку додають 2 мл

концентрованої сульфатної кислоти, 0.1 г натрій нітрату. Суміш нагрівають до 125-130 °С і витримують при цій температурі 10 хв. Розчин охолоджують, додають 10 мл діетилового етеру і збовтують. Етерний шар відділяють і випаровують насухо. Сухий залишок розчиняють в 3-5 мл ацетону, потім додають 1 мл 20 %-го спиртового розчину калій гідроксиду. За наявності ГХЦГ в пробі розчин набуває червоно-фіолетове або рожеве забарвлення. Якщо ацетон замінити метилетилкетонем, то розчин забарвлюється у фіолетовий колір.

Вилучення ДДТ з трупного матеріалу

Об'єкт біологічного походження (100 г), ретельно подрібнений, екстрагують 5-6 разів діетиловим етером (20-25 мл), підкисленим концентрованою сульфатною кислотою (3-5 мл концентрованої сульфатної кислоти). Під час вилучення можуть утворюватися густі емульсії. В цьому випадку емульсію відділяють, зливають разом з етером, відстоюють протягом 1-2 годин, після чого відділяють етерний шар. До емульсії, що залишилася в колбі додають 15-20 мл свіжого етеру. Вміст колби знову збовтують, відстоюють і етерний шар зливають. Після 3-4-кратного промивання емульсії етером останню перемішують з 3-5 г безводного натрій сульфату і суміш знову промивають етером. Всі етерні витяжки об'єднують, промивають у ділильній воронці кілька разів дистильованою водою до повного видалення іонів хлору. Етерну витяжку випаровують насухо нагріванням на електричній водяній бані, сухий залишок розчиняють в етері, переносять в мірну колбу і доводять до мітки етером.

Виявлення ДДТ

Реакція відщеплювання хлору і виявлення його з аргентум нітратом. Аліквотну частину етерного розчину випаровують, якщо потрібно, до об'єму 3-5 мл, переносять в конічну колбу, додають 2-3 мл спиртового 5% розчину калій гідроксиду і нагрівають із зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 10 хвилин. Потім вміст колби підкислюють 10% розчином нітратної кислоти до слабокислої реакції по лакмусу, змішують для просвітлення з 0.1-0.2 г активованого вугілля і фільтрують через паперовий фільтр. При додаванні до розчину кількох крапель розчину аргентум нітрату випадає білий сирнистий осад, розчинний в амоніаку.

Реакція нітрування та взаємодії з натрій метилатом. Частину етерного розчину переносять у фарфорову чашку, етер випаровують насухо при обережному нагріванні на водяній бані, до сухого залишку додають 1-2 мл концентрованої сульфатної кислоти, що містить 0.2-0.5 г амоній нітрату. Рідину переносять в пробірку і нагрівають на водяній бані протягом 4-6 год. Розчин розбавляють дуже холодною водою до об'єму 20-25 мл і екстрагують в ділильній воронці 3 рази етером (10-15 мл кожна порція). Етерні витяжки, об'єднують, промивають 5 мл 5% розчину натрій гідроксиду і два рази (по 10 мл) насиченого розчину натрій хлориду. Етерний шар фільтрують через вату. Етер випаровують насухо у фарфоровій чашці на водяній бані, сухий залишок розчиняють в невеликій кількості бензену. До отриманого розчину додають

декілька крапель розчину натрій метилату. За наявності ДДТ розчин забарвлюється у фіолетово-синій колір.

Виділення гептахлору з біологічного матеріалу

25 г подрібненого біологічного матеріалу вносять в колбу, додають воду до отримання кашоподібної маси. До цієї кашоподібної маси додають 40 мл н-гексану, збовтують, потім суміш залишають на 30 хв при періодичному збовтуванні вмісту колби. Після цього з біологічного матеріалу зливають шар органічного розчинника, а до біологічного матеріалу додають ще одну порцію н-гексану. Гексанові витяжки сполучають і переносять в ділильну лійку, в яку додають 10 мл насиченого розчину натрій сульфату в 20 % розчині сульфатної кислоти, і збовтують. Потім відділяють шар н-гексану, який ще кілька разів збовтують з насиченим розчином натрій сульфату в 20 % розчині сульфатної кислоти (до отримання безбарвної водної фази). Очищені таким чином н-гексанові витяжки збовтують з сухим безводним натрій сульфатом, потім їх зливають з натрій сульфатом. Отримані гексанові витяжки випаровують насуху. Сухі залишки використовують для виявлення гептахлору.

Виявлення гептахлору

Реакція з діетиламіном. В пробірку вносять 1-2 мл розчину досліджуваної речовини в дихлоретані. Потім по стінці пробірки додають 5-7 крапель реактиву, що складається з одного об'єму діетиламіну і двох об'ємів 0.1 н розчину калій гідроксиду в метиловому спирті. Суміш збовтують. За 52 наявності гептахлору в пробі рідина набуває зеленого забарвлення, яке швидко зникає.

Реакція з діетаноламіном. В пробірку вносять 1-2 мл розчину досліджуваної речовини в дихлоретані і додають декілька крапель реактиву (суміш 1 частини діетаноламіну і двох частин розчину калій гідроксиду в метиловому спирті). Поява фіолетового забарвлення вказує на наявність гептахлору в пробі. Реакція з діетаноламіном специфічна для виявлення гептахлору. Реакцію можна виконувати краплинним методом. Смужку фільтрувального паперу змочують сумішшю діетаноламіну і 0.1 н розчину калій гідроксиду в метиловому спирті. Папір підсушують на повітрі і наносять на неї краплю досліджуваного розчину. За наявності гептахлору в пробі на папері з'являється фіолетова або бузкова пляма.

Реакція з аніліном і піридином. В пробірку вносять 2-3 мл розчину досліджуваної речовини в бензені, додають 5 крапель аніліну і 2 краплі 0.1 н розчину калій гідроксиду в метиловому спирті. Пробірку поміщують на 15 с на киплячу водяну баню, потім вносять в неї 1 мл піридину і знову пробірку поміщують на 10 с на киплячу водяну баню. Вміст пробірки перемішують. За наявності гептахлору в пробі через 1-3 хв розчин набуває темно-зеленого забарвлення.

Фосфорвмісні отрутохімікати

Холінергезна проба. Беруть дві порцелянові чашки. В одну вносять краплю індикаторної суміші, краплю розчину фосфоровмісної органічної сполуки і через 10 хв краплю розчину ацетилхоліну. При цьому забарвлення

розчину не змінюється. Це свідчить про затримку розкладання ацетилхоліну ацетилхолінестеразою сироватки, що входить до складу індикаторної суміші. В другу порцелянову чашку вносять краплю індикаторної суміші і краплю розчину ацетилхоліну (не додаючи фосфорвмісної органічної сполуки). Через декілька хвилин синє забарвлення розчину переходить в жовте. Зміна забарвлення рідини в другій порцеляновій чашці і відсутність зміни забарвлення в першій чашці вказує на наявність фосфорвмісної органічної сполуки (інгібітору холінестерази) в досліджуваній пробі.

