

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Медичний факультет

**Кафедра гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з
курсом судової медицини**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

01 вересня 2025 року

МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА
ДО ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«ТОКСИКОЛОГІЧНА ТА СУДОВА ХІМІЯ»
ДЛЯ ЗДОБУВАЧІВ 4 КУРСУ

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)

Галузь знань: 22 «Охорона здоров'я»

Спеціальність: 226 «Фармація, промислова фармація»

Освітньо-професійна програма: «Фармація, промислова фармація»

Затверджено:

на засіданні кафедри гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з курсом судової медицини Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від «27» серпня 2025р.

Завідувачка кафедри

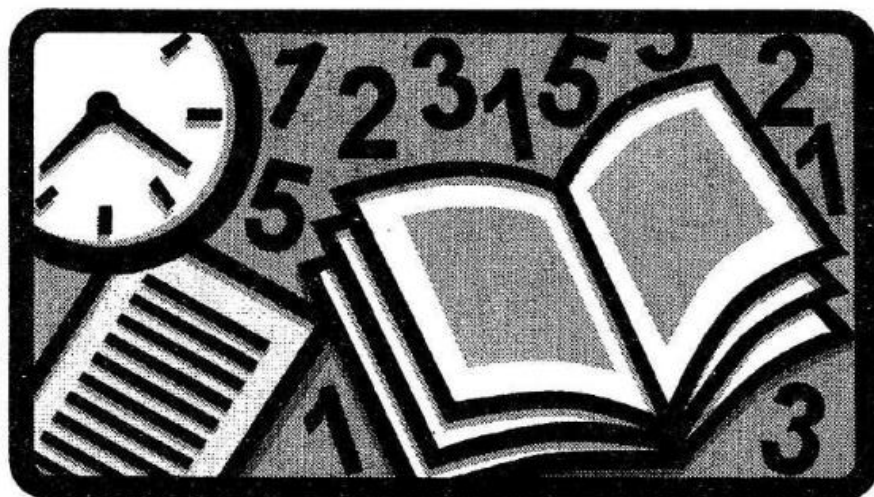


Варвара СИТНІКОВА

Розробники:

Анненкова Ірина Петрівна, д.пед.н., професор;
Кривда Григорій Федорович, д. мед.н., професор;
Яворський Борис Ігорович, к. мед.н., доцент;
Ларсон Лариса Миколаївна, асистент

РОБОЧИЙ ЖУРНАЛ
З ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ТА СУДОВОЇ
ХІМІЇ
СТУДЕНТА (ТКИ) КУРСА ГРУПИ



ПРАВИЛА РОБОТИ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ В ЛАБОРАТОРІЇ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ТА СУДОВОЇ ХІМІЇ

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ

1. Усі роботи в лабораторії необхідно проводити в спеціальному одязі: халатах, ковпаках та косинках.
2. Працювати необхідно акуратно, піклуючись про те щоб не вносити забруднень в реактиви, що використовуються в хіміко-токсикологічному аналізі.
3. Виходячи зі специфіки токсикологічної хімії і цінності реактивів, що використовуються, прагнути вивчати якісні реакції з найменш можливими кількостями і об'ємами їх розчинів, використовуючи для реакцій переважно предметними і часовими скельцями, порцеляновими пластинками, чашечками і тиглями.
4. При виконанні досліджень в пробірках забороняється нагрівання їх змісту на відкритому вогні газового пальника, тому що при цьому є ймовірність викиду гарячої рідини з подальшим ураженням очей, шкіри обличчя та рук. Нагрівання пробірок з розчинами необхідно виконувати на водяній бані, направляючи отвір пробірки від себе і від інших працюючих, постійно помішуючи зміст пробірки шляхом обережного струшування.
5. Усі роботи з речовинами, під час яких утворюються небезпечні для організму гази і сполуки з неприємним запахом, необхідно виконувати під витяжною шафою. Категорично забороняється працювати з вказаними речовинами на робочому місці!
6. Щоб запобігти псуванню каналізаційної системи в лабораторії, розчини кислот, лугів, та інших агресивних речовин необхідно зливати в спеціально відведений для цього посуд. Розчини йодидів, сполук аргентуму та меркурія слід зливати в окремі ємності.
7. На робочому місці забороняється, мати особисті речі, окрім учбових посібників та робочого журналу.
8. Під час виконання роботи і після її завершення необхідно слідкувати за чистотою рук. Їх рекомендують мити спочатку водою, а потім водою з милом.
9. Після роботи необхідно вимити і поставити на місце використаний посуд, реактиви, вимкнути прилади!

ПРАВИЛА РОБОТИ З ТОКСИЧНИМИ РЕЧОВИНАМИ І БІОЛОГІЧНИМ МАТЕРІАЛОМ

1. При роботі з отруйними, сильнодіючими речовинами і біологічним матеріалом слід суворо дотримуватись заходів особистої профілактики та обережності:
 - а) не торкатися отрути і біологічного матеріалу незахищеними руками;
 - б) не зберігати і не приймати їжу і воду в місцях зберігання і роботи з отруйними речовинами і біологічним матеріалом.

2. При роботі з концентрованими кислотами і лугами необхідно дотримуватись обережності, слідкувати, щоб вони не потрапили на одяг і шкіру.
3. При розведенні концентрованої сульфатної кислоти необхідно обережно доливати кислоту до води, а не навпаки.
4. Луги, які знаходяться в твердому стані (калію гідроксид, натрію гідроксид), необхідно набирати із ємності за допомогою пінцету або шпателя, а подрібнення шматочків виконувати в спеціальних захисних окулярах, бо дрібні шматочки, що можуть відлітати, дуже небезпечні для очей і волосся.
5. Розбавленні розчини кислот та лугів також небезпечні для очей і шкіри, тому при роботі з ними необхідно дотримуватись обережності.
6. З біологічним матеріалом необхідно:
 - а) працювати в гумових рукавицях;
 - б) усі потенційно заражені матеріали, що були використані при лабораторних дослідженнях, знезаражувати. Приміщення і обладнання одразу після закінчення роботи протерти 3% розчином хлораміну Б або 3% освітленим розчином хлорного вапна;
 - в) захисний одяг (халати, косинки, шапочки, ватно-марлеві маски, рукавиці) прокип'ятити в 2% розчині соди або в будь-якому миючому засобі протягом 30 хв, або помістити на 2 години в 3% розчин хлораміну Б з розрахунком 5л/кг. Надавати перевагу автоклавуванню пароповітряною сумішшю при температурі 80-90° протягом 45 хв.

ПРАВИЛА РОБОТИ З ГОРЮЧИМИ ТА ЛЕГКОЗАЙМИСТИМИ РЕЧОВИНАМИ

1. Необхідно нагрівати вогнебезпечні речовини (органічні розчинники) без вогню, на попередньо нагрітій водяній або іншій бані.
2. Горючі рідини додавати до суміші реагуючих речовин з невеликої ємності (пробірки, колбочки).
3. Демонтаж приладів, в яких містяться горючі речовини, необхідно проводити після закінчення роботи при вимкнених нагрівальних приладах.
4. Забороняється зберігати горючі і легкозаймісті речовини поблизу вогня або сильно нагрітих електричних приладів.
5. Деякі гази (водень, ацетилен, оксид вуглецю), спирти, вуглеводні що легко киплять (бензол, гексан), ацетон, діетиловий ефір та інші речовини можуть утворювати вибухові суміші з повітрям. Працювати з такими речовинами необхідно при увімкненій витяжній вентиляції задля запобігання утворення у приміщенні небезпечних концентрацій парів і газів.
6. Забороняється зливати відпрацьовані горючі рідини в каналізацію! Їх треба збирати в спеціальний посуд, що герметично закривається, і який в кінці робочого дня виносять з лабораторії.

ПРАВИЛА РОБОТИ З ЕЛЕКТРОПРИЛАДАМИ

1. Для запобігання нещасних випадків при проведенні досліджень із використанням електроапаратури (фотоелектроколориметрів, спектрофотометрів, газових хроматографів та інш.) забороняється:

- * використовувати прилади з пошкодженою ізоляцією проводки;
- * залишати прилади увімкненими без нагляду;
- * вмикати апаратуру в мережу, вольтаж якої не відповідає напрузі, необхідній для роботі приладів;
- * замінювати перегорілі запобіжники дротом;
- * працювати із незаземленими приладами.

2. Ділянка підлоги біля електроприладів повинна бути покрита гумовим килимком.

3. При роботі з електроприладами в приміщенні повинно знаходитися щонайменше дві людини.

ЛІКВІДАЦІЯ ПОЖЕЖІ

1. У випадку виникнення пожежі необхідно:

- * негайно вимкнути електронагрівальні прилади та вентиляцію;
- * винести із лабораторії всі ємності із вогнебезпечними речовинами;
- * викликати пожежну охорону по телефону і повідомити керівника роботи та завідуючого кафедри;
- * застосувати найбільш ефективні для данного випадку засоби гасіння пожежі.

2. Полум'я необхідно тушити наступними засобами:

- * при займанні рідин, що змішуються з водою (спирт, ацетон) - будь-якими вогнегасниками, потоком води, піском, азбестовою або суконною ковдрою;
- * при займанні рідин, що не змішуються з водою (бензин, петролейний ефір та інш.) - вуглекислотними та порошковими вогнегасниками, піском, ковдрою, заборонено застосовувати воду;
- * палаючі дроти та електроприлади, що знаходяться під напругою, знеструмити і гасити за допомогою вуглекислотних вогнегасників;
- * палаючі дерев'яні частини - усіма вогнегасними засобами;
- * при займанні одягу на працівнику необхідно накрити палаючу ділянку чимось на кшталт: рушника, халата, ковдри або щільної тканини.

НАДАННЯ ПЕРШОЇ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ ПОСТРАЖДАЛИМ В РЕЗУЛЬТАТІ НЕЩАСНИХ ВИПАДКІВ

1. При попаданні на шкіру концентрованої сульфатної кислоти, її необхідно обережно стерти сухою тканиною або ватномарлевым тампоном, уражену ділянку промити водою та розчином натрію гідрокарбонату. Інші сильні кислоти акуратно змивають водою, а потім розчином гідрокарбонату натрія.

2. Розведені кислоти швидко змивають з ураженої ділянки, після чого виконують обробку шкіри або очей 1% розчином натрію гідрокарбонату, опісля знову водою.

3. При потраплянні на шкіру концентрованих їдких лугів уражене місце промивають водою, нейтралізують розведеною оцтовою або лимонною кислотою.

4. При потраплянні в очі або на шкіру розведених розчинів лугів їх промивають водою, 1% розчином борної кислоти, опісля знову водою.
5. При потраплянні на шкіру фенолу, бромю та інших подразнювальних речовин пошкоджену ділянку необхідно промити органічним розчинником (спирт, ефір).
6. При опіках тіла уражену ділянку промивають 5-10% розчином калію перманганату та накладають на нього тампон, змочений в 5% розчині танина або зі спеціальною маззю від опіків.
7. Порізані місця варто обробити спеціальним спиртовим розчином йоду та перев'язати бинтом. Мити рану водою та знімати кров, що згорнулась, забороняється.
8. В усіх випадках отруєння потерпівшого перш за все необхідно вивести або винести на свіже повітря та надати допомогу до прибуття лікаря: звільнити потерпівшого від стискаючого одягу, за необхідністю тепло вкрити.
9. При ураженні електричним струмом необхідно: вимкнути важіль або видалити запобіжник, віднести потерпілого від місця ураження і покласти на рівне місце, розстібнути ремінь, дати понюхати розчин аміаку, забезпечити повний спокій.
10. Після надання першої допомоги потерпілому його необхідно терміново направити до медичного закладу.

ЗАНЯТТЯ №

Дата _____

ТЕМА: СКЛАДАННЯ ПЛАНУ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ. ЗОВНІШНІЙ ОГЛЯД ТА ПОПЕРЕДНІ ВИПРОБУВАННЯ ОБ'ЄКТУ ДОСЛІДЖЕННЯ.

1. Зовнішній огляд:

- встановити консистенцію та морфологічний склад об'єкту;
- встановити наявність консерванта;
- встановити запах та колір об'єкту;
- відмітити наявність чужорідних включень.

На основі виконаних досліджень заповнити таблицю № 1.

№ об'єкту	запах	колір	морфологічний склад об'єкту	наявність консерванту	чужорідні включення

2. Попередні випробування об'єкту.

2.1. Визначити реакцію середовища об'єкту.

Методика: невелику кількість об'єкту змішують в пробірці з рівною кількістю дистильованої води. Частину водної витяжки за допомогою скляної палички наносять на універсальний індикаторний папірець. На інший папірець наносять краплю дистильованої води (контрольна проба).

Хіміко-токсикологічна оцінка результатів: кисле середовище об'єкту виключають дослідження на наявність в об'єкті лугів, лужне середовище - кислот. Сильно кисле середовище (рН 1-3) може бути викликане наявністю мінеральних кислот або великої кількості органічних кислот, введених ззовні; лужне середовище - наявністю їдких лугів, аміаку, карбонатами та силікатами, солями слабих кислот і сильних основ (ціаніду, нітриту та інш.)

2.2. Відмінність їдких лугів від карбонатних.

Методика: 1-2 мл водного вилучення з лужним середовищем розміщують в пробірці. Додають 1-2 краплі спиртового розчину фенолфталеїну (1:1000) - утворюється рожеве забарвлення, після чого додають розчин барію хлориду та встрюшують: забарвлення може зникнути або зберегтись.

Хіміко-токсикологічна оцінка результатів: якщо забарвлення розчину зберігається, то середовище зумовлене наявністю вільних гідроксильних груп, якщо зникає і утворюється білий осад - то карбонатами або силікатами.

2.3. Випробування на наявність аміаку та сірководню.

Методика: об'єкт лужної реакції розміщують в пробірці, закривають корковою пробкою, до нижньої поверхні якої прикріплені 3 папірця: *вологий червоний лакмусовий; папірець, змочений розчином купрум сульфату та папірець, змочений розчином плюмбуму ацетату.*

При випробуванні можна спостерігати зміни забарвлення усіх трьох папірців або тільки двох (мідного та лакмусового).

Хіміко-токсикологічна оцінка результатів: при зміні кольору всіх трьох папірців можна підвести підсумок, що в об'єкті містяться аміак та сірководень, що утворилися в процесі гниття біологічного матеріалу. При зміні кольору мідного та лакмусового папірців можна припустити наявність введеного в об'єкт аміаку.

На основі проведених досліджень заповнити таблицю № 2.

ЗАНЯТТЯ №

Дата _____

ТЕМА: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЄТЬСЯ ВІД БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ І ВИДАЛЕННЯ ОКИСНИКІВ З МІНЕРАЛІЗАТА.

1. Мінералізація біологічного матеріалу сумішшю сульфатної та нітратної кислот. Подрібнений біологічний матеріал поміщають у колбу Кьельдаля. Потім на кожні 100 г об'єкту додають 75 мл суміші, що складається з 25 мл концентрованої сульфатної, 25 мл концентрованої нітратної кислот та 25 мл води. Після зупинки спінювання суміші колбу закріплюють на штативі та нагрівають над азбестовою сіткою (на відстані 1-2 см на голому вогні до руйнування твердих грудок матеріала об'єкту і отримання темної рідини. Після чого температуру нагрівання посилюють, а в реакційну колбу додають по краплях нітратну кислоту (1:1) невеликими порціями до тих пір, поки вміст не стане безбарвним або ледь жовтуватим. Опісля нагрівають суміш без додавання нітратної кислоти до появи густої білої пари оксидів сірки. Якщо рідина при цьому не темнішає, то руйнування закінчують, в іншому випадку - руйнування об'єкту продовжують. Після закінчення мінералізації, рідину охолоджують, переносять в склянку та перевіряють наявність окисників, змішуючи краплю мінералізату з краплею дифеніламіну в концентрованій сульфатній кислоті. Синє забарвлення вказує на присутність окисників, які руйнують формаліном. Для цього мінералізація розбавляють невеликою кількістю води (10-15 мл), нагрівають до кипіння, додають обережно по краплях 0,5 -1,0 мл формаліну до припинення виділення пухирців газу. При необхідності операцію руйнування окисником повторюють. після чого мінералізація розбавляють водою до 180-190 мл.

2. Мінералізація біологічного матеріалу сумішшю сульфатної, нітратної та хлоридної кислот. 100 г подрібненого органа поміщають в колбу Кьельдаля, куди додають 25 мл води, 25 мл концентрованої нітратної кислоти, 25 мл концентрованої сульфатної кислоти та 25 мл 42%-го розчину хлоридної кислоти у вказаній послідовності. Далі проводять руйнування органічних речовин, як було описано вище.

Мінералізація, отриманий одним із способів залишають на 18-20 год при кімнатній температурі. При утворенні осаду його відфільтровують та досліджують на плюмбум та барій (при брудно-зеленому забарвленні осад додатково досліджують на хром).

Мінералізація (фільтрат після відокремлення сульфатів барія та плюмбуму) розбавляють водою до 200 мл та досліджують на марганець, хром, аргентум, купрум, кадмій, бісмут, цинк, арсен, стибій, талій.