Виявлення Фосфору у фосфорвмісних отрутохімікатах

Об'єктами хіміко-токсикологічного аналізу можуть бути не тільки органи трупів і біологічні рідини, але і отрутохімікати у вигляді порошків, розчинів, емульсій і т.і. Перш ніж приступити до аналізу відповідних об'єктів на наявність отрутохімікатів, необхідно встановити приналежність їх до певного класу хімічних сполук. Для встановлення приналежності досліджуваних речовин до фосфорвмісних органічних сполук проводять холінестеразну пробу і визначають наявність фосфору в цих сполуках. Щоб визначити наявність фосфору в досліджуваних сполуках спочатку їх піддають мінералізації. Потім в мінералізатах визначають сполуки фосфору за допомогою відповідних реакцій.

Мінералізація фосфорвмісних органічних сполук. Для цієї мети може бути використано декілька методів: метод мінералізації кальцій оксидом, сумішню концентрованих сульфатної і азотної кислот, сумішню натрій карбонату і натрій пероксиду та інші методи. Нижче описаний один з цих методів.

Мінералізація натрій карбонатом і натрій пероксидом. В тигель вносять 0.2-0.3 г суміші, що складається з двох частин безводного натрій карбонату і п'яти частин натрій пероксиду, і 0.005-0.010 г досліджувані речовини. Якщо на дослідження поступають розчини фосфорвмісних органічних сполук або витяжки з відповідних об'єктів, то до суміші натрій карбонату і натрій пероксиду додають декілька крапель досліджуваної рідини. Тигель обережно нагрівають до випаровування рідини. Після цього нагрівання тигля підсилюють і нагрівають його до тих пір, поки не розплавиться суміш. Потім тигель охолоджують, його вміст переносять в невелику порцелянову чашку, додають трохи натрій карбонату і 10 мл води. Отриману суміш добре розтирають і фільтрують. Залежно від складу досліджуваної речовини в мінералізатах можуть бути фосфати, арсенати, сульфати і галогеніди. Для виявлення фосфору фосфат-іони, що утворилися, переводять в молібденову синь. Цій реакції заважає наявність арсенатів в розчині. Для видалення арсенатів мінералізуват підкислюють хлоридною кислотою до $\text{pH} = 0.5$. Потім пропускають гідрогенсульфід. За наявності арсенатів випадає жовтий осад (або утворюється муть) арсен сульфід, який фільтрують. Фільтрат використовують для виявлення фосфат-іонів.

Виявлення фосфат-іонів. В пробірку вносять 3-5 крапель мінералізату (вільного від арсенатів) і додають 5 крапель розчину амоній молібдату. Суміш підкислюють 10 % розчином нітратної кислоти. За наявності фосфатіонів з'являється жовте забарвлення. До цього розчину додають 3-5 крапель насиченого водного розчину бензидин гідрохлориду. Потім додають 10 %

розчин амоніаку до лужної реакції (по лакмусу). За наявності фосфат-іонів в мінералізаті з'являється синє забарвлення.

Виділення хлорофосу з біологічного матеріалу

В колбу місткістю 500 мл вносять 100 г подрібненого біологічного матеріалу і 150 мл води, підкисленої сульфатною кислотою до $\text{pH} = 2.0 \dots 2.5$. Суміш залишають на 2 год, часто перемішуючи, потім проціджують через марлю. До біоматеріалу ще двічі додають воду, підкислену до $\text{pH} = 2.0 \dots 2.5$ (по 75 мл) і кожного разу настоюють по 1 год, після чого зливають водні витяжки. Об'єднані кислі водні витяжки центрифугують. Центрифугат переносять в ділильну лійку, додають 30 мл хлороформу і суміш збовтують 10 хв. Хлороформну витяжку зливають. Хлорофос з кислої водної витяжки ще 4 рази екстрагують хлороформом (по 30 мл). Хлороформні витяжки сполучають і випаровують при кімнатній температурі насуху. Сухий залишок розчиняють в 5 мл води, потім розчин фільтрують через паперовий фільтр. Фільтрат використовують для виявлення хлорофосу.

Виявлення хлорофосу

Реакція з піридином і лугом (реакція Фуджівара). В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину, 1 мл піридину і 1 мл 30 % розчину натрій гідроксиду. Суміш нагрівають на киплячій водяній бані 5 хв. За наявності хлорофосу в пробі з'являється червоне або рожеве забарвлення. Цю реакцію дає також ряд хлорвмісних сполук аліфатичного ряду.

Реакція з резорцином. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину, 2 краплі 1 % розчину резорцину в 20 % розчині натрій карбонату або 1 % розчині натрій гідроксиду. Через 10 хв з'являється рожеве забарвлення, а через 15-30 хв спостерігається жовто-зелена флуорисценція розчину. Забарвлення і флуоресценція розчину досягають максимуму через 1-2 год після додавання реактивів до досліджуваного розчину. Через 4-6 годин рожеве забарвлення переходить в оранжеве, а потім в жовте. Флуоресценція розчину зберігається протягом декількох діб. Для забезпечення можливості протікання реакції pH має дорівнювати 9-11.

Реакція утворення ізонітрилу. В пробірку вносять 0.01-0.03 г досліджувані речовини і 1 мл етилового спирту. Суміш збовтують, потім додають 2 мл 10 % спиртового розчину натрій гідроксиду і 1 краплю аніліну. При нагріванні суміші відчувається характерний запах ізонітрилу. Реакція неспецифічна. Її дають хлороформ, і деякі інші хлорвмісні речовини.

Реакція з о-толуїдином. У фарфорову чашку вносять 0.2-0.5 мл водного або спиртового розчину досліджуваної речовини, 1 мл 0.5 % розчину отолідину в ацетоні і 1 мл суміші розчинів гідроген пероксиду і натрій гідроксиду. У присутності хлорофосу з'являється жовте або оранжеве забарвлення. Цю реакцію дають метафос, тіофос і ін.

Реакція з 2,4-динітрофенілгідразином. В пробірку вносять 1-10 крапель досліджуваного розчину і 2 краплі 1 н розчину натрій гідроксиду. Через 20 хв додають 1 краплю 0.1 % розчину 2,4-динітрофенілгідразину в 4 н розчині хлоридної кислоти. Пробірку витримують в киплячій водяній бані 30 хв. Після цього суміш охолоджують, додають 1 краплю 4 н розчину натрій гідроксиду і

0.5 мл етилового спирту. За наявності хлорофосу в пробі з'являється синє або синьо-фіалкове забарвлення. Цю реакцію дають, тіофос і ін.

Реакція з ацетоном. В пробірку вносять 0.1-0.5 мл розчину досліджуваної речовини в етиловому спирті, додають 1 мл ацетону і 0.5 мл 0.5 н спиртового розчину натрій гідроксиду. За наявності хлорофосу в пробі через 5-15 хв з'являється рожеве забарвлення яке переходить у оранжеве.

Виділення карбофосу з біологічного матеріалу

В колбу місткістю 500 мл вносять 100 г подрібненого біологічного матеріалу, додають воду до отримання кашеподібної маси і 100 мл хлороформу. Вміст колби залишають на 4 год при частому збовтуванні. Потім відділяють хлороформну витяжку, а біологічний матеріал ще 2 рази настоюють з хлороформом (порціями по 50 мл) протягом 2 год при частому збовтуванні. Хлороформні витяжки сполучають, фільтрують і випаровують насухо. Сухий залишок розчиняють в 10 мл хлороформу. В отриманому розчині визначають наявність карбофосу.

Виявлення карбофосу

Реакція з діазотованою сульфаніловою кислотою. Декілька хлороформної витяжки вносять в пробірку і рідину випаровують насухо. До сухого залишку додають 2 мл води, 1 мл розчину діазотованої сульфанілової кислоти і 0.5 мл 5 % розчину натрій гідроксиду. Поява вишнево-червоного забарвлення вказує на наявність карбофосу в досліджуваному розчині.