3. Мінералізація органічних речовин методом сплавлення з окисником. 1-2 г об'єкту змішують з сумішшю карбонату та нітрату натрію (2:1) в кількості 4-6 г, потім змочують водою та висушують при нагріванні на водяній бані. У тиглі розплавляють 5-6 нітрату натрію. Зменшивши полум'я пальника під тиглем, в останній вносять окремими порціями отриману суміш, що аналізують. Після згорання першої порції вносять другу, потім третю і так до тих пір, поки не будуть спалені усі порції суміші.

Після згоряння останньої порції суміші посуд, в якому вона містилась, “ополіскують” 2-3 г карбонату натрію, після чого цю порцію теж спалюють. Під час плавлення слідкують за тим, щоб полум’я в тиглі не спалахнуло, для цього регулюють полум’я пальника. Сплав охолоджують та обробляють киплячою водою. Отриманий розчин досліджують на “металеві” отрути (арсен, аргентум та деякі інші, окрім меркурію).

4. Мінералізація органічних речовин методом сухого озолення. Об’єкт подрібнюють, висушують на піщаній бані, опісля при обережному нагріванні обвуглюють пробу. Залишок в тиглі після обвуглення об’єкту змочують концентрованим розчином нітрату амонію або концентрованою нітратною кислотою, висушують на киплячій водяній бані та нагрівають над слабким полум’ям пальника (днище тигля не повинно торкатися вогню). За необхідністю (неповне згоряння органічних речовин - зола забарвлена в чорний або сірий колір) вміст тигля знову змочують концентрованим розчином нітрату амонію, висушують та прожарюють. Вміст тиглю охолоджують, обробляють хлороводневою кислотою (при дослідженні на марганець) або нітратною (при дослідженні на купрум), розчин фільтрують, фільтрат випаровують на водяній бані насухо, залишок розчиняють в 3-5 мл води і піддають аналізу.

ЗАНЯТТЯ №

Дата

ТЕМА: ДОСЛІДЖЕННЯ МАТЕРІАЛУ НА БАРІЙ, ПЛЮМБУМ, ХРОМ, ТА МАРГАНЕЦЬ.

№ п/п	Методика хімічних реакцій	Спостереження	Хімізм реакцій	Хіміко-токсикологічна оцінка реакцій
1.	<p style="text-align: center;"><u>Дослідження осаду</u> <u>Виявлення барію</u> <u>Перекристалізація з концентрованої сульфатної кислоти</u></p> <p>Методика. Крупинку осаду з фільтру поміщають на предметне скельце, сушать на повітрі, після чого на залишок наносять 2-3 краплі концентрованої сульфатної кислоти і нагрівають на голому вогнищі до появи білої пари, уникаючи розтікання. Скельце з краплею залишають на 10-20 хв на повітрі. Після чого кристали роздивляються під мікроскопом.</p>			
2.	<i>Самостійна робота</i>			

	<p><u>Отримання йодату барію</u> Методика. Крупинку осаду беруть платиновою петлею або голкою та вносять спочатку на відновлювальну частину полум'я пальника, потім в краплю 5М розчину хлороводневої кислоти, поміщають на предметне скельце. Операцію повторюють декілька разів. Після чого в краплю вносять кристалик йодата калію і розглядають під мікроскопом.</p>			
1.	<p><u>Виявлення плумбуму</u> <u>Реакція з дитизоном</u> Методика. Досліджуваний розчин поміщають в пробірку, додають 1 мл 10% розчину хлориду гідроксиламіну (але не сульфату), встановлюють рН 7,5-8, додаючи 10 % розчину гідроксиду амонію, 2 мл хлороформу та декілька крапель 0,01% розчину дитизону в хлороформі, суміш енергично струшують. Екстракцію дитизону продовжують до тих пір, поки шар хлороформу не перестане змінювати зелене забарвлення на червоне. Потім проводять реекстракцію 1М розчином кислоти нітратної, реекстракт поділяють на чотири частини та проводять підтверджувальні дослідження.</p>			
2.	<p><u>Реакція з йодидом калію</u> Методика. До 1/4 розчину додають декілька крапель 5% розчину йодиду калію.</p>			
3.	<p><u>Реакція з кислотою сульфатною</u> Методика. До 1/4 розчину додають декілька крапель 10% розчину кислоти сульфатної.</p>			
4.	<p><u>Реакція з дихроматом калію</u> Методика. До 1/4 розчину додають декілька крапель свіжої сірководневої води.</p>			
1.	<p><u>Дослідження фільтрату</u> <u>Виявлення марганцю</u></p>			

	<p><u>Окиснення періодатом калію</u> Методика. До 1 мл мінералізата додають 4 мл води, 1 мл насиченого розчину дигідрофосфату натрію, 0,2 г періодата калію і нагрівають в киплячій водянній бані протягом 20 хв.</p>			
2.	<p><u>Окиснення персульфатом амонію.</u> Методика. До 1 мл мінералізата додають 4 мл води, 1 мл насиченого дигідрофосфату натрію та нагрівають в киплячій водянній бані протягом 5-6 хв. В гарячий розчин додають 1 краплю 10% розчину нітрату аргентуму, 0,5 г персульфату амонію і знову нагрівають до повного розкладання персульфату.</p>			
1.	<p>Виявлення хрому <u>Реакція з дифенілкарбазидом</u> Методика. До 1 мл мінералізату додають 4 мл води, краплю 10% розчину нітрату аргентуму, 0,5 г персульфату амонію та нагрівають в киплячій водянній бані 20 хв. Потім додають до суміші 1 мл насиченого розчину дигідрофосфату натрію, розчин гідроксиду калію (по краплях) до рН 2,0 та 1 мл 0,25% розчину дифенілкарбазиду.</p>			
2.	<p><u>Утворення надхромових кислот</u> Методика. До 5 мл мінералізату додають по краплях 30% розчин гідроксиду натрію або калію до рН 7, після чого додають ще 1 мл мінералізату, потім краплю 10% розчину нітрату аргентуму, 0,5 г персульфату амонію та нагрівають на киплячій водянній бані протягом 20 хв. Пробірку з досліджуваним розчином охолоджують 10-15 хв в бані з льодом. До охолодженої рідини додають 1 мл насиченого розчину рН 2,0, додають оцтовоетиловий ефір, але в останньому випадку водний шар необхідно попередньо насити органічним розчинником. Потім до досліджуваної суміші додають 2-3 краплі 25-28% розчин пероксиду водню та вміст пробірки негайно енергійно струшують.</p>			

ЗАНЯТТЯ №

Дата _____

ТЕМА: АНАЛІЗ МІНЕРАЛІЗАТУ НА АРГЕНТУМ, КУПРУМ, ЦИНК, БІСМУТ, АРСЕН, СТИБІЙ. ДЕСТРУКЦІЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ТА ВИЯВЛЕННЯ МЕРКУРІЮ В ДЕСТРУКТАТІ.

№ п/п	Методика хімічних реакцій	Спостереження	Хімізм реакцій	Хіміко-токсикологічна оцінка реакцій
1.	<p style="text-align: center;"><i>Самостійна робота</i></p> <p style="text-align: center;">Виявлення аргентуму</p> <p><u>Реакція з дитизоном</u> Методика. До 5 мл мінералізату додають 1 мл 4М сульфатної кислоти та 3 мл 0,01% розчину дитизону в хлороформі або чотирехлористому вуглецю. Суміш збовтують.</p>			
2.	<p><u>Отримання хлориду аргентуму</u> Методика. До 100 мл мінералізату додають 0,5 г хлориду натрію, суміш нагрівають приблизно до 80° і залишають на дві години або до наступного дня - до утворення осаду (чутливість реакції $-2,5 \times 10^{-2}$ мг в 100 мл, реакція специфічна). Осад відфільтровують, промивають 0,5М розчином хлороводневої кислоти, а потім розчиняють в 0,5-4 мл та більше 8М розчину гідроксиду амонію. Аміачний розчин-фільтрат досліджують.</p>			
3.	<p><u>Утворення йодиду аргентуму</u> Методика. До 1/3 розчину-фільтрату (при його об'ємі більше 2 мл) додають насичений розчин йодиду калію.</p>			
1.	<p style="text-align: center;">Виявлення купруму</p> <p><u>Попередня реакція з діетилдитіокарбамінатом плюмбуму</u> Методика. 10 мл мінералізату нейтралізують гідроксидом амонію до рН 3,0 та струшують з 5 мл розчину</p>			

	<p>хлороформного діетилдитіокарбамінату плюмбуму до утворення забарвлення хлороформного шару. Потім проводять реекстракцію 6М розчину кислоти хлороводневої. Підтверджувальні реакції проводять з реекстрактом.</p>			
2.	<p><i>Самостійна робота</i> <u>Реакція з сульфатом цинку та тетрароданмеркуроатом амонію</u> Методика. До 1/3 водного досліджуваного реекстракту додають 0,2 г сульфату цинку та декілька крапель тетрароданмеркуроату амонію.</p>			
3.	<p><u>Реакція з піридинродановим реактивом</u> Методика. До 1/3 водного досліджуваного реекстракту додають по краплях 1-2 мл піридинродановий реактив до появи муті або випадіння осаду, потім 1-2 мл хлороформу.</p>			
4.	<p><u>Реакція утворення ферроціаніду купрумму та кадмію</u> Методика. До 1/3 водного досліджуваного реекстракту додають 10 крапель 2% розчину кадмію хлориду та 1-2 краплі 5% розчину калію фероціаніду.</p>			
1.	<p>Виявлення вісмуту <u>Реакція утворення тіосечовинового комплексу</u> Методика. В пробірку з 5 мл мінералізату додають 3-5 мл насиченого розчину тіосечовини.</p>			
2.	<p><u>Реакція утворення комплексу йодбісмутату з 8-оксихіноліном</u> Методика. В пробірку з 10 мл мінералізату додають по 20-30 крапель 20% розчину тіосульфату натрію, потім 10 крапель калію-натрію тартрату та надлишок кристалічного йодиду калія до утворення жовтого або помаранчевого забарвлення, потім</p>			

	обережно по стінках додають 1-2 мл 2% розчину 8-оксихіноліну в 5% розчині кислоти хлороводневої.			
1.	<p align="center">Виявлення цинку</p> <p><u>Попередня реакція з дитизоном</u> Методика. До 0,5 мл мінералізату додають 0.25 мл насиченого розчину тіосульфату натрію, встановлюють рН 5-5,5 додають 1 мл ацетатного буферу, 2 краплі 0,01% розчину дитизону в хороформі і 1 мл хлороформу.</p>			
2.	<p><u>Виділення цинку з мінералізату і проведення основних реакцій</u> Методика. До 10 мл мінералізату додають 4 мл калію-натрію тартрату або 20% розчин лимонної кислоти, 1 мл насиченого розчину тіосечовини або тіосульфат натрію, додають декілька крапель нільського блакитного та по краплях 2,5М розчин гідроксиду калію до появи рожевого забарвлення, після чого 1М розчин сульфатної кислоти до рН 8,5 за універсальним індикаторним папірцем, потім додають 3 мл 1% розчину діетилдитіокарбамінату калію, 5 мл хлороформу та енергійно струшують суміш. Хлороформний екстракт відокремлюють, промивають водою та струшують з 3 мл 1М хлороводневої кислоти протягом 30 с. Водяний шар (реекстракт) досліджують на цинк.</p>			
3.	<p><u>Реакція утворення гексаціаноферрату (II) цинку</u> Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають розчин гідроксиду калію до рН 5,0 (за універсальним індикаторним папірцем) та 3-4 краплі 5% розчину гексаціаноферрату (II) калію.</p>			
4.	<p><u>Реакція утворення сульфід цинку</u> Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають розчин гідроксиду калію до рН 5,0 та 2-3 краплі свіжовиготовленого розчину сульфід цинку</p>			

	натрію.			
5.	<p><i>Самостійна робота</i></p> <p><u>Реакція утворення тетрароданомеркуроату цинку</u> Методика. На предметне скельце наносять та упарюють 3-4 краплі реекстракту, залишок розчиняють у 10% розчині оцтової кислоти та додають краплю тетрароданомеркуроату амонію.</p>			
1.	<p>Виявлення стибію</p> <p><u>Попередня реакція з малахітовим або бриліантовим зеленим</u> Методика. 5 мл мінералізату поміщають в ділільну воронку , туди ж додають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти, 3 мл 5М розчину хлороводневої кислоти, 2 краплі 5% розчину нітриту натрію, через 5 хв - 1 мл насиченого розчину сечовини ,7 крапель 0,5% розчину малахітового зеленого, 2 г безводного сульфату натрію та 5 мл толуолу. Суміш струшують протягом 10-25 с.</p>			
2.	<p><u>Реакція з тіосульфатом натрію</u> Методика. До 5 мл мінералізату одають 5 крапель насиченого розчину тіосульфату натрію та кип'ятять розчин протягом 1-2 хв.</p>			
1.	<p>Виявлення арсену</p> <p><u>Попередня проба Зангер-Блека</u> Методика. В колбу приладу Зангер-Блека послідовно вносять: 2 мл мінералізату, 10 мл 2М розчину сульфатної кислоти, 5 мл води, 1 мл 10% розчину хлориду олова (II) в сульфатній або хлороводневій кислоті, після цього 2 г купрованого цинку. Колбу закривають насадкою, в яку поміщають реактивний папір, просочений розчином броміду або хлориду ртуті та висушену; між папером і реакційною сумішшю вставляють тампон вати, оброблений ацетатом плюмбуму. Спостерігають в присутності арсену одразу або через</p>			

	<p>45 хв на папері жовту, коричневу або буро-коричневу пляму. Якщо пляма не з'являється через 45 хв, то папір спочатку опускають в 3% розчин йодиду калія до почервоніння всієї поверхні, потім насичений розчин йодиду калію до зникнення червоного забарвлення - в присутності арсену з'являється бура пляма.</p>			
<p>2.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Самостійна робота</i></p> <p><u>Випробування в апараті Марша</u> Методика. В колбу приладу Марша послідовно вносять: 10 г купрованого цинку, через впаю в колбу ділильну воронку додають 10-20 мл 2М розчину сульфатної кислоти. Перевіряють герметичність приладу, а потім повноту витіснення повітря, використовуючи ефект від запалювання газу, що виділяється, зібраного в пробірку (при змішуванні повітря та водню - потріскування, при воному витісненні повітря воднем - відсутність звуку). При повному витісненні повітря з приладу Марша воднем прожарюють вузьку частину трубки Марша за допомогою полум'я газового пальника, а по місцю нагріву проводять охолодження відрізка труби. Через воронку в колбу апарату Марша протягом 30-40 хв додають по краплях 20 мл мінералізату в суміші з 2 мл 10% розчину хлориду олова (II). Спостерігають в присутності арсена одразу ж або через 60 хв в місці охолодження трубки Марша наліт арсену у вигляді сірувато- чорного дзеркала або блискучо бурого кольору.. Прилад охолоджують, знімають трубку Марша та, тримаючи її під кутом 45°, нагрівають місце нальоту при доступі повітря. В присутності арсену - характерні кристали (октаедри, тетраедри) миш'яковистого ангідриду.</p>			

ДЕСТРУКЦІЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ТА ВИЯВЛЕННЯ МЕРКУРІЮ В ДЕСТРУКТІ.

Деструкція біологічного матеріалу сумішшю сульфатної та нітратної кислот

Методика. 20 г подрібненої проби органу (печінка, нирки окремо) поміщають в конічну колбу та доливають до об'єкту 5 мл води, 1 мл етанолу та 10 мл концентрованої нітратної кислоти. Потім по краплях додають 20 мл концентрованої сульфатної кислоти, намагаючись не додавати її надлишок, щоб оксиди азоту якнайменше виділялись з колби. Колби з сумішшю залишають на 5 хв для припинення виділення оксидів азоту, після чого нагрівають на киплячій водяній бані протягом 10-15 хв. Бурну реакцію в колбі тимчасово зупиняють додаванням 30-50 мл гарячої води, потім одразу деструктат змішують з подвійним об'ємом киплячої води та фільтрують гарячим через фільтр, змочений водою, в колбу, що містить 20 мл насиченого розчину сечовини. Фільтр промивають гарячою водою, приєднуючи промивні води до деструктату. Рідину охолоджують, розбавляють до певного об'єму водою та визначають меркурій в половинному об'ємі деструктату.

№ п/п	Методика хімічних реакцій	Спостережен ня	Хімізм реакцій	Хіміко- токсикологі чна оцінка реакцій
1.	<p style="text-align: center;">Виявлення меркурію</p> <p><u>Реакція з дитизоном</u> Методика. Половину отриманого деструктату струшують в ділильній воронці з 10 мл хлороформу. Забарвлений в жовтий колір хлороформний шар відкидають. Операцію повторюють до отримання безбарвного хлороформного екстракту. До водяного шару додають 10 мл 10% розчину сульфату гідроксиламіну або аскорбінової кислоти, 5 мл хлороформу та 0,5 мл або 0,01% розчину свіжоочищеного дитизону. Суміш енергійно струшують протягом 30 с.</p>			
2.	<p><u>Реакція з зависсю йодиду купруму (I) (перевірочне дослідження)</u> Методика. До 3 мл деструктату додають 3 мл зависі купруму йодиду (I).</p>			

ЗАНЯТТЯ №

Дата

**ТЕМА: КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МЕРКУРІЮ В
ДЕСТРУКТАТІ, АРСЕНУ, ЦИНКУ, КУПРУМУ, МАРГАНЦЮ, ХРОМУ,
ПЛЮМБУМУ - В МІНЕРАЛІЗАТІ**

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПЛЮМБУМУ ФОТОЕЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧНИЙ МЕТОД

Методика. Вимірюють оптичну щільність дитизонату плюмбуму, отриманого, як описано в розділі “Виявлення плюмбуму”, на фотоелектроколориметрі при 520 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм. Розчин порівняння - хлороформ. Потім по калібрувальному графіку визначають кількість плюмбуму.