Реакція з реактивом Маркі. У фарфорову чашку вносять декілька мл хлороформного розчину досліджуваного препарату, який випаровують насухо. До сухого залишку додають 5-10 крапель реактиву Маркі. Поява оранжевого забарвлення, яке через деякий час переходить в темно-коричнєве, вказує на наявність карбофосу в досліджуваному розчині. Виконанню цієї реакції заважає емульгатор ОП-7, який міститься в технічних препаратах карбофосу і в деяких інших отрутохімікатах.

Виділення метафосу з біологічного матеріалу

Для цієї мети застосовують метод, який описаний для виділення карбофосу з біологічного матеріалу.

Виявлення метафосу

Реакція з о-діанізидином і натрій перборатом. В пробірку вносять 1 мл ацетонового розчину досліджуваної речовини, додають 0.5 мл 3% свіжоприготовані ацетонові розчини о-діанізидина і 2 мл 1.25 % свіжоприготованого розчину натрій перборату. Залежно від вмісту метафосу через 5-30 хв розчин набуває жовтого або червонуватого забарвлення. Якщо суміш реагуючих речовин довести до рН = 10...11, то чутливість реакції підвищується в 3-4 рази. Цю реакцію дають і інші фосфорвмісні органічні сполуки (хлорофос, фосфамід, тіофос і ін.).

Виділення карбарілу з біологічного матеріалу

100 г подрібненого біологічного матеріалу вносять в колбу місткістю 500 мл, додають воду до отримання кашеподібної маси, а потім додають 100 мл бензену. Вміст колби настоюють 4 год при періодичному збовтуванні. Після цього бензенову витяжку зливають з біологічного матеріалу, який ще 2 рази настоюють по 2 год з новими порціями бензену (по 50 мл). Бензенові витяжки сполучають і фільтрують через паперовий фільтр. Профільтровані об'єднані бензенові витяжки вносять в колбу, з якої під витяжною шафою на водяній бані відганяють бензен до невеликого залишку. Залишок бензену переносять з колби у порцелянову чашку, яку поміщують у витяжну шафу з ефективною тягою, і при кімнатній температурі бензен випаровують насухо. Сухий залишок розчиняють в 5 мл етилового спирту, отриманий розчин використовують для виявлення карбарілу.

Виявлення карбарілу

Реакція з пікриною кислотою. На предметне скло наносять краплю досліджуваного розчину, який випаровують насухо. До сухого залишку додають краплю 1 % розчину пікринової кислоти. Через 10-15 хв з'являються темно-жовті кристали, зібрані в пучки. При малому вмісті карбарілу в пробі кристали можуть з'являтися тільки через 5-10 год.

Реакція з 4-аміноантипірином. В пробірку вносять 1 мл спиртового розчину досліджуваної речовини і 0.5 мл аміачної буферної суміші. Пробірку закривають пробкою з повітряним холодильником і нагрівають на водяній бані (55-60°C) протягом 15 хв. Після охолодження рідини додають 3 краплі 0.5% розчину 4-аміноантипірину і 5 крапель розчину калій гексаціаноферрату (II). У присутності карбарілу з'являється оранжево-червоне забарвлення, яке при екстракції хлороформом переходить в органічну фазу. Цю реакцію дає і 1-нафтол.

Реакція з сумішшю купрум хлориду і натрій броміду. В пробірку вносять 1 мл спиртового розчину досліджуваної речовини і 0.4 мл 0.5 н розчину натрій гідроксиду. Пробірку закривають пробкою з повітряним холодильником і нагрівають на водяній бані (55 °C) протягом 10 хв. Після охолодження рідини до неї додають 0.5 н розчин хлоридної кислоти до рН = 5...6 і 1 мл свіжоприготованої суміші купрум хлориду і натрій натрію. Якщо в розчині присутній карбаріл, то при нагріванні рідини до 60 °C з'являється червоно-фіолетове або синьо-фіолетове забарвлення. При збовтуванні цієї рідини з хлороформом забарвлені сполуки переходить в шар органічного розчинника. Цю реакцію дає і 1-нафтол.

Метод хроматографії у тонкому шарі сорбенту (ТШХ)

Для аналізу пестицидів широко практикують ТШХ-метод. Він доступний, ефективний, дає можливість не тільки встановити належність досліджуваних речовин до ФОС або ХОС, але і зробити їх надійнішу ідентифікацію, включаючи нативні речовини та їх метаболіти. Розділення ХОС проводять, використовуючи різні системи розчинників і спільний проявник: водно-ацетоновий розчин аргентум аміакату і УФвипромінювання – спостерігаються сіро-чорні плями на хроматограмах. Як систему для аналізу ФОС найчастіше беруть суміш гексан – ацетон (4:1 або інші співвідношення розчинників).

Проявлення хроматограм проводять різноманітними реактивами: - молібденовим (за фосфором) – утворюються сині плями на білому тлі; - розчином 2,6-дибром-N-хлор-p-хіноніміну в циклогексані – утворюються жовті або коричневі плями при наявності сульфурвмісних пестицидів.

Виявлення метафосу та карбофосу методом ТШХ

На хроматографічну пластинку, покриту тонким шаром силікагелю, наносять краплю розчину досліджуваної речовини і краплю розчину «свідка» (0.01 % розчину карбофосу в хлороформі). Пластинку підсушують на повітрі, а потім вносять в камеру для хроматографування, насичену парами суміші гексану і ацетону (2 : 1). Після того, як система розчинників підніметься на пластинці на 10 см вище лінії старту, пластинку виймають з камери, підсушують на повітрі і обробляють розчином бромтимолового синього, що містить аргентум нітрат. Після підсушування пластинки на повітрі її вносять на 20 хв в термостат, нагрітий до 60 °С. Після чого пластинку охолоджують і для знебарвлення фону обприскують 10 % розчином ацетатної кислоти. За наявності карбофосу і ряду інших фосфоровмісних органічних сполук на жовтому фоні пластинки з'являються лілового кольору плями. Виявлення метафосу проводять аналогічно.

Питання до теми «ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЕКСТРАКЦІЄЮ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ОТРУТОХІМІКАТИ)».

1. Основні джерела та шляхи надходження отрутохімікатів у організм.
2. Класифікація отрутохімікатів.
3. Екотоксикологічна класифікація пестицидів за комплексом факторів.
4. ГХЦГ.
5. ДДТ.
6. Гептахлор.
7. Хлорофос.
8. Метафос.
9. Карбофос.
10. Карбаріл.
11. Блокування холін естерази, холінестеразна проба.
12. Виявлення фосфору у ФОС.
13. Неорганічні пестициди: властивості; надходження, метаболізм та виведення з організму; методи вилучення, виявлення та визначення.
14. Меркурійорганічні отрутохімікати: властивості; надходження, метаболізм та виведення з організму; методи вилучення, виявлення та визначення.
15. Пестициди похідні фенолів та карбамінової кислоти.

ТЕМА 5

ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ПІДКИСЛЕНОЮ ВОДОЮ АБО ПІДКИСЛЕНИМ СПИРТОМ

Лабораторна робота №8

ВИЯВЛЕННЯ РЕЧОВИН, ЩО ЕКСТРАГУЮТЬСЯ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ З КИСЛОГО РОЗЧИНУ (ПОХІДНІ САЛІЦИЛОВОЇ, БАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТ ТА ПІРАЗОЛОНУ)

Описані нижче якісні реакції вивчаються у водних або хлороформних розчинах (або сухому залишку).