Побудова калібрувального графіку. Готують стандартний розчин з перекристалізованої солі нітрату плюмбуму з вмістом металу 1 мг/мл. Для побудови калібрувального графіку використовують розчини плюмбуму концентрації 0,001 та 0,1 мг/мл. Відмірюють об’єми розчину, що відповідають вмісту 0,001; 0,002;...; 0,01; 0,02;...; 0,05 мг плюмбуму і виконують екстракцію, як описано в розділі “Виявлення плюмбуму”. Отримані екстракти розбавляють до 10 мл хлороформом та вимірюють оптичну щільність.

Формула для розрахунку:

$$x = \frac{c \cdot V_e \cdot 100}{n}, \text{ де:}$$

x - кількість плюмбуму в перерахунку на 100 г органу, мг;

c - концентрація плюмбуму в екстракті, мг/мл;

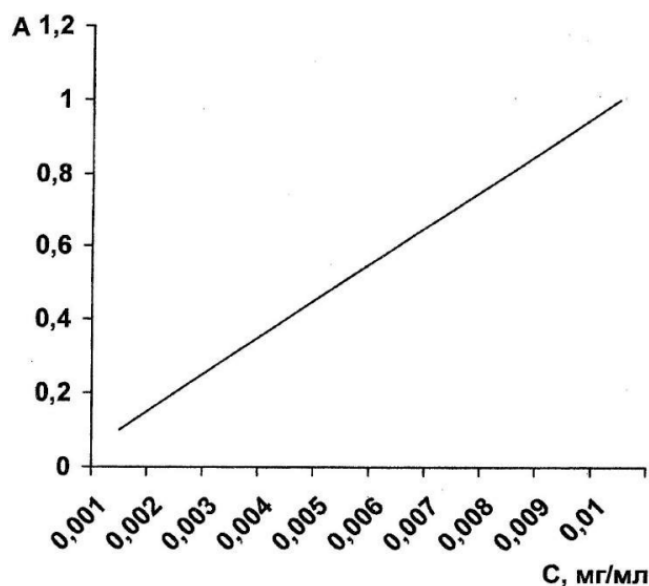
V_e - об’єм екстракту дитизону плюмбуму, мл;

n - навіска органу, г.

Чутливість методу кількісного визначення.

Фотоелектроколориметрично плюмбум визначають в межах 0,02-2 мг в 100г органу.

Градувальний графік кількісного визначення плюмбуму



САМОСТІЙНА РОБОТА

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АРСЕНУ КОЛОРИМЕТРИЧНИЙ МЕТОД (ПО ЗАНГЕР-БЛЕКУ)

Методика. Вколбу Зангера-Блека поміщають 0,5-2,0 мл мінералізату або розчину мінералізату, розбавленого в 5-10 разів (при дослідженні великих кількостей арсену - 0,5-1 мг в 100 г органу), 10 мл 2М розчину сульфатної кислоти, 5 мл води, 1 мл 10% розчину хлориду олова (II), 2 г активованого цинку. Колбу заривають насадкою, в котру вставляють ватний тампон, оброблений ацетатом плюмбуму, а на горизонтальну поверхню з невеликим отвором насадки ставлять папірець, просочений бромідом меркурію. Через 45 хв з насадки пінцетом виймають реактивний папірець та порівнюють пляму, що утворилася, зі стандартною шкалою. Визначення проводять в трьох різних об'ємах мінералізату, а заключення про кількість арсену роблять по середньому результату.

Приготування стандартної шкали. Готують стандартний розчин арсену із вмістом 1 мг/мл в 2М розчину сульфатної кислоти. Для цього очищають триокис арсену сублімацією. Навіску розчиняють в невеликій кількості 2М розчину гідроксиду калію та додають 2М розчин сульфатної кислоти до визначеного об'єму. Стандартну шкалу готують зі стандартного розчину перед споживанням в інтервалі $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ мг арсену.

Формула для розрахунку:

$$X = \frac{a \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot n}, \text{ де:}$$

x - кількість арсену 100 г органу, мг;

a- кількість арсену в пробі, що аналізується ,мг;

V - кількість мінералізату після руйнування, мл;

V₁- об'єм мінералізату, що взяли для визначення, мл;

n - навіска органу, г.

Чутливість методу кількісного визначення.

Арсен визначається по Зангер - Блеку в межах 0,01-1 мг на 100 г органу.

ЗАНЯТТЯ №

Дата

ТЕМА: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЄТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ ДИСТИЛЯЦІЇ З ВОДЯНОЮ ПАРЮЮ - ЛЕТКІ ОТРУТИ. МЕТОДИ ІЗОЛЮВАННЯ ЛЕТКИХ ОТРУТ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ. ВИЯВЛЕННЯ ЛЕТКИХ ОТРУТ ХІМІЧНИМ МЕТОДОМ (СИНІЛЬНА КИСЛОТА, ФОРМАЛЬДЕГІД, ГАЛОГЕНОПОХІДНІ ВУГЛЕВОДНІВ).

Методика ізолювання летких отрут. Складають прилад для дистиляції з водяною парою. В пароутворювач наливають воду і доводять її до кипіння. Поки гріється вода в пароутворювачі ,беруть 20-100 г подрібненої навіски, поміщають в перегінну колбу, змішують з водою до густини кашиці, але так, щоб суміш займала об'єм не більш ніж 1/3 об'єму колби (зادля запобігання перебросу). Перегінну колбу з об'єктом ставлять в зхолодну водяну баню, підкислюють 10% розчином винної або щавлевої кислоти до рН 2-3, швидко закривають пробкою, з'єднують з холодильником і обережно (гостра пара) з пароутворювачем. Продовжують нагрівати пароутворювач і одночасно вмикають обігрів водяної бані.

Першу порцію дистиляту (3 мл) збирають в приймач з 2 мл 5% розчину гідроксиду натрію для уловлювання синильної кислоти. Для сбросу наступних порцій готують пусті колби з відмітками 25 мл. Дистиляцію проводять з такою швидкістю, щоб можна було рахувати краплі в приймачі. При дуже швидкій перегонці зменшують полум'я пальника під пароутворювачем ,при повільній - навпаки.

При направленому дослідженні на етиленгліколь дистилят збирають в кількості 500 мл (мололеткі сполуки).

Ізолювання оцтовою кислотою проводять при підкисленні об'єктів 10% розчином сульфатної або ортофосфорної кислот, а дистилят збирають в приймач, що містить 0,1М розчину гідроксиду натрію.

При аналізі об'єктів на метанол дистилят збирають в охолоджений приймач.

Для кількісного визначення летких отрут отгонку ведуть до негативного результату реакції на речовини, що аналізують.

ВИЯВЛЕННЯ ЛЕТКИХ ОТРУТ ХІМІЧНИМ МЕТОДОМ (СИНІЛЬНА КИСЛОТА, ФОРМАЛЬДЕГІД, ГАЛОГЕНОПОХІДНІ ВУГЛЕВОДНІВ).

№ п/п	Методика хімічних реакцій	Спостереження	Хімізм реакцій	Хіміко-токсикологічна оцінка реакцій
1.	<p><i>ДОСЛІДЖЕННЯ ДИСТИЛЯТУ №1</i> Виявлення синильної кислоти <u>Реакція утворення берлінської блакиті</u> Методика. До 1 мл лужного дистиляту додають 2-3 краплі 40% розчину сульфату феруму (II), що містить сліди феруму (III). Суміш збовтують, нагрівають майже до кип'ятіння, а потім охолоджують до кімнатної температури і додають 10% розчин кислоти хлороводневої до</p>			

	слабокислої реакції.			
1.	<p><i>ДОСЛІДЖЕННЯ ДИСТИЛЯТУ №2</i></p> <p>Виявлення формальдегіду</p> <p><u>Реакція з лужним розчином резорцину</u></p> <p>Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1 мл свіжоприготованого реактиву: 1% розчин резорцину змішують з рівним об'ємом 10% розчину гідроксиду натрію. Паралельно ставлять "сліпий" дослід з реактивами. Вміст обох пробірок нагрівають протягом 3-5 хв на водяній бані.</p>			
2.	<p><u>Реакція відновлення гідроксиду купрум(II) з реактивом Фелінга</u></p> <p>Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 2 краплі розчину гідроксиду натрію до лужної реакції і 2-3 краплі реактива Фелінга (реактив Фелінга №1+Фелінга№2 (1:1)). Вміст пробірки перемішують та нагрівають на водяній бані.</p>			
3.	<p><u>Реакція з кодеїнсульфатною кислотою</u></p> <p>Методика. В порцеляновій чашці змішують 1 мл досліджуваного розчину з 5 мл концентрованої сульфатної кислоти. Після охолодження додають кристалик кодеїну.</p>			
4.	<p><u>Реакція з хромотроповою кислотою</u></p> <p>Методика. 1 мл досліджуваного розчину поміщають в порцелянову чашку, додають 3-4 краплі концентрованої кислоти хромотропіої і обережно перемішують.</p>			
5.	<p><u>Реакція з фуксинсернистою кислотою</u></p> <p>Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 2-3 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки перемішують та охолоджують, а потім додають 1 мл фуксинсіркової кислоти.</p>			

1.	<p>Виявлення галогенопохідних вуглеводнів (хлороформ, хлоралгідрат, чотирехлористий вуглець, 1,2-дихлоретан) <u>Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору</u> Методика. До 1-2 мл досліджуваного розчину додають 1 мл 10% спиртового розчину гідроксиду натрію. Пробірку з вмістом нагрівають в киплячій водянній бані 30 хв або на голому вогні 3-5 хв. Розчин охолоджують, додають 10% розчину нітратної кислоти до кислої реакції, 0,5 мл 1% розчину нітрату аргентуму.</p>			
2.	<p><i>Самостійна робота</i> <u>Утворення ізонітрилу</u> Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 10 крапель 10% спиртового розчину гідроксиду натрію та краплю водного розчину аніліну. Рідину нагрівають на водянній бані 1-2 хв. Для розкладання ізонітрилу в пробірку додають 10% розчин сульфатної кислоти та кип'ятять розчин до зникнення запаху.</p>			
3.	<p><u>Реакція з лужним розчином резорцину</u> Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1 мл свіжоприготованого реактива: 1% розчин резорцину змішують з рівним об'ємом 10% розчину гідроксиду натрію. Паралельно ставлять "сліпий" досвід з реактивами. Вміст обох пробірок нагрівають протягом 3-5 хв на водянній бані.</p>			
4.	<p><u>Реакція з реактивом Фелінга</u> Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 2 краплі 10% розчину гідроксиду натрію до лужної реакції та 2-3 краплі реактива Фелінга (реактив Фелінга №1+реактив Фелінга №2(1:1)). Вміст пробірки перемішують та нагрівають на водянній бані.</p>			

5.	<p><u>Реакція з реактивом Несслера</u> Методика. До 0,5 мл досліджуваного розчину додають 2-3 краплі реактива Несслера, перемішують.</p>			
6.	<p style="text-align: center;"><i>Самостійна робота</i></p> <p>Виявлення 1,2-дихлоретану <u>Реакція з фуксинсірчистою кислотою (після переведення 1,2-дихлоретану в формальдегід)</u> Методика. В ампулу ємністю 1 мл вносять 0,5 мл досліджуваного розчину та 0,5 мл 10% розчину карбонату натрію. Ампулу запаюють та нагрівають в киплячі водянні бані 1-2 год. Після охолодження вміст ампули переносять в пробірку, куди додають 10% розчин сульфатної кислоти до кислої реакції за універсальним індикаторним папірцем, а потім 2 краплі 5% розчину періодату калію в 2М розчину сульфатної кислоти. Через 5 хв визначають наявність формальдегіду в розчині реакцією з фуксинсірчистою кислотою. До 1 мл досліджуваного розчину додають 2-3 краплі концентрованої сульфатної або хлороводневої кислоти. Вміст пробірки перемішують і охолоджують, а потім додають 1 мл фуксинсірчистої кислоти.</p>			
7.	<p><u>Реакція утворення ацетиленіду купруму</u> Методика. В ампулу ємністю 1 мл вносять 0,5 мл дистилляту та 0,5 мл 30% розчину натрію їдкою. Ампулу запаюють та нагрівають протягом години. Після цього ампулу охолоджують, вскривають та переносять її вміст в пробірку, в яку додають 30% розчину кислоти оцтової до кислої реакції на лакмус. До цієї рідини додають 2 краплі свіжоприготованого аміачного розчину солі купруму (I).</p>			

Результати якісних реакцій виявлення галогенопохідних вуглеводнів
ТАБЛИЦЯ №1

№ п/п	Реакції	Досліджувані речовини			
		хлороформ	хлоралгі драт	чотирихлористий вуглець	1,2-дихлоретан
1.	Відщеплення хлору				
2.	Утворення ізонітрилу				
3.	З лужним розчином резорцину				
4.	З реактивом Фелінга				
5.	З реактивом Несслера				

ЗАНЯТТЯ №

Дата

ТЕМА: ВИЯВЛЕННЯ ЛЕТКИХ ОТРУТ ХІМІЧНИМ МЕТОДОМ
(ОДНОАТОМНІ СПИРТИ, АЦЕТОН, ФЕНОЛ, ОЦТОВА КИСЛОТА).

№ п/п	Методика хімічних реакцій	Спостереження	Хімізм реакцій	Хіміко-токсикологічна оцінка реакцій
1.	<p><i>Виявлення одноатомних спиртів</i> Виявлення метанолу Реакція утворення метилового ефіра саліцилової кислоти. Методика. В пробірку вносять 1 мл дистилату, додають 0,03-0,05 г саліцилової кислоти, а потім суміш обережно нагрівають.</p>			

2.	<p>Окиснення метанолу до формальдегіду. Методика. До 5 мл досліджуваного розчину додають 2-3 мл 10% розчину сульфатної кислоти, рідину охолоджують та додають до неї 1% розчину перманганату калія до стійкого рожевого забарвлення, уникаючи надлишку реактиву. Через 15-20 хв надлишок окиснику руйнують 15% розчином щавлевої кислоти або 15% розчином сульфату натрію. З отриманим безбарвним розчином виконують реакції на формальдегід. (Див. тему виявлення формальдегіду).</p>			
1.	<p>Виявлення етанолу Реакція утворення йодоформа Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 2 мл 5% розчину гідроксиду натрію або карбонату калію і по краплях 1% розчин йоду в 2% розчині йодиду калія до жовтого забарвлення. Суміш нагрівають на водяній бані при 40-50°C.</p>			
2.	<p>Виявлення оцтово-етилового ефіру Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 0,1 г висушеного ацетату натрію, потім подвійний об'єм концентрованої сульфатної кислоти. Суміш нагрівають на киплячій водяній бані до виділення пухирців газу.</p>			
3.	<p><i>Самостійна робота</i> Реакція утворення етилбензоату Методика. 1 мл досліджуваного розчину змішують з 1-2 краплями бензоїлхлориду та при частому збовтуванні додають по краплях 10% розчин натрію їдкоого.</p>			

1.	<p>Виявлення ізопентанолу Реакція утворення ізоамілацетату. Методика. Ефірний екстракт із частини дистиляту упарюють до видалення ефіру, змішують з двома краплями концентрованої сульфатної кислоти і невеликою кількістю (0,003 г) висушеного ацетату натрію. Суміш нагрівають на водяній бані.</p>			
2.	<p><i>Самостійна робота</i> Реакція з саліциловим альдегідом Методика. Ефірний екстракт із частини дистиляту упарюють до видалення ефіру. До залишку додають 1 мл 1% розчину саліцилового альдегіду і 3 мл концентрованої сульфатної кислоти. Після охолодження суміш в пробірці нагрівають в киплячій водяній бані протягом 3 хв.</p>			
3.	<p>Реакція з розчином парадиметиламінобензальдегіду в концентрованій сульфатній кислоті Методика. До залишку додають 5-10 крапель реактиву (парадиметиламінобензальдегіду в концентрованій сульфатній кислоті).</p>			
1.	<p>Виявлення ацетону Реакція утворення йодоформа Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1 мл 10% гідроксиду амонію, декілька крапель розчину йоду в йодиді калію.</p>			
2.	<p>Реакція з нітропрусидом Методика. До 1 мл досліджуваного розчину додають 1 мл 10% розчину гідроксиду натрію і декілька крапель 1% свіжоприготованого розчину нітропрусиду натрію.</p>			
	<p>Виявлення фенолу Підготовка дистиляту до аналізу Методика. Частину третього дистиляту підлужують гідрокарбонатом натрію до лужної реакції, переносять в ділильну воронку</p>			

1.	і проводять екстракцію фенолу діетиловим ефіром (2-3 разів по 10 мл). Ефірні витяжки об'єднують і випаровують при кімнатній температурі насухо. Залишок розчиняють в 1-2 мл води та досліджують. Реакція утворення трибромфенолу Методика. До 0,5-1 мл досліджуваного розчину додають 2-4 краплі насиченого розчину бромної води.			
2.	Реакція з хлоридом феруму (III) Методика. В порцелянову чашку поміщають 1 краплю досліджуваного розчину, потім 1 краплю свіжоприготованого розчину хлориду феруму (III). Поруч проводять “сліпий” дослід.			
1.	Виявлення оцтової кислоти Реакція з хлоридом феруму(III) Методика. До 2-3 мл досліджуваного розчину додають 1 краплю свіжоприготованого 5% розчину хлориду феруму (III). Поруч проводять “сліпий” дослід.			
2.	Реакція утворення оцтовоетилового ефіру Методика. 1 мл досліджуваного розчину змішують з 1 мл етанолу і 2 мл концентрованої сульфатної кислоти. Пробірку з сумішшю розчину нагрівають в киплячій водяній бані.			