ПОХІДНІ БАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ

Загальні реакції барбітуратів

Реакція з аміачним розчином кобальт нітрату або ацетату. Залишок досліджуваної речовини після видалення хлороформу розчиняють в 2 краплях абсолютного метилового спирту. Спиртовий розчин вбирають смужкою фільтрувального папірця, заздалегідь обробленого 1% розчином кобальт нітрату або ацетату в метиловому спирті і висушеного. Досліджуваний розчин повинен змочити не більш 1/3 «кобальтового папірця». Папірець висушують, а потім обкурюють парами амоніаку (підносячи до горла склянки, що містить концентрований NH_4OH). За наявності барбітуратів з'являється рожево-фіолетове забарвлення. При значних кількостях досліджуваної речовини можна виконати цю реакцію в іншій модифікації: до залишку після видалення хлороформу у парцеляновій чашці додають краплю свіжоприготованого аміачного розчину кобальт нітрату. За наявності барбітуратів з'являється червоно-фіолетове забарвлення.

Мурексидна проба. Розчин досліджуваної речовини в метиловому спирті поміщають у парцелянову чашку діаметром близько 5 см, спирт обережно випаровують, до залишку додають 0.1 мл розчину амоній хлориду, що містить сліди солі Мора і 0.1 мл 30% розчину гідроген пероксиду. Реакційну суміш перемішують і чашку нагрівають на газовому пальнику. Через 5 хвилин по краях сухого залишку з'являється рожеве або червоне забарвлення. Забарвлення стає інтенсивнішим при нанесенні на залишок краплі 25 % розчину амоніаку. Чутливість реакції різна для кожного з барбітуратів. В середньому вона складає 3-5 мг речовини в пробі.

Реакція переведення в ізонітрозобарбітурову кислоту. Залишок після видалення хлороформу (не менше 6-8 мг) поміщають у фарфорову чашку діаметром 8-9 см і додають 0.05 г NH_4OH і 10 мл 30 % розчину гідроген пероксиду. Чашку поміщають на киплячу водяну баню і нагрівають до отримання сухого залишку, періодично перемішуючи рідину скляною паличкою. Кінець процесу окиснення необхідно проводити обережно, щоб не пересушити осад. Отриманий залишок розчиняють при нагріванні на киплячій водяній бані в 3 мл води і по краплям додають розчин натрій сульфідру до утворення жовтого забарвлення, після чого рідину продовжують нагрівати на киплячій водяній бані ще 3-4 хвилини. Потім розчин підкисляють 0.5 н

хлоридною кислотою до $\text{pH}=3$ (по універсальному індикаторному паперу) і додають по краплям 10 % розчин натрій нітриту до появи пурпурного або рожевого забарвлення. Рідину знову нагрівають протягом 3 хвилин. Отриману каламутну рідину фільтрують, охолоджують і за допомогою 0.5 н розчину натрій гідроксиду підлужнюють до $\text{pH}=7.5 - 8$, після чого до розчину додають декілька кристалів ферум (II) сульфату. За наявності барбітуратів (окрім гексеналу) виникає інтенсивно синє забарвлення.

Реакція виділення кислотної форми барбітуратів. На предметне скло наносять декілька крапель хлороформного розчину досліджувані речовини, видаляючи хлороформ при кімнатній температурі. Наступну краплю наносять після випаровування попередньої. Сухий залишок розчиняють у краплі концентрованої сульфатної кислоти. Через 3-5 хвилин поряд з цією краплею поміщають одну краплю дистильованої води, після чого їх обережно сполучають за допомогою капіляра. Через 10-20 хвилин, а при малих кількостях барбітурату через 1-2 години спостерігають появу кристалічного осаду, характерного для кожного окремого барбітурату. Цю реакцію можна провести в інших модифікаціях: до сухого залишку на предметному склі додають одну краплю 10 % розчину амоніаку, а після розчинення залишку одну краплю 10 % розчину сульфатної кислоти; через 10-15 хвилин спостерігають характерні зростки кристалів. Замість 10 % розчину амоніаку можна додати кристали солі NaH_2PO_4 або NaHSO_4 . Через декілька хвилин спостерігають виділення кислотної форми барбітуратів.

Специфічні реакції барбітуратів.

Реакція з хлорцинкйодом. На залишок досліджуваної речовини на предметному склі (після видалення хлороформу) наносять краплю розчину хлорцинкйоду. Через 10-15 хвилин під мікроскопом спостерігають утворення кристалічних осадів. Якщо осад довго не утворюється, до крапель на біл предметному склі додають кристали йоду і знову через 10-15 хвилин розглядають під мікроскопом.

Реакція з залізойодидним комплексом. До сухого залишку на предметному склі додають одну краплю залізойодидного комплексу; через 10-15 хвилин спостерігають утворення характерних зростків кристалів. Якщо кристалічний осад виходить дуже рясним, реакційну суміш обережно випаровують на предметному склі на полум'ї спиртівки, а до сухого залишку додають потім краплю дистильованої води. Через 10-15 хвилин знову розглядають під мікроскопом.

Реакція з міднойодидним комплексом. До сухого залишку досліджуваної речовини на предметному склі додають одну краплю міднойодидного комплексу. Через 10-15 хвилин спостерігають утворення кристалічних осадів.

Реакція з міднопіридиновим реактивом. До сухого залишку на предметному склі додають 2 краплі 10 % розчину амоніаку і 1-2 краплі міднопіридинового реактиву. Через 10-15 хвилин спостерігають під мікроскопом зростки кристалів фіолетового кольору.

Виявлення саліцилової кислоти та її похідних

Попередні проби

Реакція з реактивом Тріндлера. До 1 мл сечі додають 2-3 краплі реактиву Тріндлера. Поява пурпурного забарвлення вказує на наявність саліцилової кислоти в сечі. Реакція з ферум (III) нітратом. До 0.5 мл сечі чи плазми крові додають 4.5 мл 0.55 % розчину ферум (III) нітрату у 0.04 н розчині нітратної кислоти. Поява пурпурного забарвлення вказує на наявність саліцилової кислоти у досліджуваних об'єктах.

Реакція з ферум (III) хлоридом. Декілька крапель хлороформної витяжки, що містить саліцилову кислоту, вносять у фарфорову чашку і випаровують насухо. До сухого залишку додають краплю 1 % свіжоприготованого розчину ферум (III) хлориду. При цьому з'являється синьо-фіолетове забарвлення, не зникаюче від додавання 2-3 крапель пропілового (етилового) спирту.

Реакція утворення метилсаліцилату. Декілька крапель хлороформної витяжки вносять в пробірку. При слабому нагріванні пробірки на водяній бані рідину випаровують насухо. До сухого залишку додають 2 краплі метилового спирту і 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки нагрівають на водяній бані. Поява характерного запаху метилсаліцилату вказує на наявність саліцилової кислоти в досліджуваній пробі.

Виявлення антипірину та його похідних

Реакція з натрій нітритом та сульфатною кислотою. В пробірку вносять 3-5 мл хлороформної витяжки, яку на водяній бані випаровують насухо. Сухий залишок розчиняють в 3-5 краплях води, додають 2-4 краплі 10 % розчину сульфатної кислоти і 2-3 краплі насиченого розчину натрій нітриту. За наявності антипірину з'являється зелене забарвлення. Анальгін дає зеленувато-синє забарвлення, яке зникає.