ЗАНЯТТЯ №

Дата _____

ТЕМА: ДОСЛІДЖЕННЯ ДИСТИЛЯТУ ТА БІОЛОГІЧНИХ РІДИН (КРОВ, СЕЧА) НА ЛЕТКІ ОТРУТИ МЕТОДОМ ГАЗОРІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ (ГРХ).

ВИЯВЛЕННЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЕТАНОЛУ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ МЕТОДОМ ГРХ

Перевірка роздільної здатності колонки та чутливості детектора.

Методика. У флакон з-під пеніциліну вносять 0,5 мл 50% трихлороцтової кислоти та 0,5 мл тестової суміші. Флакон закривають гумовою пробкою, яку фіксують. Зміст флакону перемішують і через пробку вводять в нього за допомогою шприца 0,5 мл 30% розчину нітрату натрію. Вміст знову перемішують (30 маятниковоподібних або колоподібних рухів по поверхні столу) і залишають на 1 хв. Після чого з флакону за допомогою шприца набирають 0,5-3,0 мл (в залежності від чутливості детектора, але завжди одну й ту саму кількість) пароподібної проби та вводять у хроматограф. Визначають абсолютний та відносний (по відношенню до пропанолу) час витримки інгредієнтів тестової суміші. При вимірюванні відносного часу утримання рекомендується вести відлік не від місця вводу проби в хроматограф, а від максимуму піку повітря до максимуму піку речовини, яку визначаємо. (виправлений час утримання - t^1R).

ВИЯВЛЕННЯ СПИРТІВ В ПРОБАХ, ЩО АНАЛІЗУЮТЬСЯ (КРОВ, СЕЧА, ДИСТИЛЯТ)

Методика. У флакон з-під пеніциліну вносять 0,5 мл 50% трихлороцтової кислоти та 0,5 мл рідини, що аналізується. Флакон закривають пробкою, яку закріплюють спеціальним фіксатором. Анадаль вчиняють, як описано при перевірці роздільної здатності колонки і чутливості детектора. Порівнюють час утримання тестової та проби, що аналізується. При виявленні етанолу проводять його кількісне визначення.

Кількісне визначення етанолу

Побудова калібрувального графіку. Готують серію стандартних розчинів етанолу концентрації 2,3,4,5% і розчинів внутрішнього стандарту, що містять 4% пропіловий спирт. В декількох флаконах з-під пеніциліну вносять по 2 мл внутрішнього стандарту і по 2 мл розчину етанолу різної концентрації(2,3,4,5%). Вміст флаконів добре перемішують, а поім беруть по 1 мл з кожного флакону та переносять в інші флакони з-під пеніциліну. В кожний флакон додають 0,5 мл 50% розчину трихлороцтової кислоти і далі вчиняють як описано вище. Вимірюють висоти піків етинітриту та пропілнітриту. Знаходять відношення цих величин, яке помножують на 100, а потім на 0,95 (поправочний коефіцієнт для крові) і на 1,05 (поправочний коефіцієнт для сечі). За отриманими даними будують графіки залежності відношення висот піків від концентрації (в проміле) етанолу в стандартних розчинах крові та сечі.

ТАБЛИЦЯ №1

№ п/п	‰		h етанол у (мм)	h пропано лу (мм)	h етанолу/ h пропанолу	коефіцієнти (R)	
	етанол	пропанол				0,95 (кров)	1,05 (сеча)
1.	1	4	14,0	49,0			
2.	2	4	35,5	50,5			
3.	3	4	56,0	52,0			
4.	4	4	82,5	50,5			

Градувальний графік за даними таблиці №1

ЗАНЯТТЯ №

Дата

ТЕМА: ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ
ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ПЕСТИЦИДАМИ). МЕТОДИ
ВИДІЛЕННЯ ПЕСТИЦИДІВ ІЗ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ ТА
ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ.

№ п/п	Методика хімічних реакцій	Спостереження	Хімізм реакцій	Хіміко-токсикологічна оцінка реакцій
1.	<p align="center">Біохімічна проба</p> <p>Методика. Беруть дві пробірки в одну пробірку додають 1 мл досліджуваного розчину, в іншу пробірку 1 мл чистої води (двічі перегнаною). В обидві пробірки додають по краплях розчин холінестерази та перемішують. Потім додають ацетилхолін, знову перемішують і далі по одній краплі індикаторно-буферного розчину бромтимолового синього. Порівнюють в пробірках.</p>			
1.	<p align="center">Хімічне дослідження хлорофосу Загальні реакції</p> <p>Виявлення фосфат-іонів</p> <p>Методика. В пробірку вносять 3-5 крапель мінералізату і додають 5 крапель розчину молібдату амонію. Суміш підкислюють 10% розчином кислоти нітратної. До цього розчину додають 3-5 крапель насиченого розчину гідрохлориду бензидину. Потім додають 10% розчин аміаку до лужної реакції (по лакмусу).</p>			
2.	<p align="center"><i>Самостійна робота</i></p> <p>Гідроперекисна проба</p> <p>Методика. До суміші 0,5 мл 2,5% ацетованого розчину бензидину і 2 мл свіжоприготованого пероксиду водню в лужному середовищі додати 2 мл досліджуваної рідини.</p>			
3.	<p align="center"><i>Часні реакції на хлорофос</i></p> <p>Реакція з реактивом Несслера</p> <p>Методика. До 0,5 мл досліджуваного розчину додають 2-3 краплі реактива Несслера, перемішують рідини.</p>			
4.	<p>Реакція з лужним розчином резорцину</p> <p>Методика. До 0,5-1 мл досліджуваної води додати рівну кількість суміші, що</p>			

	складається з 1% розчину резорцину та 10% розчину гідроксиду натрію, приготований перед споживанням.			
5.	<p>Дослідження хлорофосу методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТШХ)</p> <p>На пластинку “Силуфол” наносять краплю досліджуваного екстракту і краплю розчину - “свідка”. Пластинку поміщають в хроматографічну камеру з системою розчинників гексан-ацетон (1:1). Висушують та проявляють свіжоприготованою сумішшю розчинів 2% резорцину та 10% натрію карбонату (2:3).</p>			

ПРИБЛИЗНИЙ АКТ СУДОВО-ХІМІЧНОЇ (ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ) ЕКСПЕРТИЗИ

АКТ № СУДОВО-ХІМІЧНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ТРУПА ГР.Х., СПРЯМОВАНИХ СЛІДЧИМ

При постановленні о назначенні судово-хімічної експертизи від _____, акт судово-медичного дослідження трупа от _____ та інша переписка на листах.

Дослідження проводилось в _____ хіміком-експертом _____.

Почато _____ Завершено _____

ОБСТАВИНИ СПРАВИ

Гр.Х. в стані сп'яніння “_____” _____ 20__р. в період з 19 до 21 години вжив порошки невідомого складу, після чого невдовзі втратив свідомість. Машиною швидкої допомоги в 23 годині був доставлений в лікарню, де і помер о 23 годині 30 хв, не приходячи в свідомість.

ЗОВНІШНІЙ ОГЛЯД

На дослідження доставлені: банка №1 з біолого скла ємністю 750 мл, вкрита пергаментом, складеним вдвічі. Горло банки закрито корковою пробкою, загорнуто білим папером і зв'язано куском бинту, кінці якого відбилися на картоні пластиліновою печаткою світлокоричневого кольору з нез'ясованим відбитком "судов.". На банці наявна паперова етикетка з написом фіолетовими чорнилами і печаткою, відбиток якої нечіткий. Напис на етикетці "Банка №1 - вміст шлунку трупа гр.Х." Вага вмісту банки 500 г. Вміст банки представляє собою кашеподібну масу рожево-сірого кольору. Реакція середовища на лакмус кисла. Папірець конго не забарвлюється. Запах без особливостей.

Банка №2. Банка з білого скла ємністю 1000 мл, вкрита пергаментом та білим папером. Горло банки обмотане шматком бинту, кінці якого відбиті на картоні пластиліновою печаткою світло-коричневого кольору з нечітким написом "слід.". На банці наявна етикетка на білому папері з написом чорнилами фіолетового кольору "Банка №2 - шматки печінки і нирок". Вміст банки представляє собою шматки вказаних органів вагою: печінка - 500г, нирки - 300г. Реакція вмісту банки на лакмус нейтральна. Запах без особливостей.

Пробірка ємністю 20 мл, закрита пробкою та заповнена до пробки кров'ю. На пробірці є етикетка з написом фіолетовими чорнилами "Кров з трупа гр.Х."

ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

I. 100 г вмісту банки, позначеної нами під №1, змішали з дистильованою водою до кашеподібного стану, підкислюючи щавлевою кислотою до слабокислої реакції на лакмус і піддавали перегонці з водяною парою. Першу порцію дистиляту в кількості 3 мл зібрали в 5 мл 1% розчин їдкого натра, наступні порції дистиляту по 25 мл - в два приймача без їдкого натра.

Дослідження дистилятів: 1) до всього першого дистиляту додавали декілька крапель сульфату закисного феруму і 1-2 краплі розчину хлориду окисного феруму, потім рідину підкислюють хлороводневою кислотою до слабокислої реакції. Жодного разу, після 48 годин не спостерігали ні синього осаду, ні блакитного фарбування; 2) до частини другого дистиляту додавали розчин резорцину в їдкому натрі. При нагріванні на водяній бані жодного фарбування не спостерігали; 3) до частини другого дистиляту додавали розчин йоду в їдкому натрі. При нагріванні на водяній бані випав жовтий осад із запахом йодоформу; 4) до частини другого дистиляту додавали рівний обсяг 20% розчину сульфатної кислоти та невелику кількість перманганату калію (сухого). При стоянні відчувався приємний запах, що нагадує запах фруктів. Через 20 хвилин рідину відфільтрували і з безбарвним фільтратом виконували наступні реакції: а) до половини фільтрату додавали п'ятикратний об'єм концентрованої сульфатної кислоти, в якій було розчинено кілька крупин кодеїну. Синьо-фіолетового фарбування не спостерігалося; б) до другої половини фільтрату додавали рівний об'єм фуксинсернистої кислоти та 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Фарбування не спостерігали; 5) кілька крупинок ацетату натрію розчиняли в 1 мл другого дистиляту, останній змішували з подвійним об'ємом концентрованої сульфатної кислоти. При слабкому нагріванні відчувався запах оцтовоетилового ефіру; 6) частину другого

дистилляту змішували з рівним об'ємом 5% спиртового розчину їдкого натру і обережно нагрівали протягом тривалого часу, після охолодження рідину підкисляли нітратною кислотою і до неї додавали 5% розчин нітрату аргентуму. Утворення каламуті чи осаду немає. Залишки другого дистилляту змішували з третім і піддавали дослідженню; 7) до частини дистиллятів додавали кілька крапель бромної води, одразу утворювалася каламутно білувато-жовтого кольору; половину суміші дистиллятів піддавали дворазової дефлегмації. Після другої дефлегмації було зібрано перший дистиллят 5 мл рідини, в другий 10 мл рідини. З першим дистиллятом були проведені реакції, описані в цьому розділі під пп. 3, 4, 5, з тими ж результатами, при проведенні реакції, описаної в п. 5, запах оцтовоетилового ефіру був чіткішим. При проведенні реакції з бромною водою каламуті не спостерігалось; 8) другу частину суміші дистиллятів з'єднували разом, підлужували розчином карбонату натрію і повторно витягували ефіром. Ефірні вилучення з'єднували разом, фільтрували, ефір видаляли при кімнатній температурі. Залишок був незначний. Після розчинення його в 2-3 краплях дистильованої води до отриманого розчину додавали 2 краплі 5% свіжоприготовленого хлориду розчину окисного феруму. Фіолетового фарбування не спостерігалось. П. 100 г вмісту банки, позначеної нами за №1, подрібнювали, з'єднували разом, заливали етиловим спиртом, підкисляли спиртовим розчином щавлевої кислоти до слабокислої реакції по лакмусу. Наступного дня спирт зливали, а об'єкт, що залишився, знову заливали етиловим спиртом, слабо підкисляли спиртовим розчином щавлевої кислоти і залишали на добу при кімнатній температурі.

Така операція повторювалася вкотре. Потім усі спиртові вилучення з'єднували разом, випарювали при температурі 40° до сиропоподібної рідини, яку обробляли невеликою кількістю спирту. Згорнуті білки відфільтровували, рідина знову упарювали при температурі 40°. Таку операцію проробляли до тих пір, поки при додаванні спирту не спостерігалось утворення пластівців. Після цього сиропоподібний залишок обробляли 25 мл дистильованої води і водний розчин повторно витягали хлороформом. Хлороформні вилучення з'єднували разом, фільтрували і видаляли хлороформ при кімнатній температурі. Залишок після видалення хлороформу з кислого хлороформного вилучення був бурого кольору, маслянистий. Після обробки цього залишку 20 мл гарячої дистильованої води, підлуженої їдким натром, робили повторне вилучення хлороформом. Лужні хлороформні вилучення з'єднували разом, видаляли хлороформ при кімнатній температурі. До залишку додавали бромну воду; рідину випарювали насухо на водяній бані. Після випаровування сухий залишок змочували краплею концентрованого розчину аміаку, по краях спостерігали пурпурово-червоне забарвлення. Водну рідину лужної реакції підкисляли сульфатною кислотою та повторно витягували ефіром. Ефірні вилучення з'єднували разом, фільтрували та ефір видаляли при кімнатній температурі. Залишок злегка бурого кольору, маслянистий, розчиняли в невеликій кількості ефіру і розподіляли на декількох предметних стеклах. Ефір видаляли за кімнатної температури. З залишками були зроблені наступні реакції: 1) на залишок наносили краплю концентрованої сульфатної кислоти, а потім краплю дистильованої води. З'являвся білий аморфний осад, який за годину перейшов у кристалічний, по краях краплі утворилися сферичні зростки з голчастих кристалів; 2) на залишок наносили краплю аміаку, потім краплю 10% розчину хлороводневої

кислоти. З'являвся білий аморфний осад, що кристалізується через 30 хвилин з утворенням аналогічних зростків краю краплі; 3) на залишок наносили краплю залізюодидного реактиву, через 20 хвилин по краях краплі утворилися зростки з голчастих кристалів темно-коричневого кольору; 4) на залишок наносили одну краплю концентрованої сульфатної кислоти та невеликий кристалік біхромату калію. При русі кристала спостерігали При русі кристала спостерігали жовто-зелене фарбування; 5) на залишок нанесли краплю концентрованої нітратної кислоти фарбування не спостерігалось; 6) на залишок наносили краплю концентрованої сульфатної кислоти, що містить формалін, жодного разу, ні при стоянні фарбування не з'являлося. Кислий водний розчин після вилучення хлороформом лужили аміаком і повторно витягали хлороформом. Лужні хлороформні вилучення з'єднували разом, фільтрували, і видаляли хлороформ при кімнатній температурі. Залишок після видалення хлороформу був безбарвним і незначним. Після розчинення в невеликому обсязі хлороформу він розподіляється на 3 годинні скла. Після видалення розчинника залишки розчиняли в 0,1 н хлороводневої кислоти. З розчинами проробляли такі реакції: 1) при додаванні краплі розчину вісмуту йодиду в йодиді калію з'явився незначний осад; 2) при додаванні краплі розчину йоду в йодиді калію відмічався незначний осад; 3) при додаванні краплі розчину йодиду меркурію в йодиді калію з'являлася незначна біла каламутня. Частину хлороформного вилучення розподіляли на кілька порцелянових чашок і після видалення хлороформу з залишками були проведені наступні реакції: 4) на залишок наносили краплю концентрованої сульфатної кислоти, що містить формалін. Ні разу, ні при стоянні синьо-фіолетового фарбування не з'являлося; 5) на залишок наносили краплю концентрованої сульфатної кислоти, що містить нітратну. Ніякого фарбування не спостерігалось ні ту годину, ні при стоянні; 6) на залишок наносили краплю концентрованої сульфатної кислоти, що містить молібденову кислоту. Фарбування не спостерігалось; 7) на залишок наносили краплю сульфатної кислоти, що містить ванадієву кислоту. Фарбування також з'являлося; 8) на залишок наносили краплю концентрованої сульфатної кислоти. Під час руху кристаліка біхромату калію струмків фіолетового кольору не спостерігалось; 9) на сухий залишок на предметному склі наносили краплю 10% розчину хлороводневої кислоти, краплю висушували за кімнатної температури, а потім на залишок наносили краплю 1% розчину перманганату калію; квадратних платівок рожевого кольору не спостерігалось; 10) у чашку з залишком поміщали 5 мл концентрованої нітратної кислоти, після упарювання на водяній бані на сухий залишок наносили кілька крапель спиртового розчину їдкоого калі і 1 мл ацетону. Фіолетового фарбування не спостерігалось.

III. 100 г вмісту банки, позначеної нами під №1, подрібнювали, заливали 50 мл нітратної кислоти, розведеної вдвічі та 25 мл концентрованої сульфатної кислоти. Після бурхливої реакції суміш нагрівали при постійному додаванні по краплях нітратної кислоти до одержання безбарвної рідини, яка не темніла при нагріванні протягом 30 хвилин без додавання нітратної кислоти при виділенні оксидів сірки. До охолодженої рідини додавали рівний обсяг дистильованої води і при нагріванні по краплях формалін доти, поки крапля досліджуваної рідини вже не давала синього фарбування з розчином дифеніламіну в концентрованій сульфатної кислоти.

Мінералізат розбавляли водою до 200 мл та досліджували наступними реакціями: 1) до 1 мл мінералізату додавали 4 мл води, 1 мл насиченого розчину однозаміщеного фосфату натрію, 0,2 г періодату калію та рідину нагрівали протягом 20 хвилин. Рожеве забарвлення не з'являлося; 2) до 1 мл мінералізату додавали 4 мл води, 1 краплю 10% розчину нітрату аргентуму, 0,5 г персульфату амонію, і реакційну суміш нагрівали протягом 20 хвилин на водяній бані, потім до безбарвної рідини додавали 1 мл насиченого розчину однозаміщеного фосфату натрію, шляхом додавання 10% розчину їдкого калі встановлювали рН 1,7 і додавали 1 мл розчину дифенілкарбазиду. Фарбування не з'являлося; 3) до 5 мл мінералізату доливали 5 мл хлороформу, кілька крапель 0,01% розчину дитизону та хлороформу та рідину енергійно збовтували. Золотисто-жовтого фарбування не з'являлося ні відразу, ні після промивання шару хлороформного 0,1% розчином гідрату окису амонію; 4) 10 мл мінералізату нейтралізували аміаком до рН 3 (за універсальним індикатором) і струшували з 5 мл хлороформного розчину діетилдітіокарбамінату плюмбума. Хлороформний шар не забарвлювався ні жовтим, ні коричневим кольором; 6) 1 мл мінералізату поміщали в ділильну лійку, до нього додавали 4 мл 40% розчину сульфатної кислоти, 3 мл 5 і хлороводневої кислоти, 2 краплі 5% розчину нітрату натрію, 7 крапель 0,5% спиртового розчину малахітового зеленого, 1 г безводного сульфату натрію, 5 мл толуолу та рідина енергійно збовтували ні водний шар, ні шар толуолу не забарвилися; 7) 2 мл мінералізату поміщали в колбу приладу Зангера-Блека, туди ж додавали 10 мл 4 н розчину сульфатної кислоти, 5 мл води, 1 мл 10% розчину хлориду олова (II) у концентрованій сульфатній кислоті і керованого 2, 0 г купірованого цинку. Колбу закривали пробкою із вмонтованою в неї насадкою, між планками якої знаходився реактивний папірець, оброблений бромідом меркурію та висушений. Нижче реактивного папірця в шийці насадки був тампон з вати, оброблений розчином ацетату плюмбума і висушений. Через годину реактивний папірець не змінювався в кольорі; 8) до 10 мл мінералізату додавали 20 крапель 20% розчину тіосульфату натрію до утворення та зникнення фіолетового фарбування, 10 крапель калій-натрію тартрату та надлишок кристалічного йодиду калію до утворення помаранчевого фарбування. Потім додавали кілька крапель 2% розчину оксихіноліну в 5% розчині хлороводневої кислоти. Ні помаранчево-червоного осаду, ні фарбування не спостерігалось. При додаванні до реакційної рідини 1 мл суміші ацетону та амілацетату (1:1) та енергійному збовтуванні шар органічного розчинника не фарбувався; 9) 10 мл мінералізату поміщали в ділильну лійку і до нього додавали 2 мл розчину гліцерину (1:10), 4 мл 10% розчину тартрату калію-натрію, 2 краплі розчину нільського блакитного і по краплях 10% розчин їдкого калі до появи рожевий колір. До пофарбованої рідини додавали 2 мл 1% розчину діетилдітіокарбамінату натрію і 10 мл хлороформу, після чого вміст ділильної лійки енергійно перемішували протягом 30 секунд.

Хлороформний шар відокремлювали, промивали водою і енергійно збовтували з 3 мл 1 н хлороводневої кислоти протягом 30 секунд.

Солянокислий розчин відокремлювали і відчували наступними реакціями: а) до 1 мл розчину додавали по краплях 10% розчин їдкого натру до рН 5 і 3 краплі свіжоприготовленого розчину натрію сульфіді. Ні каламут, ні осаду жовтого кольору

не утворювалося; б) до 1 мл досліджуваного розчину, доведеного до рН 5, як зазначено в па), додавали 3 краплі фероціаніду калію. Ні осаду, ні каламуті білого кольору не з'являлося; 10) до 0,5 мл мінералізату додавали 2 краплі насиченого розчину тіосульфату натрію. Додаючи по краплях 10% розчин їдкою натру, встановлювали до рН 5,0 і реакційної суміші додавали 1 мл ацетатного буфера (рН 5), 2 краплі 0,01% розчину дитизону в хлороформі, 1 мл хлороформу. Рідина енергійно збовтували. Хлороформний шар не набув ні рожевого, ні червоно-фіолетового забарвлення.

IV. По 100 г печінки та нирок, що знаходяться у банку, позначеній нами під №2, піддавали дослідження за описаним у пп. I, II, III з тими ж результатами.

V. По 20 г подрібнених органів (печінка і нирки окремо), що знаходилися в банку, позначеній нами за №2, поміщали в конічні колби і кожен об'єкт заливали 10 мл води, 1 мл етанолу, 10 мл концентрованої нітратної кислоти і 10 мл концентрованої сульфатна кислота. Після припинення виділення оксидів азоту колби нагрівали на киплячій водяній бані протягом 20 хвилин. Гарячі деструктати змішували з подвійними обсягами води і рідину відокремлювали фільтруванням. Залишки на фільтрі 3 рази промивали гарячою водою і промивні рідини приєднували до основного вилучення. Охолоджені деструктати розбавляли дистильованою водою мірних колбах до об'єму 200 мл. До половини кожного деструктату додавали 5 мл 2,5 н розчину сульфату натрію, до 250 мл суспензії йодиду закисного купруму. Рідини перемішували. При цьому завись як в одній, так і в іншій колбі залишилася білого кольору. Після додавання до досліджуваних розчинів другої половини деструктатів колір суспензії не змінився.

VI. У флакон з-під пеніциліну поміщали 0,5 мл розчину трихлороцтової кислоти, краплю розчину метилового спирту та 0,5 мл крові, що знаходилась у пробірці. Після закриття флакона пробкою вміст його ретельно збовтували, у флакон шприцом вводили 0,25 мл розчину нітриту натрію та суміш знову енергійно збовтували.

Потім через 1 хвилину флакона шприцом відбирали 3 мл пароподібної фази, яку вводили в газовий хроматограф. На хроматограф фіксували пік етилнітриту.

2 мл розчину ізопропілового спирту (внутрішній стандарт) змішували з 2 мл тієї ж крові, 1 мл суміші вводили у флакон з-під пеніциліну, що містить 0,5 мл розчину трихлороцтової кислоти. Після закриття флакона пробкою з вмістом його робили, як описано вище.

Після введення в хроматограф 3 мл пароподібної фази на хроматограмі відзначали висоту піку етилнітриту, рівну 72 мм, і висо-

ту піка ізопропілнітриту 69мм, при повторному визначенні 83 та 78 мм відповідно.

Умови хроматографування: хроматограф ХЛ4. колонка 200x0,6 см. Насадка інзенський цегла (0.2 0.3 мм) +0,3% їдкою тра +25% триетиленгліколю (від ваги цегли).

Температура 70 °. Витрата газу-носія азоту 2 л/годину.

З викладеного вище слід, що з хіміко-токсикологічному дослідженні внутрішніх органів трупа гр. Х., направ

ВИСНОВОК

На основі викладеного вище слідує ,що при хіміко токсикологічному дослідженні внутрішніх органів трупа гр.Х.,направлених на дослідження, з постановою _____

від _____ 200 г знайдено: етиловий спирт у кількості 2,00%, кофеїн та фенобарбітал. Не знайдено: метилового спирту, летких органічних галогенопохідних, фенолів, формальдегіду та синильної кислоти, морфіну, кодеїну, атропіну, стрихніну, бруцину, кокаїну, промедолу, сполук барію, плюмбуму, марганцю, хрому, аргентуму, аргентуму вісмуту, кадмію, цинку та меркурію.

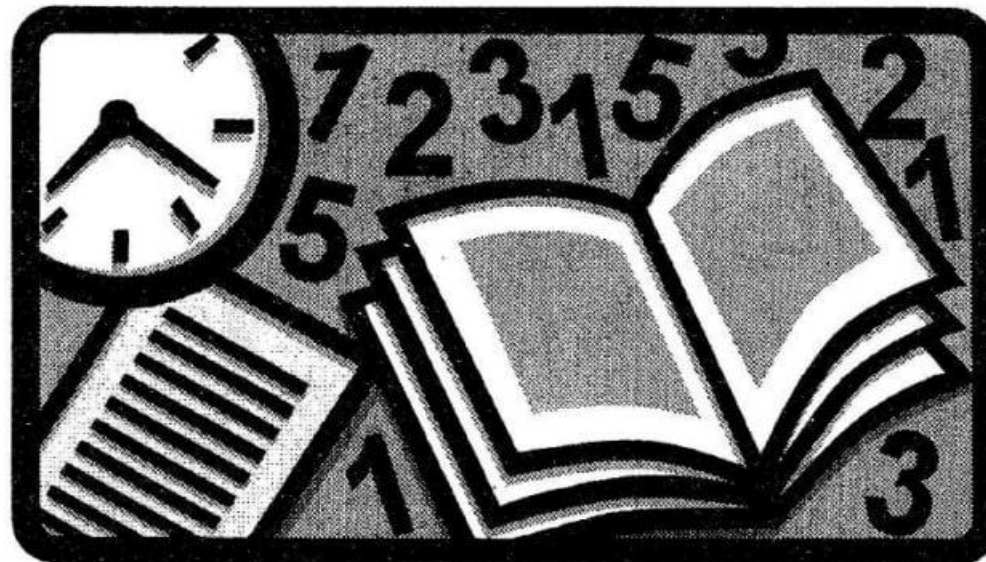
- Додаток: 1) 2 хроматограми на 2 аркуші;
2) калібрувальний графік на 1 аркуші;
3) 2 фотографії мікрокристалів.

“ ” _____ 20__ р

Аналіз виробляв(а) _____

РОБОЧИЙ ЖУРНАЛ 2

З ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ТА СУДОВОЇ ХІМІЇ
СТУДЕНТА(ТКИ) КУРСУ ГРУПИ



Дата

ТЕМА: ГРУПА РЕЧОВИН, ІЗОЛЮВАНИХ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ПОЛЯРНИМИ РОЗЧИННИКАМИ («ЛІКАРСЬКІ ОТРУТИ»)

ЗАГАЛЬНІ ТА СПЕЦИФІЧНІ МЕТОДИ ІЗОЛЮВАННЯ:

1. Ізолювання водою, підкисленою щавлевою кислотою (метод А. А. Васильєвої)

Подрібнений об'єкт (органи трупа) поміщають у колбу або склянку і заливають подвійним об'ємом (щодо наважки) дистильованої води, потім підкислюють суміш 10% розчином щавлевої кислоти до рН 2-3 за універсальним індикаторним папером. Після двогодинного настоювання при постійному помішуванні суміші отримують водні вилучення, який проціджують через подвійний шар марлі. Операцію настоювання повторюють протягом години з одинарним об'ємом підкисленої води. Проціджені кислі водні вилучення об'єднують, поміщають у розподільну лійку і тричі струшують з окремими порціями хлороформу (15, 10, 10 мл). Хлороформні вилучення об'єднують і фільтрують через невеликий паперовий фільтр, попередньо змочений хлороформом, у суху колбу з написом "Кислі хлороформні вилучення". Водний шар у ділильній лійці підлужнюють 25% розчином аміаку до рН 8-9 за універсальним індикаторним папером і знову збовтують тричі з окремими порціями хлороформу (15, 10, 10 мл). Хлороформні вилучення об'єднують, фільтрують, як описано вище, у колбу з написом "Лужні хлороформні вилучення". Під час вилучення отрут хлороформом з лужних водних вилучень утворюються стійкі емульсії, для руйнування яких можна застосувати центрифугування вмісту воронки або додавання до суміші безводного натрію сульфату.

2. Ізолювання етанолом, підкисленим щавлевою кислотою (метод Стаса-Отто)

Подрібнений об'єкт (органи трупа) поміщають у склянку або банку, заливають 96% етанолом до утворення дзеркальної поверхні, суміш підкислюють 10% спиртовим розчином щавлевої кислоти до рН 2-3 за універсальним індикаторним папером і залишають на добу при періодичному помішуванні. Після закінчення зазначеного терміну кислі спиртові вилучення відокремлюють, фільтруючи через змочений етанолом паперовий фільтр. Операцію вилучення повторюють 2-3 рази. Спиртові кислі вилучення об'єднують і випарюють на водяній бані за 40-50°C до густоти сиропу. Сиропоподібну рідину обробляють 96° етанолом, приливаючи його по краплях доти, доки етанол не перестане викликати помутніння рідини. Осаду дають відстоятися і потім відфільтровують його через невеликий фільтр (діаметр 5-6 см), попередньо змочений спиртом. Фільтр промивають невеликою кількістю спирту. Фільтрат згущують у фарфоровій чашці на водяній бані до густоти сиропу і знову повторюють операцію осадження. Так роблять доти, доки етанол не перестане

осаджувати білки. Потім вилучення знову випарюють на водяній бані до густини сиропу, залишок розчиняють у 25-30 мл теплої дистильованої води і каламутний розчин фільтрують через невеликий гладкий фільтр, змочений водою, в розподільчу воронку. Водно-спиртовий розчин екстрагують тричі хлороформом порціями по 15, 10 і 10 мл. Хлороформні вилучення фільтрують через фільтр, змочений хлороформом, у суху колбу з написом "Кислі хлороформні вилучення".

Водний залишок у ділильній лійці підлужнюють 25% розчином аміаку до рН 8-9 за універсальним індикаторним папером і знову проводять екстракцію хлороформом, як описано вище. Об'єднані хлороформні вилучення поміщають у суху колбу з написом "Лужні хлороформні вилучення".

3. Ізолювання водою, підкисленою сірчаною кислотою (метод В. Ф. Крамаренка)

100 г подрібненого біологічного матеріалу поміщають у колбу або склянку, заливають 0,01 М розчином сірчаної кислоти до утворення дзеркальної поверхні. Якщо рН розчину після перемішування вмісту колби вищий, ніж 2,5, то додають по краплях 20 % розчин сірчаної кислоти: до зазначеного значення рН. Суміш залишають на 2 год, періодично збовтуючи. Після закінчення цього часу водні вилучення відокремлюють і проціджують через марлю. Операцію вилучення проводять тричі. Кислі вилучення збирають разом і центрифугують. Надосадову рідину зливають, а осад знову заливають 20-30 мл 0,01 М розчину сірчаної кислоти (рН 2,5), перемішують, настоюють 2 год, після чого вилучення центрифугують. Центрифугати об'єднують, насичують сульфатом амонію і залишають на 1-2 год. Якщо утворився осад, його відокремлюють центрифугуванням. Звільнену від білків кислу рідину двічі витягують ефіром порціями по 40 мл. Ефірний шар відокремлюють, а до водного вилучення додають 20% розчин гідроксиду натрію до рН 8,5-9 і проводять тричі екстракцію речовин основного характеру окремими порціями хлороформу, що дорівнюють третій частині об'єму водної фази. Хлороформні вилучення об'єднують, фільтрують через сухий фільтр, а потім розчинник відганяють на водяній бані за температури 40-50°C насухо. Залежно від поставленого завдання сухий залишок розчиняють у 5-6 мл хлороформу або в 10 мл 0,1 М розчину хлороводневої кислоти і проводять дослідження на алкалоїди. За необхідності досліджують і ефірні вилучення, отриманий з кислого водного вилучення, на речовини, що екстрагуються з кислого водного середовища органічним розчинником.

4. Ізолювання ацетоном (метод Карташова В. А.)