Реакція з ферум (III) хлоридом. У фарфорову чашку вносять декілька крапель хлороформної витяжки, яку випаровують насухо. До сухого залишку додають краплю 5 % розчину ферум (III) хлориду. За наявності антипірину з'являється криваво-червоне або оранжево-червоне забарвлення. Анальгін дає червоно-фіолетове забарвлення.

Лабораторна робота №9

АЛКАЛОЇДИ

Аналіз витяжки із об'єктів дослідження на наявність отруйних речовин кислотного, нейтрального, слабоосновного і основного характеру проводять за допомогою осадових і кольорових (крапельних і пробіркових) реакцій. Для цього відповідну кількість хлороформної витяжки вносять на предметні скла (для виконання осадових реакцій), заглиблення у фарфорових пластинках, у фарфорові чашки, або пробірки (для виконання кольорових реакцій) і випаровують насухо. Сухі залишки розчиняють і проводять реакції з відповідними реактивами.

Виконання реакцій осадження з реактивами загального осадження алкалоїдів

Для вивчення реакцій осадження використовують реактиви, які утворюють з алкалоїдами прості або комплексні солі: танін, пікринову кислоту і реактиви, які утворюють з алкалоїдами комплексні солі, які в свою чергу розподіляються на дві підгрупи: а) реактиви, які вміщують в своєму складі металоїди: розчин йоду у калій йодиді, фосфорно-молібденову (реактив Зонненшейна), фосфорно-вольфрамову (реактив Шейблера) кислоти; б) реактиви, які вміщують в своєму складі метали: реактив Марме, реактив Майєра, реактив Драгендорфа.

Методика. Декілька крапель модельної витяжки наносять на предметне скло і при кімнатній температурі випаровують насухо. Сухий залишок на предметному склі розчиняють в 1-2 краплях 0.01 н розчину хлоридної кислоти. Поряд з цим розчином на предметне скло наносять краплю одного із реактивів групового осадження алкалоїдів. Краплі з'єднують між собою за допомогою скляної палички. Поява осаду або каламуті вказує на наявність в досліджуваному розчині алкалоїдів або інших нітрогенвмісних органічних речовин. Для надійної ідентифікації необхідно отримати позитивний результат з двома загально осадовими реактивами.

Виконання кольорових реакцій

Для виявлення алкалоїдів та інших нітрогенвмісних сполук застосовують кольорові реакції. Реактиви, які застосовуються для виявлення алкалоїдів за допомогою кольорових реакцій, належать до сполук різних хімічних класів. З цією метою застосовують концентровані сульфатну і нітратну кислоти, а також суміші концентрованої сульфатної кислоти з іншими сполуками: реактив Ердмана (суміш концентрованої нітратної і сульфатної кислот), реактив Манделіна (концентрована сульфатна кислота, яка містить ванадієву кислоту), реактив Маркі (концентрована сульфатна кислота, яка містить формальдегід), реактив Фреде (концентрована сульфатна кислота, яка містить молібденову кислоту) та ін. Кольорові реакції є високочутливими, але не специфічними.

Методика. Частину модельної витяжки вносять у фарфорові чашки або заглиблення на фарфорових пластинках. Хлороформ випаровують насухо. На сухі залишки наносять по краплі відповідних реактивів. Забарвлення деяких отрут зі вказаними реактивами наведені у довідниках.

Крім перерахованих вище реактивів, які дають відповідне забарвлення з алкалоїдами і іншими речовинами цієї групи отрут, для виявлення отруйних речовин в хіміко-токсикологічному аналізі використовують також інші реакції, які потребують спеціальних умов виконання. Ці реакції для виявлення відповідних токсичних речовин описані нижче.

Дослідження хлороформної витяжки з кислого середовища

Похідні пурину (кофеїн)

Реакція утворення мурексиду. До сухого залишку в фарфоровій чашці, одержаного після випаровування хлороформної витяжки, додають 0.5 мл бромної води або концентрованої нітратної кислоти. Розчин випаровують на водяній бані насухо. Операцію обробки залишку окисником і випаровування повторюють. До отриманого залишку, забарвленого в буруватий колір, додають

краплю концентрованого розчину амоніаку. Поява пурпурового або фіолетового кольору свідчить про наявність похідних ксантину.

Реакція з реактивом Неслера. При нагріванні реакційної суміші утворюється червоно-бурий осад.

Похідні індолу(стрихнін, бруцин)

Реакція з калій дихроматом і сульфатною кислотою (на стрихнін). У фарфорову чашку вносять 10 крапель хлороформного розчину з модельної витяжки, яка містить досліджувану речовину. Хлороформ випаровують насухо. До сухого залишку додають краплю 80 % розчину сульфатної кислоти. Вміст фарфорової чашки перемішують скляною паличкою і вносять кристалик калій дихромату. При перемішуванні утворюються синьофіолетові струміні.

Реакція з концентрованою нітратною кислотою і станум (II) хлоридом (на бруцин). До залишку, отриманого після випаровування модельної хлороформної витяжки додають 3-5 крапель концентрованої нітратної кислоти. При наявності бруцин хлориду з'являється червоне забарвлення, яке переходить у жовте. Якщо до цього розчину додати декілька крапель розчину станум (II) хлориду з'являється фіолетове забарвлення.

Дослідження хлороформної витяжки з лужного середовища

Похідні тропану (атропін)

Реакція Віталі-Морена. У фарфорову чашку вносять декілька крапель модельної витяжки і випаровують насухо. До сухого залишку додають 1 мл концентрованої нітратної кислоти, яку випаровують на киплячому водяному 65 нагрівнику насухо і одержують жовтий сухий залишок. На сухий залишок наносять 2-4 краплі ацетону, поряд наносять 1-2 краплі 10 % спиртового розчину калій гідроксиду і з'єднують ці розчини. Утворюється фіолетове забарвлення.

Похідні хіноліну (хінін)

Флуоресцентна проба. Сухий залишок, одержаний після випаровування частини хлороформної витяжки обробляють у фарфоровій чашці 2-3 мл 1 н розчину сульфатної кислоти. Отриманий розчин виливають у пробірку і розглядають в УФ-світлі. Спостерігають фіолетову флуоресценцію.

Реакція утворення талейохіну (талейохінна проба). Сухий залишок обробляють декількома краплями води. До розчину додають краплями бромну воду до слабо-жовтого забарвлення, після чого додають декілька крапель розчину амоніаку. Утворюється зелене забарвлення.

Похідні ізохіноліну (морфін, кодеїн, папаверин)

Реакція з реактивом Маркі. До сухого залишку на фарфоровій пластинці додають 2 краплі реактиву Маркі. Утворюється червоно-фіалкове забарвлення.

Реакція Пелагрі (морфін, кодеїн). У пробірку вносять декілька крапель модельної хлороформної витяжки, яку випаровують насухо. До сухого залишку додають 1-2 краплі концентрованої хлоридної кислоти і 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Суміш нагрівають на киплячій водяній

бані 15 хвилин, охолоджують і додають 3 мл води. При утворенні осаду його розчиняють в хлоридній кислоті. Одержаний розчин нейтралізують 10 % розчином натрій карбонату і додають 3 краплі спиртового розчину йоду. З'являється зелене забарвлення. Якщо до суміші додати діетиловий етер, то органічна фаза забарвиться в червоний колір.