5 г гомогенізованої тканини внутрішніх органів поміщають у пенігіліновий флакон місткістю 20 мл, додають 5 мл ацетону; суміш перемішують, закривають поліетиленовим корком і збовтують на автоматичному струшувачі протягом 10 хв. Потім вміст флакона центрифугують 5 хв при 2500 об/хв і надосадову рідину зливають через невеликий ватний тампон у флакон місткістю 30 мл. Операцію вилучення повторюють ще 3 рази. До об'єднаних ацетонових вилучень додають 20 мл 0,5 М розчину хлороводневої кислоти та витягують 2 рази н-гексаном по 10 мл. Органічну фазу відокремлюють і відкидають. З придатної фази речовини екстрагують ефіром 2 рази по 10 мл. Ефірні екстракти об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр і випарюють під струмом теплого повітря насухо. Сухий залишок досліджують на речовини кислотного характеру. Водну фазу підлужнюють до рН 11, додають 5 г хлориду натрію і екстрагують 2 рази ефіром по 10 мл. Ефірні екстракти об'єднують, фільтрують, розчинник випарюють, сухий залишок досліджують на речовини основного характеру.

5. Експрес-метод ізолювання похідних фенотіазину підкисленим ацетонітрилом (метод Є. М. Саломатіна)

50 г подрібненого біологічного матеріалу поміщають у колбу, підкислюють 10 % розчином хлороводневої кислоти до рН 2-3 і проводять екстракцію отрут 100, 50 і 50 мл ацетонітрилу протягом 30, 15 і 15 хв із використанням механічного струшувача. Ацетонітрильні вилучення фільтрують через зволожений дистильованою водою паперовий фільтр у розподільну лійку, що містить 500 мл 2,5% водного розчину сульфату натрію. Вміст ділильної воронки перемішують до утворення гомогенного розчину, підкислюють 6 М розчином хлороводневої кислоти до рН 2,0-3,0 (за універсальним індикатором) і тричі по 10 хв екстрагують порціями ефіру по 100 мл. Кислий водно-ацетонітрильний розчин, що залишився після екстракції ефіром, підлужнюють насиченим водним розчином гідроксиду натрію до рН 13 за універсальним індикаторним папером і тричі екстрагують по 10 хв порціями ефіру по 100 мл. Ефірні екстракти упарюють під вакуумом на роторному випаровувачі за 40°C до об'єму 35-40 мл і фільтрують у мірну колбу місткістю 50 мл через паперовий фільтр діаметром 5-6 см, що містить 1,5-2 г безводного сульфату натрію. Випарну колбу і фільтр промивають 10-15 мл ефіру, який приєднують до фільтрату в мірній колбі. Вміст колби доводять до мітки і досліджують.

6. Ізолювання барбітуратів підлуженою водою (метод Валова)

До 100 г подрібненого біологічного матеріалу додають воду і 10% розчин гідроксиду натрію (180 і 20 мл відповідно). Суміш перемішують і залишають на 30 хв за періодичного помішування, потім проціджують і центрифугують протягом 30 хв за 3000 об/хв. До центрифугату додають 120 мл 10% розчину вольфрамату натрію і 0,5 М розчин сірчаної кислоти до рН 2. Після чого суміш нагрівають протягом 20 хв на

киплячій водянній бані, а потім центрифугують протягом 30 хв. Центрифугат проціджують через ватний тампон, зливаючи з осаду. Тампон промивають 10 мл води, приєднуючи її до процідженого центрифугату. До кислого вилучення додають рівний об'єм ефіру і збовтують протягом 15 хв. Органічну фазу відокремлюють і збовтують із 50 мл 10% розчину гідроксиду натрію, після чого відокремлюють водний шар, підкислюють його 25% розчином сірчаної кислоти до рН 2 і збовтують із рівним об'ємом ефіру. Відокремлюють ефірний шар і проводять з ним аналіз екстракту на барбітурати.

7. Ізолювання барбітуратів водою, підкисленою сірчаною кислотою (метод В. І. Попової)

100 г подрібненого біологічного матеріалу (печінка, нирки, мозок) заливають 0,01 М розчином сірчаної кислоти (80 мл), рідину доводять 30% розчином сірчаної кислоти до рН 2,0-3,0 і залишають на 2 год при періодичному помішуванні. Потім вилучення зливають, операцію настоювання з підкисленою водою повторюють ще 2 рази по годині, заливаючи об'єкт новими порціями 0,01 М сірчаної кислоти (по 80 мл). Вилучення об'єднують, проціджують через 3 шари марлі, вимірюють об'єм, потім центрифугують (3000-5000 об/хв) протягом 20-30 хв. 25 або 50 мл центрифугату вносять у колонку (40 x 2,5 см), заповнену гелем сефадекса G-25 (розмір часток у сухому стані 100-300 мкм). На поліетиленовій трубці в нижній частині колонки відкривають затискач: внесена в колонку вилучення вбирається гелем (над гелем має залишатися невеликий шар рідини). Після цього в колонку двічі вносять по 2 мл 0, 01 М розчину сірчаної кислоти, щоразу відкриваючи затискач.

Для елюювання барбітуратів колонку з'єднують зі встановленою вище посудиною, заповненою 0,01 М розчином сірчаної кислоти, і відкривають затискач внизу колонки. Перші 150 мл елюату відкидають, а наступні 200 мл переносять у ділильну лійку, куди додають 50 мл хлороформу; вміст лійки збовтують 10 хв. Екстракцію новими порціями хлороформу проводять ще 2 рази. Хлороформні вилучення об'єднують, випарюють при 40°C насухо і досліджують.

8. Ізолювання метаболітів похідних 1,4-бенздіазепіну (метод Б. М. Ізотова зі співавторами)

До 25 г гомогенізату органа додають 6 М розчин хлороводневої кислоти у співвідношенні 1:2 і проводять гідроліз об'єкта в колбі зі зворотним холодильником на гліцериновій бані за температури 140-145°C протягом 60 хв. Гідролізат центрифугують при 5000 об/хв протягом 15 хв, фільтрують і екстрагують тричі порціями 50, 25, 25 мл сумішню хлороформ-пентанол (9:1). Органічну фазу відокремлюють у мірну колбу на 100 мл, фільтруючи через шар безводного сульфату натрію, і доводять до мітки, після чого досліджують на бензофенони (продукти метаболізму похідних 1,4-бенздіазепіну).

Заняття №

Дата

ТЕМА: СПРЯМОВАНЕ І НЕСПРЯМОВАНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ "КИСЛИХ" ХЛОРОФОРМНИХ ВИЛУЧЕНЬ (ПОХІДНІ БАРБІТУРОВОЇ ТА САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ, ПІРАЗОЛОНУ, ПУРИНУ)

ТШХ-"скринінг" (один із варіантів) речовин, що потрапляють у "кислі" хлороформні вилучення

1 етап (у загальних системах розчинників)

На хроматографічну пластинку із закріпленим шаром силікагелю наносять у три точки, які відстають одна від одної на відстані 2 см, 0,1-0,2 мл екстракту, еквівалентного вилучення з 1-2 г органа. Пластину з пробами поміщають у камеру, на дні якої міститься система розчинників ацетон-хлороформ (1:9). Після розвитку хроматограми та висушування пластини проводять прояв окремих хроматографічних смуг (проб після розділення речовин). Закривши 2 і 3 смуги, першу смугу обробляють послідовно 5% розчином сульфату ртуті й потім 0,1% розчином дифенілкарбазону в хлороформі. За наявності барбітуратів з'являються плями, забарвлені в синьо-фіолетовий або червоно-фіолетовий колір. Потім закривають 1 і 3 смуги, а другу обробляють 10% розчином хлориду феруму (III). За наявності похідних піразолону з'являються забарвлені плями: блакитні, сині, синьо-фіолетові, червоно-фіолетові; саліцилової кислоти - синьо-фіолетові. Після цього закривають смуги 1 і 2, а третю обробляють реактивом Драгендорфа, а потім 10% розчином сірчаної кислоти. За наявності речовин слабоосновного характеру (кофеїн, амідопірин, антипірин, діазепам, нітразепам) утворюються помаранчеві, помаранчево-коричневі, жовто-помаранчеві плями.

Оцінка результатів аналізу. За відсутності вищевказаних кольорових плям дослідження "кислого" хлороформного екстракту закінчують, за позитивного результату продовжують аналіз.

Залежно від передбачуваних сполук у пробі екстракту далі виконують підтверджувальний етап ТШХ-"скринінгу" в приватних системах розчинників зі свідком.

2 етап (у приватних системах розчинників)

Умови ТШХ-"скринінгу" барбітуратів:

Система: хлороформ-н-бутанол-25% розчин гідроксиду амонію (70:40:5); сорбент: силікагель КСК, забуферований 0,033 М розчином борної кислоти; свідок: циклобарбітал, кількість проб, які наносяться, - дві (одна для прояву, друга для елюювання).

Умови ТШХ-"скринінгу" кофеїну і похідних піразолону:

Система: ацетон-циклогексан (5:1); сорбент: основний окис алюмінію; свідок: залежно від забарвлення на хроматограмах із розчином хлориду феруму (III) - за стійкого червоного антипірин, за фіолетового, який зникає, - амідопірин, за рожевого - 4-монометиламіноантипірин (продукт метаболізму анальгін). При утворенні забарвлених плям тільки з одним модифікованим реактивом Драгендорфа як свідка використовують кофеїн.

Оцінка результатів аналізу. За позитивного результату підтверджувального етапу ТШХ-"скринінгу" виконують хімічні реакції і знімають спектри поглинання виявленої речовини в УФ-області.

№	Методика дослідження	Спостереження	Хімізм реакції	Хіміко-токсикологічна оцінка реакції
1.	<p><u>Хімічні методи дослідження</u> <i>Саліцилової кислоти</i></p> <p><u>Реакція утворення трибромфенолу</u> До залишку після видалення хлороформу у фарфоровій чашці додають кілька крапель дистильованої води, перемішують і додають 2-3 краплі насиченого розчину бромної води.</p>			
2.	<p><u>Реакція забарвлення з розчином хлориду окисного феруму</u> До залишку після видалення хлороформу у порцеляновій чашці додають 1 краплю свіжоприготованого розчину хлориду окисного феруму. На фільтрувальний папір поміщають 1 краплю свіжоприготованого розчину хлориду окисного феруму і підсушують. Потім на те саме місце наносять 1-2 краплі досліджуваного хлороформного вилучення.</p>			
3.	<p><i>Самостійна робота</i></p> <p><u>Реакція утворення метилсацілату</u> У пробірку поміщають кілька крапель досліджуваного хлороформного вилучення, випаровують за слабого нагрівання на водяній бані й до залишку додають 2-3 краплі концентрованої сірчаної кислоти, 2-3 краплі метилового спирту й нагрівають на водяній бані. З'являється характерний запах метилового ефіру саліцилової кислоти.</p>			
1.	<p><i>Похідні барбітурової кислоти (барбітал, барбаміл, фенобарбітал)</i></p> <p><u>Загальні реакції барбітуратів</u></p> <p><u>Реакція з аміачним розчином нітрату або ацетату кобальту</u> На папірець, оброблений 1% спиртовим розчином нітрату кобальту наносять краплю хлороформного вилучення, висушують. Потім обкурюють парами аміаку (підносячи до горла склянки, що містить концентрований аміак).</p>			

2.	<p><u>Реакція виділення кислотної форми барбітуратів</u></p> <p>На предметне скло нашаровують кілька крапель хлороформного розчину досліджуваної речовини, видаляючи хлороформ за кімнатної температури. Наступну краплю нашаровують після випаровування попередньої.</p> <p>Сухий залишок розчиняють у краплі концентрованої сірчаної кислоти. Через 3-5 хвилин поруч із цією краплею поміщають одну краплю дистильованої води, після чого їх обережно з'єднують за допомогою капіляра. Через 10-20 хвилин, а за малих кількостей барбітурату через 1-2 години, спостерігають появу кристалічного осаду, характерного для кожного окремого барбітурату.</p> <p>Описати форми кристалів і замалювати їх для кожного барбітурату.</p>			
3.	<p><u>Приватні реакції барбітуратів</u></p> <p><u>Реакція з хлорцинкйодом</u></p> <p>До сухого залишку на предметному склі (після видалення хлороформу) додають краплю розчину хлорцинкйоду. Через 10-15 хвилин під мікроскопом спостерігають утворення кристалічних осадів. Якщо осад довго не утворюється, до крапель на предметних скельцях додають 1-2 кристали вогняного йоду і препарати знову через 10-15 хвилин розглядають під мікроскопом.</p> <p>Замалювати форму кристалів для кожного з барбітуратів із хлорцинкйодом.</p>			
4.	<p><u>Реакція із залізойодидним комплексом</u></p> <p>До сухого залишку на предметному склі додають одну краплю залізойодидного комплексу; через 10-15 хвилин спостерігають утворення характерних зростків кристалів. Якщо кристалічний осад виходить занадто рясним, реакційну суміш обережно випарюють на предметному склі на полум'ї спиртівки, а до сухого залишку додають потім краплю дистильованої води. Через 10-15 хвилин препарат знову розглядають під мікроскопом.</p> <p>Замалювати форму отриманих кристалів для кожного з барбітуратів.</p>			
5.	<p><u>Реакція з міднойодидним комплексом</u></p> <p>До сухого залишку досліджуваної речовини на предметному склі додають одну краплю міднойодидного комплексу. Через 10-15 хвилин спостерігають утворення кристалічних осадів.</p> <p>Замалювати форму отриманих кристалів.</p>			

1.	<p><i>Похідні пурину (кофеїн)</i></p> <p>Загальна реакція</p> <p><u>Реакція утворення мурексиду</u></p> <p>5-6 крапель хлороформного розчину досліджуваної речовини поміщають у порцелянову чашечку і розчинник випаровують без нагрівання. До сухого залишку додають 0,5-1 мл насиченого розчину бромної води і випарюють на водяній бані насухо. До забарвленого в буруватий колір залишку підносять на скляній паличці одну краплю 25% розчину аміаку.</p>			
2.	<p><u>Реакція з реактивом Несслера</u></p> <p>Розчин кофеїну з реактивом Несслера нагрівають протягом 1-2 хв на киплячій водяній бані.</p>			
1.	<p><i>Похідні піразолону (антипірін, анальгін)</i></p> <p>Антипірін</p> <p><u>Реакція з хлоридом феруму (III)</u></p> <p>У порцелянову чашку вносять кілька крапель хлороформного вилучення, яку випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 5% розчину хлориду феруму (III).</p>			
2.	<p><u>Реакція утворення нітросоантипірину</u></p> <p>У порцелянову чашку вносять 3-5 мл хлороформного вилучення, яку на водяній бані випарюють насухо. Сухий осад розчиняють у 3-5 краплях води, додають 2-4 краплі 10% розчину сірчаної кислоти і 2-3 краплі насиченого розчину нітриту натрію.</p>			
3.	<p><i>Самостійна робота</i></p> <p><u>Реакція утворення азобарвника</u></p> <p>У пробірку вносять 2-5 крапель хлороформного вилучення з кислого середовища, яку випарюють на водяній бані насухо. До сухого залишку додають 1-2 краплі води. До отриманого розчину додають краплю крижаної оцтової кислоти і краплю 5% розчину нітриту калію. Суміш залишають на 5 хвилин при періодичному збовтуванні. Потім у пробірку вносять невелику кількість азиду натрію. Після припинення виділення бульбашок газу додають 3-4 кристалики α-нафтиламіну і нагрівають пробірку на водяній бані 1-2 хв.</p>			

1.	<p>Анальгін Реакція з хлоридом феруму (III) У порцелянову чашку вносять кілька крапель хлороформного вилучення, яку випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 5% розчину хлориду феруму (III).</p> <p>Проба з лігніном 2-3 краплі досліджуваного хлороформного розчину послідовно наносять в одну точку на шматочок газетного паперу. Спостерігають характерне забарвлення, яке різко посилюється під час обробки плями розведеною хлороводневою кислотою.</p>			
----	--	--	--	--

Заняття №

Дата

ТЕМА: СПРЯМОВАНЕ ТА НЕСПРЯМОВАНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ "ЛУЖНОГО" ХЛОРОФОРМНОГО ВИЛУЧЕННЯ НА АЛКАЛОЇДИ (ПОХІДНІ ТРОПАНУ, ПІРИДИНУ ТА ПІПЕРИДИНУ)

ТШХ-"скринінг" (один із варіантів) речовин, що потрапляють у "лужні" хлороформні вилучення

Умови ТШХ-"скринінгу": нанесення проб екстракту проводиться так, як описано для "кислого" хлороформного вилучення; система для попереднього етапу ТШХ-"скринінгу": хлороформ-діоксан-ацетон-25% розчин гідроксиду амонію (45:47,5:5:2,5). Проявники для окремих проб (смуг): 10% розчин сірчаної кислоти в етанолі для похідних фенотіазину (червоні, блакитні плями); 10% розчин хлориду феруму (III) для похідних піразолону і фенотіазину (червоне, синє, блакитне забарвлення плям); реактив Драгендорфа для всіх сполук, які містять третинний азот (оранжево-коричневе забарвлення плям).

Оцінка результатів аналізу. За відсутності характерних плям на хроматограмах дослідження закінчують. При утворенні забарвлених плям з однаковим значенням Rf після прояву всіма названими реактивами виконують підтверджувальний етап ТШХ-"скринінгу" на похідні фенотіазину; з реакцією Драгендорфа та розчином хлориду феруму (III) на похідні піридину і піперидину, хіноліну, ізохіноліну, тропану, індолу, а також на похідні 1,4-бенздіазепіну і п-амінобензойної кислоти.

Умови підтверджувального етапу ТШХ-"скринінгу"

Для алкалоїдів: система хлороформ-діетиламін (9:1); сорбент силікагель КСК; проявник реактив Драгендорфа.

№	Методика дослідження	Спостереження	Хімізм реакції	Хіміко-токсикологічна оцінка реакції
1.	<p><u>Підтверджувальні дослідження на речовини, що потрапляють у "лужні" хлороформні вилучення</u> Похідні піридину і піперидину (анабазин, нахікарпін) Анабазин <u>Реакція з реактивом Драгендорфа</u> На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі і випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої і краплю реактиву Драгендорфа. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом.</p>			
2.	<p><u>Реакція з пікриновою кислотою</u> На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої і краплю 0,5% розчину пікринової кислоти. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом.</p>			

3.	<u>Реакція з 1% розчином солі Рейнеке</u> На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого осаду додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої і краплю свіжоприготованого розчину 1% розчину солі Рейнеке. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом.			
1.	<u>Пахікарпін</u> <u>Реакція з розчином йоду в йодиді калію (реактив Бушарда)</u> На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої 1-2 краплі розчину йоду в йодиді калію. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом. Кристали замалювати.			
2.	<u>Реакція з пікриною кислотою</u> На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої 1-2 краплі розчину пікринової кислоти. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом. Кристали замалювати.			
3.	<u>Реакція з роданідним комплексом кобальту</u> На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої 1-2 краплі розчину роданідного комплексу кобальту. Через 5-10 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом. Кристали замалювати.			
1.	<u>Похідні тропану (атропін, скополамін, кокаїн)</u> <i>Загальна реакція (крім кокаїну)</i> <u>Реакція Віталі-Морена</u> До сухого хлороформного залишку у порцеляновій чашці додають кілька крапель концентрованої нітратної кислоти й обережно випарюють насухо на водяній бані. Цю операцію повторюють не менше 3 разів, охолоджують. Потім до залишку додають свіжоприготований спиртовий розчин гідроксиду калію. Спостерігають характерне забарвлення.			

2.	<p><i>Підтверджувальні реакції</i></p> <p>Атропін Реакція із сіллю Рейнеке</p> <p>На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого осаду додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої і краплю свіжоприготованого розчину 1% розчину солі Рейнеке. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом. Кристали замалювати.</p>			
3.	<p>Реакція з пікриною кислотою</p> <p>На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого залишку додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої 1-2 краплі розчину пікринової кислоти. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом Кристали замалювати.</p>			
4.	<p>Скополамін Реакція із сіллю Рейнеке</p> <p>На предметне скло наносять 2-3 краплі розчину досліджуваної речовини в хлороформі й випарюють насухо. До сухого осаду додають краплю 0,1 М розчину кислоти хлороводневої і краплю свіжоприготованого розчину 1% розчину солі Рейнеке. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом. Кристали замалювати.</p>			
5.	<p>Реакція утворення перманганату кокаїну</p> <p>Кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину поступово нашаровують на предметне скло; органічний розчинник випарюють без нагрівання, до залишку додають 1 краплю 10 % розчину кислоти хлороводневої. Рідину випаровують за кімнатної температури. Операцію повторюють 2-3 рази. Потім до сухого залишку додають 1 краплі 1% розчину перманганату калію. Через 10-15 хв характерні кристали розглядають під мікроскопом. Кристали замалювати.</p>			

Заняття №

Дата

ТЕМА: СПРЯМОВАНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ "ЛУЖНИХ" ХЛОРОФОРМНИХ ВИЛУЧЕНЬ НА АЛКАЛОЇДИ (ПОХІДНІ ХІНОЛІНУ, ІЗОХІНОЛІНУ, ІНДОЛУ, АЦИКЛІЧНИЙ АЛКАЛОЇД ЕФЕДРИН)

№	Методика дослідження	Спостереження	Хімізм реакції	Хіміко-токсикологічна оцінка реакції
1.	<p>Похідні ізохіноліну (морфін, кодеїн) <i>Загальні реакції</i> Реакція з формальдегідом у концентрованій сульфатній кислоті (реактив Маркі) Кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину поміщають у порцелянову чашку, розчинник випаровують без нагрівання. До сухого залишку додають 1 краплю свіжоприготованого реактиву Маркі (1 крапля формаліну в 1 мл кислоти сульфатної).</p>			
2.	<p>Реакція з розчином молібдату амонію в концентрованій сульфатній кислоті (реактив Фреде) Кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину поміщають у порцелянову чашку, розчинник випаровують без нагрівання. До сухого залишку додають 1 краплю реактиву Фреде.</p>			
3.	<p>Реакція з ванадатом натрію в концентрованій сульфатній кислоті (реактив Манделіна) Кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину поміщають у порцелянову чашку, розчинник випаровують без нагрівання. До сухого залишку додають 1 краплю реактиву Манделіна.</p>			
4.	<p>Морфін Реакція з хлоридом окисного феруму Кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину поміщають у чашку, розчинник випаровують без нагрівання. До сухого розчину додають 1 краплю свіжоприготованого розчину хлориду окисного феруму.</p>			
1.	<p>Похідні хіноліну (хінін) Реакція флюоресценції Частину хлороформного досліджуваного розчину поміщають у пробірку, хлороформ випаровують при нагріванні на теплій водяній бані. До сухого залишку додають 1 мл дистильованої води та 1 мл 10% кислоти сульфатної. Характерну флюоресценцію спостерігають в УФ-світлі.</p>			

2.	<u>Реакція утворення таллейохіну (у крапельній модифікації Л.В. Пейсаховича)</u> На фільтрувальний папірець наносять 5-10 крапель хлороформного вилучення, пляму зволожують краплею води і піддають послідовній обробці парами бромної води (до появи жовтого забарвлення плями) і 25% розчином аміаку.			
1.	<u>Ациклічний алкалоїд ефедрин</u> <u>Реакція з розчином нінгідрину в н-бутанолі</u> На пластинку Силуфол наносять кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину, органічний розчинник випаровують без нагрівання. Потім додають розчин нінгідрину в н-бутанолі. Силуфолову пластинку нагрівають на піщаній бані до утворення характерного забарвлення.			
1.	<u>Похідні індолу (стрихнін)</u> <u>Реакція окиснення біхроматом калію в концентрованій кислоті сульфатній</u> 4-5 крапель хлороформного розчину досліджуваної речовини поміщають у порцелянову чашку і після випаровування хлороформу до сухого залишку додають 1 краплю концентрованої кислоти сульфатної та невеликий кристал біхромату калію.			
2.	<u>Реакція з ванадатом натрію в концентрованій сульфатній кислоті (реактив Манделіна)</u> Кілька крапель досліджуваного хлороформного розчину поміщають у порцелянову чашку, розчинник випаровують без нагрівання. До сухого залишку додають 1 краплю реактиву Манделіна.			

Заняття №

Дата

ТЕМА: СПРЯМОВАНЕ ТА НЕСПРЯМОВАНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ "ЛУЖНОГО" ХЛОРОФОРМНОГО ВИЛУЧЕННЯ НА СИНТЕТИЧНІ "ЛІКАРСЬКІ ОТРУТИ" (ПОХІДНІ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ, ФЕНОТІАЗІНУ, П-АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ)

№	Методика дослідження	Спостереження	Хімізм реакції	Висновок
1.	<p>Похідні 1,4-бенздіазепіни Методика проведення кислотного гідролізу 2 мл хлороформного екстракту випарюють насухо в колбі на киплячій водяній бані. До сухого залишку додають 5 мл 6Н кислоти хлороводневої і вміст колби нагрівають зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані 60 хв. Гідролізат охолоджують, нейтралізують насиченим розчином натрію гідроксиду до рН 7-9. Отриманий розчин переносять у розподільну лійку й екстрагують рівним об'ємом хлороформу продукти гідролізату 1,4-бенздіазепінів-амінобензофенони. Органічну фазу відокремлюють, фільтрують через безводний натрію сульфат. Екстракт упарюють до об'єму 0,2 мл і досліджують. Після перенесення на хроматографічну пластинку розглядають в УФ-світлі.</p> <p>Реакція утворення азобарвника Хроматографічну пластинку послідовно обробляють реактивами: 1 % розчином нітриту натрію, потім 2 М розчином хлороводневої кислоти і лужним розчином β-нафтолу.</p>			
1.	<p>Похідні фенотіазину (аміназин, левомепромазин) Реакція з концентрованою кислотою сульфатною 4-5 крапель хлороформного розчину досліджуваної речовини поміщають у порцелянову чашку і після випаровування хлороформу до сухого залишку додають 1 крап концентрованої кислоти сульфатної.</p>			
2.	<p>Реакція з концентрованою кислотою нітратною 4-5 крапель хлороформного розчину досліджуваної речовини поміщають у порцелянову чашку і після випаровування хлороформу до сухого залишку додають 1 краплю концентрованої кислоти нітратної.</p>			
3.	<p>Реакція з концентрованою кислотою хлороводневою 4-5 крапель хлороформного розчину досліджуваної речовини поміщають у порцелянову чашку і після випаровування хлороформу до сухого залишку додають 1 краплю концентрованої кислоти хлороводневої.</p>			

1.	Похідні п-амінобензойної кислоти (новокаїн) Хлороформний екстракт переносять на хроматографічну пластину або папір в одну крапку, яку після висихання обробляють краплею 2 М розчину хлороводневої кислоти, потім краплею 1% розчину нітриту натрію, через 2-3 хв - краплею лужного розчину β-нафтолу.			
----	--	--	--	--

Заняття №

Дата

ТЕМА: КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ "ЛІКАРСЬКИХ ОТРУТ" В ЕКСТРАКТАХ З ОРГАНІВ ТРУПА

Кількісне визначення аміназину з хлоридом феруму (III)

Реактиви:

1. 5 % розчин хлориду феруму (III).
2. Вода дистильована.
3. Екстракт із біологічного матеріалу, що містить аміназин (завдання).

Методика визначення

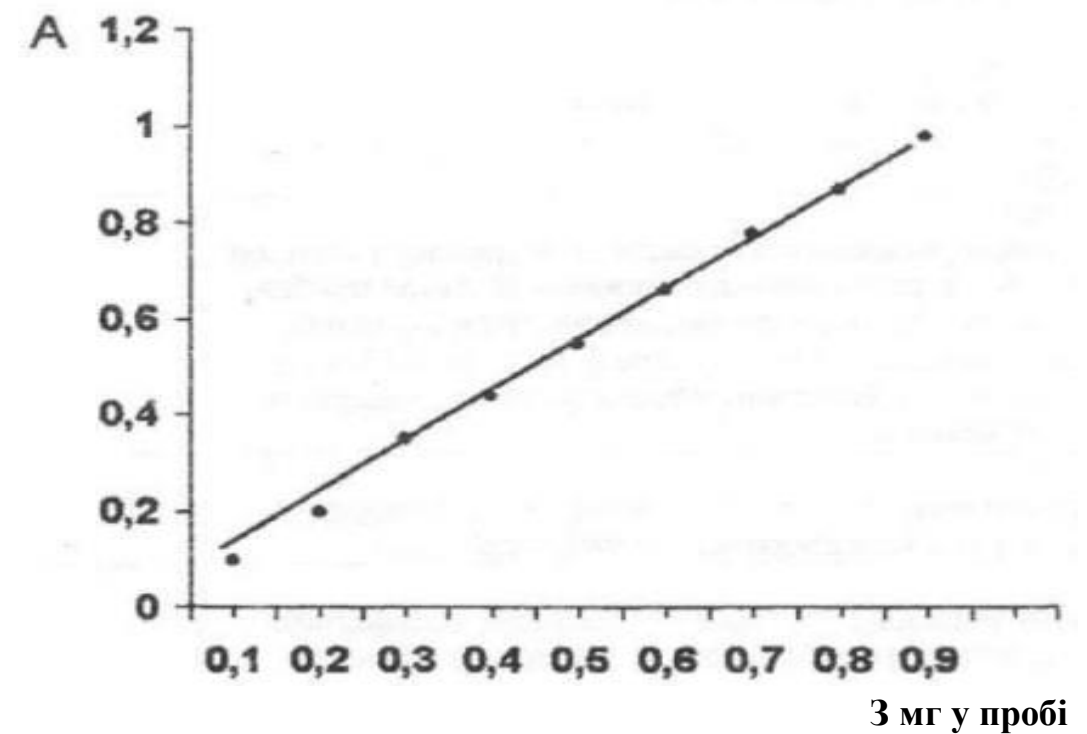
У пробірку вносять 5 мл водного екстракту, що містить аміназин, додають 1 мл 5 % розчину хлориду феруму (III) (безпосередньо перед вимірюванням). Перемішують. Пофарбований розчин переносять у кювету з товщиною шару 10 мм і вимірюють оптичну густину на фотоелектроколориметрі КФК-2 за довжини хвилі 540 нм. Розчином порівняння слугує суміш 5 мл дистильованої води та 1 мл розчину хлориду феруму (III). За градувальним графіком визначають концентрацію аміназину в екстракті. Після цього за формулою визначають вміст аміназину в 100 г біологічного матеріалу.

$$X=C*20,$$

де X - вміст аміназину в 100 г біологічного матеріалу;

C - концентрація аміназину в пробі (об'єм проби 5 мл).

Градувальний графік кількісного визначення аміназину



Заняття №

Дата

ТЕМА: ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН НА "ЛІКАРСЬКІ" ОТРУТИ ПРИ ГОСТРИХ ІНТОКСИКАЦІЯХ

Об'єкти дослідження: біологічні рідини, в яких передбачається вміст саліцилової кислоти, парацетамолу, аміназину, хініну, барбітуратів, кодеїну, похідних 1,4-бенздіазепіну.

№	Методика дослідження	Спостереження	Хімізм реакції	Висновок
I. 1.	<u>Без ізолювання</u> Саліцилова кислота та саліцилати До 1 мл сечі додають 3 краплі 5% розчину хлориду феруму (III).			
2.	Парацетамол До 1 мл сечі додають 2-3 краплі 10% розчину соляної кислоти й охолоджують. Потім до охолодженої суміші додають 2-3 краплі 1% розчину нітриту натрію і 2-3 краплі свіжоприготованого 1% розчину β-нафтолу в 10% розчині їдкого натру. Великий надлишок розчину β-нафтолу заважає цій реакції.			
3.	Аміназин До 1 мл сечі додають 1 мл реактиву ФПН (хлорид феруму (III), кислота хлорна, кислота нітратна).			
4.	Хінін До 2 мл сечі додають 3 мл 10% розчину сульфатної кислоти. В УФ-світлі спостерігають характерну флюоресценцію.			
II. 1.	<u>Після ізолювання</u> Барбітурати У ділильну лійку вносять 5 мл сечі, до якої по			

Заняття №

Дата

ТЕМА: ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ТА СПЕЦИФІЧНОСТІ ХІМІЧНИХ РЕАКЦІЙ, ПРИДАТНИХ ДЛЯ ЕКСПРЕС-АНАЛІЗУ ГОСТРИХ ОТРУЄНЬ

Об'єкти аналізу: модельні хлороформні розчини атропіну, аміназину, амітриптиліну (1000 мкг/мл), 1% водний розчин пахікарпіну.

Реактиви: 1% водний розчин солі Рейнеке (тетрароданодіамінохроміату амонію) $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{NH}_3)_2]$; 0,5% водний розчин пікринової кислоти, роданідний комплекс кобальту.

Методика проведення аналізу для визначення чутливості хімічних реакцій (на прикладі пахікарпіну).

На предметне скло наносять 1 краплю 1% розчину пахікарпіну і додають 1 краплю роданідного комплексу кобальту, після чого з'єднують їх скляною паличкою. Якщо відразу ж не спостерігається утворення характерних кристалів, то предметне скло помістити у вологу камеру на 5-10 хвилин. Паралельно на предметне скло нанести краплю відповідного реактиву в якості контрольного досліду. Для визначення чутливості проводять низку послідовних розведень і встановлюють межу виявлення пахікарпіну, а потім за формулою розраховуємо граничне розведення.

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень внести в таблицю №1.

Граничне розведення розраховують за формулою:

$$C = \frac{V \cdot 10^6}{m},$$

де - V - об'єм краплі, мл (0,05 мл)

m - межа виявлення, м

C - граничне розведення.

Таблиця 1

Показники чутливості мікрокристалоскопічної реакції пахікарпіну з роданідним комплексом кобальту

Речовина (хімічна формула)	Реактив	Форма кристалів	Чутливість	
			Межа виявлення, мкг	Предельное разбавление

Методика проведення аналізу для визначення специфічності хімічних реакцій.