Реакція з ферум (III) хлоридом (морфін). До сухого залишку додають 2 краплі свіжовиготовленого 2 % водного розчину ферум (III) хлориду. З'являється блакитне (синє) забарвлення.

Похідні піридину та піперидину (нікотин, анабазин)

Реакція з реактивом Драгендорфа. На предметне скло наносять 2-3 краплі хлороформного розчину досліджуваної речовини і випаровують насухо. До сухого залишку додають краплю 0.1 н розчину хлоридної кислоти і краплю реактиву Драгендорфа. Предметне скло вносять у вологу камеру на 20-30 хв, а потім продукт реакції розглядають під мікроскопом. Поява 6-8 зростків, що складаються з оранжево-червоних кристалів, що мають голчасту форму, вказує на наявність анабазину в досліджуваному розчині. З реактивом Драгендорфа кристалічні осад дає і нікотин та ряд інших нітрогенвмісних речовин. Проте форма кристалів анабазину з реактивом Драгендорфа відрізняється від форми кристалів інших речовин.

Реакція з сіллю Рейнеке. На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини і випаровують насухо. До сухого залишку додають краплю 0.01 н розчину хлоридної кислоти і краплю 1 % свіжовиготовленого розчину солі Рейнеке. За наявності анабазину в пробі через декілька хвилин під мікроскопом спостерігаються зростки, що складаються з дрібних голчастих кристалів, які дещо збільшуються при стоянні. Реакцію з сіллю Рейнеке дає і нікотин, але форми кристалів відрізняються.

Реакція з пікриновою кислотою. До краплі досліджуваного розчину додають 2 краплі насиченого розчину пікринової кислоти. За наявності анабазину в розчині випадає жовтий кристалічний осад. Нікотин не дає цієї реакції.

Реакція з реактивом Бушарда. До 2-3 крапель досліджуваного розчину додають краплю реактиву Бушарда. За наявності анабазину випадає червонобурий осад. Цю реакцію дає і нікотин.

Реакція з пергідролем. В пробірку вносять 1 мл досліджуваного розчину, 1 мл пергідролу і 2-3 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Поява червоного або шоколадно-коричневого забарвлення указує на присутність анабазину в розчині. Цю реакцію дає і нікотин.

Реакція з формальдегідом. На предметне скло або на краплинну пластинку наносять 1-2 краплі досліджуваного розчину і 2 краплі 4 % водного розчину формальдегіду. Суміш нагрівають, потім додають краплю концентрованої нітратної кислоти. У присутності нікотину розчин набуває червоного або рожевого забарвлення. Анабазин не дає цієї реакції.

Ациклічні алкалоїди (фенілалкіламіни)

Реакція з нінгідрином. До 2 мл розчину, отриманого після розчинення сухого залишку, додають 1 краплю 1 % розчину нінгідрину і 1 краплю 1 %

розчину натрій карбонату. Суміш нагрівають, а потім охолоджують. Після цього додають 2 мл амілового спирту. При наявності ефедрину розчин забарвлюється у синьо-фіалковий колір, ефедрону – фіалковий колір, амфетаміну та метамфетаміну – рожево-помаранчевий колір.

Реакція з реактивом Маркі. На сухий залишок наносять реактив Маркі. За наявності амфетаміну спостерігають помаранчеве забарвлення, що переходить поступово в коричневе, а за наявності метамфетаміну спостерігають жовто-зелене забарвлення.

Експрес-аналіз похідних амфетамінів

Аналіз проводиться із зразками вилучених речових доказів (пігулки, порошки, капсули і тому подібне).

Виявлення з реактивом Маркі. На досліджуваний зразок наносять реактив. Спостерігають появу забарвлення (кольори продуктів, що утворюються, описані раніше).

Реакція з концентрованою сульфатною кислотою. Характерного фарбування не утворюють амфетамін і метамфетамін. Реакція використовується для відмінності амфетаміну і метамфетаміну від інших похідних.

Реакція з реактивом Сімона. При додаванні до випробовуваного зразка 1 краплі суміші рівних об'ємів 10 % розчину ацетальдегіду і 1% розчину натрій нітропрусиду, а потім 2 крапель 2 % розчину натрій карбонату у присутності метамфетаміну з'являється блакитне забарвлення.

Реакція з модифікованим реактивом Сімона. При додаванні до зразка 1 краплі 1 % розчину натрій нітропрусиду в 5 % водному розчині ацетону і 1 краплі 2 % розчину натрій карбонату у присутності амфетаміну з'являється пурпурне забарвлення.

Результатам реакцій експрес-аналізу можна надати судово-хімічне значення тільки при отриманні негативного результату у зв'язку з їх неспецифічністю. Позитивний результат реакцій вимагає підтвердження за допомогою фізико-хімічних методів.

Лабораторна робота №10

ПОХІДНІ N-АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ (ПАБК), ФЕНОТІАЗИНУ, 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ

Похідні ПАБК.

Реакція діазотування. До досліджуваного розчину додають 1 % розчин хлоридної кислоти, а потім по краплях додають 1 % розчин натрій нітриту до тих пір, поки не почне забарвлюватися (в синій колір) йодкрохмальний папірець. Через 5 хвилин рідину підлужують 2 % розчином натрій гідроксиду до лужної реакції і додають лужний розчин β-нафтолу.

Реакція Віталі-Морена. У фарфорову чашку вносять декілька крапель досліджуваного розчину і випаровують насухо. До сухого залишку додають 1 мл концентрованої нітратної кислоти, яку випаровують на киплячій водяній бані насухо. На сухий залишок наносять 2-4 краплі ацетону, поряд наносять 1-2

краплі 10 % спиртового розчину калій гідроксиду і з'єднують ці розчини. Утворюється відповідне забарвлення.

Реакція з реактивом Драгендорфа. При додаванні до сухого залишку краплі реактиву Драгендорфа утворюється осад, що складається з прямокутних пластинок червоно-бурого кольору (новокаїн), або ромбовидних пластинок (новокаїнамід). \

Похідні фенотіазіну

Попередня проба на наявність похідних фенотіазіну в сечі. До 1 мл сечі додають 1 мл реактиву ФНП. Поява рожево-червоного забарвлення вказує на наявність аміназину. При наявності дипразину – рожеве забарвлення, тизерцину – синьо-фіолетове.

Виявлення похідних фенотіазіну за допомогою хімічних реакцій (кольорові реакції). Частину хлороформної витяжки вносять у ряд фарфорових чашок і випаровують до сухих залишків. До вказаних залишків додають відповідні реактиви і проводять такі реакції:

- з розчином ферум (III) хлоридом;
- з концентрованою сульфатною кислотою;
- з концентрованою нітратною кислотою;
- з концентрованою хлоридною кислотою
- з реактивом Маркі;
- з реактивом Манделіна;
- з бромною водою.

Після проведення кольорових реакцій, проводять порівняння результатів з результатами у контрольних пробах. Похідні фенотіазіну дають осад з більшістю загально алкалоїдних осаджувальних реактивів.