Як об'єкти дослідження використовують хлороформні розчини атропіну, аміназину, амітриптиліну. На предметне скло наносять 2-3 краплі досліджуваного хлороформного розчину, хлороформ упарюють насухо за кімнатної температури. До сухого залишку додають 1 краплю 0,1 М кислоти хлороводневої та 1 краплю відповідного реактиву (1% розчин солі Рейнеке, пікринову кислоту). Якщо відразу ж не спостерігається утворення характерних кристалів, то предметне скло поміщають у вологу камеру на 5-10 хвилин. Паралельно на предметне скло наносять краплю відповідного реактиву як контрольний дослід. Результати досліджень заносять у таблицю №2.

Таблиця 2

Результати специфічності мікрокристалоскопічних реакцій азотовмісних лікарських препаратів

№	Препарат (хімічна формула препарату)	Реактив	Характеристика осаду (аморфний, кристалічний)	Форма кристалів

1.	Аміназин	Сіль Рейнеке		
2.	Атропін	Сіль Рейнеке		
3.	Амітриптилін	Сіль Рейнеке		
4.	Аміназин	Пікринова кислота		
5.	Атропін	Пікринова кислота		
6.	Амітриптилін	Пікринова кислота		

За даними таблиці визначити найбільш специфічні реакції для лікарських препаратів, придатні для експрес-аналізу гострих отруень.

Висновок:

Заняття №

Дата

ТЕМА: ЗАСТОСУВАННЯ ТШХ-МЕТОДУ ПРИ ПРОВЕДЕННІ СКРИНІНГУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

Об'єкти дослідження: хлороформні екстракти із сечі, в яких передбачається вміст хініну, новокаїну, аміназину, саліцилової кислоти, антипірину; стандартні хлороформні розчини хініну, новокаїну, аміназину, саліцилової кислоти, антипірину.

Реактиви та оснащення: хроматографічні пластинки ВЕТШХ або Сорбфіл; системи розчинників: хлороформ-ацетон (9:1), хлороформ-ацетон-ізопропанол-25% розчин аміаку (7:7:7:2); проявники: реактив Драгендорфа, 5% розчин феруму хлориду (III). Хроматографічні камери, капіляри.

Методика проведення аналізу для речовин кислого, нейтрального та слабоосновного характеру. На хроматографічну пластинку наносять аналізовані екстракти (завдання) і стандартні розчини аміназину, антипірину, саліцилової кислоти. Платівку з пробами поміщають у камеру, на дні якої знаходиться система розчинників хлороформ-ацетон (9:1). Після розвитку хроматограми та висушування пластинки, її обробляють 5% розчином феруму хлориду (III) (за наявності речовин кислого, нейтрального, слабоосновного характеру з'являються плями характерного кольору). Розрахувати значення Rf.

Методика проведення аналізу для речовин основного характеру. На хроматографічну пластинку наносять аналізовані екстракти (завдання) і стандартні розчини аміназину, хініну і новокаїну. Платівку з пробами поміщають у камеру, на дні якої міститься система розчинників хлороформ-ізопропанол-ацетон-25% розчин аміаку (7:7:7:2). Після розвитку хроматограми та висушування пластинки, її обробляють реактивом Драгендорфа (за наявності речовин основного характеру з'являються оранжево-бурі плями). Розрахувати значення Rf.

Результати проведених хроматографічних досліджень замалювати (мал. 1, 2) і занести до таблиць №1, 2.

Таблиця 1

Результати ТШХ-дослідження екстрактів, що містять деякі речовини кислого, нейтрального та слабоосновного характеру

Об'єкт дослідження	Система розчинників	Реактив-проявник	Колір плями, після обробки	Значення Rf
--------------------	---------------------	------------------	----------------------------	-------------

			проявником	

Висновок:

Таблиця 2

Результати ТШХ- дослідження екстрактів, що містять деякі речовини основного характеру

Об'єкт дослідження	Система розчинників	Реактив-проявник	Колір плями, після обробки	Значення Rf
---------------------------	----------------------------	-------------------------	-----------------------------------	--------------------

			проявником	

Висновок:

Мал. 1. Схема нанесення проб аналізованих екстрактів і стандартних розчинів речовин кислого, нейтрального і слабоосновного характеру.

Мал. 2. Схема нанесення проб аналізованих екстрактів і стандартних розчинів речовин основного характеру.

Заняття №

Дата

ТЕМА: КІЛЬКІСНЕ ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НАРКОТИЧНИХ ТА ОДУРМАНЮВАЛЬНИХ РЕЧОВИН З БРОМТИМОЛОВИМ СИНІМ І ВИБІР УМОВ ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ. ВИКОРИСТАННЯ РОЗРОБЛЕНОЇ МЕТОДИКИ В ЕКСПРЕС-АНАЛІЗІ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Екстракційно-фотометричний метод аналізу ґрунтується на утворенні іонних асоціатів позитивно заряджених іонів азотовмісних органічних речовин і негативно заряджених іонів кислотних барвників. Іонні асоціати екстрагуються органічними розчинниками і забарвлюють органічну фазу, яку фотометрують з використанням фотоелектроколориметрів або спектрофотометрів.

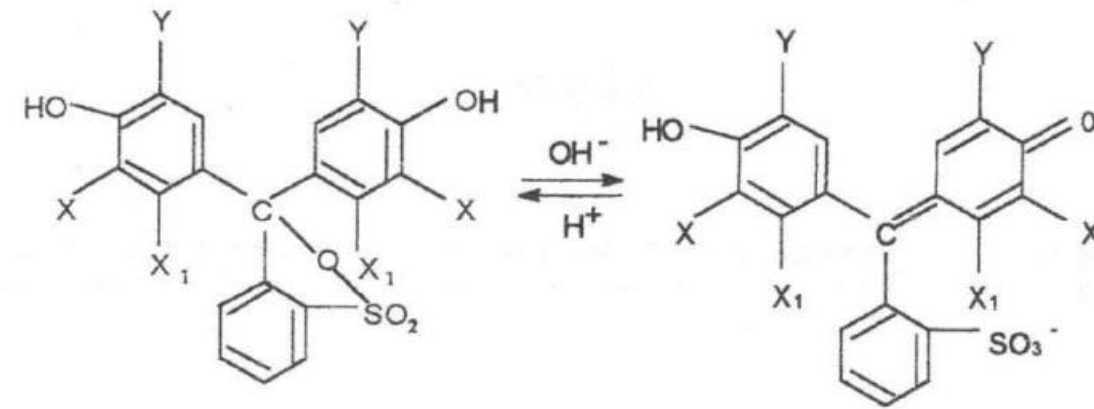
Для підвищення чутливості методу проводять руйнування іонних асоціатів розчинами лугів або кислот з подальшим посиленням забарвлення.

Екстракційна фотометрія характеризується високою чутливістю, надійністю, швидкістю, можливістю концентрувати мікрокількості препаратів, а також проводити аналіз без додаткового ретельного очищення, бо розчин порівняння - "холоста" проба.

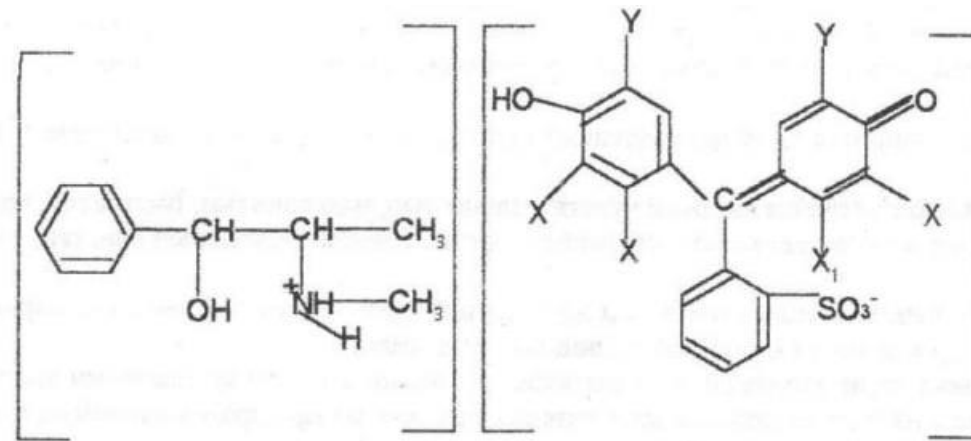
Серед кислотних індикаторів в аналізі наркотичних і одурманюючих препаратів основного характеру найчастіше використовують: метиловий помаранчевий, тропеолін ОО, сульффталеїнові барвники.

Здатність сульффталеїнових індикаторів утворювати іонні асоціати з лікарськими препаратами залежить від рН середовища, рН препарату і барвника, наявності та розташування заступників у молекулах препаратів і барвника, природи органічного розчинника.

Процес іонізації сульффталеїнових барвників:



Можливий склад іонного асоціату ефедрину та сульфопталеїнового індикатора:



В екстракційно-фотометричному аналізі широко використовують сульфопталеїнові барвники: бромтимоловий синій (ЕТС); бромфеноловий синій (БФС); тимоловий синій (ТС).

Замісники	БТС	БФС	ТС
X	-Br	-Br	-
X ₁	-CH ₃	-	-CH ₃
Y	-C ₃ H ₇	-Br	-C ₃ H ₇

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Об'єкти аналізу: стандартний водний розчин ефедрину гідрохлориду (200 мкг/мл).

Реактиви: 0,04% водні розчини БТС, БФС, ТС; фосфатний буферний розчин (рН 7,6); 0,02 М водний розчин гідроксиду.

Оснащення: фотоелектроколориметр КФК-2, розподільчі лійки.

Методика проведення аналізу

I. Вибір найчутливішого індикатора проводять у ділільних лійках, у які вносять 5 мл буферного розчину з рН 7,6; 1 мл 0,04% розчину індикатора, 1 мл стандартного розчину препарату і 5 мл хлороформу. Збовтують протягом 2-3 хвилин, відокремлюють хлороформний шар і вимірюють оптичну густину забарвленого в жовтий колір розчину на фотоелектроколориметрі КФК - 2, 2 мах 440 ± 10 нм; кювета 10 мм; розчин порівняння - хлороформ. Результати вносять до таблиці 1.

Визначення чутливості індикатора

Таблиця 1

Індикатори	Оптична густина (А)
БТС	
БФС	
ТС	

На основі даних таблиці 1 вибрати найчутливіший індикатор, що утворює стійкі йонні асоціати, які легко екстрагуються хлороформом за рН 7,6.

II Підвищення чутливості методики аналізу. Жовте забарвлення екстракту зумовлене поглинанням однозарядженої форми барвника, який дисоціює за сульфогрупою. Для підвищення чутливості методу використовують 5 мл 0,02 М розчину гідроксиду натрію, під дією якого барвник переходить у водний розчин і забарвлює його в синій колір, оптична густина (А) цих розчинів має високе значення (таблиця 2).

Таблиця 2

Значення оптичної густини забарвлених водних і хлороформних розчинів

Вміст препарату в вихідному розчині, мкг/мл	Оптична густина забарвлених розчинів	
	Хлороформних (440 ± 10 нм)	Водних (590 ± 10 нм)
50		
100		

Примітка: розчин порівняння - суміш реактивів.

III Вибір світлофільтра проводиться за визначенням найбільшого значення оптичної густини розчинів різної концентрації. Результати вносять у таблицю 3.

IV Вибір кювети. Для розрахунку вмісту ефедрину гідрохлориду в розчинах використовують калібрувальний графік. Робоча довжина кювети впливає на кут нахилу калібрувального графіка до осі абсцис. Кювети підбирають так, щоб вимірювані оптичні густини вкладалися в інтервал значень від 0,1 до 1,0, що забезпечує достатню точність вимірювання величин оптичної густини. Для вимірювання використовувалися кювети з товщиною шару рідини 5,10 і 20 мм. Результати досліджень внести в таблицю 4.

Таблиця 3

Залежність величини оптичної густини забарвлених розчинів від використаного світлофільтра

$\lambda_{\text{эф.}} \text{ світлофільтра, нм}$	Оптична густина забарвлених розчинів, отримана при вмісті препарату, мкг	
	50	100
400 ± 10		
440 ± 10		
490 ± 10		
540 ± 10		
590 ± 10		
670 ± 10		

Таблиця 4

Залежність величини оптичної густини забарвлених розчинів від товщини шару рідини

Взято препарату, мкг	Оптична густина розчинів з товщиною шару, мм		
	5	10	20
20			
50			

Висновок:

Дата

ТЕМА: ВИЗНАЧЕННЯ "ЛІКАРСЬКИХ" ОТРУТ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ІМУНОФЕРМЕНТНИМ МЕТОДОМ

Імуноферментний метод аналізу на опіати

№	Етапи імуноферментного аналізу	Схема перетворень
1.	Адсорбція модифікованого МБ (зв'язаного з білком) на планшеті	$\begin{array}{c} \text{МБ} + \text{М} + \text{АТП} - \\ \underline{\text{МБАТП} + \text{МАТП}} \\ \downarrow \\ \text{відмивання кон'югату} \\ \underline{\text{МАТП}} \\ \downarrow \\ \text{МБАТП} + \text{H}_2\text{O}_2 + \\ \underline{+ \text{o-фенілендіамін}} \\ \downarrow \\ \text{Забарвлення, інтенсивність якого зменшується зі збільшенням вмісту морфіну в сечі} \end{array}$
2.	Промивання планшета	
3.	Внесення досліджуваних зразків сечі, які містять морфін (М)	
4.	Внесення антитіл мічених пероксидазою хрину (АТП) та інкубування	
5.	Промивання планшета	
6.	Внесення субстрату (H_2O_2 + о-фенілендіамін)	
7.	Визначення оптичної густини забарвленого розчину	

Облік результатів аналізу

Результати аналізу оцінюють візуально, порівнюючи забарвлення лунок стандарту морфіну із забарвленням лунок у досліджуваних пробах, або спектрофотометрично за довжини хвилі 492 нм (плейтфотометр ІФКО-2).

Кількість морфіну в досліджуваних пробах визначають за градувальним графіком залежності середньої оптичної густини двох-трьох паралельних визначень від концентрації морфіну-стандарту в півлогарифмічних координатах: за віссю абсцис відкладають значення C (C - концентрація морфіну в нг/мл), за віссю ординат - відношення оптичної густини A/A_0 (A - оптична густина стандартного розчину, A_0 - оптична густина "сліпого" досліджу за відсутності морфіну).

Дані для побудови градувального графіка заносять у таблицю

Таблиця

Форма запису даних для побудови градувального графіка при ІФА

№	C , нг/мл	$Lg C$	A	A_0	A/A_0
1.	500	2,7	0,40	0,88	0,47
2.	250				
3.	125				
4.	62				
5.	31				
6.	15				
7.	7,5	0,9	0,68	0,88	0,80

Виконати визначення вмісту опіатів методом ІФА в модельних зразках сечі при використанні градувального графіка.

Побудова градувального графіка

Дата

ТЕМА: СПЕКТРАЛЬНІ ТА ХІМІЧНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ОКСИДУ ВУГЛЕЦЮ (II) У КРОВІ
ЗАЛІКОВЕ ЗАНЯТТЯ

№	Методика досліджень	Спостереження	Хімізм реакцій	Висновки
1.	<p><u>Спектральне дослідження крові</u></p> <p>Кров, що підлягає дослідженню, розбавляють водою доти, доки не буде отримано розчин, що має світло-рожеве забарвлення. При спектроскопічному дослідженні цього розчину чітко видно відповідні спектральні смуги.</p> <p>Спектр оксигемоглобіну крові має дві смуги поглинання між лініями Фраунгофера D і E при довжинах хвиль 577-589 і 536-556 нм. Спектр карбоксигемоглобіну має дві смуги поглинання при довжинах хвиль 564-579 і 523-536 нм.</p> <p>Після додавання одного об'єму свіжоприготованого розчину сульфиду амонію або інших відновників (гідразінгідрат, дітїоніт натрію та ін.) до 4 об'ємів водного розчину досліджуваної крові оксигемоглобін перетворюється на дезоксигемоглобін, що має одну широку смугу поглинання при 543-596 нм. Карбоксигемоглобін не відновлюється сульфідом амонію та іншими відновниками. Тому після додавання відновників смуги поглинання карбоксигемоглобіну не зникають.</p>			

2.	<p><u>Хімічні методи дослідження</u></p> <p>Кров, що містить карбоксигемоглобін, від додавання певних реактивів не змінює або незначно змінює своє забарвлення, а нормальна кров, що не містить карбоксигемоглобіну, під впливом цих реактивів значно змінює своє забарвлення.</p> <p>2.1 Реакція з розчином їдкого натру (проба Гоппе-Зейнера).</p> <p>2.2 Реакція із сульфідом амонію (проба Сальковського-Катаяма).</p> <p>2.3 Реакція з хініном і сульфідом амонію (проба Хорошковича-Маркса).</p> <p>2.4 Реакція з гексаціано-(III)фератом калію і дихроматом калію (проба Сидорова).</p> <p>2.5 Реакція з гексаціано-(III)фератом калію (проба Бюркера).</p> <p>2.6 Реакція з гексаціано-(III)фератом калію та оцтовою кислотою (проба Ветцеля).</p> <p>2.7 Реакція з таніном (проба Кункеля-Ветцеля).</p>			
----	--	--	--	--