Похідні 1,4-бензодіазепіну

Попередня проба на наявність нітразепаму в сечі. Нітразепам можна виявити в сечі у незміненому вигляді і у вигляді 7-амінопохідних та 7-ацетиламінопохідних, які є його метаболітами. Для цього 5 мл сечі підлучують амоніаком до рН=10 і додають 250 мг натрій дитіоніту. Суміш збовтують протягом 10 хвилин, а потім нагрівають при 50 °С протягом години і охолоджують. Охолоджену рідину 10 хвилин збовтують з 10 мл суміші, яка складається з рівних об'ємів метиленхлориду і етилацетату. Органічну фазу відокремлюють і збовтують з 10 мл 5 % розчину натрій тетраборату. Водну фазу відділяють від фази органічних розчинників. Фазу органічних розчинників збовтують з 5 мл 0.2 н розчину хлоридної кислоти і кислий водний розчин відокремлюють від фази органічних розчинників. До 4 мл охолодженої кислій водної фази додають 0.2 мл 0.4 н розчину натрій нітриту. Через 5 хвилин до цієї проби додають 0.2 мл 2 % розчину амоній сульфамінату. Рідину добре перемішують і залишають на 5 хвилин, а потім додають 0.2 мл 0.4 % розчину N-α-нафтилетилендіаміну дигідрохлориду. При наявності нітразепаму в сечі з'являється вишнево-червоне забарвлення.

Виявлення похідних 1,4-бензодіазепіну за допомогою хімічних реакцій (кольорові реакції). Хлороформну витяжку (1 мл) вносять порівно у ряд

фарфорових чашок і випаровують до сухих залишків. До вказаних залишків додають відповідні реактиви (по 2 краплі) і проводять такі реакції:

- реакція з нінгідрином;
- реакція з реактивом Маркі;
- реакція з реактивом Фреде;
- реакція з реактивом Манделіна;
- реакція з реактивом Цімермана.

Після проведення кольорових реакцій, проводять порівняння результатів з результатами у контрольних пробах. Похідні 1,4-бензодіазепіну дають осад з більшістю загальноалкалоїдних осаджувальних реактивів.

Флуоресцентна проба. 0.5 мл хлороформної витяжки випаровують насухо. До сухого залишку додають концентрованої сульфатної кислоти. При опроміненні утвореного жовто-зеленого продукту реакції УФ світлом ($\lambda = 254$ нм) спостерігається флуоресценція, за допомогою якої можна розрізнити речовини даної групи.

Питання до теми «ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ВИЛУЧАЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ПІДКИСЛЕНОЮ ВОДОЮ АБО ПІДКИСЛЕНИМ СПИРТОМ».

1. Ізолювання та очистка лікарських отрут.
2. Методи Васильєвої та Стаса-Отто. Методи Крамаренка, Валова, Попової.
3. Методи Соломатіна, Карташова, Ізотова.
4. Методи виділення отруйних речовин із біологічного матеріалу підкисленою водою та підкисленим спиртом.
5. Недоліки методу виділення отруйних речовин із біологічного матеріалу підкисленим спиртом.
6. Вплив рН середовища на ізолювання з біологічного матеріалу речовин кислотного і основного характеру.
7. Способи очистки водної витяжки з біологічного матеріалу від білкових домішок.
8. Значення рН середовища на етапах виділення отруйних речовин з біологічного матеріалу: ізолювання, очистка витяжки і екстракційне виділення досліджуваних речовин з витяжки.
9. Роль природи екстрагентів при очистці витяжки, одержаної з біологічного матеріалу за допомогою екстракції.
10. Вплив рН середовища і електролітів на ступінь екстракції речовин кислотного і основного характеру із водних розчинів.
11. Основні закономірності поведінки похідних барбітурової кислоти в організмі, шляхи потрапляння, розподіл, нагромадження, метаболізм, шляхи виведення.
12. Загальні та специфічні реакції виявлення барбітуратів.
13. Барбаміл.
14. Барбітал.
15. Фенобарбітал.
16. Натрій етамінал.
17. Бензонал, гексанал.

18. Саліцилова кислота.
19. Ацетилсаліцилова кислота (аспірин).
20. Натрій саліцилат, метилсалісилат, саліциламід.
21. Амідопірин.
22. Антипірин.
23. Анальгін.
24. Бутадіон.
25. Реактиви групового осадження алкалоїдів.
26. Кофеїн.
27. Теофілін. Теобромін.
28. Стрихнін. Бруцин.
29. Резерпін.
30. Нікотин. Анабазин.
31. Пахікарпін. Атропін. Скополамін.
32. Кокаїн.
33. Хінін.
34. Морфін. Кодеїн.
35. Алкалоїди опію та синтетичні аналоги і замінники морфіну.
36. Ефедрин. Ефедрон.
37. Амфетамін. Метамфетамін.
38. LSD.
39. Діазепам. Нітразепам. Оксазепам.
40. Канабіноїди. Способи вживання. Метаболізм. Виявлення канабіноїдів.

ДОДАТКИ 1.

Приклад акту судово-токсикологічного дослідження

Акт судово-токсикологічного дослідження № ____

Згідно з направленням судово-медичного експерта _____ (прізвище та ініціали) бюро судово-медичної експертизи _____ (якої області) від « » _____ 20__ року у судово-токсикологічному відділенні вказаного бюро судово-медичної експертизи судово-медичним експертом-токсикологом _____ проведене (прізвище та ініціали) судово-токсикологічне дослідження печінки, нирок, вмісту шлунка і крові трупа _____ (прізвище та ініціали)

Розпочато дослідження « » _____ 20__ року

Закінчено дослідження « » _____ 20__ року

Обставини справи Згідно з надісланими разом з органами трупа матеріалами, громадянин _____ « » _____ 20__ року о 18 годині (прізвище та ініціали покійника) прийшов додому в нетверезому стані, з шафи, в якій знаходились предмети домашнього вжитку (у тому числі й деякі медикаменти), він узяв кілька таблеток, випив їх, потім відчувши себе погано вирішив промити шлунок. Приблизно через годину він втратив свідомість. Викликана швидка медична допомога забрала його до лікарні для надання необхідної медичної допомоги. Незважаючи на надану медичну допомогу, о 23-й годині того ж дня він помер у лікарні. Наступного дня у моргу було проведено розтин трупа покійника. Печінка, нирка, шлунок з вмістом і кров трупа направлені до судово-токсикологічної лабораторії на дослідження.

Характеристика об'єктів дослідження З направленням судово-медичного експерта в судово-токсикологічну лабораторію на дослідження надійшли такі об'єкти:

1. Скляна банка місткістю 1000 мл з куском печінки.

На банці наклеєна етикетка з білого паперу з написом: «Печінка трупа _____». (прізвище покійника)

2. Скляна банка місткістю 1000 мл з подрібненою масою. На банці наклеєна етикетка з білого паперу, на якій фіолетовим чорнилом написано: «Вміст шлунка трупа _____». (прізвище покійника)

3. Скляна банка місткістю 500 мл з білою паперовою етикеткою, на якій 82 фіолетовим чорнилом написано: «Нирка трупа _____». (прізвище покійника)

4. Скляна банка місткістю 200 мл з густою рідиною червоного кольору. На банці наклеєна етикетка з білого паперу, на якій фіолетовим чорнилом написано: «Кров трупа _____». (прізвище покійника).

Усі надіслані на дослідження банки з вмістом позначені нами відповідними номерами. Усі банки були закриті пластмасовими кришками. Верхня частина банок з кришками обгорнута пергаментним папером, щільно обв'язаним шпагатом. Кінці шпагату на картоні опечатані сургучевою печаткою з чітким відбитком. При зовнішньому огляді надісланих об'єктів пошкоджень упаковок не виявлено.

Після відкриття надісланих на дослідження банок з вмістом встановлено: 1. У склянці, позначеній нами № 1, знаходилось 276 г печінки червоно-бурого кольору без особливого запаху. 2. У скляній банці № 2 знаходилось 205 г вмісту шлунка бурого кольору з характерним запахом етилового спирту. Рідка фаза вмісту шлунка мала $pH = 4.1$. 3. У скляній банці № 3 знаходилось 185 г нирки, яка не мала особливого запаху. 4. У скляній банці № 4 знаходилось 86 мл крові, яка мала $pH = 7.1$ і не мала характерного запаху.

Реактиви для виявлення алкалоїдів та інших нітрогеновмісних сполук
Загально алкалоїдні осаджувальні реактиви та спеціальні реактиви при якісному виявленні алкалоїдів

1. Реактив Люголя, Вагнера (Бушарда): $KI \cdot nI_2$ (KI_3)
2. Реактив Драгендорфа: $nKI \cdot BiI_3$
3. Реактив Майєра (Неслера): $nKI \cdot HgI_2$ (K_2HgI_4)
4. Реактив Марме: $nKI \cdot CdI_2$
5. Реактив Зонненшейна: $H_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot 2H_2O$
6. Реактив Шейблера: $H_3PO_4 \cdot 12WO_3 \cdot 2H_2O$
7. Сіль Рейнеке $NH_4[Cr(NH_3)_2(SCN)_4]$
8. Насичений розчин пікринової кислоти .
9. Свіжоприготовлений 5% розчин таніну.

Реактиви для виконання кольорових реакцій

1. H_2SO_4 (конц.)
2. HNO_3 (конц.)
3. Реактив Ерדмана: H_2SO_4 (конц.) + HNO_3 (конц.)
4. Реактив Фреде: $(NH_4)_2Mo_2O_7 + H_2SO_4$ (конц.)
5. Реактив Маркі: $CH_2O + H_2SO_4$ (конц.)
6. Реактив Манделіна H_2SO_4 (конц.) + NH_4VO_3

Рекомендована література

Основна:

1. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / С. В. Баюрка [та ін]. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. 384 с.
2. Кучер М.М., Галькевич І.Й. Газорідинна хроматографія в аналізі ліків та отрут. Том 1. Теоретичні основи методу. Львів: ЛНМУ, 2011. 236 с.
3. Лікарська токсикологія: підручник-довідник / Г. В. Белік [та ін]. Харків .: Титул, 2015. 592с.
4. Ніженковська І.В., Вельчинська О.В., Кучер М.М. Токсикологічна хімія: підручник. Київ: «Медицина», 2020, 372 с.
5. Токсикологічна хімія в схемах і таблицях : навч. Посіб. Для студентів вищ. Навч. Закл. / В.С. Бондар, [та ін.]. Х. : Вид-во нфау : Золоті сторінки, 2005. 128 с.
6. Токсикологічна хімія: навч.-метод. посіб. для студентів фармац. ф-ту заочної форми навчання / уклад. О.І.Панасенко [та ін.]. Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. 235 с.
7. Токсикологічна хімія: підручник / Ніженковська І.В., Вельчинська О.В., Кучер М.М. Київ: ВСВ «Медицина», 2012. 372 с.
8. Панасенко О.І., Каплаушенко А.Г., Самура Б.А., Кучер М.М. та ін. Загальна характеристика токсичних речовин, діагностика і лікування за гострих отруєнь. Київ, 2012. 394 с.
9. Шевряков М.В. Основи токсикологічної хімії. Херсон: Олді+, 2020. 224 с.
10. Токсикологічна хімія харчових продуктів та косметичних засобів:підручник / С.А.Воронов, Ю.Б. Стецишин, Ю.В. Панченко, В.П. Васильєв; за ред. проф. С.А. Воронова. Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2010. 316 с.

Додаткова:

1. Бражко О. А., Генчева В. І., Корнет М. М. Modern Aspects Of Drugs Creation Based On QuS-Program Development. Pira: LAP Lambert, 2020. 72 с. URL: <https://www.morebooks.de/store/ru/book/modern-aspects-of-drugs-creation-based-on-qus-program-development/isbn/978-620-2-92319-4>.
2. Галькевич І.Й, Кучер М.М., Туркевич О.Д. Токсикологічна хімія. Методичні вказівки до лабораторних занять та контрольних робіт. Львів: ЛНМУ, 2006. 128 с.
3. Завальнюк А.Х., Кривда Г.Ф., Юхимець І.О. Отрути та отруєння: судово-медичний аспект. Одеса: Астропринт, 2009. 256 с.
4. Загальна характеристика токсичних речовин, діагностика і лікування за гострих отруєнь. / Панасенко О.І., Каплаушенко А.Г., Самура Б.А. та ін. Запоріжжя: Карат, 2011. 432 с. Фармакологія: Підручник для студентів медичних факультетів / Чекман І.С., Горчакова Н.О., Казак Л.І. та ін./ Видання 3-є. Вінниця: Нова Книга, 2016. С. 33 – 42; 44-65.

5. Клінічна фармакологія з токсикологією. Програма для вищих медичних навчальних закладів I–IV рівнів акредитації за спеціальністю 6.120101 «Сестринська справа» / М.Б.Шегедин, М.Й. Перетятко, І.С. Смачило. Київ: Медицина, 2010. 47 с.
6. Токсикологічна хімія: Конспект лекцій / В.С. Бондар, О.О. Маміна, С.А. Карпушина та ін. Харків: Вид-во НФаУ, Золоті сторінки, 2002. 160 с.
7. Environmental Health. From global to local / under Howard Frumkin edition. 3-rd edition. San-Francisco, 2016. 560 p.
8. Masoodi K. Z., Lone S. M., Rasool R. S. Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology : A Practical Lab Manual. London : Academic Press, 2021. 186 p.

Інформаційні ресурси

1. <http://www.dec.gov.ua/index.php/ua/informatsijno-poshukova-sistema-elektronnij-formulyar>.
2. <https://compendium.com.ua/> <https://pharmtox-j.org.ua>.
3. Медична екологія. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B0_%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%B%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F.
4. ПРОМИСЛОВА ТОКСИКОЛОГІЯ: ОСНОВНІ НАПРЯМИ . URL: ua.ujoh.org › INDUSTRIAL-TOXICOLOGY-M.
5. Профілактична токсикологія та медична екологія. URL: <http://www.dovkil-zdorov.kiev.ua/env/58-0077.pdf>.
6. Українська бібліотечна асоціація : список бібліотечних блогів. URL: <http://ula.org.ua/bibliomist/resursi/bibliotechni-blogi>.
7. Науковий фонд. URL: http://cordis.europa.eu/fp7/jrc/home_en.html.
8. Науковий фонд. URL: www.CRDF.org.
9. Науковий фонд. URL: www.nato.int/science.
10. Поняття про методологію досліджень. URL: <http://www.info-library.com.ua/books-text-3027.html>.

Навчально-методичне видання
(українською мовою)

Бражко Олександр Анатолійович
Генчева Вікторія Іванівна

ТОКСИКОЛОГІЧНА ХІМІЯ

Методичні вказівки до лабораторних занять
для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»

Рецензент *М.М. Корнет*
Відповідальний за випуск *Л.О. Омелянчик*
Коректор *В.В. Перетяцько*